



انجمن علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران

نشریه تولید گیاهان زراعی  
جلد هشتم، شماره چهارم، زمستان ۹۴  
۱۰۵-۱۲۰  
<http://ejcp.gau.ac.ir>



دانشگاه گواران کشاورزی و منابع طبیعی گواران

## تأثیر نیتروژن و آرسنیک بر رنگدانه‌های فتوسنتزی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و مقادیر عناصر معدنی گلرنگ (*Carthamus tinctorius L.*)

سپیده محمدی<sup>۱</sup>، \*مصطفی حیدری<sup>۲</sup>، مهدی دهمرده<sup>۳</sup> و محمدرضا اصغری پور<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup>دانشجوی کارشناسی ارشد زراعت (آگرواکولوژی)، دانشگاه زابل، دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات،

<sup>۲</sup>دانشگاه شاهرود، <sup>۳</sup>دانشیار دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۱/۱۰؛ تاریخ پذیرش: ۹۴/۴/۱۸

### چکیده

سابقه و هدف: آرسنیک یک شبه فلز سمی برای گیاهان است که از طریق منابع طبیعی و مصنوعی، محیط زیست را آلوده کرده و سلامتی انسان را مورد تهدید قرار می‌دهد. آرسنیک در گیاهان به سبب تولید گونه‌های فعال اکسیژن منجر به تخریب اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌ها می‌شود. این عنصر همچنین با تخریب غشاء کلروپلاستی سبب کاهش فتوسنتز و رشد خواهد شد. از این رو پاک‌سازی خاک‌های آلوده به آرسنیک یک مبحث مهم زیستی جهت مطالعه است. لذا مطالعه زیر به منظور بررسی اثرات غلظت‌های مختلف آرسنیک و کود نیتروژن بر رنگدانه‌های فتوسنتزی، میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و غلظت عناصر معدنی در گیاه گلرنگ (رقم گلدشت) انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: جهت اجرای این طرح، آزمایشی گلدانی به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در دانشگاه زابل انجام گرفت. تیمارهای آزمایش شامل سه سطح نیتروژن:  $N_1=75$ ،  $N_2=150$  و  $N_3=225$  کیلوگرم در هکتار از منبع اوره و چهار سطح آرسنیک:  $A_1=0$ ،  $A_2=30$ ،  $A_3=60$  و  $A_4=90$  میلی‌گرم در کیلوگرم خاک از منبع آرسنات سدیم بودند.

یافته‌ها: نتایج آزمایش نشان داد آرسنیک تأثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (CAT یا Catalase)، اسکوربات پراکسیداز (APX یا Ascorate peroxidase) و گایاکول پراکسیداز (GPX یا Guaiacol peroxidase) داشت و تا سطح  $A_4$  سبب افزایش فعالیت GPX، APX و کاهش CAT گردید. عنصر آرسنیک

\*نویسنده مسئول: [haydari2005@gmail.com](mailto:haydari2005@gmail.com)

بدون تأثیر بر مقادیر کلروفیل a، b و کارتنوئید بود و تنها تأثیر معنی‌داری بر غلظت عناصر سدیم و پتاسیم آن هم در بخش هوایی داشت. تیمار کود نیتروژن و اثر متقابل آرسنیک و نیتروژن بجز APX، تأثیر معنی‌داری بر فعالیت دو آنزیم آنتی‌اکسیدان CAT و GPX داشتند. در این بین بیشترین فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدان GPX در تیمار  $A_4N_3$  بدست آمد. در این آزمایش تیمار کودی نیتروژن سبب افزایش مقادیر رنگدانه‌های کلروفیل a، b و کارتنوئید در برگ‌ها گردید و نیز تنها تأثیر معنی‌دار بر غلظت عناصر پتاسیم و سدیم آنهم در بخش دانه‌ها داشت. با افزایش مصرف کود نیتروژن از سطح ۷۵ به ۲۲۵ کیلوگرم در هکتار بر میزان پتاسیم دانه‌ها افزوده و از غلظت سدیم در دانه‌ها کاسته شدند.

**نتیجه‌گیری:** به‌طورکلی نتایج این آزمایش نشان داد که عنصر آرسنیک تا سطح ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک بدون تأثیر سوء بر رشد و صفات فیزیولوژیکی گلرنگ رقم گلدشت بود و عمده تأثیر سوء این عنصر در غلظت‌های بالاتر از ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک بر این گیاه پدیدار شد.

**واژه‌های کلیدی:** آرسنیک، آنزیم‌های اکسایشی، صفات فیزیولوژیکی، رنگیزه‌های نوری، نیتروژن

## مقدمه

گلرنگ با نام علمی *Carthamus tinctorius L.* یکی از گیاهان روغنی بومی ایران است که روغن آن با داشتن حدود ۸۰ درصد اسیدهای چرب غیراشباع همانند اسید لینولئیک و اسید اولئیک از کیفیت مطلوبی برای تغذیه انسان برخوردار است. با توجه به توان خوب این گیاه در توسعه ریشه مستقیم خود در اعماق خاک، به شرایط خشکی و شوری تا حدی مقاوم است (۱۸). این گیاه جزء تیره آستراسه بوده، گیاهان این تیره و از جمله آفتابگردان علاوه بر خصوصیات بسیار با ارزش زراعی و تولید روغن، خاصیت جذب عناصر سنگین خاک را نیز دارند (۹).

