Journal of Plant Production Research

Print ISSN: 2322-2050
Online ISSN: 2322-2778

Investigation the effects of 5-aminolevulinic acid (ALA) on morphological, physiological and antioxidative enzymes of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) under Arsenic stress

Ali Abdollahi[1], Behrouz Esmaeilpour[*2], Mohsen Barin[3], Ali Ashraf Soltani[4], Mousa Torabi Giglou[5]

1. Ph.D. Graduate, Dept. of Horticulture, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran. E-mail: abdolahi.mp@gmail.com
2. Corresponding Author, Professor, Dept. of Horticulture, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran. E-mail: behsmaiel@yahoo.com
3. Associate Prof., Dept. of Soil Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran. E-mail: m.barin@urmia.ac.ir
4. Associate Prof., Dept. of Soil Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran. E-mail: ali_soltani_t@uma.ac.ir
5. Associate Prof., Dept. of Horticulture, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran. E-mail: mtorabi@uma.ac.ir

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 01.03.2023
Revised: 01.15.2023
Accepted: 01.29.2023

Keywords:
5-aminolevulinic acid (5-ALA),
Antioxidant enzymes,
Arsenic stress,
Ocimum basilicum L.

ABSTRACT

Background and Objectives: Sweat basil (*Ocimum basilicum* L.) is an annual herb whose use as vegetable, medicinal and cosmetic plant is increasing all over the world. Arsenic (As) is one of the most important heavy metals, which is considered as one of the most important contaminants of the environment, which is dangerous for plants, animals and humans. The use of 5-ALA (5-Aminilevolunic acid) as plant growth regulator has been introduced as a new soilution to deal with some environmental stresses and to moderate their destructive effects on the growth and developments of plants. This study carried out to investigation the reduction or balancing effects of 5-ALA on hazard effects of As on morphological and physiological properties of basil.

Materials and Methods: In this examination basil plant cultivated in two groups of As-contaminated and As-noncontaminated soils. For study of foliar application of 5-ALA in three concentrations (0, 10 and 20 mg/L) on morphological and physiological traits of basil conducted in the greenhouse in form of completely randomized design in four replication carried out.

Results: The analysis of results showed that arsenic stress decreased the content of basil morphological properties but the treatment of 5-ALA to some extent improved the content of these properties. Also the physiological properties such as anthocyanin, phenol, flavonoid, proline, soluble sugar, DPPH, MDA, guaicol peroxidase, catalase, ascorbate peroxidase, RWC and ion leakage significantly affected by arsenic contamination and 5-ALA spraying and reaction of these. In the case of photosynthetic pigments (chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll and carotenoids) were affected by arsenic contamination and spraying of 5-ALA but the reaction of these factors on these adjectives were not significant. Arsenic stress decreased the basil growth traits (the amounts of leaf number, leaf area, leaf fresh weight, plant height, stem fresh weight and stem dry weight 10.67, 25.47, 26.12, 30.57, 21.98 and 10.34%, respectively) and photosynthetic pigments (the amounts of chlorophyll a,

chlorophyll b, total chlorophyll and carotenoid content 31.98, 25.6, 28.83 and 26.43%, respectively) and on other hand electrolyte leakage (217.01%) and MDA (162.31%) content were increased. Actually the spraying of 5-ALA with the increase of proline (251.89%) and antioxidant enzymes (GPX, CAT and APX amounts 48.52, 43.64 and 18.51%, respectively) reduced the negative effects of arsenic stress.

Conclusion: According to reduction and inhibition effects of arsenic on growth and development of basil, and effects of 5-ALA decline and adjustment on these factors, it can be said that the use of this component could be as new way to some extend in reduction of dangerous effects of these environment contaminations on plants in the future studies should be considered.

Cite this article: Abdollahi, Ali, Esmaeilpour, Behrouz, Barin, Mohsen, Soltani, Ali Ashraf, Torabi Giglou, Mousa. 2024. Investigation the effects of 5-aminolevulinic acid (ALA) on morphological, physiological and antioxidative enzymes of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) under Arsenic stress. *Journal of Plant Production Research*, 31 (2), 23-45.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/JOPP.2023.20902.2993
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی

شاپا چاپی: ۲۳۲۲-۲۰۵۰
شاپا آنلاین: ۲۳۲۲-۲۷۷۸

بررسی تأثیر محلول‌پاشی ۵–آمینولوولونیک اسید (5-ALA) بر خصوصیات ریخت‌شناسی و زیست‌شیمیایی ریحان (*Ocimum basilicum* L.) در شرایط تنش آرسنیک

علی عبداللهی[۱]، بهروز اسماعیل‌پور*[۲]، محسن برین[۳]، علی اشرف سلطانی[٤]، موسی ترابی گیگلو[٥]

۱. دانش‌آموخته دکتری گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران. رایانامه: abdolahi.mp@gmail.com

۲. نویسنده مسئول، استاد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران. رایانامه: behsmaiel@yahoo.com

۳. دانشیار گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران. رایانامه: m.barin@urmia.ac.ir

٤. دانشیار گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران. رایانامه: ali_soltani_t@uma.ac.ir

٥. دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران. رایانامه: mtorabi@uma.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱٤۰۱/۱۰/۱۳
تاریخ ویرایش: ۱٤۰۱/۱۰/۲٥
تاریخ پذیرش: ۱٤۰۱/۱۱/۰۹

واژه‌های کلیدی:
٥- آمینولوولونیک اسید،
آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان،
تنش آرسنیک،
Ocimum basilicum L.

چکیده

سابقه و هدف: ریحان (*Ocimum basilicum* L.) یک گیاه یکساله است که استفاده از آن به‌عنوان سبزی و گیاه دارویی و معطر، در سراسر جهان رو به افزایش است. آرسنیک یکی از مهم‌ترین فلزات سنگین است که به‌عنوان یکی از مهم‌ترین آلوده‌کننده‌های محیط زیست مطرح بوده که برای گیاهان و حیوانات و انسان‌ها خطرناک است. استفاده از تنظیم‌کننده رشدی به نام 5-ALA به‌عنوان یک راهکار نوین برای مقابله با برخی تنش‌های محیطی و تعدیل اثرات مخرب آن‌ها بر رشد و نمو گیاهان معرفی شده است. پژوهش حاضر به‌منظور بررسی تأثیر 5-ALA بر کاهش و یا تعدیل اثرات مخرب تنش آرسنیک بر صفات ریخت‌شناسی و فیزیولوژیکی ریحان انجام شد.

مواد و روش‌ها: مطالعه اثر محلول‌پاشی 5-ALA در سه غلظت (صفر، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر) بر خصوصیات ریخت‌شناسی و فیزیولوژیک گیاه ریحان در دو نوع آلوده به آرسنیک و خاک فاقد آلودگی به آرسنیک طی یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در گلخانه انجام شد.

یافته‌ها: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تنش آرسنیک موجب کاهش میزان صفات ریخت‌شناسی ریحان شد اما تیمار 5-ALA تا حدودی موجب بهبود این صفات حتی در

شرایط آلودگی آرسنیک می‌گردد. هم‌چنین صفات فیزیولوژیکی مانند آنتوسیانین، فنول، فلاونوئید، پرولین، قندهای محلول، قدرت مهار رادیکال DPPH، MDA، گائیکول پراکسیداز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، RWC و نشت یونی به‌طور معنی‌داری تحت‌تأثیر آلودگی خاک به آرسنیک و محلول‌پاشی 5-ALA و اثر متقابل این دو قرار گرفتند. در مورد صفات رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کارتنوئید)، اثر آلودگی آرسنیک و محلول‌پاشی 5-ALA بر این صفات معنی‌دار بود اما اثر متقابل این دو فاکتور بر صفات مذکور معنی‌دار نبود. تنش آرسنیک باعث کاهش صفات ریخت‌شناسی ریحان (تعداد برگ، سطح برگ، وزن تر برگ، ارتفاع ساقه، وزن تر ساقه و وزن خشک ساقه به‌ترتیب به میزان ۱۰/۷٦، ۲۵/٤۷، ۲٦/۱۲، ۳۰/۵۷، ۲۱/۹۸ و ۱۰/۳٤ درصد) و میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی آن (کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید به‌ترتیب به میزان ۳۱/۸۹، ۲۵/٦، ۲۸/۸۳ و ۲٦/٤۳ درصد) و از طرف دیگر موجب افزایش نشت الکترولیت (۲۱۷/۰۱ درصد) و MDA (۱٦۲/۳۱ درصد) شد. در واقع محلول‌پاشی با 5-ALA با افزایش پرولین (۲۵۱/۸۹ درصد) و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (گوائیکول پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز به‌ترتیب به میزان ٤۸/۵۲، ٤۳/٦٤ و ۱۸/۵۱ درصد) باعث کاهش اثرات منفی تنش آرسنیک شد.

نتیجه‌گیری: با توجه به تأثیر کاهندگی و بازدارندگی آرسنیک بر رشد و نمو ریحان و اثرات 5-ALA در کاهش و تعدیل اثرات مذکور می‌توان بیان داشت که استفاده از این ترکیب می‌تواند به‌عنوان یک راهکار نو تا حدی مؤثر در کاهش اثرات مخرب محیطی در گیاهان در پژوهش آتی بیش‌تر مورد توجه قرار گیرد.

استناد: عبداللهی، علی، اسماعیل‌پور، بهروز، برین، محسن، سلطانی، علی اشرف، ترابی گیگلو، موسی (۱۴۰۳). بررسی تأثیر محلول‌پاشی ۵-آمینولوولونیک اسید (5-ALA) بر خصوصیات ریخت‌شناسی و زیست‌شیمیایی ریحان (*Ocimum basilicum* L.) در شرایط تنش آرسنیک. *نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی*، ۳۱ (۲)، ۴۵-۲۳.
DOI: 10.22069/JOPP.2023.20902.2993

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
© نویسندگان.

