



دانشکده‌ی کشاورزی و منابع طبیعی

گروه آموزشی علوم باغبانی

پایان نامه برای دریافت درجه‌ی کارشناسی ارشد

در رشته‌ی علوم باغبانی گرایش فیزیولوژی و اصلاح سبزی

عنوان:

اثر محلول پاشی نیتریک اکسید و تغذیه با سلنیوم بر رشد، فیزیولوژی، شاخص‌های بیوشیمیایی و متابولیت‌های ثانویه گیاه شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum* L.) تحت شرایط تنش عنصر

سنگین آرسنیک

استاد راهنما:

دکتر بهروز اسماعیل پور

اساتید مشاور:

مهندس حمیده فاطمی

دکتر سرور خرم دل

پژوهشگر:

امیر ترک زبان

زمستان ۱۳

نام خانوادگی دانشجو: ترک زبان	نام: امیر
عنوان پایان نامه: اثر محلول پاشی نیتریک اکسید و تغذیه با سلنیوم بر رشد، فیزیولوژی و شاخص‌های بیوشیمیایی گیاه شنبلیله (<i>Trigonella foenum-graecum</i> L.) تحت شرایط تنش عنصر سنگین آرسنیک	
استاد راهنما: دکتر بهروز اسماعیل پور	اساتید مشاور: مهندس حمیده فاطمی و دکتر سرور خرم‌دل
مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد	رشته: علوم باغبانی
گرایش: فیزیولوژی و اصلاح سبزی	دانشگاه: محقق اردبیلی
دانشکده: کشاورزی و منابع طبیعی	تاریخ دفاع: ۱/۱۱/۹۶
چکیده:	تعداد صفحات: ۹۰
<p>با توجه به اهمیت بالای سبزی‌ها از نظر مصرف خوراکی، با توجه به آلودگی روزافزون منابع آبی و خاکی به فلزات سنگین به دلایل فعالیت‌های صنعتی و رها کردن پساب‌های آلوده در طبیعت و ضرورت کنترل و مقابله با آن، این بررسی به منظور کاهش اثرات منفی آلودگی آرسنیک توسط محلول پاشی نیتریک اکسید و تغذیه با سلنیوم بر گیاه شنبلیله (<i>Trigonella foenum-graecum</i> L.) صورت گرفت. این پژوهش در دو آزمایش جداگانه به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه‌ی کاملاً تصادفی و با ۳ تکرار در دانشگاه محقق اردبیلی انجام شد. خاک‌ها ابتدا در ۴ غلظت ۰، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ پی‌پی‌ام آرسنیک به مدت ۴ ماه آلوده‌سازی شدند. سپس بذور شنبلیله درون خاک‌ها کشت شد و ۲ هفته بعد از جوانه‌زنی تحت محلول پاشی نیتریک اکسید در غلظت‌های ۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار و سلنیوم به صورت جداگانه در غلظت‌های ۰، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میکرومولار، در ۳ نوبت به فواصل ۱۰ روزه قرار گرفتند. صفات مورفولوژیک، شامل: قطر ساقه و ریشه، طول ساقه و ریشه، تعداد برگ، وزن تر شاخساره و ریشه، وزن خشک شاخساره و ریشه، سطح برگ، تعداد غلاف و تعداد دانه و همچنین صفات فیزیولوژی و بیوشیمیایی شامل: محتوای نسبی آب، ثبات غشا، پرولین، رنگ‌ریزه‌های فتوسنتزی، کربوهیدرات کل و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز، مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد گیاهان شاهد بدون آرسنیک بیش‌ترین طول ساقه (۵۹/۲۷ سانتی‌متر در آزمایش اول و ۲۷/۶۹ سانتی‌متر در آزمایش دوم) را دارا بودند. نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارها نشان داد که بیش‌ترین میزان پرولین آزاد برگ در آزمایش اول (۸۰/۱ میکروگرم بر گرم وزن تازه) در ترکیب تیماری آرسنیک ۹۰ پی‌پی‌ام و سلنیوم ۴۰ میلی‌مولار قرار داشت و در آزمایش دوم، در ترکیب تیماری آرسنیک ۹۰ پی‌پی‌ام و نیتریک اکسید ۲۰۰ میکرومولار (۸۰/۱ میکروگرم بر گرم وزن تازه) مشاهده شد. بیش‌ترین فعالیت آنزیم کاتالاز در آزمایش اول (۰۲۵/۰ تغییرات جذب در میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) در ترکیب تیماری تنش آرسنیک ۹۰ پی‌پی‌ام - پی‌پی‌ام و محلول پاشی سلنیوم شاهد مشاهده شد و در آزمایش دوم در ترکیب تیماری تنش آرسنیک ۹۰ پی‌پی‌ام و محلول پاشی نیتریک اکسید ۲۰۰ میکرومولار (۰۲۵/۰ تغییرات جذب در میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) مشاهده شد. در پایان مشخص شد که تیمارهای آلودگی با آرسنیک به صورت معنی‌داری اثرات مضر خود را بر گیاه نمایان می‌کنند و محلول پاشی نیتریک اکسید و تغذیه با سلنیوم می‌توانند هر یک به صورت معنی‌داری این اثرات را کاهش دادند.</p>	
کلیدواژه‌ها: آرسنیک، سلنیوم، شنبلیله، نیتریک اکسید	

فهرست مطالب

فصل اول:	۱
مقدمه و کلیات	۱
۲-۱- شنبلیله	۳
۲-۱-۱- تاریخچه	۳
۲-۲-۱- گیاهشناسی	۳
۳-۲-۱- اکولوژی رشد	۴
۴-۲-۱- خواص درمانی	۴
۳-۱- عناصر سنگین	۵
۱-۳-۱- تعاریف و ماهیت شیمیایی	۵
۲-۳-۱- آرسنیک	۶
۳-۳-۱- علایم سمیت آرسنیک در گیاهان	۷
۴-۳-۱- حد سمیت آرسنیک در خاک و گیاه	۷
۵-۳-۱- تخفیف اثرات تنش عناصر سنگین	۸
فصل دوم:	۱۱
بررسی منابع	۱۱
۱-۲- آرسنیک	۱۲
۲-۲- سلنیوم	۱۵
۳-۲- سدیم نیتروپروساید	۱۸
فصل سوم:	۲۱
مواد و روشها	۲۱
۱-۳- طرح آزمایش و تیمارهای آزمایش	۲۱
۲-۳- آمادهسازی و آلوده کردن خاک	۲۲
۳-۳- شاخص‌های مورد اندازه گیری	۲۳
۱-۳-۳- صفات رویشی	۲۳
۲-۳-۳- اندازه گیری صفات فیزیولوژیک:	Error! Bookmark not defined.
۳-۳-۳- اندازه گیری شاخص‌های بیوشیمیایی:	Error! Bookmark not defined.
۴-۳- تجزیه آماری	Error! Bookmark not defined.

فصل چهارم: Error! Bookmark not defined.

نتایج پژوهش و بحث Error! Bookmark not defined.

۱-۴- آزمایش اول: تأثیر محلول پاشی سلنیوم و تنش آرسنیک بر شاخصهای مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه
 شنبلیله Error! Bookmark not defined.

۱-۴-۱- شاخصهای مورفولوژیک Error! Bookmark not defined.

۱-۴-۲- شاخصهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه شنبلیله Error! Bookmark not defined.

۲-۴- آزمایش دوم: تأثیر محلول پاشی نیتریک اکسید و تنش آرسنیک بر شاخصهای مورفولوژیک، فیزیولوژیک و
 بیوشیمیایی گیاه شنبلیله Error! Bookmark not defined.

۱-۲-۴- شاخصهای مورفولوژیک Error! Bookmark not defined.

۲-۱-۴- شاخصهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی Error! Bookmark not defined.

۲-۴- نتیجه‌گیری Error! Bookmark not defined.

۳-۴- پیشنهادات Error! Bookmark not defined.

فهرست منابع Error! Bookmark not defined.

فهرست جداول

جدول ۱-۴: تجزیه واریانس اثر محلول پاشی سلنیوم و تنش آرسنیک بر شاخص‌های مورفولوژیک شنبلیله ۳۳

جدول ۲-۴: مقایسه‌ی میانگین اثرات تنش آرسنیک بر شاخص‌های مورفولوژیک شنبلیله (آزمایش اول) ۳۴

جدول ۳-۴: مقایسه‌ی میانگین اثرات سلنیوم بر شاخص‌های مورفولوژیک شنبلیله ۳۴

جدول ۴-۴: مقایسه میانگین اثرات تنش آرسنیک و محلول پاشی با سلنیوم بر شاخص‌های گیاه شنبلیله ۳۵

جدول ۵-۴: تجزیه واریانس اثر محلول پاشی سلنیوم و تنش آرسنیک بر شاخص‌های بیولوژیک شنبلیله ۳۶

جدول ۴-۶: تجزیه واریانس اثر محلول پاشی نیتریک اکسید و تنش آرسنیک بر شاخص‌های مورفولوژیک شنبلیله ۵۶

جدول ۷-۴: مقایسه‌ی میانگین اثرات تنش آرسنیک بر شاخص‌های مورفولوژیک شنبلیله (آزمایش دوم) ۵۷

جدول ۸-۴: مقایسه‌ی میانگین اثرات سلنیوم بر شاخص‌های مورفولوژیک شنبلیله ۵۷

جدول ۴-۹: مقایسه میانگین اثرات تنش آرسنیک و محلول پاشی با نیتریک اکسید بر شاخص‌های گیاه شنبلیله ۵۸

جدول ۱۰-۴: تجزیه واریانس اثر محلول پاشی نیتریک اکسید و تنش آرسنیک بر شاخص‌های بیولوژیک شنبلیله.....۵۹