آلوده شدن منابع خاک و آب به انواعی از عناصر سنگین به سبب فعالیت‌های صنعتی و پیشرفت کشاورزی در اواخر قرن ۱۹ و در ادامه آنها در قرن ۲۰، امروزه به‌عنوان یکی از مسائل مهم زیست محیطی به‌شمار می‌روند. برخی از این فلزات همانند روی، نیکل و مس چون بخشی از ترکیبات آلی همانند رنگیزه‌ها و آنزیم‌ها را در گیاهان تشکیل می‌دهند، جزء عناصر ضروری برای رشد و نمو به‌شمار می‌روند و فقط در غلظت‌های بالاتر از نیاز فیزیولوژیکی اثرات سمی دارند (۱۲). در مقابل برخی دیگر از این دسته از عناصر همانند کادمیوم، آرسنیک و سرب که جزء فلزات غیر ضروری محسوب می‌شوند، حتی در غلظت‌های پایین نیز اثرات سمی بر گیاهان دارند. به همین دلیل، فلزات سنگین به‌عنوان یکی از عوامل تنش‌زا برای گیاهان به‌شمار می‌روند (۵).

از آغاز انقلاب صنعتی تاکنون، آلوده شدن محیط زیست با فلزات سنگین شدت یافته است. فلزات سنگین به‌وسیله فرآیندهای بسیاری از جمله کاربرد لجن فاضلاب، کودهای حیوانی، فاضلاب شهری و فرآورده‌های جنبی آنها و کودهای شیمیایی در خاک‌ها تجمع می‌یابند (۳). تجمع آنها در خاک‌ها موجب کاهش فعالیت و تنوع میکروبی، کاهش حاصلخیزی خاک، کاهش یا از بین رفتن محصول و حتی صدمه به سلامتی انسان و حیوانات از طریق ورود در زنجیره غذایی می‌شوند (۲۵).

در بین عناصر سنگین، آرسنیک، عنصری سمی برای انسان و جانوران به‌شمار می‌رود. آرسنیک از طریق منابعی همانند سموم، کودها، مواد نگهدارنده چوب و سوختن زغال سنگ و نیز فعالیت‌های صنعتی و کشاورزی در محیط انتشار می‌یابد (۱۰). آرسنیک معدنی باعث تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در گیاهان شود، ROSها می‌توانند به‌طور مستقیم سبب تخریب اسیدهای آمینه، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و افزایش پراکسیده شدن لیپیدی غشاء شوند. تولید ROSها یک رویداد طبیعی است که در جریان واکنش‌های طبیعی سلول همانند تنفس و اکسیداسیون مواد به وجود می‌آید. اما میزان

تولید آن تحت تنش افزایش می‌یابد. این ترکیبات بسیار ناپدارند و مقادیر زیادی انرژی دارند. رادیکال‌های آزاد شامل رادیکال‌های سوپراکسید، رادیکال هیدروکسیل به اضافه مشتقات اکسیژن با الکترون‌های نابرابر همانند پراکسید هیدروژن و اکسیژن تنها هستند. در حالت عادی این رادیکال‌های آزاد می‌توانند در سلول‌ها خنثی و بی‌ضرر باشند اما عوامل مخرب محیطی همانند تنش‌ها و عناصر سنگین باعث تولید رادیکال‌های آزاد زیادی می‌شوند که به سلول‌های زنده آسیب وارد خواهند کرد (۱). گزارش شده آرسنیک منجر به کاهش میزان فتوسنتز، تعرق، ممانعت از جوانه‌زنی، کاهش رشد، تخریب غشاء کلروپلاستی و افزایش پراکسیده شدن لیپدها می‌شود (۲۴). مطالعات نشان داده وجود عناصر سنگین همانند کادمیوم و آرسنیک در محیط رشد گیاهان می‌تواند سبب اختلال در جذب و بر هم زدن تعادل عناصر غذایی در آنها شود (۳۱).

رشد گیاهان وابسته به فراهم بودن میزان مناسبی از عناصر غذایی در محیط ریشه است. در بین عناصر غذایی، نیتروژن از جایگاه ویژه‌ای برخوردار است، زیرا نیتروژن در تشکیل آمینو اسیدها، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و دیگر ترکیبات سلولی نقش دارد (۱۹). کمبود نیتروژن نمو فنولوژیکی را در دو مرحله رویشی و زایشی به تأخیر انداخته و سرعت توسعه و دوام سطح برگ در گیاهان را کاهش می‌دهد. در این شرایط راندمان استفاده از نور نیز کاهش می‌یابد. از طرفی هر چه غلظت نیتروژن در برگ‌ها افزایش یابد شدت کربن‌گیری بیشتر می‌شود. زیرا نیتروژن علاوه بر آن که به صورت پروتئین در گیاه وجود دارد عنصر اصلی تشکیل دهنده کلروفیل در گیاه بوده، عامل اساسی در کربن‌گیری محسوب می‌شود (۳۰). قاسمی و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که مصرف ۹۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار برای عملکرد مطلوب دانه و روغن در گلرنگ مناسب است (۸). استراستل و ورلیکک (۲۰۰۲) اظهار داشتند که بیشترین عملکرد دانه با کاربرد ۱۵۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار در گلرنگ پاییزه بدست آمد و با افزایش نیتروژن به بیش از ۱۵۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار، رشد اندام‌های رویشی افزایش و از تعداد طبق در بوته کاسته شد (۲۳). گرانت و بایلی (۱۹۹۳) در بررسی خود بر روی کلزا گزارش کردند، نیتروژن عملکرد دانه را بوسیله تأثیر گذاشتن بر روی پارامترهای رشد افزایش داده و در نتیجه قدرت رشد و نمو گیاه کلزا را از طریق افزایش تعداد و وزن خورجین، بالا بردن وزن دانه‌ها و بهبود جذب عناصر غذایی بالا می‌برد (۱۱). در آزمایشی تأثیر نیتروژن، فسفر و کلرید پتاسیم بر غلظت کادمیم در آفتابگردان و جو بررسی شد. نتایج بدست آمده نشان داد که با مصرف نیتروژن و کلرید پتاسیم، غلظت کادمیم در گیاه افزایش یافت (۳۲).