مقدمه

ریحان (*Ocimum basilicum* L.)، گیاهی یکساله از خانواده نعناعیان (Lamiacea) و یکی از مهم‌ترین گیاهان معطر است که در نقاط مختلف جهان و در شرایط اقلیمی متفاوتی دیده می‌شود. با توجه به این به این‌که این گیاه حاوی ترکیبات فعال زیستی مانند آسکوربیک اسید، کارتنوئیدها، ترکیبات پلی‌فنولیک و اسانس با خاصیت آنتی‌اکسیدانی است و از این گیاه به‌عنوان سبزی و افزودنی غذایی، گیاه دارویی و معطر مورد مصرف قرار می‌گیرد، تقاضا برای مصرف آن روزبه‌روز رو به افزایش است (۱). تنش‌های غیرزیستی، یکی از چالش‌برانگیزترین تهدیدها برای توسعه کشاورزی پایدار و عملکرد اقتصادی گونه‌های مختلف گیاهی هستند و همواره تنش فلزات سنگین به‌عنوان یک تنش غیرزیستی مهم دارای اهمیت بوده است. فلزات سنگین به‌عنوان عناصری با چگالی بالاتر از ۵ گرم بر مترمکعب تعریف می‌شوند که در محیط زیست بسیار به فرم‌های متفاوتی مشاهده شده و بسیار پایدار بوده و به سادگی از بین نمی‌روند. در طول سال‌های اخیر، تجمع فلزات سنگین نه تنها از طریق فعالیت‌های انسانی منجر به آلودگی شدید خاک و نامناسب شدن آن برای کشاورزی شده است و در نتیجه موجب محدود شدن رشد و نمو گیاهان می‌شود بلکه از این طریق وارد سیستم‌های گیاهی و حیوانی شده و در نتیجه وارد زنجیره غذایی انسان‌ها و حیوانات نیز می‌شوند. آرسنیک یکی از مهم‌ترین عناصر سنگین موجود در محیط زیست است که در طبیعت غالباً به دو فرم آرسنات (As V)، آرسنیت (As III)، مونو متیل آرسونیک اسید (MMA)، دی متیل آرسینیک اسید (DMA)، آرسنوبتائین و آرسنوکوئین مشاهده می‌شود. وجود آرسنیک در محیط رشد بلافاصله موجب کاهش رشد و نمو گیاهان و در نتیجه کاهش تولید زیست‌توده گیاهی می‌شود. آرسنات به سرعت می‌تواند وارد سلول شده و در نتیجه کارایی سیستم انتقال فسفات را مختل نماید. آرسنیک با تداخل با گروه‌های سولفیدریل در ساختار ماکروملکول‌های زیستی و جابجایی گروه‌های ATP فسفات در ساختار ملکول موجب اختلال در بیش‌تر فرآیندهای متابولیکی در گیاهان می‌شود. هم‌چنین قرار گرفتن گیاهان در معرض آرسنات موجب افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌گردد، که این افزایش تولید ROS باعث بروز شرایط تنش برای گیاه می‌گردد (۲ و ۳).

در دهه‌های اخیر از روش‌های متعددی مانند اصلاح، مهندسی ژنتیک و تنظیم کننده‌های رشد برای افزایش تحمل گیاهان در برابر تنش‌ها و شرایط نامساعد رشدی گیاهان استفاده شده است. ۵-آمینولوولونیک اسید (5-ALA) یکی از مهم‌ترین تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی با وزن مولکولی ۱۶۷/۵۹، کریستالی بی‌بو به رنگ سفید تا سفید بسیار محلول در آب است. این ترکیب با فرمول ساختاری $C_5H_9NO_3$–HCl، به‌عنوان تنظیم‌کننده رشد در گیاهان ایفای نقش می‌نماید و هم‌چنین پیش ماده همه مولکول‌های آلی تتراپیرول هتروسایکلیک مانند کلروفیل، ویتامین B_{12}، بیلین‌ها، فیتوکروم و هم در گیاهان، حیوانات، جلبک‌ها و باکتری‌های فتوسنتزکننده می‌باشد (٤). پژوهش‌ها نشان داد که این ترکیب کاربردهای متنوعی مانند علفکشی، حشره‌کشی و تنظیم‌کننده رشد داشته و تنظیم‌کننده رشد و نمو گیاه، جوانه‌زنی بذر و رنگ‌گیری میوه‌ها بوده است (۵) و هم‌چنین تحمل گیاه در برابر تنش‌های محیطی هم‌چون سرمازدگی (٦)، شوری و خشکی (۷) و تنش فلزات سنگینی مانند کادمیوم (۸، ۹ و ۱۰)، کروم (۱۱) و سرب (۱۲) را افزایش می‌دهد.

با توجه به این‌که آرسنیک به‌عنوان یک فلز سنگین در طبیعت وجود داشته و رشد گیاهان را محدود

می‌نماید. هدف از انجام این پژوهش، آزمودن این فرضیه است که آیا با توجه به سابقه خاصیت تعدیل‌کنندگی تنش‌های محیطی در گیاهان توسط 5-ALA آیا کاربرد محلول‌پاشی این ترکیب قادر به تعدیل سمیت آرسنیک در ریحان نیز می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت فاکتوریل و بر پایه طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در سال ۱۳۹۶ برای بررسی اثر محلول‌پاشی 5-ALA بر خصوصیات فیزیولوژیک و ریخت‌شناسی گیاه ریحان در دو نوع خاک آلوده به آرسنیک و خاک فاقد آلودگی به آرسنیک (شاهد) در گلخانه تحقیقاتی داشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه انجام شد. فاکتورهای آزمایشی شامل دو نوع خاک آلوده و غیرآلوده به فلز سنگین آرسنیک (صفر و ٤٥٧٦ میلی‌گرم در کیلوگرم) و سه سطح محلول‌پاشی 5-ALA (غلظت‌های ۰، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) روی گیاه ریحان بود. هر واحد آزمایشی متشکل از چهار گلدان بود، در مجموع در این آزمایش ۷۲ گلدان مورد استفاده قرار گرفت. خاک آلوده به آرسنیک، حاوی ٤٥٧٦ میلی‌گرم بر کیلوگرم آرسنیک، (از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری) از کانسار زرشوران، در ٦ کیلومتری شمال شرقی روستای زرشوران از توابع شهرستان تکاب در استان آذربایجان‌غربی (با مختصات جغرافیایی ۳٦ درجه و ٤۳ دقیقه و ۱۳ ثانیه عرض شمالی و متوسط ارتفاع ۲٤٥۰ متری از سطح دریا) تهیه شد. استقرار معدن و کارخانه استخراج طلا در این مناطق، موجب آلودگی خاک این منطقه به آرسنیک شده است (۱۳)، برای خاک شاهد نیز نمونه خاک از خاک سطحی از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری، زمین‌های مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه استفاده شد (جدول ۱). نمونه‌های خاک جمع‌آوری‌شده در معرض هوای آزاد قرار داده شد تا خشک شود و سپس از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شد. برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مورد مطالعه مانند بافت خاک به روش هیدرومتری، قابلیت هدایت الکتریکی در عصاره اشباع با هدایت‌سنج الکتریکی، فسفر قابل استفاده (١٤) واکنش خاک (pH) در خمیر اشباع به وسیله الکترود شیشه‌ای، ماده آلی به روش اکسیداسیون با اسید کرومیک و سپس تیتره کردن با فروس آمونیوم سولفات، نیتروژن کل به روش کجلدال و پتاسیم قابل‌جذب به روش فلیم فتومتری به کمک استات آمونیوم نرمال با واکنش برابر ۷، و میزان آرسنیک نیز به‌وسیله دستگاه جذب اتمی تعیین گردید. خصوصیات خاک‌های مورد مطالعه در جدول ۱ ارائه شده است:

در این آزمایش بذر گیاه ریحان از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. بذرها با محلول هیپوکلریت سدیم ۵ درصد به‌مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی سطحی شد. گلدان‌های مورد استفاده از نوع پلاستیکی، با قطر دهانه ۲۳ سانتی‌متر و ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر بودند. در هر گلدان ۹ کیلوگرم خاک ریخته شده و در هر گلدان ۳۰ عدد بذر ریحان کشت شد. گلدان‌ها در گلخانه در شرایط دمای روزانه ۲± ۲۵ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ٦۰-۵۰ درصد و شدت نور نسبی ۵۰ رصد نگهداری شدند. پس از سبز شدن بذرها، تنک کردن گیاهچه‌ها در چند مرحله صورت گرفت و در نهایت در داخل هر گلدان ۱۰ بوته (با فاصله تقریبی ۲ تا ۳ سانتی‌متر) نگهداری شدند. محلول‌پاشی بوته‌ها با ۵-آمینولوولونیک اسید (5-ALA) ($C_5H_9NO_3$–HCl)، ۱٦۷/۵۹ گرم/مول، کوسکو اویل، ژاپن)، در سه غلظت صفر، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر، در مرحله ٦-٤ برگی به‌طوری‌که برگ‌ها کاملاً خیس شدند.

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مورد آزمایش.

Table 1. The physical and chemical characteristics of the tested soils.

نوع خاک Soil type	بافت Texture	شن (درصد) Sand (%)	رس (درصد) Clay (%)	سیلت (درصد) Silt (%)	هدایت الکتریکی (دسی‌زیمنس بر متر) EC ($dS\ m^{-1}$)	اسیدیته pH	کربن آلی (درصد) Organic carbon (%)	آهک (درصد) CEC (%)	نیتروژن کل (درصد) Total nitrogen (%)	فسفر (میلی‌گرم بر کیلوگرم) phosphor ($mg\ kg^{-1}$)	پتاسیم (میلی‌گرم بر کیلوگرم) potassium ($mg\ kg^{-1}$)	آرسنیک (میلی‌گرم بر کیلوگرم) Arsenic ($mg\ kg^{-1}$)
خاک بدون آرسنیک Arsenic uncontaminated soil	SL	62	16	22	14.73	7.59	2.49	21	0.28	4473	129.75	0
خاک آلوده به آرسنیک Arsenic contaminated soil	SL	62	14	24	1.72	8.11	1.09	21	0.22	491.5	146.73	4576

به‌منظور بررسی اثرات تنش آرسنیک و محلول‌پاشی 5-ALA و برهمکنش آن‌ها بر ریحان، در مرحله گلدهی کامل (حدود ۸۰ روز پس از کاشت)، از هر واحد آزمایشی و به‌طور تصادفی سه بوته انتخاب و صفاتی مانند ارتفاع بوته (توسط خط‌کش)، قطر ساقه (توسط کولیس دیجیتالی)، وزن تر و خشک برگ و ساقه (به‌وسیله ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ گرم)، سطح برگ (توسط دستگاه اندازه سطح برگ مدل AM 200، شرکت ADC، آلمان) و تعداد برگ اندازه‌گیری گردید. برای تعیین وزن خشک، قسمت‌های رویشی (به‌طور جداگانه) به‌مدت ۴۸ ساعت در آون ۷۰ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند.

برای اندازه‌گیری محتوی نسبی آب برگ RWC با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد:

$$RWC\ (\%) = \frac{\text{وزن خشک دیسک‌های برگی} - \text{وزن تر دیسک‌های برگی}}{\text{وزن خشک دیسک‌های برگی} - \text{وزن آماس دیسک‌های برگی}} \times ۱۰۰ \qquad (۱)$$

اندازه‌گیری مقادیر کلروفیل a، b، کل و کارتنوئیدها بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه و ارائه گردید (۱۶).

$$\text{Chlorophyll a} = ((19.3 * A663) - (0.86 * A645)) * V/100W \qquad (۲)$$

$$\text{Chlorophyll b} = ((19.3 * A645) - (3.6 * A663)) * V/100W \qquad (۳)$$

$$\text{Chlorophyll total} = a + b \qquad (۴)$$

$$\text{Cartenoide} = (1000A470 - 1.8Chla - 85.02Chlb) / 198 \qquad (۵)$$

که در آن‌ها، V حجم محلول صاف شده (محلول فوقانی حاصل از سانتریفیوژ)، A جذب نمونه در طول موج‌های ٦٦٣، ٦٤٥، W وزن تر نمونه برگی.

