اثر سطوح مختلف آرسنات بر جوانه‌زنی، رشد و برخی مولفه‌های فیزیولوژیک گیاه یونجه (*Medicago sativa* L.)

فرنوش زرگری[۱]، لطیفه پوراکبر[۲*]، سید یحیی صالحی لیسار[۳]، جعفر رازقی[۴] و روح‌اله متفکر آزاد[۵]

۱) دانشجوی دکتری گروه زیست‌شناسی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.
۲) دانشیار گروه زیست‌شناسی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.
۳) دانشیار گروه علوم گیاهی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.
۴ و ۵) استادیار گروه علوم گیاهی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

* نویسنده مسئول: l.pourakbar@urmia.ac.ir

این مقاله مستخرج از رساله دکتری می‌باشد.

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۹/۱۶ **تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۲/۰۷**

چکیده

آرسنیک (As) معدنی، یک ماده سرطان‌زای فراگیر محیطی است و مصرف غذاها و آب آشامیدنی آلوده به این عنصر می‌تواند عواقب خطرناک برای سلامتی انسان و جانوران داشته باشد. آرسنیک در واکنش به هوازدگی سنگ‌ها، صخره‌ها، هم‌چنین فعالیت‌های انسانی، در خاک‌های سطحی تجمع می‌یابد. گیاهان در معرض آرسنیک، اثرهای سیتوتوکسیک، مانند کاهش رشد، اختلال عملکرد سلولی و متابولیسم را نشان می‌دهند. در پژوهش حاضر، اثر غلظت‌های مختلف محلول آرسنات سدیم (صفر، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ میلی‌گرم در لیتر) بر روی جوانه‌زنی، رشد و برخی مولفه‌های فیزیولوژیک گیاه یونجه، در محیط هیدروپونیک مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان دادند که با افزایش غلظت آرسنات، درصد و سرعت جوانه‌زنی بذرها، رشد، غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی و غلظت کربوهیدرات‌های ریشه و اندام‌های هوایی گیاهان یونجه کاهش نشان دادند. بررسی شاخص‌های تنش و رشد (شاخص تحمل، درصد سمیت، شاخص بنیه دانه‌رست و رشد نسبی) نیز این اثرهای منفی را تایید کردند. با توجه به نتایج به‌دست آمده، به‌نظر می‌رسد آرسنات، به ویژه در غلظت‌های بالا، با القاء مسمومیت در گیاه و تداخل در فرآیندهای متابولیکی و جذب مواد معدنی، موجب اختلال در دستگاه فتوسنتزی، متابولیسم و مهار رشد و نمو در گیاه یونجه شد.

واژه‌های کلیدی: آرسنیک، سمیت، کربوهیدرات‌ها و رنگیزه‌های فتوسنتزی.

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.2008403.1399.12.45.2.2]