از آنجایی که نقش نیتروژن در افزایش رشد و تولید عملکرد گیاهان زراعی و از جمله گلرنگ به اثبات رسیده است لذا در شرایط بالا بودن غلظت عناصر سنگین در محیط ریشه، ممکن است در حضور نیتروژن جذب این عناصر نیز تشدید شود. بالا رفتن غلظت عناصر سنگین در بخش هوایی در نهایت می تواند بسته به گونه گیاهی اختلالاتی را در رشد و فعالیت های فیزیولوژیکی آنها وارد نماید. لذا هدف از این تحقیق، بررسی اثرات سطوح مختلف نیتروژن و آرسنیک بر تغییرات رنگدانه های درگیر در فعالیت فتوسنتزی، چگونگی جذب و تجمع عناصر غذایی معدنی در دو بخش هوایی و دانه و نیز تاثیر این تیمارها بر میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در گیاه گلرنگ بوده است.

### مواد و روش ها

جهت انجام این پژوهش، آزمایشی گلدانی به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با ۳ تکرار در دانشگاه زابل اجرا گردید. تیمارهای آزمایشی شامل سه سطح نیتروژن به میزان  $N_3=5/62$  و  $N_2=3/75$ ،  $N_1=1/87$  (معادل  $N_3=225$  و  $N_2=150$ ،  $N_1=75$  کیلوگرم در هکتار از منبع اوره (معادل  $A_1=0$ ،  $A_2=30$ ،  $A_3=60$  و  $A_4=90$  میلی گرم در کیلوگرم خاک (معادل ۰، ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ میلی گرم در سطح هر گلدان) بودند. جهت اعمال تیمار آرسنیک از منبع آرسنات سدیم ( $Na_2HAsO_4$ ) استفاده گردید.

برای انجام آزمایش گلدان هایی به ابعاد  $30 \times 50 \times 30$  سانتی متر تهیه، توسط خاک مزرعه پر شدند. قبل از آن، خاک های هر گلدان وزن و براساس تیمار آزمایش میزان آرسنیک لازم تهیه و قبل از کاشت به خاک اضافه و تا عمق ۱۵ سانتی متری با خاک کاملاً مخلوط شدند. در این بین مقادیر کودهای پایه فسفر و پتاسیم نیز براساس نتایج تجزیه شیمیایی خاک از منابع سوپر فسفات تریپل و سولفات پتاسیم و به مقدار ۱۵۰ و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار، تهیه و به خاک گلدان ها اضافه شدند. نتایج تجزیه شیمیایی خاک در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱- نتایج تجزیه شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش

نیترژن	فسفر	پتاسیم	مواد آلی	لای	رس	شن	اسیدیته	هدایت الکتریکی	بافت
(بی بی ام)	(بی بی ام)	(بی بی ام)	(بی بی ام)	(بی بی ام)	(درصد)	(درصد)	(pH)	دسی زیمنس	خاک
N	P	K	OM	Loam	Clay	Sand	(pH)	بر متر	Soil
(ppm)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	(%)	(%)	(pH)	EC (ds.m <sup>-1</sup> )	Texture
2.6	7.2	135	0.25	35	14	51	7.7	3.1	لومی شنی Sandy loam

تیمار کودی نیتروژن در این آزمایش در دو مرحله قبل از کاشت و ۳ تا ۴ برگه اعمال گردید. کاشت در اواسط بهمن ماه ۱۳۹۰ انجام و گلدانها در شرایط آب و هوایی محیط بیرون قرار داده شدند. ابتدا در هر گلدان ۸ عدد بذر کاشته، بعد از جوانه زنی و استقرار تنک و به ۴ بوته در سطح هر گلدان رسانده شدند. از زمان کاشت تا جوانه زنی و استقرار به فاصله یک روز در میان آبیاری صورت گرفت. بعد از آن دور آبیاری به ۴ یا ۵ روز براساس شرایط آب و هوایی تغییر یافت. رقم گلرنگ گلدشت در این آزمایش مورد بررسی قرار گرفت.

جهت اندازه گیری رنگدانه های کلروفیل و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان، در شروع مرحله گلدهی از جوانترین برگها نمونه برداری صورت گرفت. برای کلروفیل a، b و کاروتنوئید از روش آرنون (۱۹۶۷) استفاده شد (۲). برای این منظور ۰/۲ گرم از بافت تر برگ در هاون چینی که حاوی ۱۰ میلی لیتر استن ۸۰ درصد بود ساییده شد. محتوای هاون در ۴۰۰۰ دور به مدت ده دقیقه سانتریفوژ شدند. ۳ میلی لیتر از این محلول در کووت ریخته، جذب آنها در طول موج های ۶۶۳ نانومتر برای کلروفیل a، ۶۴۵ برای کلروفیل b و ۴۷۰ نانومتر برای کاروتنوئید با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه گیری شدند.