فهرست شکل‌ها

- شکل ۳-۱: گلدان‌های کشت شده‌ی شنبلیله در غلظت‌های مختلف در گلخانه۲۴
- شکل ۳-۲: وضعیت گلدان‌های شنبلیله در تیمار شاهد ۱۰ روز پس از کشت۲۴
- شکل ۳-۳: دستگاه سطح سنج مدل ADC.....۲۵
- شکل ۳-۴: آماده سازی نمونه‌ها جهت سنجش کلروفیل۲۶
- شکل ۳-۵: مراحل مختلف آزمایش اندازه گیری شاخص ثبات غشا (نشت مواد محلول).....۲۷
- شکل ۳-۶: دیسک برگ‌های آماده شده جهت توزین.....۲۸
- شکل ۳-۷: نمونه‌ی آماده شده جهت سنجش پرولین پس از سانتریفیوژ و تشکیل ۲ فاز مجزا۲۸
- شکل ۳-۸: دستگاه اسپکتوفتومتر مدل Jenway 6705 UV ساخت کشور انگلستان۲۹
- شکل ۳-۹: نمونه‌ی یک نمودار حاصل از اندازه‌گیری آنزیم در دستگاه اسپکتروفتومتر۳۰

فصل اول:

مقدمه و کلیات

سبزی‌ها به دلیل داشتن انواع ویتامین‌ها (مانند ویتامین آ، ث و اسید فولیک)، مواد معدنی (مثل آهن و منیزیم) و نیز مقدار قابل توجهی فیبر، بخش مهمی از جیره‌ی غذایی انسان را تشکیل می‌دهند. مصرف روزانه سبزی‌ها ضامن سلامتی انسان می‌باشد، چرا که از بروز بیماری‌های مزمن قلبی و عروقی پیشگیری می‌کند. با توجه به اهمیت سبزی‌ها در رژیم غذایی انسان و همچنین مصارف دارویی آن‌ها، تولید این محصولات در شرایط سالم، بسیار حائز اهمیت است. شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum L.*) به عنوان یک سبزی با مصرف به صورت تازه‌خوری و همچنین دارویی از جایگاه ویژه‌ای در سبد غذایی انسان برخوردار است.

آلودگی زمین‌های کشاورزی در اثر کاربرد بیش از حد کودهای شیمیایی و آفت‌کش‌ها، آبیاری با فاضلاب و تخلیه نامناسب پسماندها رو به افزایش بوده و خطر افزایش تجمع فلزات سنگین در خاک را در پی داشته است. در نتیجه تجمع این عناصر، کیفیت خاک تنزل می‌یابد. فلزات سنگین از نظر زیستی تجزیه‌پذیر نیستند و تجمع بیش از حد این فلزات در خاک‌های کشاورزی می‌تواند برای سلامت عمومی مخاطره‌آمیز باشد. برخی از فلزات سنگین نظیر مس، روی و نیکل در مقادیر کم به عنوان عناصر کم‌مصرف برای رشد گیاهان ضروری بوده و به وسیله ریشه از خاک جذب می‌شوند، در حالی که فلزاتی نظیر آرسنیک، جیوه و کادمیم سمی بوده و برای رشد و تغذیه گیاه مضر می‌باشند. رشد گیاه در روی خاک‌های آلوده می‌تواند سبب جذب و تجمع این فلزات شده و در نتیجه سبب بروز مشکلات سلامتی در زمان مصرف، توسط انسان و حیوان شود. تهدید امنیت غذایی انسان از طریق آلودگی فلزات سنگین هم اکنون توجه زیادی را به خود جلب کرده است. آرسنیک یکی از عناصر سنگین زیان‌بار برای گیاه است و همچنین با ایجاد سرطان سلامت انسان را به مخاطره می‌اندازد. آرسنیک به وسیله‌ی منابع طبیعی (آتشفشان‌ها) و منابع غیر طبیعی (حشره‌کش‌ها و علف‌کش‌ها) در طبیعت تجمع می‌یابند و با آلوده نمودن منابع آبی و خاک باعث ایجاد خسارت به عملکرد گیاه و سلامت انسان با مصرف آن‌ها می‌شود.

ضرورت استفاده از زمین‌ها و آب‌های آلوده و همچنین با توجه به اهمیت امنیت غذایی در جامعه و نیاز روز افزون جوامع به تولیدات کشاورزی متخصصین بخش کشاورزی را برآن داشته‌است تا تلاش‌های زیادی در جهت رفع آلودگی از خاک‌های آلوده نمایند، روش‌های متعددی برای پاکسازی این خاک‌های آلوده وجود دارد.

با توجه به این که کشت شنبلیله در حاشیه شهرها و مراکز صنعتی صورت می‌گیرد و از آب‌های نامتعارف در آبیاری این گیاه استفاده می‌شود، خطر تجمع فلزات سنگین از جمله آرسنیک در این گیاه افزایش می‌یابد که این امر نه تنها رشد و کارایی گیاه را تحت تاثیر قرار می‌دهد، بلکه مصرف آن، سلامت انسان را نیز با مخاطره جدی مواجه می‌سازد. گیاه شنبلیله از سبزی‌های برگ‌ی پر مصرف و در زمهر گیاهان دارویی و خوراکی است که به صورت خام، پخته و سرخ شده در بسیاری از غذاها مورد استفاده قرار می‌گیرد. آلوده شدن خاک به فلزات سنگین و آلوده شدن آب‌های زیر زمینی و نهرها به زباله‌ها و ضایعات آبکی و استفاده از این آب‌ها در پرورش سبزی‌ها از جمله عوامل اصلی ایجاد مشکلات محیطی و بهداشتی برای انسان می‌باشند.

امروزه استفاده از تنظیم کننده‌های رشد یک راه حل مطلوب برای غلبه بر مشکلات زیست محیطی و بهبود سلامت محصولات کشاورزی به‌شمار می‌آید. از انواع تنظیم کننده‌های رشد مؤثر در ایجاد تخفیف تأثیر عناصر سنگین می‌توان از برازینواستروئیدها، پلی آمین‌هایی از قبیل اسپرمیدین و ماده‌ای به نام نیترو پروساید به عنوان آزاد کننده‌ی نیتریک اکسید می‌باشد از این‌رو تحقیق اخیر به منظور به‌کارگیری تنظیم کننده‌های رشد مذکور در حذف و کاهش عنصر سنگین آرسنیک در سبزی دارویی شنبلیله انجام شده است.

۱-۲- شنبلیله

۱-۲-۱- تاریخچه

شنبلیله یک گیاه باستانی است، که در بیشتر نقاط دنیا به عنوان یک گیاه ادویه‌ای نیز کشت می‌شود. شنبلیله به صورت وحشی در پنجاب و کشمیر، بیابان بین‌النهرین و ایران، آسیای صغیر و برخی کشورهای جنوب اروپا مثل یونان، ایتالیا و اسپانیا می‌روید (دی کندول^۱، ۱۹۶۴؛ فضلی و هارد من^۲، ۱۹۶۸). شنبلیله در نواحی مختلف ایران پرورش می‌یابد و از سبزی‌های مفیدی است که در تهیه غذا استفاده می‌شود و همچنین زست‌گاه‌های طبیعی آن در نواحی مختلف آذربایجان، اصفهان، فارس، خراسان شمالی و سمنان می‌باشند (زرگری، ۱۳۷۶).

۱-۲-۲- گیاه‌شناسی

شنبلیله با نام علمی (*Trigonella foenum-graecum* L.)، یک گیاه یک ساله و دو لپه‌ای متعلق به زیرخانواده‌ی Papilionaceae و از خانواده‌ی Leguminosae (Fabaceae) است. این گیاه دارای ریشه‌های افشان رشته‌مانند و بذور زرد رنگ است و ساقه‌ی منشعب دارد که ارتفاع آن به ۹۰ سانتی متر می‌رسد. برگ‌های آن سه برگچه‌ای بوده و تا ۷۵ درصد برگ‌های آن

1 De candole

2 Hardman and Fazli

دندانه دار هستند و دارای گل های منفرد به رنگ زرد روشن، بنفش تا مایل به سفید رنگ هستند و اندازه های بین ۸/۰ تا ۸/۱ سانتی متر دارند (آچاریا و همکاران^۱، ۲۰۰۸؛ زرگری، ۱۳۷۶). میوهی آن نیام، خمیده، به طول ۳ تا ۱۱ سانتی متر و دارای ۵ تا ۲۰ دانهی زاویه دار به طول ۴ تا ۶ میلی متر و به عرض ۲ تا ۳ میلی متر است و رنگ بذر آن از زرد حنایی تا قهوه ای متغیر می باشد و طعمی تلخ داشته و معطر است (زرگری، ۱۳۷۶). گیاه شنبلیله از حدود ۸۶ درصد آب، ۶ درصد کربوهیدرات، ۴/۴ درصد پروتئین، ۰/۹ درصد چربی و ۲/۱ درصد فیبر برخوردار است و همچنین سرشار از ویتامین های A و C است. برگ ها و غلاف جوان آن به عنوان سبزی و بذور آن به عنوان گیاه ادویه ای و دارویی استفاده می شوند (سینگ^۲، ۱۹۹۷). بذور شنبلیله، یک منبع مهم ساپونین های استروئیدی مثل دیسوزنین است که در هر دو صنعت داروسازی و تولید غذا دارای کاربرد است. تری گونلین، یک مشتق متیل بتائینی از نیکوتینیک اسید، با عمل نسبی کاهندهی قند خون و ضد پلاگر بوده و مهم ترین ترکیب نیتروژنی بذر است (مهرآفرین و همکاران، ۲۰۱۰). تری گونلین دارای فرمول $C_7H_7NO_2$ است و دارای وزن مولکولی ۱۳/۱۳۷ گرم می باشد. این ماده علاوه بر شنبلیله در قهوهی سبز، دانهی شاهدانه (*Cannabis sativa L.*) و دانهی بسیاری از گیاهان دیگر و همچنین در ژلهی بعضی ماهی ها وجود دارد (زرگری، ۱۳۷۶). شنبلیله شامل ساپونین ها است که در دستگاه گوارش به ساپونین ها تبدیل می شوند. ساپونین های این گیاه شامل سارساپونین، یوکاژنین، اسمیلاژنین و دیسوزنین می باشد (مهرآفرین و همکاران، ۲۰۱۰).