مقدمه

آرسنیک (As)، بیستمین عنصر متداول از نظر فراوانی در محیط است که در پوسته زمین غلظت آن در حدود ۳-۱/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم تخمین زده می‌شود (Zhao *et al*., 2010; Drewniak and Sklodowska, 2013). در طبیعت بیش از ۲۰۰ ماده معدنی حاوی آرسنیک یافت می‌شود (Hoang *et al*., 2010). آرسنیک به‌عنوان ماده غذایی هیچ عملکرد شناخته شده‌ای ندارد و برخی تحقیقات، اثرهای سمّی آن را بر گیاهان نشان داده‌اند (Farooq *et al*., 2015). آرسنیک از طریق هوازدگی صخره‌ها، سوخت‌های فسیلی، فعالیت‌های معدن‌کاوی، آب‌های گرم زیرزمینی، فعالیت‌های کشاورزی (استفاده از کودهای شیمیایی، حشره‌کش‌ها و آبیاری با آب آلوده به آرسنیک) و فعالیت‌های صنعتی، به محیط اضافه می‌شود (Yin *et al*., 2011). این شبه فلز در طبیعت از بین نمی‌رود، بلکه از شکلی به شکل دیگر تغییر می‌کند و بیشتر ترکیبات آن در آب حل می‌شوند. معمول‌ترین فرم‌های قابل دسترس آرسنیک برای جذب گیاهان در محلول خاک، آرسنات، آرسنیت و فرم‌های آلی متیله شده دی‌متیل آرسنیک اسید و مونومتیل آرسنیک اسید هستند. میزان جذب فرم‌های متیله شده آرسنیک خیلی کم‌تر از نوع معدنی آن است (Li *et al*., 2009; Jia *et al*., 2012). فرم اصلی و عمده آرسنیک در خاک‌های هوادار، As^{5+} است که از نظر ساختاری آنالوگ فسفات است و از طریق ناقل فسفات با تمایل بالا، وارد بافت ریشه گیاه می‌شود (Weijun *et al*., 2016). آرسنیک و تعداد زیادی از ترکیبات آن، به‌عنوان ماده سرطان‌زا رده اول، توسط آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان‌شناسی[1] رده‌بندی شده‌اند (Niazi *et al*., 2018) که می‌توانند موجب انواع سرطان‌ها و بیماری‌های قلبی ـ عروقی، کلیوی و یا مرگ انسان شوند (جهان‌بخش شجاعی و همکاران، ۱۳۸۹). انسان به روش‌های مختلف مانند مصرف آب آشامیدنی، غذا، تنفس ذرات گرد و غبار و ذرات اتمسفری در معرض آرسنیک قرار می‌گیرد (Bhattacharya *et al*., 2010; Chatterjee *et al*., 2010). استفاده از آب‌های زیرزمینی آلوده به عنصر آرسنیک، به‌منظور آبیاری محصولات زراعی، غلظت آرسنیک را در خاک‌های سطحی و گیاهان رشد یافته در این نواحی افزایش می‌دهد. آلودگی خاک با آرسنیک یک خطر محیطی جدی به ویژه در مزارع کشاورزی شده است (Mishra *et al*., 2014). آرسنیک پس از جذب توسط ریشه‌های گیاهان، حتی در غلظت‌های پایین هم می‌تواند سمیت ایجاد کند که به‌صورت کاهش درصد جوانه‌زنی، کاهش طول ریشه و اندام هوایی و هم‌چنین کاهش فتوسنتز بروز می‌کند (Swarnakar and Mukherji, 2005; Sawrwar *et al*., 2007; Shri *et al*., 2009). آرسنیک با مهار رشد گیاه، در متابولیسم گیاه مداخله کرده و ب‌طور مستقیم از طریق رقابت با مواد غذایی و یا تغییر در فرآیندهای متابولیکی، در جذب مواد غذایی از جمله فلزات روی، پتاسیم، کلسیم، منیزیم و منگنز اثر می‌گذارد (Liu *et al*., 2008; Leao *et al*., 2014). محدودیت

1- International Agency of Research on Cancer

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.2008403.1399.12.45.2.2]

انباشتگی مواد غذایی به موازات انباشتگی آرسنیک توسط گیاهان گزارش شده است که نتیجه آن کاهش رشد و ناباروری می‌باشد (Williams *et al*., 2009). تحقیقات متعدد نشان داده‌اند که مقدار ناچیز آرسنیک دارای اثر تحریکی روی رشد گیاه می‌باشد، اما درغلظت بالا ممکن است مضرات آن از اثرات سودبخشی آن بیشتر باشد (Azam and Gousul, 2015). گیاهچه‌های آفتابگردان تحت تاثیر آرسنیک کم در خاک (۴ میلی‌گرم در کیلوگرم) بهترین عملکرد را دارند، اما در غلظت-های بالاتر، فرایندهای بیوشیمیایی و متابولیکی ضروری مختل شده و منجربه مرگ گیاه می‌شود (Imran *et al*., 2013). در مطالعات دیگر روی گیاه نخود (Malik *et al*., 2011)، کاهو (Monteiro *et al*., 2012) و برنج (Vromman *et al*., 2013) کاهش وزن تر و خشک، کاهش رشد ریشه و اندام‌های هوایی، هم‌چنین کاهش تعداد برگ و سطح برگ، به موازات افزایش غلظت آرسنیک مشاهده شده است. آرسنیک هم‌چنین موجب پژمردگی، پیچ‌خوردگی، بافت‌مردگی در پهنک برگ (Finnegan and Chen, 2012)، کاهش سطح برگ، میزان فتوسنتز و کاهش حاصلخیزی می‌شود (Duman *et al*., 2010). ورود ترکیب سمی آرسنات سدیم به گیاه یونجه که به‌عنوان گیاه زراعی در تغذیه دام مورد استفاده قرار می‌گیرد، علاوه بر اثرهای منفی در رشد، نمو و عملکرد گیاه، می‌تواند سلامت غذایی جوامع را از طریق زنجیره‌های غذایی با تهدید مواجه سازد. بنابراین در این پژوهش، تغییرات رشدی و فیزیولوژیک ایجاد شده در پاسخ به تنش ناشی از سمیت آرسنات در مرحله جوانه‌زنی و در گیاهچه‌های این گیاه زراعی، مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه و آماده‌سازی بذر

این پژوهش در تابستان سال ۱۳۹۶ با همکاری گروه زیست‌شناسی دانشگاه ارومیه و دانشگاه تبریز در محل دانشگاه تبریز، در قالب یک طرح کاملا تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. بذرهای گیاه یونجه (*Medicago sativa* L.) رقم همدانی، از مرکز تحقیقات کشاورزی استان آذربایجان شرقی واقع در تبریز تهیه گردید و بذرهای سالم، هم شکل، هم اندازه و هم وزن انتخاب گردیدند و با محلول هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد به‌مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی و سپس با آب مقطر شستشو داده شده و پس از خشک شدن جهت انجام آزمایش‌های جوانه‌زنی و کشت گلدانی مورد استفاده قرار گرفتند.