(٦)

برای اندازه‌گیری مقادیر پرولین و قندهای محلول پرولین (تهیه شده در غلظت‌های صفر تا ۰/۱ میکرومول بر میلی‌لیتر) با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۵ نانومتر و استانداردهای قندهای محلول در طول موج ٦٢٥ نانومتر قرائت گردید (۱۷).

برای اندازه‌گیری نشت یونی، درصد نشت الکترولیت‌ها با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (۱۵):

نشت یونی (درصد) = (EC1/EC2) ×10

برای اندازه‌گیری میزان مالون دی آلدئید (MDA) میزان جذب محلول رویی در طول موج‌های ۵۳۲ و ٦۰۰ نانومتر قرائت شد. مقدار مالون دی‌آلدهید (با ضریب خاموشی ۱۵۵ mM^{-1} cm^{-1} که محصول پراکسیداسیون لیپیدهاست، با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید (۱۵):

$$MDA\ (nanomol/g\ FW) = 5*\{(A532 - A600/155)\times 1000\}/0.2 \quad (۷)$$

برای سنجش میزان پروتئین از روش بردفورد استفاده گردید. میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت گردید. جهت رسم منحنی استاندارد از پروتئین استاندارد آلبومن گاوی استفاده و میزان پروتئین به صورت میلی‌گرم در گرم وزن تر بیان گردید (۱۸).

جهت سنجش میزان فنل و فلاونوئیدکل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH[1] از عصاره متانولی استفاده گردید. برای سنجش میزان فنل کل معرف فولین سیوکالتیو و عصاره متانولی استفاده شد. میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۷٦۰ نانومتر قرائت گردید. برای رسم منحنی استاندارد از گالیک اسید استفاده گردید و میزان فنل کل عصاره‌ها بر اساس میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن تر گزارش شد (۱۹). برای اندازه‌گیری میزان فلاونوئید کل از روش رنگ‌سنجی استفاده شد. میزان جذب آن در طول موج ٤۱۵ نانومتر قرائت گردید. برای رسم منحنی استاندارد از کوئرستین استفاده شد و میزان فلاونوئید کل عصاره‌ها بر اساس میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن تر گزارش شد (۲۰).

جهت سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، ۲۰۰ میلی‌گرم بافت تازه برگ با استفاده از ازت مایع بر روی یخ خرد شده و در ۲ میلی‌لیتر بافر استخراج (Tris-HCL ۰/۵ درصد و پلی‌وینیل پیرولیدون (PVP1) ۰/۰۵ درصد و pH=۸) به‌صورت کامل هموژن گردید. سپس در میکروتیوب‌های ۲ میلی‌لیتری ریخته و در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد و با دور ۱۳۰۰۰ و به‌مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید در ادامه فاز رویی آن جهت برای ارزیابی فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز جدا گردید (۲۱).

برای تجزیه واریانس داده‌ها از نرم‌افزار SAS 9.1 استفاده شد. مقایسه میانگین ترکیبات تیماری توسط آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

1- 2,2-DiPhenyl-1-Picryl Hydrazyl

نتایج و بحث

اثر آلودگی آرسنیک و تیمار محلول‌پاشی 5-ALA بر صفات ریخت‌شناسی: نتایج حاصل از تجزیه واریانس اثرات آلودگی آرسنیک و تیمار محلول‌پاشی 5-ALA بر صفات ریخت‌شناسی در جدول ۲ نشان داده شده است که صفات سطح برگ، وزن تر برگ، وزن خشک ساقه و ارتفاع در سطح احتمال یک درصد و صفات تعداد برگ و وزن تر ساقه در سطح پنج درصد تحت‌تأثیر تنش آرسنیک قرار گرفته‌اند. تیمار محلول‌پاشی 5-ALA به‌جز در مورد صفت ریخت‌شناسی وزن خشک برگ بر همه بقیه صفات ریخت‌شناسی مورد بررسی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بوده است. هم‌چنین اثر متقابل تنش آرسنیک و محلول‌پاشی 5-ALA بر صفات سطح برگ، وزن تر برگ، وزن تر ساقه، وزن خشک ساقه و ارتفاع ساقه در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود اما در مورد صفات تعداد برگ و وزن خشک برگ اثرات متقابل اثر معنی‌داری نداشته‌اند (جدول ۲). بررسی نتایج نشان داد که آلودگی خاک توسط آرسنیک موجب کاهش تعداد برگ و قطر ساقه در نسبت به ریحان‌های کشت شده در خاک فاقد آرسنیک شد. هم‌چنین نتایج نشان داد که محلول‌پاشی 5-ALA موجب تعدیل تنش آرسنیک و در نتیجه افزایش تعداد برگ ریحان شد و با افزایش غلظت محلول‌پاشی 5-ALA تأثیر بهبوددهندگی آن‌ها بر صفات مزبور افزایش گردید (جدول ٤). مشخص شد که تیمار 5-ALA موجب تعدیل اثرات مخرب تنش آرسنیک و در نتیجه بهبود شاخص‌های موفولوژیک ریحان در شرایط تنش می‌شود و با افزایش غلظت 5-ALA تیماری نیز میزان بهبود در این خصوصیات افزایش می‌یابد، به‌طوری‌که کم‌ترین مقدار سطح برگ (۱۱۱۷٦ سانتی‌مترمربع)، وزن تر برگ (۲/٤٦ گرم/گیاه)، ارتفاع ساقه (۲٦/٤ سانتی‌متر)، وزن تر ساقه (۱/۸۱ گرم/گیاه) و خشک ساقه (۰/۷۸ گرم/گیاه) در ریحان‌های کشت شده در خاک واجد آرسنیک و عدم محلول‌پاشی 5-ALA مشاهده شد و بیش‌ترین مقدار صفات سطح برگ (۱۷٤٤۸۰/۷ سانتی‌مترمربع)، وزن تر برگ (٤/۳۱ گرم/گیاه)، ارتفاع ساقه (٤٤/۱ سانتی‌متر)، وزن تر (۳/۱ گرم/گیاه) و خشک ساقه (۱/۳۵ گرم/گیاه) در ریحان‌های تیمار شده با بالاترین غلظت 5-ALA (۲۰ میلی‌گرم در لیتر) مشاهده شد (جدول ۵). در موافقت با این پژوهش گزارش شده است که تنش آرسنیک موجب کاهش ارتفاع گیاه و تجمع زیست‌توده در ریحان می‌گردد (۲۲). هم‌چنین تنش آرسنیک موجب در مقدار ارتفاع گیاه، وزن تر و خشک و راندمان کلی تولید محصول نعناع (*Mentha arvensis* L.) می‌شود (۲۳). نتایج این پژوهش با یافته‌های پژوهش انجام شده روی نعنا سبز مطابقت داشت که بین گردید تنش آرسنیک موجب کاهش تعداد برگ در گیاه نعنا سبز می‌گردد (۲٤). هم‌چنین کاهش تعداد و سطح برگ ریحان نسبت به گیاهان شاهد در آلودگی با سایر عناصر سنگین مانند نیکل (۱٦)، کادمیوم (۲۵) و سرب (۲٦) نیز گزارش شده است. سمیت آرسنیک اثرات مخربی بر آسیمیلاسیون کربن و نیتروژن گذاشته و از فعالیت آنتی‌اکسیدانی ممانعت به عمل آورده و در نتیجه موجب کاهش پارامترهای رشدی مانند زیست‌توده می‌گردد. علاوه بر این به دلیل واکنش با گروه‌های سولفیدریل آنزیم‌ها و سایر پروتئین‌های سلولی موجب بازداری از عملکرد دقیق و درست سلولی شده و در نتیجه موجب نکروز و آپوستوزیس می‌شود (۲۷). هم‌چنین سمیت آرسنیک موجب کاهش تکثیر سلولی شده و در نتیجه موجب کاهش رشد و راندمان سولی در گیاهان می‌گردد (۲۸). نتایج پژوهش ما در

مورد تأثیر مثبت و تعدیل‌کنندگی تنش آرسنیک توسط 5-ALA بر رشد و نمو ریحان با یافته‌های پژوهش‌گران پیشین همخوانی داشت که بیان نمودند تنظیم‌کننده رشد 5-ALA موجب افزایش رشد و تولید زیست‌توده در کلزا در شرایط تنش شوری (۲۹) و تنش سرب (۳۰) می‌گردد. کاربرد برگی 5-ALA موجب بهبود رشد، تغذیه معدنی و سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی در کلزا در شرایط آلودگی به فلزات سنگین کادمیوم، سرب و کروم شد (۲۹، ۳۰ و ۳۱). ترکیب 5-ALA به عنوان یک تنظیم‌کننده رشد، پیش ماده ضروری برای سنتززیستی ترکیبات تتراپیرولی مانند هم و کلروفیل است. 5-ALA از طریق بهبود تثبیت کربن، آسیمیلاسیون نیتروژن، سبز کردن گیاهان اتیوله شده، سنتز کلروفیل و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز موجب بهبود رشد و نمو گیاه می‌شود (۳۲). یکی از دلایل اثر بهبودکنندگی رشد 5-ALA در گیاهان در شرایط تنشی، شاید به دلیل پتانسیل 5-ALA به عنوان تحریک‌کننده سیستم آنتی‌اکسیدانی برای پاک کردن رادیکال‌های آزاد مازاد تولید شده در شرایط تنش فلزات سنگین باشد. هم‌چنین 5-ALA از طریق کاهش جذب فلزات سمی توسط گیاهان، بهبود سطح تغذیه‌ای و رنگدانه‌های فتوسنتزی و حفاظت و نگهداری از مکانیسم‌های فتوسنتزی در شرایط تنشی باشد (۲۹، ۳۰، ۳۱، ۳۲).

تأثیرات آلودگی آرسنیک و تیمار محلول‌پاشی 5-ALA بر صفات فیزیولوژیک: نتایج حاصل از تجزیه واریانس اثرات آلودگی آرسنیک و تیمار محلول‌پاشی 5-ALA بر صفات فیزیولوژیک در جدول ۳ نشان داده که صفات آنتوسیانین، فنول، فلاونوئید، پرولین، قندهای محلول، DPPH، MDA، گوائیکول پراکسیداز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، RWC و نشت یونی به‌طور معنی‌داری تحت‌تأثیر آلودگی خاک به آرسنیک و تیمار محلول‌پاشی 5-ALA و اثر متقابل این دو قرار گرفتند. اما در مورد صفات رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کارتنوئید) اثر آلودگی آرسنیک و محلول‌پاشی 5-ALA بر این صفات معنی‌دار بود اما اثر متقابل این دو فاکتور بر صفات مذکور معنی‌دار نبود.

رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کارتنوئید): نتایج آزمایش نشان داد که تنش آرسنیک موجب کاهش محتوای کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل (به‌ترتیب ۲/۶۹، ۰/۶۱ و ۳/۴۸ میلی‌گرم در گرم بر وزن تر برگ) نسبت به گیاهان کشت شده در خاک غیرآلوده (به ترتیب ۳/۹۵، ۰/۸۲ و ٤/۸۹ میلی‌گرم در گرم بر وزن تر برگ) شد، اما تنش آرسنیک موجب افزایش محتوای کارتنوئید در ریحان‌های کشت شده در خاک آلوده نسبت به خاک غیرآلوده گردید (به‌ترتیب ۰/۸۷ و ۰/٦٤ میلی¬گرم در گرم بر وزن تر برگ). از طرف دیگر مشاهده شد که تیمار محلول‌پاشی 5-ALA موجب افزایش کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید می‌گردد و با افزایش غلظت محلول‌پاشی 5-ALA نیز مقدار این صفات افزایش می‌یابد (جدول ٤). به‌طوری‌که کم‌ترین میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید (به‌ترتیب ۲/۱۸، ۰/٤۳، ۳/۰۱ و ۰/۵۵ میلی‌گرم در گرم بر وزن تر برگ) در گیاهان پرورش یافته در شرایط بدون محلول‌پاشی 5-ALA مشاهده شد و بیش‌ترین کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید (به‌ترتیب ٤/٤۱، ۰/۹٦، ۵/۲۵ و ۰/۹٤ میلی‌گرم در گرم بر وزن تر برگ) نیز در گیاهان تیمار شده با بالاترین غلظت تیماری 5-ALA مشاهده شد. در مورد اثرات تنش آرسنیک گزارش شده است که غلظت‌های بالای آلودگی آرسنیک موجب کاهش محتوای کلروفیل a، کلروفیل b و کارتنوئید در کلزا

می‌گردد (۳۳). هم‌چنین همسو با پژوهش حاضر، تنش فلز سنگین کروم موجب کاهش کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید در گیاهان کلزا می‌گردد اما در همین شرایط تنش کروم تیمار 5-ALA در دو سطح ۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش قابل‌توجه مقدار کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید در کلزا می‌گردد (۳٤). به‌علاوه تنش سرب در کلزا (*Brassica napus*) موجب کاهش مقادیر کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل می‌گردد، اما تیمار 5-ALA در این شرایط موجب افزیش ۱۱ درصدی در مقدار کلروفیل کل در کلزا می‌گردد (۱۲). از طرف دیگر، تیمار 5-ALA موجب بهبود وضعیت رنگیزه‌های فتوسنتزی خربزه (*Cucumis melo*) در شرایط تنش‌های نور و سرما شد (٦). همین‌طور تیمار 5-ALA در شرایط تنش کادمیوم موجب افزایش مقادیر کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئیدها در کلزا می‌گردد. نتایج این پژوهش نشان‌دهنده کاهش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی بر اثر تنش فلز سنگین آرسنیک می‌باشد. تحلیل رفتن رنگیزه‌های فتوسنتزی ممکن است به‌دلیل تخریب کمپلکس‌های پروتئینی، ساختارهای تیلاکوئیدی در کلروپلاست و ماشین‌های فتوسنتزی و مهار زنجیره انتقال الکترون باشد. از دلائل کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌توان به جانشین شدن فلزات سنگین به جای منیزیم مرکزی کلروفیل اشاره کرد که این جانشینی سبب کاهش دریافت نور به‌وسیله کلروفیل شده و منجر به زردی برگ‌ها و در نهایت کاهش فتوسنتز می‌شود (۳۵). علاوه بر این، کاهش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی ممکن است به‌دلیل تغییر فعالیت آنزیم کلروفیلاز باشد. از آن‌جا که ALA-۵ به عنوان پیش ماده ساختارهای تتراپیرولی هم‌چون کلروفیل‌ها عمل می‌نماید، در نتیجه محلول‌پاشی و در اختیار قرار داشتن 5-ALA ممکن است موجب بهبود وضعیت رنگیزه‌های فتوسنتزی، بهبود جذب نور و در نتیجه افزایش کارایی فتوسنتزی شود (۱۱). از طرف دیگر، کاربرد خارجی 5-ALA موجب بهبود ساختارهای سلولی تحت تنش می‌گردد. این نتایج بیانگر این است که 5-ALA قادر به افزایش سنتز کلروپلاست‌ها از طریق افزایش و بازسازی غشاء گرانایی، و سنتززیستی کلروفیل می‌شود که در فرایند فتوسنتز در گیاهان مشارکت می‌نماید (۳٦). هم‌چنین تیمار 5-ALA موجب کاهش قابل‌توجه تعداد ساختارهای پلاستوگلوبولی می‌گردد که به عنوان دومین نقش تعدیل‌کننده 5-ALA به شمار می‌آید که شاید به دلیل کاهش پراکسیداسیون لیپیدها و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان باشد (۱۱). در عین‌حال، افزایش میزان کلروفیل و سرعت فتوسنتز در اثر محلول‌پاشی برگی 5-ALA بیانگر این نکته است که 5-ALA به عنوان یک محرک رشد عمل نموده و موجب بهبود شاخص درگیر در فتوسنتز می‌شود. نقش 5-ALA در بهبود شاخص‌های فتوسنتزی می‌تواند به دلیل افزایش قابل‌توجه مقدار کلروفیل باشد که منجر به افزایش ظرفیت برداشت نور در گیاهان تیمار شده می‌شود (٦). علاوه بر این، بیان شده است که کاربرد 5-ALA موجب کاهش بیان ژن *CHLASE* (مربوط به آنزیم کلروفیلاز که مسئول تخریب رنگیزه‌های فتوسنتزی است) می‌شود (۳٤).

جدول ۲- تجزیه واریانس تأثیر 5-ALA بر شاخص‌های رشد ریخت‌شناسی گیاه ریحان در شرایط خاک آلوده به آرسنیک.

Table 2. Means squares for the variance of the effects of 5-ALA treatment on morphological characteristics sweet basil under arsenic contaminated soil.

منابع تغییرات Source of Changes	درجه آزادی Degree of freedom	میانگین مربعات Average of squares					
		ارتفاع ساقه Plant height	وزن خشک ساقه Stem dry weight	وزن تر ساقه Stem fresh weight	وزن تر برگ Leaf fresh weight	سطح برگ Plant leaf area	تعداد برگ Leaf number
آرسنیک (As)	1	0.26**	0.08**	0.29*	1.77**	5344320.22**	162*
5-ALA	2	0.15**	0.002**	1.56**	1.85**	217807933.72**	248.66**
As×5-ALA	2	0.02*	0.01*	0.09*	0.08*	3058778.72*	4.66^{ns}
اشتباه آزمایشی Experimental error	12	0.004	0.003	0.02	0.01	425983.9	8.94
ضریب تغییرات Coefficient of variation		5.72	5.66	5.68	3.82	4.4	13.19

**، *، ^{ns} به‌ترتیب نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح ۱ درصد، ۵ درصد و عدم تأثیر معنی‌دار هستند

**, *, ^{ns} Show significant differences at 1% and 5% levels and no significant difference, respectively

جدول ۳- تجزیه واریانس تأثیر 5-ALA بر شاخص‌های رشد فیزیولوژیکی گیاه ریحان در شرایط خاک آلوده به آرسنیک.

Table 3. Means squares for the variance of the effects of 5-ALA treatment on physiological characteristics sweet basil under arsenic contaminated soil.

منابع تغییرات Source of Changes	درجه آزادی Degree of freedom	میانگین مربعات Average of squares														
		آنتوسیانین Antocyanin	فنول Phenol	فلاونوئید Flavonoid	پرولین Proline	قندهای محلول Soluble sugars	DPPH	MDA	گوایکول Guaiacol	کاتالاز Catalase	آسکوربات Ascorbate	RWC	نشت یونی Ion leakage	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Total Chlorophyll	کارتنوئید Carotenoid
آرسنیک (As)	1	4.99**	22.66**	40.08**	31.71**	2424.05**	210.36**	2.6**	2.004**	13.92**	12.36**	928.66*	1098.24**	7.06**	0.192**	8.94**	0.23**
ALA-۵	2	4.09**	39.95**	12.6**	2.43**	666.76**	44.85**	1.15**	1.57**	9.4**	11.05**	523.009**	422.53**	7.42**	0.43**	7.59**	0.22**
As × 5-ALA	2	0.7*	6.287*	1.44**	2.45**	535.59**	8.3**	0.18*	0.13*	1.23**	1.76*	96.38*	127.07**	0.143^{ns}	0.001^{ns}	0.3^{ns}	0.003^{ns}
اشتباه آزمایشی Experimental error		0.127	1.55	0.198	0.05	34.19	0.496	0.037	0.33	0.174	0.36	14.47	2.11	0.069	0.007	0.12	0.008
ضریب تغییرات CV		9.02	27.59	10.58	8.53	9.28	3.41	24.06	17.62	15.6	15.76	4.61	9.16	7.9	12.09	8.3	12.25

**، *، ^{ns} به‌ترتیب نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح ۱ درصد، ۵ درصد و عدم تأثیر معنی‌دار هستند

**, *, ^{ns} Show significant differences at 1% and 5% levels and no significant difference, respectively

جدول ٤- تأثیر تنش آرسنیک و محلول‌پاشی 5-ALA بر تعداد برگ و قطر ساقه و محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه ریحان تحت تنش آرسنیک.

Table 4. The effects of arsenic stress and 5-ALA foliar application on leaf number, stem diameter, photosynthetic pigments of sweet basil under arsenic stress.

کارتنوئید Carotenoid	کلروفیل کل Total chlorophyll	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل a Chlorophyll a	تعداد برگ Leaf number	
میلی‌گرم بر گرم بر وزن تر برگ mg g^{-1} leaf fresh weight					
					آرسنیک Arsenic
0.64^{b}	3.48^{b}	0.61^{b}	2.69^{b}	19.66^{b}	خاک آلوده به آرسنیک Arsenic contaminated soil
0.87^{a}	4.89^{a}	0.82^{a}	3.95^{a}	25.66^{a}	خاک فاقد آرسنیک Arsenic no contaminated soil
					تیمار 5-ALA (میلی‌گرم بر لیتر) 5-ALA treatment (mg l^{-1})
0.55^{c}	3.01^{c}	0.43^{c}	2.18^{c}	17^{c}	0
0.79^{b}	4.28^{b}	0.76^{b}	3.37^{b}	21.33^{b}	5
0.94^{a}	5.25^{a}	0.96^{a}	4.41^{a}	29.66^{a}	10

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، دارای تفاوت آماری نسبت به یکدیگر بر اساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد نیستند

Means within each column followed by the same letter(s) are not significantly different at P≤0.05 according to Duncan's test

جدول ٥- تأثیر محلول‌پاشی 5-ALA بر خصوصیات موفولوژیکی ریحان تحت تنش آرسنیک.