۲-۳-۱- اکولوژی رشد

این گیاه محصول فصل خنک بوده و تا حدودی به سرما مقاومت دارد. شنبلیله می تواند در تمامی خاک ها رشد کند ولی خاک لومی شنی را ترجیح می دهد. کاشت بذر معمولا از اواخر شهریور آغاز می شود و بذور معمولا به صورت پراکنده کاشته می شوند، ولی کشت آن ها در ردیف هایی با فواصل ۲۰ تا ۲۵ سانتی متری، و جین کردن و فعالیت های داشت را تسهیل می کند. آبیاری منظم، جهت رشد سریع و حفظ شادابی گیاهان الزامی است (زرگری، ۱۳۷۶).

۲-۴-۱- خواص درمانی

دانهی شنبلیله نه تنها اثر نرم کننده و رفع تحریکات جلدی دارد بلکه داروئی است نیرو بخش که دارای اثر ترمیم کنندهی قوا می باشد، از این نظر مصرف آن برای بیماران مبتلا به سل و افراد لاغر و نحیف به منظور فراهم آوردن ذخایر لازم در بدن مفید است. از گذشته نیز مردم مشرق زمین برای رفع لاغری از آن استفاده می کردند. این گیاه به علت دارا بودن مواد حاوی فسفر و آهن، هیدرات های کربن، مواد ازته، دیاستازها و غیره می تواند کلیهی حالات بیماری ناشی از ضعف و لاغری را از بین ببرد و چون اثر نیرو دهندهی اعمال لوزالمعده دارد، در تقویت دستگاه هضم و بی نظمی های متابولیسم عمومی بدن مفید واقع شود. دانهی شنبلیله علاوه بر تقویت قوای جسمی و روحی در درمان نرمی استخوان، خنازیر، مرض قند و همچنین در سل نیز مفید است.

1 Acharya SN

2 Singh

پزشکان ایرانی نیز در زمان‌های قدیم از دانه‌ی شنبلیله برای مداوای بیماری قند استفاده می‌کردند. دانه‌ی شنبلیله در تجدید قوا برای کسانی که بر اثر محرومیت‌های غذایی و لاغر شدن، مستعد کسب بیماری‌های دیگر شده‌اند و همچنین در جلوگیری از لاغر شدن مبتلایان به مرض قند و سل، اثرات بسیار رضایت بخشی دارد. جوشانده‌ی بذور شنبلیله نیز دارای خواص درمانی به صورت مصرف موضعی در درمان ورم‌ها، ترک خوردگی‌های سطحی و غیره دارد (زرگری، ۱۳۷۶).

۳-۱- عناصر سنگین

۳-۱-۱- تعاریف و ماهیت شیمیایی

عناصر سنگین، فلزاتی با چگالی بیشتر از ۵ گرم بر سانتی متر مکعب هستند. از مجموع ۹۰ عنصر طبیعی، تعداد ۳۵ عنصر سنگین وجود دارد که البته همگی آنها از نظر بیولوژیکی مهم نیستند. تحت شرایط فیزیولوژیکی و بر اساس قابلیت حل شدن آن‌ها، تعداد ۱۷ عدد از آن‌ها در سلول‌های زنده موجود بوده و برای موجودات زنده و اکوسیستم مهم هستند (اشکوتزندوبل و پول^۱، ۲۰۰۲). در میان این فلزات، آهن (Fe)، مولیبدن (Mo) و منگنز (Mn) به عنوان عناصر میکرو، مفید هستند. در حالی که روی (Zn)، نیکل (Ni)، مس (Cu)، کبالت (Co)، وانادیوم (V)، تنگستن (W) و کروم (Cr) در مقادیر بسیار کم اهمیت دارند ولی در غلظت‌های بالاتر سمی هستند و سایر فلزات مانند آرسنیک (As)، جیوه (Hg)، نقره (Ag)، آنتیمون (Sb)، کادمیوم (Cd)، پلادیوم (Pb) و اورانیوم (U) عملکرد خاصی نداشته و به نظر برای گیاهان و ریزموجودات سمی هستند (نظر و همکاران^۲، ۲۰۱۲).

افزایش تولید آلاینده‌ها از جمله فلزات سنگین یکی از مشکلات جدی و در حال گسترش پیش روی انسان عصر حاضر است (خیر^۳، ۲۰۱۰). خاک و پوشش گیاهی آن دارای کارکردهای بوم‌شناختی خاصی در محیط از جمله تعدیل جریان آب، مواد مغذی، دما و گازهای گوناگون می‌باشند. اگر چه از طریق همین فرآیندها، آلاینده‌هایی مانند فلزات سنگین ممکن است در خاک افزایش و یا کاهش یابند، اما خاک دارای ساختار بسیار پیچیده و خصوصیات متفاوتی است که ویژگی‌های آن از مکانی به مکان دیگر تغییر می‌کند (مورتون برمی و همکاران^۴، ۲۰۰۹). یکی از مهم‌ترین آلاینده‌های خاک، فلزات سنگین می‌باشند که باعث کاهش کیفیت خاک و در نتیجه کاهش کارکرد مطلوب آن می‌شوند. خاک مکان ورود مهمی برای فلزات سنگین در اکوسیستم‌های خشکی می‌باشد. منابع طبیعی شامل ورود فلزات سنگین از طریق فرسایش مواد مادری خاک بوده و بنابراین با ساختار زمین منطقه مرتبط می‌باشد. صنایع آهن و فولاد، معدن‌کاری، حمل و نقل جاده‌ای، تولید سوخت، انتقال انرژی، کشاورزی متراکم، آبیاری با فاضلاب، انباشتن

1 Schutzendubel and Polle

2 Nazar

3 Kheir

4 Morton-Bermea

لجن، سوزاندن پسماند و به ویژه استفاده از کودها و مواد شیمیایی در کشاورزی از منابع انسانی بسیار مهم ورود فلزات سنگین به اکوسیستم خاک هستند (وبر و کارزیوسکا^۱، ۲۰۰۴؛ شاه، ۲۰۱۰). آلودگی فلزات سنگین نه تنها به طور مستقیم بر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک، کاهش فعالیت زیستی و کاهش دستیابی زیستی مواد مغذی خاک تأثیر می‌گذارد، بلکه همچنین خطر جدی برای سلامتی انسان از طریق ورود در زنجیره غذایی و امنیت زیست-محیطی از طریق نفوذ در آب‌های زیرزمینی محسوب می‌شوند. اثر فلزات سنگین بر جانوران به عواملی مانند خواص فیزیکی و شیمیایی آلاینده، شدت مواجهه، مدت زمان، قابلیت دسترسی زیستی و ویژگی‌های گونه‌ها بستگی دارد. بنابراین بر اساس شدت مسمومیت، ناتوانی در زادآوری، مرگ و میر زیاد جنین، جهش، ناهنجاری در فرزندان و رفتارهای زادآوری از مهم‌ترین پیامدهای مسمومیت با فلزات سنگین در جانوران است (ژو و همکاران^۲، ۲۰۰۸).

۳-۲-۱- آرسنیک

آرسنیک، از عناصر کمیاب در پوسته ی جامد زمین بوده و از لحاظ فراوانی دارای بیستمین رتبه در پوسته ی زمین، چهاردهمین در آب دریا و دوازدهمین در بدن انسان است (نقوی و همکاران، ۱۹۹۴). در ایران مناطقی از کردستان و خراسان دارای منابع آب آلوده به آرسنیک هستند. غلظت آرسنیک در خاک برخی از این مناطق به بیشتر از ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک و در آب برخی چشمه‌ها این مقدار به بیش از ۱۰۰۰ میکروگرم بر لیتر می‌رسد (مسافری، ۲۰۰۳). این در حالی است که میزان استاندارد آرسنیک در خاک و آب توسط سازمان بهداشت جهانی، ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ۱۰ میکروگرم بر لیتر است (تقریبی و پوزش، ۱۳۹۴). همچنین آرسنیک یکی از عناصر سنگین است که توانایی تجمع در گیاهان را داشته و به وسیله‌ی زنجیره‌ی غذایی به انسان منتقل می‌شود (روی و شاه، ۲۰۰۲). این عنصر در محیط به صورت ترکیبات اسید آرسنوس، اسید آرسنیک، آرسنیت، آرسنات، متیل آرسنیک اسید، دی متیل آرسنیک و به صورت آلی (آرسنو بتائین) بیشتر ذخیره شده در بدن جانوران دریایی یافت می‌شود. این عنصر بازدارنده‌ی فعالیت تعدادی از آنزیم‌ها می‌باشد (مختاری و همکاران، ۱۳۸۷). فرم معدنی غالب آن آرسنات می‌باشد که در خاک‌هایی با تهویه‌ی مناسب می‌تواند جذب ذرات خاک شود. آرسنات غیر آلی به پروتئین‌هایی با گروه سولفیدریل متصل شده و در کارکردهای آن اختلال ایجاد می‌کنند (راتیناساباپاتی و همکاران^۳، ۲۰۰۶).

عنصر آرسنیک، در صورتی که از طریق خاک به بخش‌هایی از گیاه که مورد استفاده انسان و دام است در غلظت بیش از ۱۰ میکروگرم بر گرم منتقل شود، باعث ایجاد سمیت می‌گردد. آرسنیک و فسفر هر دو متعلق به گروه پانزده جدول تناوبی عناصر شیمیایی هستند که به دلیل خصوصیات شیمیایی مشابه، رفتار مشابهی در خاک و گیاهان دارند (لی هونگ و گویلن، ۲۰۰۹).

1 Weber and Karczewska

2 Zhu

3 Rathinasabapathi

آرسنات به‌عنوان آنالوگ فسفات به وسیله سیستم انتقال‌دهنده فسفات در گیاه، جذب می‌شود، آرسنیک یک فلز سمی و سرطان‌زا است که به وسیله‌ی منابع طبیعی (آتشفشان‌ها) و منابع غیر طبیعی (حشره‌کش‌ها و علف‌کش‌ها) در طبیعت تجمع می‌یابند (مهراگ و همکاران^۱، ۱۹۹۲).