آماده‌سازی محلول‌های تیمار

با استفاده از آرسنات سدیم[1] (محصول شرکت مرک آلمان) محلول‌های آبی آرسنات با غلظت‌های ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر تهیه گردیدند.

1- $Na_2HAsO_4.7H_2O$

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.2008403.1399.12.45.2.2]

بررسی جوانه‌زنی بذرها

برای بررسی جوانه‌زنی بذرها، آزمایش با ۵ تیمار و ۳ تکرار، بر اساس قوانین ISTA[1] انجام گرفت. از بذرهای یکسان استریل شده به تعداد ۲۵ عدد در هر ظرف پتری استریل حاوی کاغذ صافی واتمن شماره ۱ قرار داده شدند و محلول‌های آرسنات سدیم با غلظت‌های ۰، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر استفاده شدند. ظروف پتری حاوی بذرها پس از درزگیری با پارافیلم به مدت ۴۸ ساعت در تاریکی و دمای ۳۰-۲۰ درجه سلسیوس قرار گرفته و پس از آن به دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انتقال یافتند. میانگین سرعت جوانه‌زنی و درصد جوانه‌زنی بذرها در طی ۱۰ روز مورد بررسی قرار گرفت و با استفاده از رابطه‌های ۱ و ۲، مقادیر مربوطه محاسبه گردیدند (Draper, 1985). مولفه‌های مربوط به رشد دانه‌رست‌ها نیز پس از مدت زمان ذکر شده اندازه‌گیری گردیدند و در نهایت، شاخص بنیه گیاهچه‌ها[2] که نشان دهنده توانایی رشد و پویایی گیاهچه‌ها می‌باشد بر اساس رابطه ۳ محاسبه گردید (Abdul-Baki and Anderson, 1973):

رابطه ۱:
$$\text{درصد جوانه‌زنی} = \frac{\text{تعداد کل بذرهای جوانه‌زده بعد از روز دهم}}{\text{تعداد کل بذرهای کشت شده در هر پتری}} \times ۱۰۰$$

رابطه ۲:
$$\overline{R} = \frac{\sum_n}{\sum_D} = \frac{\text{مجموع دانه‌های جوانه‌زده}}{\text{مجموع روزها پس از شروع جوانه‌زنی}}$$

n: تعداد بذرهای جوانه‌زده در روز مشخص، D: تعداد روزهای سپری شده، $\overline{R}$: سرعت متوسط جوانه‌زنی

رابطه ۳: شاخص طولی بنیه گیاهچه = درصد جوانه‌زنی × طول کل دانه‌رست (سانتی متر)

کشت گیاهان

در این پژوهش، بذرهای یونجه هم‌سان و سالم ضدعفونی شده با محلول هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد تحت شرایط آزمایشگاهی با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی در دمای ۳۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی۷۰-۶۰ درصد و شدت نور ۱۲۵۰۰ لوکس به تعداد۵۰ عدد در هر یک از گلدان‌های پلاستیکی با قطر ۱۳سانتی‌متر و ارتفاع

1- International Seed Test Association

2- Vigour Index

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.2008403.1399.12.45.2.2]

۱۳/۵ سانتی‌متر حاوی پرلیت کشت داده شدند و با آب مقطر و محلول غذایی هوگلند آبیاری شدند. سطح آب گلدان‌ها پس از توزین روزانه در حد ظرفیّت مزرعه‌ای تنظیم شد.

تعیین مولفه‌های رشد

گیاهان ۴۵ روزه تحت تیمار ترکیب آرسنات سدیم با غلظت‌های ۰، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر قرار گرفتند و ۴۵ روز پس از تیمار هم‌زمان با بروز علائم مسمومیت در سطح مورفولوژیکی به‌منظور انجام سنجش‌های مورد نظر، گیاهان ۹۰ روزه برداشت شده و سپس ریشه و اندام هوایی تفکیک شدند و پس از اندازه‌گیری طول ریشه و ساقه با خط‌کش و تعیین وزن تر آن‌ها با ترازوی دیجیتالی، در پاکت‌های کاغذی به مدت سه روز در آون با دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد خشک گردیدند. در نهایت وزن خشک آن‌ها اندازه‌گیری شد.