**استخراج و سنجش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان:** جهت استخراج آنزیم های حذف کننده پراکسید هیدروژن، ۰/۲ گرم از بافت سبز برگ که در مرحله شروع گلدهی از گیاهان برداشت و فریزر شده بودند در ۲ میلی لیتر از بافر فسفات پتاسیم سرد ۱۰۰ میلی مولار (اسیدیته=۷/۵) که محتوی EDTA ۰/۴ میلی مولار، آسکوربات ۳ میلی مولار و پلی ونیل پیرولیدین ۵ درصد (وزن حجمی) بود، ساییده و به صورت همگن در آورده شدند. سپس نمونه ها به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۶۰۰۰ سانتریفوژ شدند. در نهایت فاز بالایی به عنوان عصاره پروتئینی برای سنجش فعالیت آنزیمی مورد استفاده گردید. همه این عملیاتها در دمای ۴ درجه سانتی گراد انجام گرفت. در نهایت جهت اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) از روش بیرز و سیزر (۱۹۵۲)، آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) از روش ناکانا و آسادا (۱۹۸۱) و گایاکول پراکسیداز (GPX) از روش اوربانک و همکاران (۱۹۹۱) استفاده شدند (۱۶ و ۲۹). جهت سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز، کمپلکس واکنشی شامل ۱/۵ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی مولار (اسیدیته=۷)، ۰/۵ میلی لیتر پراکسید هیدروژن ۱/۲۵ میلی مولار و ۵۰ میکرو لیتر از محلول آنزیمی بود که حجم نمونه ها با اضافه کردن آب مقطر به ۳ میلی لیتر رساند شد. نمونه ها در طیف جذبی ۲۴۰ نانومتر اندازه گیری شدند. برای آسکوربات پراکسیداز، کمپلکس شامل ۲۵۰ میکرو لیتر

محلول بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی مولار (اسیدیته=۷)، ۲۵۰ میکرولیتر آسکوربات یک میلی مولار، ۲۵۰ میکرولیتر EDTA/۰ میلی مولار، ۱۹۰ میکرولیتر آب دوبار تقطیر، ۱۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۱۰ میلی مولار و ۵۰ میکرولیتر محلول آنزیمی استخراج بود. طیف جذبی نمونه‌ها در طول موج ۲۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شدند. در نهایت برای گایاکول پراکسیداز، کمپلکس واکنشی شامل یک میلی لیتر بافر فسفات ۱۰۰ میلی مولار (اسیدیته=۷)، ۲۵۰ میکرولیتر EDTA/۰ میلی مولار، یک میلی لیتر گایاکول ۵ میلی مولار، یک میلی لیتر پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی مولار و ۵۰ میکرولیتر از محلول آنزیمی استخراج شده بود. تغییرات جذب نمونه‌های در طول موج ۴۷۰ نانومتر قرائت شدند.

در انتهای دوره آزمایش و پس از رسیدگی دانه‌ها، گیاهان موجود در سطح هر گلدان برداشت و برای اندازه‌گیری عناصر فسفر، پتاسیم و سدیم در دو بخش هوایی و دانه‌ها از روش خاکستری خشک استفاده شد. میزان فسفر به روش کالریتری و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۲۰ نانومتر و سدیم و پتاسیم به روش عزیزپور و همکاران (۲۰۱۰) و با استفاده از دستگاه فلم فتومتر اندازه‌گیری شدند (۴). در پایان داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS تجزیه و مقایسه میانگین‌ها براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد محاسبه شدند.

## نتایج و بحث

**آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان:** نتایج تجزیه آماری داده‌ها در جدول (۲) نشان داد تیمار آرسنیک تاثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و گایاکول پراکسیداز (GPX) در گیاه گلرنگ داشت. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز همراه با افزایش غلظت آرسنیک در محیط ریشه افزایش، به طوری که بیشترین میزان فعالیت آسکوربات پراکسیداز در تیمار ۹۰ میلی گرم آرسنیک در هر کیلوگرم خاک حاصل شدند. میزان این نسبت به تیمار شاهد، معادل ۳۳/۳ درصد بود (جدول ۳). استویا و همکاران (۲۰۰۵) اعلام کردند آرسنیک سبب تسریع در پراکسیداسیون چربی‌های موجود در غشاء سیتوپلاسمی سلول‌های گیاه لوبیا می‌شود. همچنین آرسنیک علاوه بر دارا بودن خاصیت سمی در تولید ROSها در سلول نیز نقش دارد. مشخص شده آرسنیک تولید ROSها را افزایش داده در این بین بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در درون سیتوزول سلول‌ها جهت از بین بردن ROSهای تولید شده نیز افزوده می‌شود (۱۵).

تیمار کودی نیتروژن بجز APX، تاثیر معنی داری بر میزان فعالیت دو آنزیم آنتی اکسیدان CAT و GPX در گیاه گلرنگ داشت (جدول ۲). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد هر چند با افزایش مصرف نیتروژن از ۷۵ به ۲۲۵ کیلوگرم در هکتار تا حدی از میزان فعالیت APX کاسته شد اما این کاهش از لحاظ آماری معنی دار نبود (جدول ۳). اثر متقابل آرسنیک و نیتروژن به جز APX تاثیر معنی داری بر میزان فعالیت دو آنزیم آنتی اکسیدان CAT و GPX دارا بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد، بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های GPX و CAT به ترتیب مربوط به تیمارهای ۹۰ میلی گرم آرسنیک در کیلوگرم خاک به همراه ۲۲۵ کیلوگرم نیتروژن در هکتار و در تیمار عدم استفاده از آرسنیک به همراه ۷۵ کیلوگرم نیتروژن در هکتار بودند (شکل‌های ۱ و ۲). لوگان و همکاران (۱۹۹۹) اعلام کردند نیتروژن تاثیر زیادی بر فعالیت آنزیم‌های درگیر در فتوسنتز همانند ریبولوز بی فسفات کربوکسیلاز دارد. در صورت نبود نیتروژن کافی از فعالیت ریبولوز بی فسفات کربوکسیلاز کاسته و بر میزان انتقال الکترون در مسیر احیاء نوری اکسیژن از طریق واکنش مهلر در درون کلروپلاست افزوده می‌شود. این امر در نهایت تولید ROSها را بالا می‌برد. در این شرایط انتظار می‌رود بر فعالیت ترکیبات آنزیمی و غیر آنزیمی آنتی اکسیدان در برگ‌های گیاهان افزوده شود (۱۳). در مقابل لین و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند افزایش مصرف و بکارگیری نیتروژن سبب بالا رفتن میزان تولید آنزیم‌های آنتی اکسیدان APX، CAT، POD و SOD در گیاه *Populus yunnanensis* شد (۱۲).