۳-۳-۱- علایم سمیت آرسنیک در گیاهان

استفاده از آب‌های سطحی و زیرزمینی آلوده به آرسنیک جهت آبیاری مزارع کشاورزی باعث افزایش غلظت این آلاینده در خاک شده و انتقال آن به بخش‌های مختلف گیاه را افزایش می‌دهد که در نتیجه منجر به مختل شدن رشد طبیعی گیاه با علائم سمیتی نظیر کاهش زیست‌توده ریشه و ساقه، نکروزه شدن جوانه‌های برگ، کاهش سطح فتوسنتز و غیره می‌شود (بیکر و همکاران، ۱۹۷۶). سمیت در گیاهان ابتدا منجر به کاهش رشد می‌شود. بدیهی هرگاه غلظت آلاینده‌ها در محیط بسیار بیشتر از حد آستانه شود نابودی کامل گیاه را در پی خواهد داشت (ورما و همکاران، ۲۰۰۴). از آشکارترین علائم سمیت آرسنیک در گیاهان، اختلالات فرایندهای متابولیکی، جایگزینی جذب مواد مغذی با آرسنیک و تغییر ساختار سلولی است (آلوارز و همکاران، ۲۰۰۶).

۳-۴-۱- حد سمیت آرسنیک در خاک و گیاه

محدوده غلظت این عنصر در خاک، ۱/۰ تا ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم گزارش شده است (نیکلسون و همکاران^۲، ۲۰۰۳). بالاترین غلظت مجاز آرسنیک در خاک، از ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در خاک‌های لومی، تا ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در خاک‌های شنی تعیین شده است (صدر و همکاران، ۱۳۸۸). غلظت استاندارد آن در خاک‌های کشاورزی ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و در آب ۱۰ میکروگرم در لیتر معرفی شده است (شپارد^۳، ۱۹۹۲). اگر غلظت آرسنیک از این حد فراتر رود، ممکن است برای گیاهان و موجودات زنده خاک سمیت ایجاد کند. هم‌چنین مقدار طبیعی آرسنیک در گیاهان حدود ۵/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک است. این در حالی است که مقدار آن در جوانه‌های گیاهان از ۳ تا ۴۵ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک متغییر است؛ اما در فرا انباشت‌گرهای آرسنیک مقدار این عنصر به بیش از ۴۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک نیز می‌رسد. گیاهانی که مقدار آرسنیک در جوانه‌هایشان ۱۵ تا ۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک است برای نمونه‌گیری آرسنیک مناسب هستند حد مجاز روزانه آرسنیک برای گیاهان زراعی ۲/۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ماده خشک است (کاباتا^۴، ۲۰۱۰).

۳-۵-۱- تخفیف اثرات تنش عناصر سنگین

۱-۳-۵-۱- پاک‌سازی خاک‌های آلوده

خاک‌های آلوده به جهت طبیعت ناهمگن خاک و حجم بالای موادی که باید اصلاح شوند، محیطی پیچیده و پر هزینه برای پاک‌سازی هستند. بنابراین، تلاش‌های زیادی در جهت رفع آلودگی از خاک‌های آلوده با به کارگیری مجموعه‌ای از تکنیک‌های درجا و غیردرجا در حال انجام است. هیچ یک از این تکنیک‌ها، راه حل منطقی برای اصلاح خاک‌های آلوده نبوده و اغلب ممکن است بیش از یک تکنیک، برای بهینه سازی فعالیت خاک‌سازی لازم باشد. در این راستا، بدیهی است که، اقدامات مدیریتی زیر نمی‌توانند موجب حذف فلزات سنگین از خاک شوند. اما می‌توانند تاثیرات سوء آنها را از طریق غیر متحرک کردن فلزات در خاک‌های آلوده، کاهش دهند. بنابراین، تکنیک‌های متعددی در آلودگی‌زدایی خاک‌ها استفاده می‌شوند، که در هر یک از روش‌های زیر، مزایا و معایب خاصی گزارش شده است (تابنده، ۱۳۹۴).

الف- روش‌های درجا

در همان محل آلودگی به کار برده می‌شوند و نیازی به خاک‌برداری ندارند و امکان در معرض قرارگرفتن آلاینده‌ها به حداقل می‌رسد. این تکنیک شامل روش‌های متصاعدسازی، آب‌شویی، آهک‌دهی (افزایش pH)، تجزیه زیستی، شیشه کردن و جداسازی-دربرگیری می‌باشد (تابنده، ۱۳۹۴).

ب- روش‌های غیردرجا

در این روش‌ها معمولاً، خاک به وسیله خاک برداری از محل خود جابه جا شده و سپس یا در همان جا مورد پالایش قرار می‌گیرد و یا اینکه به نقطه دیگری حمل شده و پالایش در آنجا انجام می‌شود. البته در این روش نگرانی‌هایی در مورد در معرض قرار گرفتن آلاینده‌ها در جریان عملیات جابه‌جایی و حمل و نقل وجود دارد. تکنیک غیردرجا شامل روش‌های پالایش صحرائی، پالایش حرارتی، درآمیختن با آسفالت، تثبیت-سخت‌سازی، عصاره‌گیری شیمیایی و خاک‌برداری می‌باشد (تابنده، ۱۳۹۴).

۲-۳-۵-۱- سلینیوم

سلینیوم، جزو عناصر شبه‌فلزی طبقه‌بندی شده و دارای عدد اتمی ۳۴ و وزن مولکولی ۷۸.۹۶ می‌باشد که در گروه نافلزات قرار می‌گیرد ولی گاهی اوقات در گروه فلزات دسته بندی می‌شوند (استادتمن^۱، ۱۹۹۰) و دارای اشکال شیمیایی بسیار متنوع بوده و در طبیعت به چهار حالت اکسیداسیون وجود دارد که شامل Se^{+6} و Se^{-2} ، Se^0 ، Se^{+4} می‌باشند. در محیط‌های آبی سلینیوم به صورت اکسانیدون‌ها ی سلنیت (SeO_3^{-2}) و سلنات (SeO_4^{-2}) به صورت محلول وجود دارند در حالی که سلینیوم عنصری نامحلول است (فاستر و سامر^۲، ۱۹۹۷). سلینیوم عنصری دارای دو شکل شناخته شده است. سلینیوم خاکستری که در دمای معمولی پایدار تر بوده

1 Stadtman

2 Foster and Sumar

و از آن به عنوان سلیوم فلزی یاد می‌شود زیرا جلای فلزی داشته و هادی ضعیف جریان الکتریکی می‌باشد. نوع دیگر، سلیوم قرمز است که از طریق واکنش‌های کاهش از حالت‌های اکسیداسیون بالاتر سلیوم به دست می‌آید. در ماکیان و چهارپایان، سلیوم جهت حفظ سلامت فیزیولوژیکی آن‌ها و ارتقای عملکرد به عنوان مکمل تغذیه‌ای در جیره‌ی غذایی دام‌ها افزوده می‌شود (استریوک و همکاران^۱، ۲۰۰۸). نقش ضروری آن در تغذی انسان و دام به دلیل حضور در سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی است (کاپولنا و همکاران^۲، ۲۰۰۹). سلیوم یکی از عناصری است که مصرف کم آن برای حیوانات و انسان ضروری است (تاپیرو^۳ و همکاران، ۲۰۰۳). در گیاهان، سلیوم به صورت آلی و معدنی یافت می‌شود که شامل سلنوامینو اسید و ترکیب‌های متیل‌دار شده است و مقدار زیاد آن در گیاه، باعث ایجاد سرطان می‌شود (فینلی^۴، ۲۰۰۰). اکثر غلات و گیاهان علوفه‌ای حتی در زمانی که در خاک‌های با مقدار سلیوم بالا رشد می‌کنند، در جذب سلیوم نسبتاً ضعیف هستند (نواک^۵ و همکاران، ۲۰۰۴). سلیوم در گیاهانی که مقادیر زیادی از آن را در خود ذخیره می‌کنند نقش مؤثری دارد، ولی به‌عنوان یک عنصر ضروری برای گیاهان طبقه-بندی نشده است (شانکر^۶، ۲۰۰۶). به طور معمول گیاهان زراعی تحمل کمی به سلیوم دارند. در گونه‌های حساس گیاهی، غلظت بحرانی سلیوم خاک که از رشد گیاهان ممانعت می‌کند، ۱۰ تا ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم است. عوامل محیطی مختلف مثل آب و هوا، خصوصیات خاک شامل ترکیب معدنی و سلیوم قابل دسترس، بر جذب سلیوم توسط گیاه تأثیر می‌گذارد (کاباتا-پندیاس و موخرجی^۷، ۲۰۰۷).