سنجش غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی

سنجش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، b و کاروتنوییدها) بر اساس روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) انجام شد. بدین منظور مقدار ۰/۱گرم نمونه‌های تر برگی گیاهان شاهد و تیمار شده در ۵ میلی‌لیتر استون خالص (۱۰۰ درصد) همگن شدند و سپس میزان جذب نوری محلول کلروفیلی نمونه‌ها پس از صاف کردن با کاغذ صافی، با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Analytic Jena, Specol 1500 ساخت کشور آلمان در طول موج‌های۶۶۲، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شدند و با استفاده از رابطه‌های ۴، ۵ و ۶ محتوای کلروفیل a (C_a)، کلروفیل b (C_b) و کاروتنویید کل (C_t) نمونه‌ها بر حسب میکروگرم بر گرم بافت تر برگ محاسبه شدند (Lichtenthaler, 1987):

رابطه ۴: $$Ca = 11.24\ A_{662} - 2.04\ A_{645}$$

رابطه ۵: $$C_b = 20.13\ A_{645} - 4.19\ A_{662}$$

رابطه ۶: $$C_t = (1000\ A_{470} - 1.90\ C_a - 63.14\ C_b)\ /214$$

سنجش قندهای محلول و نامحلول

محتوای قندهای محلول و نامحلول اندام‌های هوایی و ریشه گیاهان شاهد و تیمار شده با غلظت‌های مختلف آرسنات سدیم، به‌عنوان معیاری از اثر این تیمارها بر فتوسنتز، مطابق روش Kochert (۱۹۷۸) اندازه‌گیری شدند. بدین منظور، مقدار ۰/۰۵ گرم ماده خشک گیاهی پودر شده (ریشه و اندام هوایی) در لوله‌های آزمایش درب‌دار ریخته شد و مقدار ۵ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد به آن‌ها اضافه گردید. سپس به مدت یک هفته در یخچال نگهداری شدند. بعد از طی این مدت،

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.2008403.1399.12.45.2.2]

عصاره‌ها با استفاده از دستگاه سانتریفوژ مدل T.A.D.P (ساخت کشور ایران) به مدت ۱۵ دقیقه در g ×۱۰۰۰۰ در دمای اتاق سانتریفوژ گردیدند و از روشناور برای سنجش قند محلول و از رسوب باقی مانده در روی کاغذ صافی برای سنجش قند نامحلول استفاده گردید. پس از افزودن ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول فنول ۵ درصد و ۲/۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ، به ۱ میلی‌لیتر از عصاره‌های الکلی و نگهداری به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق، جذب نمونه‌های آماده شده برای قند محلول و نامحلول با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۸۵ نانومتر نسبت به شاهد ثبت گردید. غلظت قند نمونه‌ها بر اساس منحنی استاندارد تهیه شده از غلظت‌های مختلف گلوکز محاسبه شد و در نهایت برحسب میلی‌گرم بر گرم بافت خشک ریشه و اندام‌های هوایی بیان گردید.

محاسبه شاخص‌های رشد و تنش

میزان رشد نسبی (RGR[1])، شاخص تحمل (TI[2]) و درصد سمیت (TP[3])، بر اساس رابطه‌های ۷، ۸ و ۹ محاسبه گردیدند:

رابطه ۷:

$$RGR = \Delta y/y\,\Delta t \times 100$$

Δy: مقدار رشد، Δt: مدت زمان رشد (روز)، y: وزن خشک/ وزن تر اولیه اندام (Tomlinson *et al*., 2012).

رابطه ۸:

$$TI=LR_t/LR_c \times 100$$

LR_C طول درازترین ریشه در گیاه شاهد، LR_t طول درازترین ریشه در گیاه تیمار شده می‌باشد (Turner and Marshal, 1972).

رابطه ۹:

$$TP = \left[(C_{root\,length} - T_{root\,length}) \Big/ C_{root\,length} \right] \times 100$$

T: گیاهان تیمار شده و C: گیاهان کنترل (Chiou and Muller, 1972).

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ و آزمون دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ تجزیه و تحلیل گردیده و نمودارهای مربوط به میانگین مولفه‌های سنجیده شده با استفاده از نرم‌افزار اکسل ترسیم گردیدند.

1- Relative Growth Rate

2- Tolerance Index

3- Toxicity Percentage

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.2008403.1399.12.45.2.2]

نتایج و بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان دادند که جوانه‌زنی، رشد و برخی مولفه‌های فیزیولوژیک گیاه یونجه، به‌طور معنی‌داری در واکنش به تیمار محلول آرسنات سدیم تغییر یافتند، به‌طوری‌که با افزایش غلظت تیمار کاهش چشمگیری در شاخص‌های جوانه‌زنی، رشد، غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی و قندهای محلول در گیاهان تیمار شده مشاهده گردید.