افزایش غلظت عناصر پر مصرف از جمله نیتروژن و فسفر در محیط ریشه، منجر به بالا رفتن تولید زیست توده و کاهش اثرات سمی آرسنیک در گیاهان می‌شود، در تأیید این نظریه، تیو و همکاران (۲۰۰۲) نشان دادند که گیاه گندم حساس به آرسنیک بوده و غلظت‌های ۱۰۰ تا ۲۵۰ میکرومولار آرسنیک سبب کاهش معنی داری در تولید زیست توده و رشد بخش هوایی و ریشه آن می‌شود (۲۶). در مقابل استفاده از کودهای پر مصرف همانند فسفر در غلظت‌های بالا اثرات بازدارندگی آرسنیک را کاهش داد. در تحقیق حاضر مشاهده شد، آرسنیک سبب افزایش میزان فعالیت آنزیم آنتی اکسیدان GPX در گلرنگ گردید. نیتروژن نیز بر میزان فعالیت این آنزیم در برگ‌های گیاه افزود. این امر می‌تواند به نوعی بیانگر فعال شدن مکانیسم‌های مقاومت در این گیاه برای کاهش اثرات سوء آرسنیک باشد.

**رنگیزه‌های فتوسنتزی:** نتایج تجزیه واریانس داده‌ها در جدول (۲) نشان داد سطوح مختلف آرسنیک تاثیر معنی داری بر مقادیر سه رنگیزه کلروفیل a، b و میزان کارتنوئید در گیاه گلرنگ نداشت. در این



بین تیمار کودی نیتروژن تاثیر معنی داری بر مقادیر این سه رنگیزه دارا بود. اثر متقابل آرسنیک و نیتروژن نیز در هیچ کدام از موارد فوق معنی دار نبود (جدول ۲). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد، با افزایش مصرف نیتروژن از ۷۵ به ۲۲۵ کیلوگرم در هکتار بر غلظت هر کدام از این رنگیزه‌ها افزوده شد. در این بین، بیشترین مقدار کلروفیل a از تیمار کودی ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار، کلروفیل b و کارتنوئید از تیمار ۲۲۵ کیلوگرم در هکتار حاصل شد. این میزان افزایش برای کلروفیل a معادل ۱۹/۳ و برای کلروفیل b و کارتنوئید به ترتیب معادل ۲۳/۵ و ۳۹/۳ درصد نسبت به تیمار ۷۵ کیلوگرم در هکتار بودند (جدول ۳).

هر چند آرسنیک اثرات سوئی بر رشد و نمو گیاهان دارد اما مطالعات صورت گرفته در مورد برخی از گیاهان از جمله پیاز نشان داد، آرسنیک تاثیری بر میزان کلروفیل در این گیاه نداشت (۲۱). میتوا و مراکچیسکا (۲۰۰۲) نیز گزارش کردند غلظت آرسنیک تا ۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک تاثیری بر کلروفیل گیاه لوبیا ندارد و افزایش غلظت آرسنیک از ۲۵ به ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک توانست از میزان فتوسنتز و رنگدانه‌های فتوسنتزی در این گیاه بکاهد (۱۴). در این بین محتوای کلروفیل در برگها بسیار وابسته به میزان حضور نیتروژن در محیط ریشه است. وارول و همکاران (۱۹۹۷) تأیید کردند که افزایش کاربرد کود نیتروژن موجب افزایش میزان نسبی کلروفیل در ذرت می‌شود (۲۸). پنگ و همکاران (۱۹۹۹) در آزمایشی روی برنج گزارش کردند که محتوای کلروفیل در اثر کاربرد کود نیتروژن افزایش یافت و همبستگی بالایی را با کلروفیل برگ نشان داد (۱۷).

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان، رنگدانه‌های فتوسنتزی و میزان عناصر معدنی کلرگ در تیمارهای آرسنیک و کود نیتروژن  
Table 2. Analysis of variance on antioxidant enzymes, photosynthetic pigments and elements contents in safflower under nitrogen and arsenic treatments