۳-۳-۵-۱- سدیم نیتروپروساید (SNP)

سدیم نیتروپروساید نوعی ترکیب غیرآلی، پودری قرمز رنگ و محلول در آب و اتانول است که اولین بار در سال ۱۹۲۸ به‌عنوان داروی انسانی به‌منظور کاهش فشار خون استفاده شد (فدریک و بوتورث^۸، ۱۹۹۵؛ بولتر و مگسون^۹، ۲۰۰۲). سدیم نیتروپروساید به‌عنوان ترکیب تولیدکننده‌ی اکسید نیتریک (NO) شناخته شده است (گاریاماتا و لاماتینا^{۱۰}، ۲۰۰۱). ابتدا این گاز به عنوان آلوده‌کننده‌ی محیطی مورد توجه قرار گرفت، هرچند بررسی‌های اخیر نشان داد که نیتریک اکسید می‌تواند در فرایندهای مختلف فیزیولوژیک و نمو مثل جوانه‌زنی دانه، بسته شدن روزنه، پاسخ به عوامل بیماری‌زا و نمو ریشه دخالت نماید (نیل و همکاران^{۱۱}،

1 Stroyuk

2 Kápolna

3 Tapiro

4 Finley

5 Nowak

6 Shanker

7 Kabata-Pendias and Mukherjee

8 Friederich and Butterworth

9 Butler and Megson

10 Lamattina and Garcia- mata

11 Neill

۲۰۰۳؛ دوان و همکاران^۱، ۲۰۰۷). از طرف دیگر، نیتریک اکسید می‌تواند به عنوان واسطه در عمل تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی و متابولیسم رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) شرکت کند و در بسیاری از مطالعات نشان داده شده است که در انتقال پیام و پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی نیز دخالت دارد (دل‌ریو و همکاران^۲، ۲۰۰۴). مقدار زیاد نیتریک اکسید می‌تواند با O₂⁻ ترکیب شده، رادیکال پراکسید نیتريت (ONOO⁻) را تولید کند و گزارش شده است که این رادیکال باعث تخریب لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شود (بلینی و لاماتینا^۳، ۱۹۹۹). چون O₂⁻ و H₂O₂ بسیار سمی تر از نیتریک اکسید و ONOO⁻ هستند بنابراین اعتقاد بر این است که نیتریک اکسید دارای نقش دوگانه است: سمی و حفاظتی و این بستگی به غلظت آن، نوع گیاه، سن گیاه، بافت گیاه و نوع تنش وارد شده دارد (دل‌ریو و همکاران، ۲۰۰۴؛ بلینی و لاماتینا، ۱۹۹۹). نیتریک اکسید نه تنها در مناطق آبدوست سلول مانند سیتوپلاسم حرکت می‌کند، بلکه آزادانه از داخل فاز لیپیدی غشاءها نیز انتشار می‌یابد (آراسیموویچ-یلونک و همکاران^۴، ۲۰۰۹).

1 Duan

2 Del Rio

3 Beligni and Lamattina

4 Arasimowicz-Jelonek

فصل دوم: بررسی منابع

۱-۲- آرسنیک

آرسنیک باعث کاهش میزان فتوسنتز، تعرق گیاه، مهار جوانه‌زنی، کاهش رشد، تخریب غشای کلروپلاستی و افزایش پر اکسیداسیون لیپیدها می‌گردد (استووا و بینیوا^۱، ۲۰۰۳). علی‌رغم ظرفیت و استعدادی که خاک در نگهداری آرسنات‌ها دارد، کاربرد آرسنات‌ها در یک دوره طولانی منجر به ایجاد مسمومیت برای نباتات حساس می‌شود. اگرچه میزان آرسنیک موجود در بافت‌های گیاهی کشت‌شده در خاکی که در آن آرسنات زیاد به‌کاررفته است در حدی نیست که حیوانات را مسموم کند ولی باعث خواهد شد گیاه، رشد طبیعی خود را از دست بدهد (عابدینی، ۱۳۸۷).

مطالعات زیادی تولید رادیکال‌های آزاد طی متابولیسم آرسنیک در سلول را تأیید کرده‌اند. آرسنیک می‌تواند در غلظت‌های بالا با گروه‌های تیولی پروتئین‌ها واکنش داده و باعث کاهش فعالیت آنزیم‌ها (جین و گارده^۲، ۲۰۰۴) و القای تنش اکسیداتیو شود (سینگ^۳، ۲۰۰۷). گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) با پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و در نتیجه بالا رفتن سطوح مالون‌دی‌آلدهید، می‌توانند باعث کاهش زیست‌توده گیاه و در نهایت مرگ سلول شوند (گونش و همکاران^۴، ۲۰۰۹).

ورود کنترل نشده‌ی عناصر سنگین به خاک‌ها سبب افزایش غلظت این عناصر در خاک می‌گردد. با جذب این عناصر توسط گیاهان، به آسانی وارد زنجیره غذایی می‌شوند (آگاروال^۵، ۲۰۰۵). به طور کلی اثرات ناشی از برهم کنش فلزات سنگین روی گیاهان متفاوت است. اثرات بازدارندگی و تشدیدکنندگی این فلزات با انتقال و جذب فلزات در گیاه و بروز اثر متقابل ارتباط دارد. در پژوهش کاباتا-پندیس و پندیا^۶ (۱۹۸۴) اثر متقابل روی و کادمیم گزارش شده است. اثرات بازدارندگی روی با مس و آهن و اثر متقابل آن با آرسنیک، نیتروژن، کلسیم و منیزیم نیز مشاهده شده است. والاس و همکاران^۷ (۱۹۸۰)، تجمع کادمیم را در ریشه گیاهان در غلظت‌های بالای روی و pH پایین گزارش کرده‌اند. این عنصر سنگین در گیاهان با حمله به غشای سلولی و جلوگیری از انجام وظایف سلول‌ها سبب مرگ آن‌ها می‌شود (اوزتوراک و همکاران^۸، ۲۰۱۰). مطالعات مختلف نشان می‌دهد که واکنش رشدی گیاهان به غلظت‌های

³ Stoeva and Bineva

² Jain and Garde

³ Singh

⁴ Gunes

⁵ Agarval

⁶ Kabata-pendias and Pendia

⁷ Wallace

⁸ Ozturk

مختلف آرسنیک متفاوت است. به عنوان مثال در تحقیقی که روی لوبیا انجام شد کاهش وزن اندام‌های هوایی از غلظت ۵/۲ میکرومولار آرسنیک آغاز شد (لکزین و همکاران، ۱۳۸۷).

بررسی‌ها نشان می‌دهد که مرحله‌ی تثبیت زیستی نیتروژن (همزیستی) نسبت به سمیت آرسنیک حساس بوده و تعداد کل گرهک‌های ریشه کاهش می‌یابند. نکروزه ریشه‌ها، آسیب تارهای کشنده، کاهش طول ریشه از سایر اثرات آرسنیک در این مرحله می‌باشد (بیکر و همکاران، ۱۹۷۶). در ریشه‌های تیمار شده با آرسنات میزان پروتئین گلوتامین سنتتاز کمتر بوده و رادیکال‌های آزاد در این ریشه‌ها تولید می‌شود. همچنین آلودگی این عنصر سمی سبب کاهش در ذخائر آمینواسیدی، کاهش در فراوانی کل پروتئین‌ها می‌شود (آلوارز و همکاران، ۲۰۰۶).

افزایش غلظت عناصر سنگین اثر منفی بر فیزیولوژی و اعمال بیوشیمیایی گیاه دارد. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که عناصر سنگین، سبب کاهش معنی‌دار رشد و تجمع توده‌های زیستی می‌شود. عناصر سنگین سبب اثرات زیان‌آوری روی فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاهان مثل فتوسنتز، جذب عناصر معدنی و رابطه‌ی گیاه با آب می‌شود. علاوه بر این، به صورت غیر مستقیم نیز با تولید گونه‌های اکسیژن فعال نیز اثرات زیان‌باری روی گیاهان دارند (گنگوار^۱، ۲۰۱۴). سمیت برخی از فلزات سنگین نظیر روی و نیکل، باعث کاهش رشد و نمو، متابولیسم گیاهی و القاء تنش اکسیداتیو در گونه‌های گیاهی مختلف مثل لوبیاسبز (*Phaeolus vulgaris L.*) و کلم (*Brassica oleraceae L.*) گردید (پراساد و همکاران، ۱۹۹۹). بیان داشتند که سطوح بالای فلزات سنگین می‌تواند باعث مهار بسیاری از فرآیندهای متابولیکی گیاه، در نتیجه بازماندن از رشد مناسب و در نتیجه پیری شود (چوی و همکاران، ۱۹۹۶). همچنین تحت تنش نیکل کاهش معنی‌داری در مقادیر آنتوسیانین رخ می‌دهد (هاولیراک و همکاران^۲، ۲۰۰۷).

(۲۰۰۷).

اکثر یون‌های فلزات سنگین برای جذب، انتقال و مصرف توسط گیاه با سایر یون‌های فلزی رقابت می‌کنند، و در نتیجه منجر به کمبودهای عناصر مختلف می‌شود، برای مثال آرسنیک با فسفر رقابت می‌کند. تجمع فلزات سنگین از جمله کادمیم، منجر به کاهش غلظت بعضی عناصر ضروری مثل آهن، پتاسیم، کلر و منیزیم و نیز کاهش یون‌های روی و منگنز در برگ‌های سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum L.*) تیمار شده با کلرید کادمیم می‌شود (پراساد و همکاران، ۱۹۹۹). سمیت فلزات سنگین می‌تواند از طریق اثرگذاری بر نفوذپذیری غشای پلاسمایی باعث کاهش محتوای نسبی آب شود. گزارش شده است که کادمیم با تعادل محتوای آب ارتباط دارد (کاستا و مورال، ۱۹۹۴). افزایش فلز سنگین در گیاه باعث افزایش تولید رادیکال آزاد اکسیژن می‌شود. در شرایط تنش، سمیت ایجاد شده توسط فلز باعث برهم زدن تعادل بین تولید و تخریب این رادیکال‌ها می‌شود. افزایش مواجهه‌ی

سلول‌ها با این رادیکال‌ها منجر به پراکسیداسیون لیپیدی، نابودی ماکرومولکول‌های بیولوژیکی، تخریب کارآیی غشاء، نشت یون و گسستگی زنجیره‌ی DNA می‌شود (دوبی و پاندی، ۲۰۱۱). سیستم دفاعی گیاه در مقابل خسارت اکسایشی حاصل از تنش‌های زیستی و غیرزیستی، شامل آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از جمله کاتالاز، سوپراکسیددسموتاز و انواع پراکسیدازها و ترکیبات غیر آنزیمی مثل گلوکاتیون، اسید آسکوربیک و ترکیبات فنلی می‌باشد این ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجب حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن در گیاه می‌شوند (مولاسیوتیس و همکاران، ۲۰۰۵).