شاخص‌های جوانه‌زنی

بر اساس نتایج تجزیه واریانس میانگین درصد جوانه‌زنی و سرعت متوسط جوانه‌زنی در غلظت‌های ۲۰ و ۱۵ میلی‌گرم در لیتر آرسنات، کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد در سطح احتمال ۰/۰۵ نشان داد که با نتایج مطالعه‌های محققین متعددی هم‌خوانی داشت (Sawrwar *et al*., 2007; Muhammad *et al*., 2015). رشد طولی دانه‌رست‌ها و به تبع آن شاخص طولی بنیه گیاهچه‌ها با افزایش غلظت تیمار تا سطح ۱۰ میلی‌گرم در لیتر، نسبت به شاهد کاهش معنی‌دار یافت و در غلظت‌های بالاتر موجب توقف رشد و کاهش شاخص بنیه گیاهچه‌ها به مقدار صفر گردید (جدول‌های ۱ و ۲). اثر منفی آرسنیک بر جوانه‌زنی بذرهای گیاهان برنج (Rakesh *et al*., 2009)، گندم (Duncan *et al*., 2017) و چندین گیاه زراعی مهم از جمله لوبیا، کلم، نخود، جو و خیار نیز گزارش گردیده است (Yoon *et al*., 2015).

جدول ۱: نتایج تجزیه واریانس اثر آرسنات سدیم بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذرهای گیاه یونجه

		میانگین مربعات (MS)			
منابع تغییر	درجه آزادی	سرعت جوانه‌زنی	طول کل دانه‌رست	درصد جوانه‌زنی	شاخص بنیه گیاهچه
تیمار	۴	۲۶/۷۴۵*	۴۳/۷۸۴*	۳۳ /۶۰۰*	۴۱/۰۶۳*
خطا	۱۰	۰/۰۷۲	۰/۲۵۵	۸/۵۳۳	۰/۱۶۵
ضریب تغییرات (درصد)	-	۲/۷۹	۱۳/۹۳	۳/۱۰	۱۱/۶۳

*: معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

جدول ۲: مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف محلول آرسنات سدیم بر شاخص‌های جوانه‌زنی گیاه یونجه

آرسنات سدیم (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	میانگین سرعت جوانه‌زنی	طول کل دانه‌رست (سانتی‌متر)	جوانه‌زنی (درصد)	شاخص بنیه گیاهچه‌ها
۰	۱۲/۰۰±۰/۱۵ a	۹/۰۲±۰/۸۲ a	۹۷/۳۳±۲/۰۷ a	۸/۷۷±۰/۷۰ a
۵	۱۱/۶۶±۰/۱۵ a	۵/۳۵±۰/۴۹ b	۹۴/۶۷±۲/۰۷a	۵/۰۶±۰/۳۸ b
۱۰	۱۱/۳۵±۰/۴۳ a	۳/۷۵±۰/۳۳ c	۹۷/۳۳±۴/۱۳ a	۳/۶۴±۰/۱۶ c
۱۵	۷/۷۹±۰/۲۱ b	۰d	۹۰/۶۷±۲/۰۷ b	۰d
۲۰	۵/۲۰±۰/۱۲c	۰d	۹۰/۶۷±۲/۰۷ b	۰d

هر ستون نشان‌دهنده میانگین سه تکرار±انحراف معیار می‌باشد. ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.20084403.1399.12.45.2.2]

جوانه‌زنی اولین فرآیند فیزیولوژیکی و وابسته به انرژی است که در واکنش به فلزات سنگین تحت اثر قرار می‌گیرد (Shanker *et al*., 2005). طی جوانه‌زنی بسیاری از آنزیم‌ها در تبدیل ذخایر پیچیده دانه به انواع ساده‌تر و انتقال آن‌ها به بخش‌های در حال رشد دانه‌رست‌ها درگیر هستند. بنابراین آرسنیک در غلظت‌های بالا با اختلال در فعالیت آنزیم‌ها و سنتز انرژی، موجب مرگ بافت‌های دانه و مهار جوانه‌زنی می‌شود.