Table 5. The effects of 5-ALA foliar application on morphological characteristics of sweet basil under arsenic stress.

وزن تر ساقه (گرم بر بوته) Stem fresh weight (gr/plant)	وزن خشک ساقه (گرم بر بوته) Stem dry weight (gr/plant)	ارتفاع ساقه (سانتی‌متر) Plant height (cm)	وزن تر برگ (گرم بر بوته) Leaf fresh weight (gr/plant)	سطح برگ (میلی‌مترمربع) Plant leaf area (mm^2)	تیمار 5-ALA (میلی‌گرم بر لیتر) 5-ALA treatment (mg/L)	آلودگی به آرسنیک Arsenic contamination
1.81^{b}	0.78^{e}	26.4^{d}	2.46^{d}	11176^{d}	0	خاک آلوده به آرسنیک Arsenic contaminated soil
2.45^{bc}	0.97^{cd}	30.53^{c}	3.31^{c}	12515.7^{c}	10	
3.07^{a}	1.08^{b}	38^{b}	3.71^{b}	15635.3^{b}	20	
2.32^{c}	0.87^{de}	29.26^{c}	3.33^{c}	15049^{b}	0	خاک فاقد آرسنیک Arsenic noncontaminated soil
2.67^{b}	1.02^{bc}	37.46^{b}	3.71^{b}	17116.7^{a}	10	
3.1^{a}	1.35^{a}	44.1^{a}	4.31^{a}	17480.7^{a}	20	

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، دارای تفاوت آماری نسبت به یکدیگر بر اساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد نیستند

Means within each column followed by the same letter(s) are not significantly different at P≤0.05 according to Duncan's test

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز): تجزیه واریانس داده‌های مربوط به اثرات تنش آرسنیک بر میزان آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در ریحان نشان داد که تنش آرسنیک بر میزان آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در سطح یک درصد معنی‌دار بوده است. از طرف دیگر، تیمار محلول‌پاشی

5-ALA بر فعالیت آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز در سطح یک درصد معنی‌دار بوده است. در عین‌حال نیز اثرات متقابل این دو عامل بر دو آنزیم گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در سطح پنج درصد معنی‌دار بوده است، اما در مورد آنزیم کاتالاز اثرات متقابل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بوده است. بررسی نتایج آزمایش نشان داد که تنش آرسنیک در شرایط عدم محلول‌پاشی 5-ALA تا حدودی موجب افزایش میزان آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز (به‌ترتیب ۰/٦۸، ۱/۸۱ و ۲/۷ واحد در میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) نسبت به گیاهان کشت شده در خاک غیرآلوده (به ترتیب ۰/۳۵، ۱/۰۲ و ۲/۲ واحد در میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) می‌شود، اما مشاهده شد که در هر دو نوع خاک آلوده و غیرآلوده تیمار محلول‌پاشی 5-ALA موجب افزایش قابل‌توجه فعالیت این آنزیم‌ها نسبت به شاهد می‌گردد و حتی با افزایش غلظت محلول‌پاشی 5-ALA این اثر افزایندگی افزوده شد. حتی مشاهده شد که اثر افزایندگی این تیمار در افزایش فعالیت این آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در خاک‌های غیرآلوده بیشتر از خاک‌های آلوده است. این نتایج با یافته‌های پیشین همخوانی داشت که مشخص شد محلول‌پاشی 5-ALA در غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر در شرایط تنش کادمیوم می‌تواند سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت مانند آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز، کاتالاز، گلوتاتیون ردوکتاز و سوپراکسید دیسموتاز در کلزا می‌شود (۸). هم‌چنین محلول‌پاشی 5-ALA در شرایط تنش خشکی نیز موجب افزایش تولید و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت در آفتابگردان می‌شود (۳۷). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان هم‌چون آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز نقش محوری مهمی در گیاهان در مقابله با شرایط نامساعد محیطی مانند تنش فلزات بر عهده دارند و موجب تحریک و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاه می‌شوند. مشخص شده است که 5-ALA نقش مهمی در تنظیم سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانتی در گیاهان بر عهده دارد. مشخص شده است که 5-ALA موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در برگ‌های کلزا (*Brassica campestris*) می‌شود (۳۸). علاوه بر این، 5-ALA در غلظت‌های پایین موجب تحریک تولید آنزیم‌های آنتی اکسیدان POD، CAT، APX و SOD در *Ginkgo biloba* می‌شود (۳۹). نتایج مطالعه پژوهشی نیز نشان داد که تیمار 5-ALA نه تنها موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌شود بلکه موجب افزایش بیان ژن‌های مربوط به آنزیم‌های SOD، CAT، POD، GST و DHAR نیز می‌گردد. این خاصیت بیانگر ظرفیت 5-ALA در افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانتی گیاهان در زمان قرارگیری در معرض تنش فلزات سنگین است (۳٤).

آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی (آنتوسیانین، فنول و فلاونوئید): نتایج تجزیه واریانس اثر تنش آرسنیک و محلول‌پاشی 5-ALA بر خصوصیات فیزیولوژیک ریحان نشان داد که تنش آرسنیک و 5-ALA بر میزان آنتوسیانین، فنول، فلاونوئید و کارتنوئید در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. از طرف دیگر، اثرات متقابل دوگانه آرسنیک و 5-ALA نیز روی صفت فلاونوئید در سطح احتمال یک درصد و بر روی صفات فنول و آنتوسیانین در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بوده است (جدول ۲). بررسی اثرات متقابل فاکتورهای تنش آرسنیک و محلول‌پاشی 5-ALA در ریحان نشان داد که در گیاهان کشت شده در خاک آلوده به آرسنیک نشان داد که در کل میزان آنتوسیانین

در شرایط تنش آرسنیک بیش‌تر از گیاهان شاهد کشت شده در خاک غیرآلوده است. نکته قابل توجه این‌که تیمار 5-ALA در هر دو نوع خاک غیرآلوده و آلوده به آرسنیک موجب افزایش مقدار آنتوسیانین شده و حتی با افزایش غلظت 5-ALA اثر افزایندگی آن‌ها بیش‌تر می‌شود. به‌طوری‌که کم‌ترین میزان آنتوسیانین (۲/۹۱ میکرومول بر گرم وزن خشک) در گیاهان پرورش‌یافته در خاک غیرآلوده به آرسنیک و بدون محلول‌پاشی 5-ALA و بیش‌ترین میزان آنتوسیانین (۵/۷۸ میکرومول بر گرم وزن خشک) در خاک آلوده به آرسنیک محلول‌پاشی شده با بالاترین غلظت 5-ALA (۲۰ میلی‌گرم در لیتر) دیده شد (جدول ۳). از طرف دیگر، بررسی اثرات متقابل فاکتورهای تنش آرسنیک و محلول‌پاشی 5-ALA در ریحان بر محتوای فنول و فلاونوئید نشان داد میزان فنول و فلاونوئید در شرایط تنش آرسنیک کم‌تر از گیاهان شاهد کشت شده در خاک غیرآلوده است و تیمار 5-ALA در هر دو نوع خاک غیرآلوده و آلوده به آرسنیک موجب کاهش مقدار فنول و فلاونوئید شده و حتی با افزایش غلظت 5-ALA اثر کاهندگی آن‌ها بیش‌تر می‌شود. به‌طوری‌که کم‌ترین میزان فنول (۱/٤٦ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و فلاونوئید (۱/۷۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) در گیاهان پرورش‌یافته در خاک آلوده به آرسنیک و با بالاترین غلظت محلول‌پاشی 5-ALA بوده و بیش‌ترین میزان فنول (۹/۵۵ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و فلاونوئید (۷/۷۹ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) در خاک فاقد آرسنیک محلول‌پاشی نشده با 5-ALA دیده شد (جدول ۳). این در حالی است که در مطالعات قبلی بیان شده است که پرایمینگ بذور برنج با 5-ALA موجب افزایش مقدار فنول کل، فلاونوئیدها و گلایسین بتائین شده و حتی مقدار فعالیت آنزیم‌های SOD، POD، APX و GPX را افزایش می‌دهد (٤۰). هم‌چنین مطالعات در سطح ژنومی نشان داده است که تیمار 5-ALA موجب افزایش بیان و فعالیت آنزیم‌های SOD، POD، CAT و APX در گیاهچه‌های خیار، نوعی چمن بنت گراس و چغندرقند می‌شود (۷). 5-ALA متابولیسم فلاونوئیدها را تسریع نموده و موجب افزایش تجمع آنتوسیانین و فلاونول در برگ‌ها، ریشه و میوه‌های گیاهان می‌شود. پیشنهاد شده است که 5-ALA موجب افزایش بیان ژن‌های ساختاری و فعالیت آنزیم‌های مسیر سنتز فلاونئید می‌شود. هم‌چنین 5-ALA موجب افزایش ترکیبات فنولیک و افزایش بیان ژن‌هایی مانند CHS و PAL در خردل هندی می‌شود. ترکیبات چرخه کربس مانند (فومارات، سوکسینات، مالات و سیترات) نیز در اثر افزایش بیان ژن‌هایی مانند سیترات جستتاز، سوکسینیل کوآنزیم‌آ لیگاز۱، سوکسینات دهیدروژناز و فومارات دهیدروژناز افزایش یافت (۳٤).

محتوای پرولین، قندهای محلول، مالون دی آلدئید (MDA) و نشت یونی: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تنش آرسنیک، محلول‌پاشی 5-ALA و اثرات متقابل آن‌ها بر میزان تجمع پرولین، قندهای محلول و نشت یونی در ریحان در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. هم‌چنین مشخص شد که تنش آرسنیک و محلول‌پاشی 5-ALA در سطح احتمال یک درصد و اثرات متقابل تنش آرسنیک و تیمار 5-ALA نیز در سطح احتمال ۵ درصد روی محتوای مالون دی آلدئید معنی‌دار بود. نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که در شرایط تنش فلزات سنگین مقدار آمینواسیدهای گیاهان به‌ویژه پرولین تغییر می‌کند و در شرایط آلودگی به آرسنیک میزان تجمع پرولین بیش‌تر از شرایط فاقد آلودگی بود. هم‌چنین مشخص شد که محلول‌پاشی 5-ALA هم

در شرایط آلودگی به آرسنیک و هم در شرایط عدم آلودگی به این فلز باعث کاهش میزان تجمع پرولین شد. تنش فلز سنگین کادمیوم محتوای پرولین در برگ اسفناج را افزایش می‌دهد (۱۰). افزایش پرولین در گیاهان سبب محافظت از آنزیم‌های سیتوزول و ساختارهای سلولی می‌شود پرولین افزون بر تنظیم اسیدیته سلول و پایداری پروتئین‌ها در گیاهان در شرایط تنش‌های محیطی به‌ویژه تنش فلزات سنگین با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله سوپراکسید دیسموتاز سبب کاهش آسیب‌های ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن و در نتیجه محافظت از غشاء می‌شود (٤١).