ترکیب شیمیایی گیاهان تحت تنش فلز سنگین ممکن است تغییر کند، و به عنوان یک نتیجه کیفیت و پتانسیل تولیدات طبیعی از گیاهان دارویی به طور جدی تحت تأثیر قرار گیرد. کاهش در بیوسنتز ترکیبات فعال ممکن است در نتیجه‌ی از دست دادن یا غیرفعال شدن آنزیم‌های ضروری باشد که در تولید متابولیت‌های ثانویه دخالت دارند. فلزات سنگین در غلظت‌های کم، ممکن است به عنوان الیسیاتور غیر زنده عمل کند و بیوسنتز ترکیبات خاص در گیاهان دارویی معین بهبود یابد، هم‌چنان‌که کادمیم تولید آژمالیسین در *Catharanthus roseus* L. را افزایش داد، تولید فیلاننتین و هیچپوفلاننتین در *Phyllanthus amarus* L. و آلکالوئیدهای تروپان در *Atropa belladonna* L. و سرب سیتوسول را در *Costus speciosus* L. افزایش داد (وسی، ۲۰۰۳). یون‌های فلزی (مثل لانتانوم، یورویوم، نقره و کادمیم) و اگزالات بر تولید متابولیت‌های ثانویه اثر می‌گذارند (مارش^۱، ۱۹۹۵). تجمع مؤثر فلزات کروم، آهن، روی و منگنز، مقادیر تولید روغن در گیاه خردل سبز را تا ۳۵ درصد افزایش می‌دهند. هم‌چنین کادمیم و مس، تولید مقادیر بالاتری از متابولیت‌های ثانویه‌ای مثل شیکونین (میزوکامی^۲، ۱۹۷۷) و هم‌چنین دیجیتالین (اولسن و برگلوند^۳، ۱۹۸۹) را القا می‌کنند. کادمیم، تولید بتالانین‌ها^۴ در چغندر قند را نیز افزایش می‌دهند (تاپیا و همکاران^۵، ۲۰۰۱). مقادیر بالای روی، تولید لیپیدین^۶ در کشت‌های شاهی را افزایش می‌دهند (ابرنوویچ^۷، ۱۹۹۰). نیترات نقره یا کادمیم کلرید، سبب تولید بیش از حد دو آلکالوئید تروپان اسکوپولانین و هیوسیانین در کشت ریشه‌های مویی شکل گیاه بروگمونسیا می‌شود (آنجلوا و همکاران^۸، ۲۰۰۶). گیاهان جو دوسر (*Avena sativa* L.) و لوبیایی که با کادمیم و مس تیمار شده‌اند به طور معنی داری مقادیر پوتریسین بالاتری دارند (وینستن و همکاران^۹، ۱۹۸۶).

1 Marschner
2 Mizukami
3 Ohlsson and Berglund
4 Betalanins
5 Trejo-Tapia
6 Lipidin
7 Obrenovic
8 Angelova
9 Weinstein
14

۲-۲- سلنیوم

تحقیقات انجام شده در سه دهه اخیر نشان داده است که سلنیوم، گیاهان را در مقابل آسیب سلولی ناشی از رادیکال‌های آزاد محافظت می‌کند. مکانیسم‌های اصلی مطرح شده برای این موضوع، بر عملکرد آنزیم‌ها و سایر پروتئین‌های وابسته به سلنیوم تأکید دارند (شوایزر و همکاران^۱، ۲۰۰۴؛ چن و بری^۲، ۲۰۰۳). محققان گزارش کردند که با افزایش تیمار سلنیوم در محیط کشت آبی، محتوی فسفر و کلسیم گیاهچه‌های ذرت افزایش یافت. در حالی که میزان پتاسیم کاهش یافته، تغییر محسوسی در میزان منیزیم مشاهده نشد و غلظت زیاد سلنیوم، رشد گیاه را تحت تأثیر قرار داد. همچنین، با مصرف ۵۰ و ۱۰۰ میکرومول بر دسی‌مترمکعب سلنیوم، غلظت فسفر در ماده خشک حدود ۴ الی ۵ برابر نسبت به شاهد افزایش یافت. نتایج مشابهی نیز برای کلسیم مشاهده شد (هاریلاک-نواک^۳، ۲۰۰۸). مصرف سلنات به صورت محلول‌پاشی در مرحله ظهور بلال در مقایسه با روش‌های بذر مصرف و یا خاک مصرف مؤثرتر بوده است (استفن^۴، ۱۹۸۹). براساس آخرین تئوری‌ها، سلنیوم در شرایط کمبود آب، از طریق کاهش تعرق یا کاهش پتانسیل اسمزی، تحمل گیاهان را بهبود می‌بخشد (کستپولو^۵، ۲۰۱۰). نتایج بررسی‌ها نشان داد اگرچه سلنیوم، به ترتیب در غلظت‌های یک و ده میلی‌گرم بر کیلوگرم در خاک برای گیاهان خسارت‌زا بود و باعث کاهش زیست توده گیاه کاهو (*Lactuca sativa* L.) شد، اما در غلظت‌های پایین یعنی ۱/۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در خاک، می‌تواند تأثیرات مفیدی داشته باشد (زو^۶، ۲۰۰۱).

سلنیوم در گیاهان سبب افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و در نهایت عملکرد بالاتری می‌شود (لیونز و همکاران^۷، ۲۰۰۹). مشاهده شده که گیاهان رشد کرده در محیط غنی از سلنیوم، دارای مقاومت بیشتری به تنش‌های غیرزیستی مثل خشکی، سرمایی، شوری و عناصر سنگین می‌باشند (یائو و همکاران^۸، ۲۰۰۹). علاوه بر این‌ها، سلنیوم، بر ترکیب اسیدهای چرب، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و متیلاسیون DNA اثر داشته و نقش مهمی در تخفیف آثار زیان‌بار تنش فلزات سنگین ایفا می‌کند (باب و همکاران^۹، ۲۰۰۰). افزودن سلنیوم سبب تغییر در مقادیر کل عناصر سنگین در بافت گیاه می‌شود (فنگ و همکاران^{۱۰}، ۲۰۰۹).

1 Schweizer
2 Chen and Berry
3 Hawrylak-Nowak
4 Stephen
5 Kostopoulou
6 Xue
7 Lyons
8 Yao
9 Bob
10 Feng
15

بررسی‌ها در گندم بهاره تحت تنش خشکی نشان داد سلنیوم مانع کم شدن رشد گیاهان در اثر کمبود آب گردید و محتوای آب برگ‌ها را کاهش داد (فررز و همکاران^۱، ۱۹۸۳). سلنیوم اثر آنتی‌اکسیدانی دارد و باعث می‌شود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و تحمل گیاه افزایش پیدا کند (کیانگ-یون^۲، ۲۰۰۸). در شرایط تنش، سلنیوم دارای نقش مهمی از طریق فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش خسارت سلولی تحت تنش می‌باشد. در مطالعات بسیاری رابطه‌ی مستقیمی بین ماده خشک و کاربرد سلنیوم دیده شده، کاربرد سلنیوم مقاومت به تنش خشکی را افزایش می‌دهد (ایلکایی و همکاران، ۱۳۸۹). در سال‌های اخیر نشان داده شده است که سلنیوم موجب افزایش ظرفیت ضد اکسایش در برخی گیاهان شده و مقاومت گیاه در برابر تنش‌های محیطی افزایش می‌دهد (لیونز و همکاران^۳، ۲۰۰۸).

به اعتقاد تیموتی^۴ (۲۰۰۱) سلنیوم در زمان وقوع تنش اکسایشی و تشکیل رادیکال‌های آزاد که منجر به صدمات و نابودی سلول می‌شود، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را افزایش می‌دهد. بدون سلنیوم این آنزیم‌ها نمی‌توانند به اندازه‌ی کافی تشکیل شوند و سیستم آنتی‌اکسیدانی را فعال کنند. سلنیوم یک جزء مهم گلوکاتیون پراکسیداز (GSH-PX) است که در مکانیسم‌های دفاع داخل سلولی برعلیه تنش اکسایشی، توسط جلوگیری از تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن شرکت می‌کند. این عنصر دارای خصوصیات آنتی‌اکسیدانی است و می‌تواند مکانیسم‌های محافظی که کاهش دهنده‌ی تنش اکسایشی هستند را از طریق راه‌های آنزیماتیک و غیرآنزیماتیک و کاهش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن فعال کند (پاسیولا و همکاران^۵، ۲۰۱۱). سلنیوم نقش مهمی در خنثی کردن تنش‌های غیرزنده در گیاهان دارد و با استفاده از برداشت کادمیم از جایگاه‌های فعال متابولیکی سلول و کاهش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن با تنش کادمیم مقابله می‌کند (کلمنتس و همکاران^۶، ۲۰۰۲). گزارش شده است که سلنیوم در گونه‌های گندم نان و گندم ماکارونی تیمار شده با ۴ میکروگرم سلنیوم در گرم خاک و ۸ میکروگرم کادمیم در گرم خاک، باعث کاهش اثرات منفی ناشی از تنش کادمیم گردیده است (تاماس و همکاران^۷، ۲۰۱۰). همچنین در تحقیقی که توسط دوکسای و لوزک^۸ (۲۰۰۵)، روی گیاهک گندم رشد یافته در محیط کشت و تحت تیمارهای سلنات سدیم (۲ میکرومولار) و کلرید کادمیم (۶۰۰ میکرومولار) انجام گرفت، کاهش اثرات منفی کادمیم بر رشد

1 Fereres

2 Qiang-yun

3 Lyons

4 Timothy

5 Paciolla

6 Clements

7 Tamas

8 Ducsay and Lozek

ریشه و اندام‌های هوایی و نیز جلوگیری از کاهش زیست توده مشاهده گردید، که نشان دهنده تأثیر سلنیوم بر کاهش اثرات منفی کادمیم در این آزمایش می‌باشد.