مولفه‌های رشدی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان دادند که تمامی مولفه‌های رشد مورد مطالعه در واکنش به غلظت‌های مختلف محلول آرسنات سدیم در محیط کشت در اکثر موارد کاهش معنی‌دار نشان دادند. غلظت‌های مختلف تیمار موجب کاهش معنی‌دار در وزن تر اندام‌های هوایی و ریشه در سطح احتمال ($P\leq ۰/۰۵$) گردید. بیشینه کاهش در تیمار ۲۰ میلی‌گرم در لیتر به اندازه ۵۹/۱۱ درصد در اندام‌های هوایی و ۵۱/۳۳ درصد در ریشه نسبت به گروه شاهد مشاهده شد. به‌طور کلی وزن خشک اندام‌های هوایی و ریشه گیاه در شرایط تنش و در واکنش به تیمار کاهش نشان داد که بیشترین کاهش در غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر، در اندام‌های هوایی (۵۸/۴۰ درصد) و در ریشه (۵۶/۳۷ درصد)، نسبت به شاهد مشاهده شد. هم‌چنین طول ریشه در غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر کاهش ۱۴/۰۸ درصدی و ارتفاع اندام هوایی، در غلظت‌های ۲۰ و ۱۵ میلی‌گرم در لیتر کاهش معنی‌دار ($P\leq ۰/۰۵$) به ترتیب به میزان ۲۵/۷۲ و ۲۲/۴۴ درصد نسبت به شاهد نشان دادند. سطح برگ نیز با افزایش غلظت تیمار کاهش یافت و بیشترین کاهش (۵۶/۳۳ درصد) در غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نسبت به شاهد مشاهده شد (جدول ۳ و جدول ۴). کاهش رشد به همراه کاهش در غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی در چندین تحقیق دیگر نیز گزارش شده است (شرفی و همکاران، ۱۳۹۰؛ جوانمرد و همکاران، ۱۳۹۷؛ Srivastava *et al*., 2014; Farnese 2015).

جدول ۳: نتایج تجزیه واریانس اثر آرسنات سدیم بر مولفه‌های رشد در گیاه یونجه

		میانگین مربعات (MS)					
منابع تغییر	درجه آزادی	طول ریشه	ارتفاع اندام هوایی	وزن تر اندام هوایی	وزن تر ریشه	وزن خشک اندام هوایی	وزن خشک ریشه	سطح برگ
تیمار	۳	۱/۶۷۹ *	۷/۰۳۰*	۴۴۱۴/۵۰۰*	۹۵۱۴/۸۷۰*	۳۲۲/۱۵۵*	۱۹۹/۹۰۷*	۱۵۰۹/۶۹۰*
خطا	۸	۰/۲۵۴	۰/۶۶۱	۵۵/۱۴۶	۸۵/۷۰۵	۱۳/۶۳۲	۱۳/۲۹۰	۲۷/۰۴۸
ضریب تغییرات (درصد)	-	۴/۶۹	۷/۵۶	۷/۰۵	۵/۶۸	۱۳/۶۹	۱۷/۶۰	۹/۳۷

*: معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.2008403.1399.12.45.2.2]

جدول۴: مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف محلول آرسنات سدیم (میلی‌گرم بر کیلوگرم) بر شاخص‌های رشدی گیاه یونجه

آرسنات سدیم	طول ریشه (سانتی‌متر)	ارتفاع اندام هوایی (سانتی‌متر)	وزن تر اندام هوایی (میلی‌گرم)	وزن تر ریشه (میلی‌گرم)	وزن خشک اندام هوایی (میلی‌گرم)	وزن خشک ریشه (میلی‌گرم)	سطح برگ (میلی‌مترمربع)
۰	۱۱/۴۳±۰/۳۸ a	۱۲/۴۸±۱/۳۳ a	۱۵۴/۴۵±۴/۳۷a	۲۲۸/۵۲±۵/۹۶a	۴۰/۷۹±۴/۲۷a	۳۲/۰۶±۳/۴۳a	۸۷/۷۸±۶/۸۰a
۱۰	۱۱/۲۷±۰/۷۳ a	۱۱/۵۹±۰/۲۳ a	۱۱۱/۸۹±۷/۴۷ b	۱۹۰/۷۵±۷/۳۰b	۲۸/۴۹±۳/۶۹b	۲۱/۱۳±۴/۲۴b	۵۳/۵۰±۳/۸۲b
۱۵	۱۰/۴۶±۰/۳۲ ab	۹/۶۸±۰/۴۴b	۹۱/۸۸±۵/۶۳ c	۱۲۰/۹۳±۹/۷۹c	۲۱/۶۰±۳/۳۰bc	۱۵/۶۷±۳/۰۴bc	۴۲/۵۰±۳/۵۵c
۲۰	۹/۸۲±۰/۲۱b	۹/۲۷±۰/۳۳b	۶۳/۱۶±۸/۳۶d	۱۱۱/۲۲±۹/۰۹c	۱۶/۹۷±۰/۹۱c	۱۳/۹۷±۱/۸۸c	۳۸/۳۳±۳/۶۱c

هر ستون نشان‌دهنده میانگین سه تکرار± انحراف معیار می‌باشد. ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.