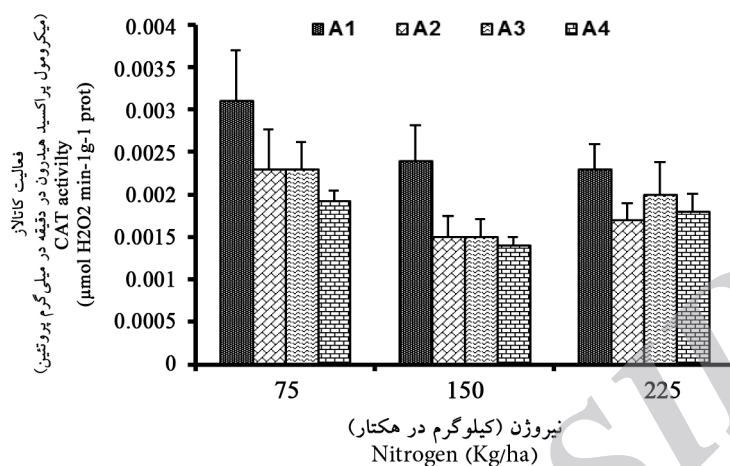
منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	پتاسیم Potassium		فسفر Phosphorus		کاروتنئید Caroteneid	کلروفیل "b" Chlorophyll	کلروفیل "a" Chlorophyll	آنزیم‌های آنتی اکسیدان Antioxidant enzyme			سدیم Sodium	
		دانه Seed	بخش هوایی Shoot	دانه Seed	بخش هوایی Shoot				آپکس APX	پراکسیداز GPX	کاتالاز CAT	بخش هوایی Shoot	دانه Seed
تکرار Replicate	2	3.2 <sup>ns</sup>	22.9 <sup>ns</sup>	58.7 <sup>ns</sup>	2.9 <sup>ns</sup>	0.00016 <sup>ns</sup>	0.000009 <sup>ns</sup>	0.000092 <sup>ns</sup>	0.0013 <sup>ns</sup>	0.0000095 <sup>ns</sup>	0.00000011 <sup>ns</sup>	0.02 <sup>ns</sup>	0.0007 <sup>ns</sup>
آرسنیک Arsenic(A)	3	2.3 <sup>ns</sup>	195.6*	80.8 <sup>ns</sup>	0.9 <sup>ns</sup>	0.00096 <sup>ns</sup>	0.0000007 <sup>ns</sup>	0.00000078 <sup>ns</sup>	0.0024*	0.00000079*	0.0000005*	0.13*	0.0012 <sup>ns</sup>
نیتروژن Nitrogen(N)	2	6.2*	129.9 <sup>ns</sup>	63.1 <sup>ns</sup>	6.46 <sup>ns</sup>	0.034**	0.000042**	0.000063*	0.0063**	0.000001 <sup>ns</sup>	0.00000067*	0.06 <sup>ns</sup>	0.0053*
A×N	6	3.3 <sup>ns</sup>	49.1 <sup>ns</sup>	82.9 <sup>ns</sup>	3.3 <sup>ns</sup>	0.0024 <sup>ns</sup>	0.00000021 <sup>ns</sup>	0.000012 <sup>ns</sup>	0.00246**	0.000003 <sup>ns</sup>	0.00000045*	0.067 <sup>ns</sup>	0.0014 <sup>ns</sup>
خطای Error	22	2.2	73.8	74.1	3.2	0.0019	0.00000083	0.0000126	0.00063	0.000003	0.00000016	0.036	0.0013
CV%		14.5	14.7	6.8	2.6	18.5	5.7	15.4	23.3	25.5	20.6	19.1	6.8

\*، \*\*، ns are significant at 5 and 1% level and not significant, respectively.  
\*، \*\*، ns به ترتیب غیر معنی دار، معنی دار در سطح احتمال 5 و 1 درصد.

جدول ۳- مقایسه میانگین‌های تیمار آرسنیک و نیتروژن بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، رنگدانه‌های فتوسنتزی و میزان عناصر معدنی کلرنگ  
Table 3. Mean comparisons of the nitrogen and arsenic treatments on antioxidant enzymes, photosynthetic pigments and elements contents in safflower

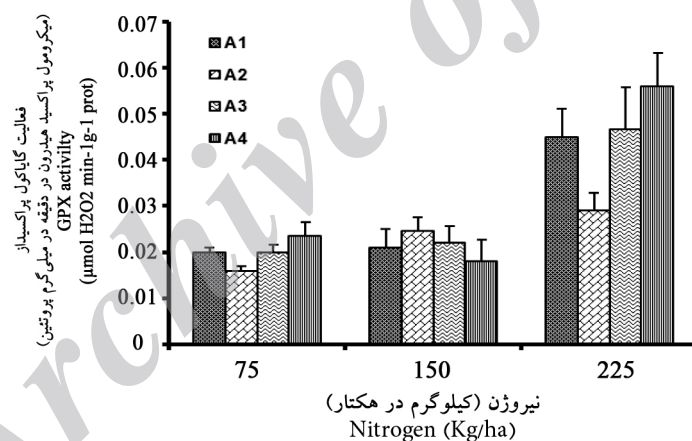
تیمار Treatment	سدیم Sodium		پتاسیم Potassium		فسفر Phosphorus		کاروتنوئید Caroteneid	کلروفیل b Chlorophyll <sup>b</sup>	کلروفیل a Chlorophyll <sup>a</sup>	آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان Antioxidant enzyme		
	دانه Seed	بخش هوائی Shoot	دانه Seed	بخش هوائی Shoot	دانه Seed	بخش هوائی Shoot				آپکسیداز APX	گاپکول پرآکسیداز GPX	کاتالاز CAT
Nitrogen (Kg. ha <sup>-1</sup> )												
N <sub>1</sub> =75	0.55a	0.93a	5.66b	60.4a	128.9a	78.5a	0.17b	0.013c	0.02b	0.0029a	0.02b	0.0031a
N <sub>2</sub> =150	0.52b	0.99a	5.66b	60.6a	125.2a	78.3a	0.24a	0.013b	0.025a	0.0028a	0.021b	0.0017b
N <sub>3</sub> =225	0.53ab	1.08a	6.91a	53.8a	124.7a	79.7a	0.28a	0.017a	0.023a	0.0024a	0.06a	0.0027ab
Arsenic (mg. Kg <sup>-1</sup> Soil)												
A <sub>1</sub> =0	0.52a	0.92ab	5.4a	63.2a	123.6a	79.1a	0.25a	0.15a	0.0228a	0.0024ab	0.029b	0.0036a
A <sub>2</sub> =30	0.547a	0.89b	6.5a	54.8ab	124.9a	78.4a	0.23a	0.16a	0.0225a	0.0015b	0.02b	0.0025ab
A <sub>3</sub> =60	0.54a	1.12a	6.4a	61.1ab	126.1a	78.8a	0.23a	0.016a	0.0226a	0.0033ab	0.03b	0.0019b
A <sub>4</sub> =90	0.53a	1.06a	5.8a	54.1b	135.1a	79.2a	0.22a	0.16a	0.0232a	0.0036a	0.05a	0.002b

در هر ستون و برای هر تیمار که دارای حرف مشترک هستند، در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند  
Means, in each column and for each treatment, followed by at least one similar letter are not significantly different at 5% probability level



شکل ۱- اثر متقابل آرسنیک و نیتروژن بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز برگ‌های گلرنگ.