با توجه به مقایسه میانگین تأثیر تیمارها مشخص می‌شود که در ریحان‌های کشت شده در خاک آلوده تیمار 5-ALA موجب افزایش تجمع کربوهیدرات‌ها نسبت به شاهد شد. مشخص شد که بیش‌ترین میزان کربوهیدرات‌ها (۸۳/۱۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه) در ریحان‌های کشت شده در خاک آلوده محلول‌پاشی شده توسط غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر 5-ALA حاصل شد و کم‌ترین میزان کربوهیدرات (٤۹/۸۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه) نیز در خاک غیرآلوده به آرسنیک محلول‌پاشی نشده توسط 5-ALA مشاهده شد. نتایج این پژوهش با یافته‌های پیشین مطابقت داشت که گزارش نمودند که تنش فلز سنگین سرب موجب بالا رفتن تجمع قندهای محلول در گشنیز می‌شود (۱۵). یکی از مکانیسم‌های تأثیر فلزات سنگین در گیاه افزایش قندهای محلول است، درواقع با کاهش انتقال آب به برگ‌ها و به دنبال آن تجمع فلزات سنگین در سلول‌ها، میزان قندهای محلول در گیاه افزایش می‌یابد. این ویژگی یک روش سازگاری گیاه برای حفظ شرایط اسمزی است. علاوه بر این افزایش قندهای محلول به گیاه کمک می‌کند تا بتواند ذخیره کربوهیدراتی خود را برای حفظ متابولیسم پایه در شرایط تنش در حد مطلوب نگه دارد (٤٣). بسیاری از فلزات سنگین با تغییر در فعالیت پروتئین‌های کانالی انتقال آب و با بستن روزنه‌های برگ، جریان آب را در گیاه متوقف می‌سازند (٤٤). مکانیسم دقیق تأثیر آرسنیک بر تغییر متابولیسم کربوهیدرات‌ها در گیاهان هنوز مشخص نشده است. مشخص شده است که آرسنیک اثر مخربی بر متابولیسم کربوهیدرات‌های ابتدایی مانند قند و نشاسته دارد (٤٥). فعال‌سازی فرایند تجمع آسکوربات در گیاهان احتمالاً پیامد اصلی تاثیر آرسنیک بر متابولیسم کربن در گیاهان برای مقابله با اثرات مخرب رادیکال‌های آزاد اکسیژن تولید شده در اثر تنش است. با این‌حال، رونویسی ژن‌های کد کننده پروتئین‌های درگیر در متابولیسم در برنج و در آرابیدوپسیس زیاد تحت‌تأثیر آرسنیک قرار نگرفته است (٤٦ و ٤٧). تیمار 5-ALA موجب افزایش تجمع قندهای محلول در کاهو، گلابی، خیار و شمشاد (*Buxus megistophylla*) به‌ترتیب در شرایط تنش‌های UV-B، شوری، گرمایی و آبیاری با فاضلاب شهری حاوی فلزات سنگین شد (٤٨، ٤٩، ٥٠، ٥١). تجمع قندهای محلول در گیاه یک فرایند کاملاً ضروری برای متابولیسم گیاه است. این ترکیبات به‌عنوان نگهدارنده اسمزی عمل نموده و موجب تثبیت غشاء سلولی شده و به حفظ آماس در سلول‌ها کمک می‌نمایند.

در مورد MDA نیز نتایج مقایسه میانگین تیمارها نشان می‌دهد که تنش آرسنیک موجب افزایش مقدار این در ترکیب در ریحان‌های کشت شده در خاک آلوده به نسبت به ریحان‌های کشت شده در خاک غیرآلوده می‌شود و تیمار محلول‌پاشی 5-ALA در هر دو نوع خاک آلوده و غیرآلوده به آرسنیک موجب کاهش تولید MDA می‌شود. به‌طوری‌که بیش‌ترین میزان MDA (۱/۸۱ نانومول بر گرم وزن تر) در

گیاهان کشت شده در خاک آلوده به آرسنیک مشاهده شد که توسط 5-ALA تیمار نشده بودند و کم‌ترین میزان MDA (۰/۱۷ نانومول بر گرم وزن تر) نیز در گیاهان کشت شده در خاک غیرآلوده و تیمار شده با غلظت بالای 5-ALA (۲۰ میلی‌گرم بر لیتر) مشاهده شد. بنابراین، نتایج این پژوهش بیانگر این مطلب است که تیمار 5-ALA موجب کاهش مقدار MDA تولیدی در شرایط تنش می‌گردد. نتایج این پژوهش با یافته‌های سایر پژوهش‌گران هماهنگی داشت که بیان نمودند تنش فلز سنگین سرب موجب افزایش تولید MDA در گشنیز می‌گردد (۱۵). هم‌چنین تنش فلز سنگین در خاک موجب افزایش تولید MDA و آب اکسیژنه در آفتابگردان می‌شود. تیمار 5-ALA موجب تعدیل اثر افزایندگی تنش فلزات سنگین کادمیوم و نیکل در افزایش تولید MDA و H_2O_2 در نخودفرنگی می‌شود (۵۲). تنش کادمیوم موجب افزایش قابل‌توجه مقدار MDA در ریشه‌های کلزا می‌شود و کاربرد 5-ALA در شرایط تنشی موجب کاهش تجمع MDA در ریشه‌ها می‌گردد در حالی که 5-ALA به تنهایی و در شراط غیرتنشی تأثیری بر محتوای MDA گیاهان ندارد (۹). تیمار 5-ALA موجب کاهش تولید MDA، ROS و آب اکسیژنه تولیدی در شرایط تنش گرمایی در خیار و در نتیجه بهبود رشد می‌شود (۳۶). هم‌چنین 5-ALA موجب بازداری از تولید MDA و ROS تحریک شده توسط تنش شوری و خشکی در ذرت گردید. تنش‌های محیطی موجب تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) در سلول‌ها شده که غالباً در اندامک‌هایی مانند میتوکندری، کلروپلاست و پراکسی‌زوم‌ها تجمع یافته و موجب آسیب به لیپیدهای غشاءها و تولید MDA می‌گردد، که این ترکیب به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدها در نظر گرفته می‌شود. بنابراین 5-ALA از طریق کنترل و بازداری از تولید ROS و H_2O_2 قادر به افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و در نتیجه افزایش ثبات غشاء سلولی و بهبود رشد گیاه می‌گردد. افزایش تولید MDA و ROS منجر به آسیب به کلروفیل، فتوسنتز و DNA می‌شود (۷).

بررسی مقایسه میانگین داده‌های مربوط به صفت نشت یونی در این پژوهش نشان داد که تنش آرسنیک موجب افزایش میزان نشت یونی در برگ‌های ریحان نسبت به ریحان‌های کشت شده در خاک فاقد آرسنیک شد، اما تیمار محلول‌پاشی 5-ALA محتوای نشت یونی را در هر دو گروه ریحان‌های کشت شده در شرایط تنش و فاقد تنش آرسنیک کاهش دادند و حتی با افزایش غلظت 5-ALA تأثیر کاهندگی این تیمار بر محتوای نشت یونی بیش‌تر می‌شود. به‌طوری‌که بیش‌ترین مقدار نشت یونی در ریحان‌های کشت شده در خاک آلوده به آرسنیک و عدم محلول‌پاشی 5-ALA مشاهده شد (۳۸/۰۱ درصد) و کم‌ترین مقدار نشت یونی نیز در ریحان‌های کشت شده در خاک غیرآلوده و تیمار شده با غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر 5-ALA مشاهده شد (٤/٢٤ درصد). نتایج این پژوهش با یافته‌های دیگر پژوهش‌ها همخوانی داشت که فلزات سنگین آرسنیک و سرب موجب افزایش مقدار نشت یونی در برگ‌های ریحان و گشنیز شدند (۲ و ۱۵). هم‌چنین آلودگی کروم موجب افزایش مقدار نشت یونی در آفتابگردان شد اما همانند پژوهش ما، تیمار 5-ALA موجب کاهش محتوای افزایندگی نشت یونی در آفتابگردان شد. در واقع افزایش تولید ROS در گیاهان در نتیجه تنش فلزات سنگین می‌تواند منجر به افزایش نشت یونی گردد، که با توجه به این‌که تیمار 5-ALA موجب کاهش تولید ROS می‌گردد در نتیجه قادر به کاهش آسیب ROS بر غشاء سلولی و در نتیجه منجر به کاهش نشت یونی می‌گردد (۵۱).

بررسی نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان می‌دهد که تنش آرسنیک موجب کاهش RWC گیاهان ریحان نسبت به گیاهان شاهد کشت شده در خاک غیرآلوده به آرسنیک گردید. هم‌چنین مشخص شد که تیمار 5-ALA در هر دو نوع خاک آلوده و غیرآلوده به آرسنیک موجب بهبود و افزایش میزان RWC شده و حتی با افزایش غلظت 5-ALA به کار برده شده محتوای RWC گیاهان افزایش می‌یابد، به‌طوری‌که کم‌ترین میزان RWC (٦٠/٤٤ درصد) در ریحان‌های کشت شده در خاک آلوده به آرسنیک و تیمار نشده توسط 5-ALA دیده می‌شود و بیش‌ترین محتوای RWC (٩٤/٢٨ درصد) در ریحان‌های کشت شده در خاک فاقد آرسنیک و تیمار شده با بالاترین غلظت 5-ALA (٢٠ میلی‌گرم در لیتر) مشاهده شد (جدول ٣). محلول‌پاشی گیاهان کلزا توسط 5-ALA موجب تعدیل تنش اسمزی و RWC در گیاهچه‌ها می‌گردد (٥٣). محلول‌پاشی 5-ALA موجب بهبود پتانسیل اسمزی و افزایش مقدار RWC در دانهال‌های کلزای قرار گرفته در معرض تنش کادمیوم می‌گردد (٤٩). هم‌چنین این نتایج با مشاهدات قبلی مطابقت داشت که بیان نمودند که 5-ALA موجب افزایش راندمان، کیفیت، RWC و سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی در دانهال‌های *Ficus carica* و کاهو قرار گرفته در معرض تنش‌های UV-B و غرقاب می‌گردد (٤٨ و ٥٤). محلول‌پاشی 5-ALA در غلظت ١٠ میلی‌گرم در لیتر در چمن کنتاکی بلوگرس (*Poa pratensis*) موجب افزایش RWC می‌شود (٥٥). بسیاری از فلزات سنگین فعالیت پروتئین‌های کانالی آب را در گیاهان تغییر می‌دهند، روزنه‌های برگ را می‌بندند و درنتیجه جریان آب در گیاه را متوقف می‌سازند (٥٦). پژوهش‌گران دیگر نیز مکانیسم‌های مختلفی مانند اختلال در رشد گیاه و کاهش سطح برگ و افت تعرق برگی، کوچک ماندن سلول‌های محافظ روزنه ناشی از سمیت فلزات سنگین و کاهش مقدار ترکیبات نگهدارنده تورژسانس سلولی و نیز خاصیت انعطاف‌پذیری دیواره سلولی شده در اثر آلودگی فلزات سنگین و در نهایت افزایش مقدار اسید آبسزیک توسط فلزات سنگین و بسته شدن روزنه‌ها توسط این هورمون را در این زمینه دخیل دانسته‌اند (٥٧). در اثر تنش میزان هورمون آبسیزیک اسید در ریشه‌ها افزایش یافته و در روزنه‌ها تجمع یافته و در نهایت سبب کاهش میزان محتوای رطوبت نسبی برگ‌ها می‌شود (٥٨). به‌طورکلی با افزایش تنش محتوای نسبی آب برگ کاهش می‌یابد با توجه به این مطلب که رشد حاصل تقسیم و توسعه سلول است و توسعه سلول نیز حاصل پتانسیل فشاری مطلوب است، بنابراین رشد به کمبود آب بسیار حساس است. با توجه به این‌که در پژوهش‌های قبلی دلیل افزایش محتوای RWC ذکر نشده است، به‌نظر می‌رسد که 5-ALA احتمالاً با افزایش املاح سازگار و در نتیجه افزایش پتانسیل اسمزی گیاهان که سبب افزایش قدرت جذب آب در محیط‌های نامساعد می‌شود، باشد (٥٩).

نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که سمیت آرسنیک در خاک می‌تواند موجب کاهش در همه جنبه‌های صفات ریخت‌شناسی و فیزیولوژیکی ریحان گردید. در عین‌حال، استفاده از تیمار 5-ALA قادر به کاهش اثرات مخرب آرسنیک و بهبود شاخص‌های رشدی و فیزیولوژیکی در ریحان می‌باشد. بنابراین، نتایج حاصل از این پژوهش بیانگر این نکته است که 5-ALA به‌عنوان یک تنظیم‌کننده رشد واجد پتانسیل لازم برای تعدیل اثرات مخرب تنش فلز سنگین آرسنیک در گیاهان می‌باشد. با این‌حال، پیشنهاد می‌شود که این اثر 5-ALA بر سایر گیاهان و در غلظت‌های دیگری نیز بررسی شود.

جدول ٦- تأثیر محلول‌پاشی 5-ALA بر خصوصیات زیست‌شیمیایی گیاه ریحان تحت تنش آرسنیک.

Table 6. The effects of 5-ALA foliar application on biochemical characteristics of sweet basil under arsenic stress.

آلودگی به آرسنیک Arsenic contamination	تیمار 5-ALA (میلی گرم در لیتر) 5-ALA treatment (mg l^{-1})	دی‌فنیل پیکریل هیدرازیل (درصد) DPPH (%)	قندهای محلول (میلی گرم بر گرم وزن تر) Soluble sugars (mg g^{-1} fresh weight)	پرولین (میکرومول بر گرم وزن خشک) Prolin content (µmol g^{-1} dry weight)	فلاونوئید (میلی گرم بر گرم وزن خشک) Flavonoid content (mg g^{-1} dry weight)	فنول کل (میلی گرم بر گرم وزن خشک) Phenol content (mg g^{-1} dry weight)	آنتوسیانین کل (میکرومول بر گرم وزن خشک) Anticyanine content (µmol g^{-1} dry weight)	مالون دی آلدئید (نانومول بر گرم وزن تر) Malonedialdehyde content (nmol g^{-1} fresh weight)	گوایکول پراکسیداز (واحد بر میلی گرم پروتئین در دقیقه) Guaiacol peroxidase activity (Unit mg^{-1} protein)	فعالیت آنزیم کاتالاز (واحد بر میلی گرم پروتئین در دقیقه) Catalase activity (Unit mg^{-1} protein)	فعالیت آسکوربات پراکسیداز (واحد بر میلی گرم پروتئین در دقیقه) Ascorbate peroxidase activity (Unit mg^{-1} protein)	محتوای آب نسبی (درصد) Relative water content (%)	نشت یونی (درصد) Ion leakage (%)
خاک آلوده به آرسنیک Arsenic contaminated soil	0	14.41^{d}	49.88^{b}	5.56^{a}	3.71^{c}	4.97^{b}	3.54^{bcd}	1.81^{a}	0.35^{c}	1.02^{e}	2.2^{d}	60.44^{d}	38.01^{a}
	10	16.06^{c}	50.84^{b}	3.46^{b}	2.66^{d}	3.78^{b}	4.15^{b}	1.16^{b}	0.64^{c}	1.73^{ed}	3.04^{cd}	78.97^{c}	20.28^{b}
	20	21.2^{b}	53.4^{b}	3.27^{b}	1.77^{e}	1.46^{c}	5.78^{a}	0.58^{c}	1.1^{b}	2.62^{c}	3.84^{cb}	86.29^{b}	12.75^{c}
خاک فاقد آرسنیک Arsenic noncontaminated soil	0	21.54^{b}	51.79^{b}	1.58^{c}	7.79^{a}	9.55^{a}	2.91^{d}	0.69^{c}	0.68^{c}	1.81^{d}	2.7^{d}	83.98^{bc}	11.99^{c}
	10	25.14^{a}	88.79^{a}	1.43^{c}	5.33^{b}	4.54^{b}	3.46^{cd}	0.41^{cd}	1.42^{b}	3.62^{b}	4.86^{b}	90.33^{ab}	7.94^{d}
	20	25.59^{a}	83.17^{a}	1.33^{c}	3.97^{c}	2.84^{bc}	3.93^{bc}	0.17^{d}	1.99^{a}	5.21^{a}	6.49^{a}	94.58^{a}	4.24^{e}

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، دارای تفاوت آماری نسبت به یکدیگر بر اساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد نیستند

Means within each column followed by the same letter(s) are not significantly different at P≤0.05 according to Duncan's test

منابع

1. Burdina, I., & Priss, O. (2016). Effect of the substrate composition on yield and quality of basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of Horticultural Research*, 24 (2), 109-118.
2. Zare Dehabadi, S., Asrar, Z., & Namaki, Shoushtari, A. (2014). Investigation of synergistic action between coronatine and nitric oxide in alleviating arsenic-induced toxicity in sweet basil seedlings. *Journal of Plant Growth Regulation*, 74 (2), 119-130.
3. Shahid, M., Dumat, C., Khalid, S., Schreck, E., Xiong, T., & Niazi, N. K. (2016). Foliar heavy metal uptake, toxicity and detoxification in plants: A comparison of foliar and root metal uptake. *Hazardous Materials*, 325, 36-58.
4. Akram, N. A., & Ashraf, M. (2013). Regulation in plant stress tolerance by a potential plant growth regulator, 5-aminolevulinic acid. *Journal of Plant Growth Regulation*, 32 (3), 663-679.
5. Wu, Y., Jin, X., Liao, W., Hu, L., Dawuda, M. M., Zhao, X., Tang, Z., Gong, T., & Yu, J. (2018). 5-Aminolevulinic acid (ALA) alleviated salinity stress in cucumber seedlings by

enhancing chlorophyll synthesis pathway. *Frontiers in Plant Science*, 9, 635-645.

6. Wang, L. J., Jiang, W. B., & Huang, B. J. (2004). Promotion of 5-aminolevulinic acid on photosynthesis of melon (*Cucumis melo*) seedlings under low light and chilling stress conditions. *Plant Physiology* ,121 (2), 258–264.
7. Gupta, D., & Prasad, S. M. (2020). 5-Aminolevulinic acid: an emerging signaling molecule involved in improving abiotic stress tolerance in plants. *Biochemical and Cellular Archives*, 20 (2), 6267-6287.
8. Ali, B., Wang, B., Ali, S., Ghani, M. A., Hayat, M. T., Yang, C., Xu, L., & Zhou, W. J. (2013a). 5-Aminolevulinic acid ameliorates the growth, photosynthetic gas exchange capacity, and ultrastructural changes under cadmium stress in *Brassica napus* L. *Journal of Plant Growth Regulation*, 32, 604–614.
9. Ali, B., Tao, Q., Zhou, Y., Gill, R. A., Ali, S., Rafiq, M. T., Xu, L., & Zhou, W. (2013b). 5-Aminolevolinic acid mitigates the cadmium-induced changes in Brassica napus as revealed by the biochemical and ultra-structural evaluation of roots. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 92, 271–280.
10. Maghsoudi, K., Ashrafi, Dehkordi, E., & Mazloumi, S. M. (2021). The role of brassinosteroids and salicylic acid on spinach growth and cadmium accumulation under cadmium stress. *Vegetable Science*, 4 (2), 15-33.
11. Gill, R. A., Ali, B., Islam, F., Farooq, M. A., Gill, M. B., Mwamba, T. M., & Zhou, W. (2015). Physiological and molecular analyses of black and yellow seeded Brassica napus regulated by 5-aminolivulinic acid under chromium stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 94, 130-143.
12. Tian, T., Ali, B., Qin, Y., Malik, Z., Gill, R. G., Ali, S. H., & Zhou, W. (2014). Alleviation of lead toxicity by 5-aminolevulinic acid is related to elevated growth, photosynthesis, and suppressed ultrastructural damages in oilseed rape. *BioMed Research International*, 1-11.
13. Abbasi, B., Maleki, R., & Pirkharrati, H. (2017). Study effects of mining and gold extraction on amount of water contamination to As and Hg in Zarshoran area of Takab. *Journal of Environmental Geology*, 11 (40), 39-48.
14. Watanabe, F. S., & Olsen, S. R. (1965). Test of an ascorbic acid method for determining phosphorus in water and NaHCO3 extracts from soil. *Soil Science Society of America Journal*, 29 (6), 677-678.
15. Fatemi, H., Esmaielpour, B., Sefidkon, F., Soltani, A. A., & Nematollahzadeh, A. (2020). Investigation the effects of nanoparticles and biostimulants on morphological and biochemical charecteristic and secondary metabolites of coriander under heavy metal contamitioned soils. PhD. Thesis University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.
16. Davoodi, M., Esmaielpour, B., Fatemi, H., & Maleki Lajair, H. (2018). Effect of silicon nutrition on alleviation the detrimental effects of nickel stress in (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of Plant Process and Function*, 7 (24), 25-32.
17. Irigoyen, J. J., Einerich, D. W., & Sánchez-Díaz, M. (1992). Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. plants. *Plant Physiology*, 84 (1), 55-60.
18. Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72 (1-2), 248-254.
19. Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *I Methods Enzymol*, 299, 152-178.
20. Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10 (3), 178-182.