کاهش رشد ممکن است مربوط به کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی در اثر آسیب شدید ناشی از سطوح بالای آرسنیک و القاء مسمومیت باشد (Mishra *et al*., 2014) که یکی از نشانه‌های اولیه مسمومیت با فلزات و شبه فلزات و هم‌چنین یکی از مولفه‌های مورد استفاده به‌عنوان شاخص زیستی استرس اکسیداتیو ناشی از فلزات سنگین می‌باشد (Leao *et al*., 2014). آرسنیک با القاء تولید زیاد گونه‌های فعال اکسیژن موجب پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی، غیر فعال‌سازی آنزیم-ها و آسیب غشاها می‌شود که منتهی به نشت الکترولیت‌های سلولی و جذب نامتعادل آب و مواد غذایی به داخل سلول‌های گیاه می‌شود (Paivoke and Simola, 2001). با اختلال در جذب عناصری مانند منیزیم به‌عنوان اتم مرکزی مولکول کلروفیل و آهن که برای سنتز کلروفیل لازم است، محتوای کلروفیل کاهش می‌یابد. آرسنیک هم‌چنین ممکن است جذب مواد غذایی (ماکرونوترینت و میکرونوترینت) را از طریق رقابت با آن‌ها یا از طریق تغییر در فرآیندهای متابولیکی، تحت تاثیر قرار دهد و از این طریق نیز باعث کاهش رشد گیاه گردد (Manomita *et al*., 2004; Leao *et al*., 2014). در تحقیق حاضر کاهش بیوماس در گیاه یونجه می‌تواند ناشی از کاهش محتوای کلروفیل و آسیب فتوسیستم، کاهش ازت و فسفر، تحت اثر آرسنیک باشد که بر عملکرد دستگاه فتوسنتزی و هم‌چنین مسیر متابولیسم ازت و در نهایت محتوای پروتئین تاثیر گذاشته و تولید خالص اولیه را کاهش داده است (Wilkins, 1978). کاهش ارتفاع گیاه نیز می‌تواند به‌دلیل اثر عوامل فوق روی فعالیت مریستم‌زایی باشد (Iqbal and Shafiq, 1987). Sun و همکاران (۲۰۱۱) نیز دلیل اصلی کاهش رشد اندام‌های هوایی و ریشه را انباشتگی آرسنیک در ریشه و ممانعت از انتقال موثر عناصر ضروری به اندام‌های هوایی ذکر کردند.

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.2008403.1399.12.45.2.2]

شاخص‌های رشد و تنش

بر اساس نتایج به‌دست آمده از تجزیه واریانس این شاخص‌ها (جدول ۵) مشخص گردید که با افزایش غلظت تیمار، میزان رشد نسبی به‌طور معنی‌داری ($P\leq$۰/۰۵) نسبت به گیاه شاهد کاهش یافت (شکل ۱- الف). هم‌چنین شاخص تحمل در غلظت‌های ۲۰ و ۱۵ میلی‌گرم در لیتر محلول آرسنات کاهش معنی‌داری نسبت به گیاه شاهد نشان داد، به‌طوری که کم‌ترین تحمل در غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر برابر ۷۷/۶۴ درصد بود (شکل ۱- ب). درصد سمیت نیز با افزایش غلظت تیمار، افزایش معنی‌دار ($P\leq$۰/۰۵) نسبت به گروه شاهد نشان داد که بیشترین مقدار ۱۴/۰۲ درصد مربوط به غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر بود (شکل ۱- ج). گیاهانی مانند سرخس آبزی[1]، کاهوی آبی[2] و عدسک آبی[3] که انباشت‌گر آرسنیک می‌باشند، با وجود کاهش رشد نسبی در حضور آرسنیک، توانستند به رشد خود ادامه دهند (Farnese *et al*., 2014; Farnese *et al*., 2017; Borges *et al*., 2019). مشابه چنین نتیجه‌ای در برخی ارقام گندم نیز مشاهده شد (Cai *et al*., 2015). حفظ و ادامه رشد در برخی گیاهان در حضور آرسنیک، یک شاخص مهم برای ارزیابی تحمل آن‌ها نسبت به این آلاینده به‌شمار می‌رود که احتمالا به‌دلیل توسعه مکانیسم‌های تحمل از جمله فعال‌سازی سیستم دفاعی (آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی) به‌منظور کاهش آسیب اکسیداتیو (آسیب مولکول‌های زیستی و ساختارهای تحت سلولی) ناشی از گون‌های اکسیژن فعال مازاد تولید شده در گیاه می‌باشد (Gusman *et al*. 2013).