Figure 1. Interaction between nitrogen and arsenic on catalase activity (CAT) in leaves of safflower plants.



شکل ۲- اثر متقابل آرسنیک و نیتروژن بر میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز برگ‌های گلرنگ.

Figure 2. Interaction between nitrogen and arsenic on gayacol peroxidase activity (GPX) in leaves of safflower plants.

عناصر معدنی پتاسیم، فسفر و سدیم در دو بخش هوایی و دانه: نتایج تجزیه آماری داده‌ها در جدول ۲ نشان داد، تیمار آرسنیک در بین عناصر مورد مطالعه، تنها تاثیر معنی‌دار بر غلظت عناصر پتاسیم و سدیم آن‌هم در بخش هوایی دارا و در سایر موارد از تاثیر معنی‌داری برخوردار نبود. با افزایش غلظت آرسنیک در

محیط ریشه از میزان پتاسیم در بخش هوایی گلرنگ کاسته و بر مقدار سدیم افزوده شد. بیشترین میزان پتاسیم در تیمار شاهد و سدیم در تیمار ۶۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک حاصل شد (جدول ۳). یکی از اثرات سوء عناصر سنگین در گیاهان، کاهش سرعت رشد، کاهش میزان تعرق و جذب عناصر غذایی است. در بین عناصر سنگین، عناصری همانند کادمیوم و آرسنیک سبب تداخل در انجام فرآیندهای جذب در ریشه شده و نیز باعث کاهش هدایت روزنه‌ای در برگ‌های گیاهان می‌شوند. در نتیجه از جذب آب و عناصر غذایی در ریشه‌ها کاسته می‌شود (۶). گیاهان در این شرایط از عناصری همانند پتاسیم و ترکیبات آلی نظیر پرولین و قندها جهت افزایش غلظت در سلول‌های ریشه استفاده می‌کنند تا شرایط لازم برای بهبود جذب آب و عناصر غذایی فراهم نمایند (۲۰).

تیمار کودی نیتروژن در این مطالعه، تنها تاثیر معنی‌دار بر غلظت عناصر پتاسیم و سدیم آن‌هم در بخش دانه‌ها داشت. در این بین اثر متقابل آرسنیک و نیتروژن در مورد غلظت عناصر در هیچکدام از موارد مورد مطالعه تاثیر معنی‌داری نداشت (جدول ۲). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد با بالا رفتن میزان نیتروژن مصرفی از ۷۵ به ۲۲۵ کیلوگرم در هکتار بر میزان پتاسیم موجود در دانه‌ها افزوده و از مقدار سدیم کاسته شد (جدول ۳). استال و همکاران (۱۹۹۱) معتقدند که یکی از اثرات افزایش نیتروژن در محیط ریشه، افزایش جذب یون‌ها می‌باشد (۲۲). بنابراین چنین به نظر می‌رسد که نیتروژن می‌تواند سبب یک افزایش نسبی در میزان جذب سایر عناصر غذایی گردد. از دیگر اثرات نیتروژن می‌توان به افزایش فعالیت متابولیک گیاه و تسریع در نقل و انتقال مواد در درون اندام‌های گیاهان اشاره کرد. وانتر و مارشال (۱۹۹۲) اعلام کردند بعضی از اثرات تحریک کنندگی نیتروژن بر رشد رویشی مربوط به بالا بردن درجه اسیدی خاک است. براساس نظر این محققین، مقدار بالای نیتروژن در خاک جذب عناصر پتاسیم و منگنز را در گیاهان افزایش می‌دهد. در صورتی که جذب عنصر روی در غلظت پائین نیتروژن به حداکثر خود می‌رسد (۲۷).

### نتیجه‌گیری کلی

بر اساس نتایج به‌دست آمده در این آزمایش می‌توان بیان کرد که آرسنیک به‌عنوان یکی از عناصر سنگین سبب تغییراتی در واکنش‌های فیزیولوژیکی گیاه گلرنگ (رقم گلدشت) گردید. در این بین تاثیر آن تا سطح ۹۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک، بر صفات فیزیولوژیکی همانند رنگیزه‌های درگیر در فتوسنتز چشمگیر نبود. در حضور آرسنیک بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان افزوده شد،

بطوری که در بین آنزیم‌های آنتی اکسیدان، آرسنیک سبب افزایش دو آنزیم GPX و APX در این گیاه شد. همچنین آرسنیک بدون تاثیر معنی‌دار بر میزان جذب و تجمع فسفر در دو بخش هوایی و دانه تنها سبب کاهش میزان پتاسیم در بخش هوایی این گیاه گردید. در مقابل استفاده از نیتروژن تا سطح ۲۲۵ کیلوگرم در هکتار با بهبود برخی از صفات فیزیولوژیکی همانند رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a و کارتنوئید) و افزایش جذب فسفر و پتاسیم، مانع تاثیر سوء آرسنیک بر این گیاه گردید.