بررسی‌ها نشان می‌دهد که سلنیوم می‌تواند قابلیت دسترسی سایر عناصر مورد نیاز گیاه و همچنین فلزات سنگین و کمیابی همچون مولیبدن را هم در محیط خاک و هم در محیط ریشه و هم در سلول‌های گیاهی تحت تأثیر خود قرار دهد (فروکی و همکاران^۱، ۲۰۰۵). در همین خصوص اثرات غنی سازی گیاهچه‌ی کلم با سلنیوم بر دیگر عناصر مغذی و مورد نیاز گیاه مورد بررسی قرار گرفته است (کوپسل و همکاران^۲، ۲۰۰۰). همچنین برهمکنش میان جذب سلنیوم به شکل سلنات و عنصر ید (به شکل یدات) تحت شرایط تنظیم شده‌ی محیط غذایی مایع در گیاه اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) بررسی شده است (ژو و همکاران^۳، ۲۰۰۴). مطالعه‌ی اثرات سلنات سدیم و سلنیت سدیم روی تجمع عناصر در برگ‌های کلم نشان داده است که افزایش غلظت سلنات بر غلظت عناصر Cu, S, Mg, Ca, K, P, Mn و Mo مؤثر است، اما سلنیت تنها بر غلظت B و S اثر گذار بوده است (لفسرود و همکاران^۴، ۲۰۰۶). سلنیوم معمولاً با کاهش میزان جذب عناصر سنگین اثرات سمی آن‌ها را کاهش می‌دهد، اما اثر سلنیوم بر جذب مولیبدن دقیقاً شناخته نشده است. با این حال برخی شواهد نشان می‌دهد که سلنیوم بسته به غلظت‌های به‌کار رفته در محیط ریشه به همراه غلظت‌های مختلف مولیبدن می‌تواند جذب و انتقال این عنصر توسط گیاه را افزایش دهد (ختاک و همکاران^۵، ۱۹۸۹).

حبیبی و همکاران (۱۳۸۵) نیز در آزمایشی در گیاه سویا نشان دادند که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و همچنین بیش‌ترین میزان فعالیت گلووتاتیون پراکسیداز و در نهایت عملکرد در شرایط تنش خشکی با مصرف ۲۱ گرم در هکتار سلنیوم حاصل شد که این امر می‌تواند اثر چشم‌گیری بر اجزای عملکرد داشته باشد. سلنیوم با توجه به غلظت مصرفی، اثری دوگانه بر رشد گیاهان اعمال می‌کند. معمولاً در کمترین غلظت، رشد گیاهان را تحریک نموده و موجب تأخیر در روند پیری میشود درحالی‌که در غلظت‌های بالا موجب بروز خسارت در گیاهان مثل توقف رشد و زردی می‌شود (چن و همکاران^۶، ۲۰۱۰).

خاوری نژاد و همکاران (۱۳۸۹) در طی یک بررسی گزارش دادند که کاربرد سلنیوم بر غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی مثل کلروفیل و کارتنوئیدها موثر بوده و باعث افزایش این رنگیزه‌ها در گیاه گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.)

شده است. این محققین علت این اثر گذاری را به احتمال زیاد افزایش جذب منیزیم به واسطه‌ی حضور سلنیوم در بافت گیاهی بیان کردند. تحریک رشد و افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسیداز، پراکسیداز و همچنین افزایش مواد جامد محلول در برگ-های ترشک (*Rumex patientia* L.) در اثر غلظت کم سلنیوم توسط کونگ^۱ و همکاران (۲۰۰۵) نیز گزارش شده است. البته قابل ذکر است که گیاهان مختلف واکنش‌های فیزیولوژیک متنوعی را در برابر سلنیوم از خود بروز می‌دهند. برخی گونه‌ها مقادیر زیادی سلنیوم را در خود جمع کرده و به عنوان منبع بسیار با ارزشی از این عنصر به شمار می‌روند در حالی که بسیاری از گونه‌های گیاهی نسبت به وجود مقادیر زیاد سلنیوم در خاک و آب حساس بوده و سلنیوم برای آن‌ها عنصری سمی محسوب می‌شود (اسمیت و واتکینسون^۲، ۱۹۸۴).

۲-۳- سدیم نیتروپروساید

نقش نیتریک اکسید در کاهش تنش کادمیم در آفتابگردان گزارش شده است (لاسپینا و همکاران^۳، ۲۰۰۵). NO برون‌زا در گیاهان باعث کاهش خسارات ناشی از برخی تنش‌ها مثل فلزات سنگین، علفکش‌ها، سرما، اشعه ماوراء بنفش و تنش شوری شده است (آراسیموویچ و فلوریژاک-ویژورک^۴، ۲۰۰۷). نیتریک اکسید در بیشتر تنش‌ها در گیاهان حضور دارد. کاربرد سدیم نیتروپروساید به‌عنوان رها کننده NO (نیتریک اکسید) مقاومت گیاه به تنش را از طریق بستن روزنه‌ها و در نتیجه کاهش تعرق افزایش می‌دهد (گاریاماتا و لاماتینا، ۲۰۰۱). نیتریک اکسید به‌عنوان پیامبر ثانویه در سلول‌های گیاهی عمل می‌کند و بیان ژن را نیز القاء می‌نماید (حیات و همکاران، ۲۰۱۰). کاربرد SNP فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و میزان آب نسبی را در برگ‌های گندم که در معرض تنش خشکی قرار گرفته بودند افزایش داده است (تان و همکاران^۵، ۲۰۰۸). همچنین کاربرد SNP به‌عنوان رها کننده‌ی نیتریک اکسید سبب افزایش پرولین در گیاهچه‌های خیار تحت تنش شوری شده است (فن و همکاران^۶، ۲۰۱۲). پژوهش‌ها همچنین، نشان داده‌اند که تیمار دهنده‌ی NO می‌تواند با واکنش با ROS ها و با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، نقش مهمی در محافظت گیاهان از تنش‌های اکسیداتیو داشته باشد (ژنگ و همکاران^۷، ۲۰۰۹؛ لی و همکاران^۸، ۲۰۰۸). با این حال، نقش حفاظتی NO در گیاهان بستگی به غلظت NO، نوع بافت، سن و گونه گیاهی و نوع تنش دارد (بلینی

1 Kong

2 Smith and Watkinson

3 Laspina

4 Arasimowicz and Floryszak-wieczorek

5 Tan

6 Fan

7 Zheng

8 Li

و لاماتینا، ۲۰۰۱). کوماری^۱ و همکاران (۲۰۱۰) با تحقیق روی گیاه نخود (*Cicer arietinum* L.) گزارش کردند که استفاده از سدیم نیتروپروساید به عنوان دهنده‌ی نیتریک اکسید موجب توسعه رشد گیاه در شرایط تنش کادمیم و کاهش میزان کادمیم موجود در قسمت‌های مختلف گیاه شد. هسو و کائو^۲ (۲۰۰۴) تأثیر مثبت سدیم نیتروپروساید را در شرایط تنش فلزات سنگین گزارش کردند. تیمار سلول و کالوس گیاهان با سدیم نیتروپروساید به عنوان عامل تولید کننده NO باعث بروز برخی اختلالات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی شده است. تیمار سلول‌های هویج (*Daucus carota* L.) با غلظت ۱ میلی مولار سدیم نیتروپروساید به مدت ۲۴ ساعت باعث کاهش توانایی زیستی و تغییرات مرفولوژیک از قبیل تراکم کروماتین و کاهش اندازه هسته شد (زوتینی و همکاران^۳، ۲۰۰۲). از طرفی تیمار کالوس پریوش (*Catharanthus roseus* L.) با غلظت ۱۰ و ۲۰ میلی مولار به مدت ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ روز باعث مهار رشد سلول و افزایش تولید کاتاراتین شده است (ژو و همکاران^۴، ۲۰۰۴). همچنین گزارش شده است که غلظت ۴۰ میکرومولار به مدت ۴ هفته باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز و افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز در کالوس گیاه سیب شده است (ژو و همکاران، ۲۰۰۹). نیتریک اکساید با افزایش بهره‌وری فتوشیمیایی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی سبب کاهش اثرات منفی تنش شوری در گیاه برنج (*Oryza sativa* L.) شده است (اوجیدا و همکاران^۵، ۲۰۰۲). همچنین، در مطالعه‌ای روی دو گونه‌ی چمن نشان داده شد که کاربرد سدیم نیتروپروساید سبب کاهش نشت یونی، حفظ محتوای نسبی آب برگ و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در شرایط تنش خشکی گردید (ملا احمد و همکاران، ۱۳۹۲). نیتریک اکساید به‌عنوان یک مولکول به شدت فعال و واکنش‌دار مؤثر در شکست خواب می‌تواند با گروه بزرگی از مولکول‌های مختلف اثر متقابل داشته باشد (گیبا و همکاران^۶، ۲۰۰۷). با بررسی اثر سدیم نیتروپروساید بر روی گیاه پنبه (*Gossypium herbaceum* L.) تحت تنش شوری نشان داد که سدیم نیتروپروساید باعث بهبود بخشیدن اثرات ناشی از تنش شوری و افزایش کلروفیل در برگ‌ها می‌شود (مگدی و همکاران^۷، ۲۰۱۲). تولید NO در بافت‌ها و سلول‌های گیاهی معمولاً در پاسخ به تنش‌های غیر زیستی، حمله‌ی پاتوژن‌ها و چالش‌های ایسیتورهای قارچی رخ می‌دهد. اعتقاد بر این است که احتمالاً برجسته‌ترین نقش NO، سیگنالینگ و تنظیم پاسخ‌های دفاعی در مقابل تنش‌ها است. بیوسنتز متابولیت‌های ثانوی گیاهی برای حفاظت گیاهان در مقابل حمله‌ی حشرات،

1 Kumari

2 Hsu and Kao

3 Zottini

4 Xu

5 Uchid

6 Giba

7 Magdy

گیاه خواران، پاتوژن‌ها، و یا بقا تحت تنش‌های غیر زیستی گزارش شده است. از این‌رو، القا تولید NO توسط ایسیتورها در ارتباط با تحریک بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه در گیاهان با خواص دارویی ذکر شده است (ژو، ۲۰۰۸).