21. Sudhakar, C., Lakshmi, A., & Giridarakumar, S. (2001). Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. *Plant Science*, 161 (3), 613-619.
22. Siddiqui, F., Krishna, S. K., Tandon, P. K., & Srivastava, S. (2013). Arsenic accumulation in *Ocimum* spp. and its effect on growth and oil constituents. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35, 1071-1079.
23. Nabi, A., Naeem, M., Aftab, T., Masroor, M., & Khan, A. (2019). Arsenic toxicity induced changes in growth, photosynthetic pigments, antioxidant machinery, essential oil, menthol and other active constituents of menthol mint (*Mentha arvensis* L.). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 22 (5), 1333-1348.
24. Hekmati, J., Hamidoghli, Y., Esmaielpour, B., & Ghasemnezhad, M. (2021). Effect of arsenic and phosphate Biofertilizer on physiological and Biochemical properties of green mint (*Mentha spicata* L.). *Journal of Plant Production Research*, 28 (1), 127-139.
25. Asghari, M., Masoumi Zavariyan, A., & Yousefi Rad, M. (2020). Investigating the effect of sodium nitroprusside in reducing cadmium toxicity in basil (*Ocimum basilicum* L.). *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 13 (3), 1009-1018.
26. Fattahi, B., Arzani, K., Souri, M. K., & Barzegar, M. (2020). Effect of cadmium and lead on morpho-physiological traits and Photosynthesis of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Iranian Journal of Horticultural Science*, 50(4), 839-849.
27. Ahmad, B., Dar, T. A., Khan, M. M. A., Ahmad, A., Rinklebe, J., Chen, Y., & Ahmad, P. (2022). Oligochitosan fortifies antioxidative and photosynthetic metabolism and enhances secondary metabolite accumulation in arsenic-stressed peppermint. *Plant Science*, 13, 987746.
28. Nahar, K., Rhaman, M. S., Parvin, K., Bardhan, K., Marques, D. N., García-Caparrós, P., & Hasanuzzaman, M. (2022). Arsenic-induced oxidative stress and antioxidant defense in plants. *Stress*, 2 (2), 179-209.
29. Ahmad, R., Ali, S., Hannan, F., Rizwan, M., Iqbal, M., Hassan, Z., ... & Abbas, F. (2017). Promotive role of 5-aminolevulinic acid on chromium-induced morphological, photosynthetic, and oxidative changes in cauliflower (*Brassica oleracea* var. botrytis L.). *Environmental Science and Pollution Research*, 24, 8814-8824.
30. Naeem, M. S., Jin, Z. L., Wan, G. L., Liu, D., Liu, H. B., Yoneyama, K., & Zhou, W. J. (2010). 5-Aminolevulinic acid improves photosynthetic gas exchange capacity and ion uptake under salinity stress in oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Plant Soil*, 332, 405-415.
31. Ali, B., Xu, X., Gill, R. A., Yang, S., Ali, S., Tahir, M., & Zhou, W. (2014). Promotive role of 5-aminolevulinic acid on mineral nutrients and antioxidative defense system under lead toxicity in Brassica napus. *Industrial Crops and Products*, 52, 617-626.
32. Akram, N. A., & Ashraf, M. (2013). Regulation in plant stress tolerance by a potential plant growth regulator, 5-aminolevulinic acid. *Journal of Plant Growth Regulation*, 32, 663-679.
33. Farooq, M. A., Islam, F., Ali, B., Najeeb, U., Mao, B., Gill, R. A., & Zhou, W. (2016). Arsenic toxicity in plants: cellular and molecular mechanisms of its transport and metabolism. *Environmental and Experimental Botany*, 132, 42-52.
34. Singh, R., Kesavan, A. K., Landi, M., Kaur, S., Thakur, S., Zheng, B., ... & Sharma, A. (2020). 5-aminolevulinic acid regulates Krebs cycle, antioxidative system and gene expression in *Brassica juncea* L. to confer tolerance against lead toxicity. *Journal of Biotechnology*, 323, 283-292.
35. Sharma, R. K., & Agrawal, M. (2006). Single and combined effects of cadmium and zinc on carrots: uptake and bioaccumulation. *Journal of Plant Nutrition*, 29 (10), 1791-1804.

36. Zhang, J., Li, D. M., Gao, Y., Yu, B., Xia, C. X., & Bai, J. G. (2012). Pretreatment with 5-aminolevulinic acid mitigates heat stress of cucumber leaves. *Plant Biology*, 56, 780-784.
37. Sher, A., Nawaz, A., Ul-Allah, S., Sattar, A., Ijaz, M., Qayyum, A., & Manaf, A. (2024). Foliar application of 5-aminolevulinic acid improves the salt tolerance in sunflower (*Helianthus annuus* L.) by enhancing the morphological attributes and antioxidant defense mechanism. *Acta Physiologiae Plantarum*, 46 (3), 1-7.
38. Ali, S., Rizwan, M., Zaid, A., Arif, M. S., Yasmeen, T., Hussain, A., & Abbasi, G. H. (2018). 5-Aminolevulinic acid-induced heavy metal stress tolerance and underlying mechanisms in plants. *Journal of Plant Growth Regulation*, 37, 1423-1436.
39. Xu, F., Chang, J., Cheng, S. Y., Zhu, J., Li, L. L., & Cheng, Y. W. H. (2009). Promotive effect of 5-aminolevulinic acid on the antioxidant system in Ginkgo biloba leaves. *African Journal of. Biotechnology*, 8 (16), 3769.
40. Sheteiwy, M., Shen, H., Xu, J., Guan, Y., Song, W., & Hu, J. (2017). Seed polyamines metabolism induced by seed priming with spermidine and 5-aminolevulinic acid for chilling tolerance improvement in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. *Environmental and Experimental Botany*, 137, 58-72.
41. Zhang, H. H., Tang, M., Chen, H., Zheng, C. L., & Niu, Z. C. (2010). Effect of inoculation with AM fungi on lead uptake, translocation and stress alleviation of Zea mays L. seedlings planting in soil with increasing lead concentrations. *European Journal of Soil Biology*, 46 (5), 306-311.
42. Fatemi, H. (2020). Investigation the effects of Nanoparticles and Biostimulants on morphological and biochemical charecteristics and secondary metabolites of Coriandr under heavy metal inated soils (Doctoral dissertation, University of Mohaghegh Ardabili).
43. Verma, S., & Dubey, R. S. (2001). Effect of cadmium on soluble sugars and enzymes of their metabolism in rice. *Plant Biology*, 44, 117-123.
44. Rucińska-Sobkowiak, R. (2016). Water relations in plants subjected to heavy metal stresses. *Acta Physiologiae Plantarum*, 38, 1-13.
45. Chandrakar, V., Naithani, S. C., & Keshavkant, S. (2016). Arsenic-induced metabolic disturbances and their mitigation mechanisms in crop plants: A review. *Biologia*, 71 (4), 367-377.
46. Chakrabarty, D., Trivedi, P. K., Misra, P., Tiwari, M., Shri, M., Shukla, D., ... & Tuli, R. (2009). Comparative transcriptome analysis of arsenate and arsenite stresses in rice seedlings. *Chemosphere*, 74 (5), 688-702.
47. Corpas, F. J., Aguayo-Trinidad, S., Ogawa, T., Yoshimura, K., & Shigeoka, S. (2016). Activation of NADPH-recycling systems in leaves and roots of Arabidopsis thaliana under arsenic-induced stress conditions is accelerated by knock-out of Nudix hydrolase 19 (AtNUDX19) gene. *Journal of Plant Physiology*, 192, 81-89.
48. Aksakal, O., Algur, O. F., Icoglu Aksakal, F., & Aysin, F. (2017). Exogenous 5-aminolevulinic acid alleviates the detrimental effects of UV-B stress on lettuce (*Lactuca sativa* L) seedlings. *Acta Physiologiae Plantarum*, 39, 1-10.
49. Ye JiaBao, Y. J., Chen QiangWen, C. Q., Tao TingTing, T. T., Wang Gui Yuan, W. G., & Xu Feng, X. F. (2016). Promotive effects of 5-aminolevulinic acid on growth, photosynthetic gas exchange, chlorophyll, and antioxidative enzymes under salinity stress in *Prunnus persica* L. Batseh seedling. *Journal of Food and Agriculture*, 28 (11), 1.
50. Yang, H., Zhang, J., Zhang, H., Xu, Y., An, Y., & Wang, L. (2021). Effect of 5-aminolevulinic acid (5-ALA) on leaf chlorophyll fast fluorescence characteristics and mineral element content of Buxus megistophylla grown along urban roadsides. *Horticulture*, 7 (5), 95.

51. Farid, M., Ali, S., Rizwan, M., Ali, Q., Saeed, R., Nasir, T., & Ahmad, T. (2018). Phyto-management of chromium contaminated soils through sunflower under exogenously applied 5-aminolevulinic acid. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 151, 255-265.
52. El-Amier, Y., Elhindi, K., El-Hendawy, S., Al-Rashed, S., & Abd-ElGawad, A. (2019). Antioxidant system and biomolecules alteration in Pisum sativum under heavy metal stress and possible alleviation by 5-aminolevulinic acid. *Molecules*, 24 (22), 4194.
53. Naeem, M. S., Warusawitharana, H., Liu, H., Liu, D., Ahmad, R., Waraich, E. A., ... & Zhou, W. (2012). 5-Aminolevulinic acid alleviates the salinity-induced changes in Brassica napus as revealed by the ultrastructural study of chloroplast. *Plant Physiology and Biochemistry*, 57, 84-92.
54. An, Y., Qi, L., & Wang, L. (2016). ALA pretreatment improves waterlogging tolerance of fig plants. *PloS one*, 11 (1), e0147202.
55. Niu, K., Ma, X., Liang, G., Ma, H., Jia, Z., Liu, W., & Yu, Q. (2017). 5-Aminolevulinic acid modulates antioxidant defense systems and mitigates drought-induced damage in Kentucky bluegrass seedlings. *Protoplasma*, 254, 2083-2094.
56. Sharma, P., & Dubey, R. S. (2005). Lead toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17, 35-52.
57. Seregin, I. V., & Ivanov, V. B. (2001). Physiological aspects of cadmium and lead toxic effects on higher plants. *Russian Journal of Plant Physiology*, 48, 523-544.
58. Khan, M. S., Zaidi, A., & Wani, P. A. (2009). Role of phosphate solubilizing microorganisms in sustainable agriculture-a review. *Agronomy for Sustainable Development*, 551-570.
59. Yordanov, I. (1995). Responses of photosynthesis to stress and plant growth regulators. *Journal of Plant Physiology*, 21 (2-3), 51-70.