#### منابع

1. Apel, K., and Hirt, H. 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress and signal transduction. *Plant Biol.* 55: 373-399.
2. Arnon, A.N. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agron. J.* 23:112-121.
3. Azevedo, H., Gomes, C., Pinto, G., and Santos, C. 2005. Cadmium effects in sunflower: nutritional imbalances in plants and calluses. *J. Plant Nut.* 28: 2221-2231.
4. Azizpour, K., Shakiba, M., Khosh Kholgh Sima, N., Alyari, H., Moghaddam, M., Esfandiari, E., and Pessarakli, M. 2010. Physiological response of spring durum wheat genotypes to salinity. *J. Plant Nut.* 33 (6): 859-873.
5. Babula, P., Adam, V., Opatrilova, R., Zehnalek, J., Havel, L., and Kizek, R. 2008. Uncommon heavy metals, metalloids and their plant toxicity: a review. *Environ. Chem. Lett.* 6: 189-213.
6. Barcelo, J., and Poschenreider, C. 1990. Plant water relations as affected by heavy metals: a review. *J. Plant Nut.* 13: 1-37.
7. Beers, G.R., and Sizer, I.V. 1952. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *Biol. Chem.* 195:133-140.
8. Ghasemi, M., Moghaddasi, M.S., and Omid, A.H. 2012. The effects of biological and chemical nitrogen fertilizers on agronomical traits of winter safflower cultivars in Saveh region of Iran. *Ann. Biol. Res.* 3: 5141-5144.
9. Gilbert, N.W., and Tucker, T.C. 1967. Growth, yield and yield components of safflower as affected by source, rate, and time of application of nitrogen. *Agron. J.* 59: 54-56.
10. Gomez-Caminero, A., Howe, P., Hughes, M., Kenyon, E., Lewis, D.R., Moore, M., and Ng, J. 2001. Arsenic and Arsenic Compounds. Report on carcinogens, Thirteenth Edition, Pp: 591-594.
11. Grant, C.A., and Bailey, L.D. 1993. Fertility management in canola production. *Can. J. Plant Sci.* 73: 651-671.
12. Lin, T., Zhu, X., and Zhang, F. 2012. The Interaction effect of cadmium and Nitrogen on *Populus yunnanensis*. *J. Agri. Sci.* 4 (2):125-134.

13. Logan, B.A., Demmig-Adams, B., Rosenstiel, T.N., and Adams, W.W. 1999. Effect of nitrogen limitation on foliar antioxidants in relationship to other metabolic characteristics. *Planta*. 299: 213–220.
14. Miteva, E., and Merakchiyska, M. 2002. Response of chloroplasts and photosynthetic mechanism of bean plants to excess arsenic in soil. *Bulg. J. Agric. Sci.* 8: 151-156.
15. Mocquot, B., Van Gronsveld, J., Clijsters, H., and Mench, M. 1996. Copper toxicity in young maize (*Zea mays* L.) plants: effect on growth, mineral and chlorophyll contents and enzyme activities. *Plant and Soil*. 182: 287-300.
16. Nakano, Y., and Asada, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidases in spinach chloroplasts. *Plant cell physiol.* 22:867-880.
17. Peng, S., Sanico, A.L., Grcia, F.V., Laza, R.C., Visperas, R.M., Descalsota, J. P., and Cassman, K. 1999. Effect of leaf phosphorus and potassium concentration on chlorophyll meter reading in rice. *Plant Prod. Sci.* 2: 227-231.
18. Rajput, R., and Gautam, D. S. 1992. Relative performance of safflower varieties with different levels of nitrogen under rainfed condition. *Indian J. Agro.* 37: 290-292.
19. Salas, M.L., Hickman, M.V., Huber, D.M., and Schreiber, M.M. 1997. Influence of nitrate and ammonium nutrition on the growth of giant foxtail (*Setaria faberi*). *Weed Sci.* 45: 664–669.
20. Salt, D., Price, R., Pickering, I., and Raskin, I. 1995. Mechanisms of cadmium mobility and accumulation in Indian mustard. *Plant Physiol.* 109: 1427–1433.
21. Singh Sushant, K., and Ghosh, A.K. 2010. Effect of Arsenic on Photosynthesis, Growth and its Accumulation in the Tissues of *Allium cepa* (Onion). *Environ. Eng. Manag. J.* 1(1): 39-50
22. Staal, M.F., Maatheusis, J.M., and Elzennga, T.M. 1991.  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  antiport activity in tonoplast vesicles from roots of the salt tolerant *plantago maritima* and the salt sensitive *Plantago media*. *Plant Physiol.* 82: 164-179.
23. Strasil, Z., and Vorlicek, Z. 2002. The effect of nitrogen fertilization, sowing rates and site on yields and yield components of selected varieties of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Rost Vyroba.* 48: 307-311.
24. Stoeva, N., and Bineva, T. 2003. Oxidative changes and photosynthesis in OAT plants grown in As-contaminated Soil. *Bulg. J. Plant Physiol.* 29(1-2): 87-95.
25. Stoeva, N., Berova, M., and Zlatev, Z. 2005. Effect of arsenic on some physiological parameters in bean plants. *Biol. Plant.* 49: 293-296.
26. Tu, C., Ma, L.Q., and Bondada, B. 2002. Arsenic accumulation in the hyperaccumulator chinese brake and its utilization potential for phytoremediation. *J. Environ. Qual.* 31: 1671-1675.
27. Vannier, H., and Marchal, J. 1992. Effect of mineral nutrition on mineral composition of leaves of Clemantin. *Fruit Paris.* 19: 32-36.

28. Varvel, G.E., Schepers, J.S., and Francis, D.D. 1997. Ability for in season correction of nitrogen deficiency in corn using chlorophyll meters. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 61: 1233-1239.
29. Urbanek, H., Kuzniak-Gebarska, E., and Herka, K. 1991. Elicitation of defense responses in bean leaves by *Botrytis cinerea* polyglacturonase. *Acta Physiol. Plant.* 13: 43-50.
30. Walker, A.J. 2001. The effects of soil fertilizer, nitrogen and moisture on yield, oil and protein of flaxseed. *Field Crop Res.* 932: 101-114.
31. Wu, F.B., and Zhang, G.P. 2002. Alleviation of cadmium-toxicity by application of zinc and ascorbic acid in barley. *J. Plant Nut.* 25: 2745-2761.
32. Zhong-Qiu, Z., Youg-Guan Zhu, L., Smith, F.A., and Smith, F.A. 2004. Effects of forms and rate of potassium fertilizers on cadmium uptake by spring canola and spring wheat. *Environ. Int.* 29(7): 973-978.