با توجه به اثرات مفید سلنیوم و سدیم نیترو پروساید در کاهش اثرات منفی عناصر سنگین، این آزمایش با هدف کاهش اثرات مضر آرسنیک بر گیاه شنبلیله، بررسی میزان اثربخشی تغذیه با سلنیوم و محلول پاشی نیتریک اکسید بر جذب عنصر سنگین آرسنیک در گیاه شنبلیله و همچنین درک اثرات آلودگی ناشی از فلز سنگین آرسنیک بر شاخص‌های مختلف فیزیولوژی و بیوشیمیایی شنبلیله در دانشگاه محقق اردبیلی صورت گرفت.

فصل سوم:

مواد و روش‌ها

این آزمایش در گلخانه‌ی گروه علوم باغبانی دانشگاه محقق اردبیلی واقع در شهرستان اردبیل با طول و عرض جغرافیایی منطقه به ترتیب ۴۸ درجه و ۲ دقیقه شرقی و ۳۸ درجه شمالی و میانگین رطوبت نسبی ۶۰٪ در سال-های ۱۳۹۵-۹۶ اجرا شد. مراحل آزمایشگاهی تحقیق حاضر در آزمایشگاه‌های فیزیولوژی پس از برداشت گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه انجام شد.

۳-۱- طرح آزمایش و تیمارهای آزمایش

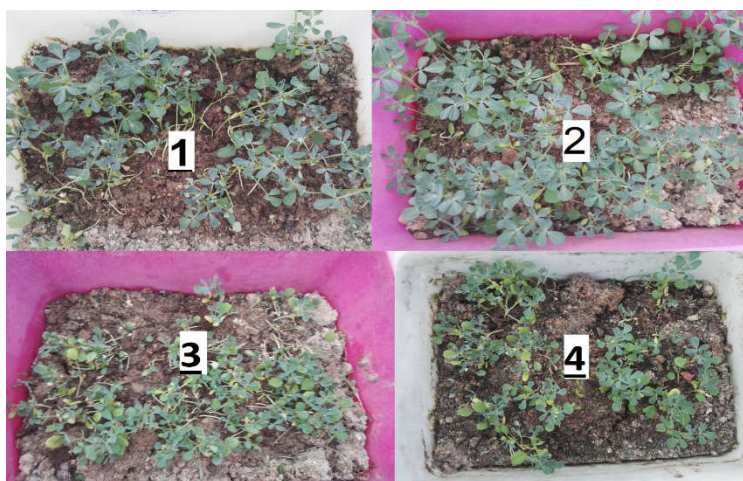
این پژوهش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه‌ی کاملاً تصادفی و با ۳ تکرار انجام شد. تیمار آرسنیک شامل ۴ غلظت ۰، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ پی پی ام از نمک سدیم آرسنات بود. سپس بذور شنبلیله (*Trigonella foenum-* *graecum L.*) در همین بستر کشت شدند و تیمار محلول پاشی سدیم سلنات در غلظت‌های ۰، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میکرو مولار و سدیم نیتروپروساید در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار در ۳ نوبت به فواصل ۱۰ روزه صورت گرفت.

۳-۲- آماده‌سازی و آلوده کردن خاک

خاک مناسب برای کشت شنبليله از عمق ۰ تا ۳۰ سانتی‌متری یک مزرعه سبزی اطراف شهرستان اردبیل انتخاب شد. ابتداءً آزمایشگاه، خاک آزمایش‌هایی جهت اندازه‌گیری بافت خاک، میزان ماده آلی، اسیدیته، هدایت الکتریکی و میزان آهک موجود در خاک انجام شد که در جدول ۱-۳ آمده است. سپس خاک‌ها الک شده و پس از توزین به گلدان‌های ۱۰ کیلوگرمی انتقال داده شد و رطوبت ظرفیت مزرعه آنها نیز تعیین شد. پس از تعیین میزان رطوبت ظرفیت مزرعه خاک مورد نظر، جهت تهیه محلول سدیم آرسنات با غلظت‌های صفر (شاهد)، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ پی‌پی‌ام، مقادیر مورد نیاز از این نمک در مقدار آب ظرفیت مزرعه حل شد تا به غلظت آرسنیک مورد نظر برسیم. به منظور آلودگی خاک، محلول سدیم آرسنات به طور یکنواخت بر روی خاک موجود در گلدان‌ها اسپری شد و به طور کامل با توده خاک مخلوط شد. خاک آلوده به مدت چهار ماه تر و خشک شد تا به آلودگی دراز مدت طبیعی نزدیک شود.



شکل ۳-۱- گلدان‌های کشت شده‌ی شنبليله در غلظت‌های مختلف در گلخانه



شکل ۳-۲- وضعیت گلدان‌های شنبليله در تیمار شاهد ۱۰ روز پس از کشت (اعداد ۱ تا ۴ به ترتیب بیانگر غلظت‌های شاهد، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ پی‌پی‌ام آرسنیک می‌باشد).

در زمان داشت آبیاری گیاهان به صورت یک روز در میان صورت گرفت. همچنین عمل وجین علف‌های هرز و سم‌پاشی به صورت متناوب صورت گرفت.

۳-۳- شاخص‌های مورد اندازه‌گیری

شاخص‌های مورد اندازه‌گیری شامل صفات رویشی، بیو شیمیایی و فیزیولوژیک بود. صفات رویشی شامل ارتفاع بوته، تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف، سطح برگ و شاخص‌های سبزی‌نگی اندازه‌گیری شد. همچنین میزان کلروفیل a و b و آنزیم‌های آنتی اکسیدان یک ماه پس از محلول‌پاشی از جوان‌ترین برگ بالغ اندازه‌گیری شد.

۳-۳-۱- صفات رویشی

الف - سطح برگ

در پایان آزمایش و پس از برداشت گیاهان و جدا کردن برگ‌ها و ساقه، میانگین مساحت سطح برگ بر حسب سانتی‌متر مربع هر گیاه با استفاده از دستگاه سطح‌سنج ADC، ساخت کشور انگلستان برآورد شد.



شکل ۳-۳- دستگاه سطح‌سنج مدل ADC

ب - وزن تر و خشک بخش هوایی و ریشه

پس از برداشت گیاهان، بخش هوایی و ریشه‌ی گیاهان برداشت شده جدا شد و وزن تر آن‌ها با ترازوی دیجیتال با دقت یک هزارم گرم تعیین شد. سپس درون پاکت به آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت جهت

$$T = Ch1a + Ch1b$$



Faculty of Agriculture and Natural Resources

Department of Horticulture

Master thesis to get a master's degree

In the field of horticulture, the trend of physiology and vegetation reform

Title:

The effect of Nitric Oxide and Selenium Nutrition on Growth, Physiology, Biochemical Indices and Secondary Metabolites of *Trigonella foenum-graecum* L. under Arsenic Heavy metal Stress Conditions

Supervisor:

Dr. Behrouz Esmail Pour

Consultant professors:

Engineer Hamideh Fatemi

Dr. Surur Khoram del

Researcher:

Amir Tork zaban

Winter 201

Student last name: Tork zaban	Name: Amir
Title of the thesis: The effect of Nitric Oxide and Selenium Nutrition on Growth, Physiology, Biochemical Indices and Secondary Metabolites of <i>Trigonella foenum-graecum</i> L. under Arsenic Heavy metal Stress Conditions	
Supervisor: Dr. Behrooz Esmailpour Consultant professors: engineer Hamid Fatemi and Dr. Surur Khoram del	
Degree: Master of Science (MSc): Horticulture Target: Physiology and Plant Growth Modification of vegetables University of Mohaghegh Ardabili Faculty: Agricultural and Natural Resources Defense Date: 21 / 1 / 2018	
	Number of Pages: ۹۰
<p>Abstract:</p> <p>Considering the importance of vegetables in terms of fresh consumption, due to the increasing pollution of water resources and soil with heavy metals by industrial activities and the release of contaminated wastewater in nature and the necessity of controlling and counteracting it, this study conducted to reduce the disadvantage effects of arsenic contamination by nitric oxide solubilizing and selenium feeding on Fenugreek (<i>Trigonella foenum-graecum</i> L.). This research was conducted in two separate experiments in a factorial experiment in a completely randomized design with three replications at the University of Mohaghegh Ardabili. In the beginig, the soils were contaminated at 4 concentrations of 0, 30, 60 and 90 ppm of arsenic for 4 months. Fenugreek seeds were sown in soil, 2 weeks after germination treated with nitric oxide at concentrations of 0, 50, 100 and 200 mM and selenium separately in concentrations of 0, 10, 20 and 40 μm, at 3 intervals of 10-days. Morphological traits including stem and root diameter, stem and root length, leaf number, shoot and root fresh weight, shoot and root dry weight, leaf area, pod number and seed number, as well as biochemical and physiological traits including: relative water content (RWC), membrane stability , Proline content, photosynthesis pigments, total carbohydrates, and activity of catalase and peroxidase enzymes were evaluated. The results showed that the arsenic control plants had the highest stem length (27.59 centimeters in the first experiment and 27.69 centimeters in the second experiment). The results of the means comparison factors showed that the highest amount of free proline in the first experiment (1.80 micrograms per gram fresh weight) was in the 90 ppm Arsenic treatment and 40 millimolar selenium treatments. In the second experiment, arsenic (90 ppm) and nitric oxide (200 micromolar) (1.80 micrograms per gram fresh weight) were observed in the combination. The highest activity of the catalase enzyme in the first experiment (0.025 changes of absorbance in milligrams of protein per minute) was observed in 90% arsenic stress regimen and the control of selenium spraying was observed. In the second experiment, Arsenic was 90 ppm and macromolecular nitric oxide (0.025 changes of absorbance in milligrams of protein per minute) was observed.</p> <p>Consequently, it was determined that Arcenic contamination treatments show significant harmful effects on plants, and soluble nitric oxide and nutritional supplements with selenium can both significantly reduce these effects.</p>	
Key words: Arsenic, Fenugreek, Nitric Oxide , Selenium	