جدول ۵: نتایج تجزیه واریانس اثر آرسنات سدیم برشاخص‌های رشد و تنش در گیاه یونجه

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات (MS)		
		سرعت رشد نسبی	شاخص تحمل	درصد سمیت
تیمار	۳	۲۰۲/۶۴۱*	۲۸۴/۰۱۸*	۱۱۱/۴۵۰*
خطا	۸	۸/۱۳۶	۲۲/۴۴۵	۰/۶۰۲
ضریب تغییرات (درصد)	-	۱۳/۴۶	۵/۴۰	۱۲/۵۹

*: معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

مولفه‌های فیزیولوژیکی

بررسی نتایج به‌دست آمده از تجزیه واریانس برخی مولفه‌های فیزیولوژیکی (جدول ۶)، کاهش معنی‌دار ($P\leq$۰/۰۵) غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b، و کاروتنویید کل) را در بیشتر تیمارها نسبت به شاهد نشان داد که بیشترین کاهش در محتوای کلروفیل a، در تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر و در کلروفیل b و کاروتنوییدها در غلظت۲۰

1- *Azolla caroliniana*

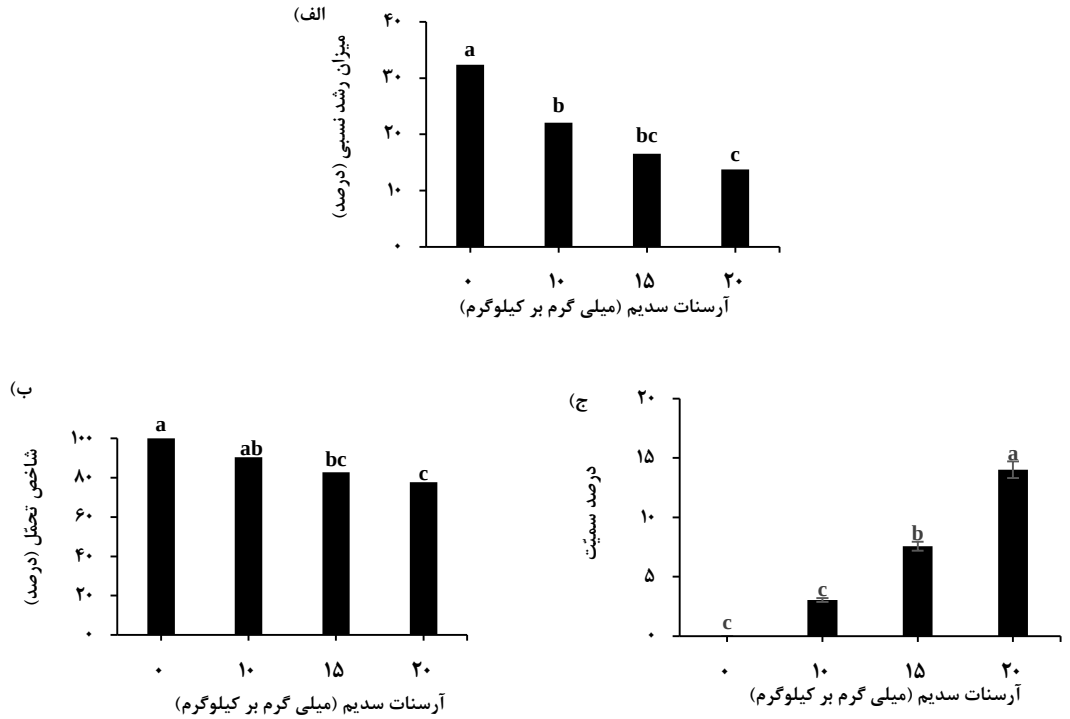
2- *Pistia stratiotes*

3- *Lemna valdiviana*

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.2008403.1399.12.45.2.2]

میلی‌گرم در لیتر آرسنات بود (شکل ۲- الف). هم‌چنین محتوای قند محلول در ریشه در تمامی سطوح تیمار و در اندام‌های هوایی در غلظت‌های ۲۰ و ۱۵ میلی‌گرم در لیتر کاهش نشان دادند. بیشترین کاهش در هر دو نوع اندام گیاهی در غلظت ۱۵ میلی‌گرم در لیتر تیمار بود (شکل ۲- ب). محتوای قند نامحلول ریشه در غلظت ۱۵ میلی‌گرم در لیتر و اندام‌های هوایی در تمامی غلظت‌ها کاهش معنی‌داری ($P\leq$۰/۰۵) نشان دادند که بیشترین کاهش مربوط به تیمار ۲۰ میلی‌گرم در لیتر بود (شکل ۲- ج).



شکل ۱: نمودارهای مقایسه اثر غلظت‌های مختلف محلول آرسنات سدیم بر میزان رشد نسبی (الف)، شاخص تحمل (ب) و درصد سمیت (ج) درگیاه یونجه

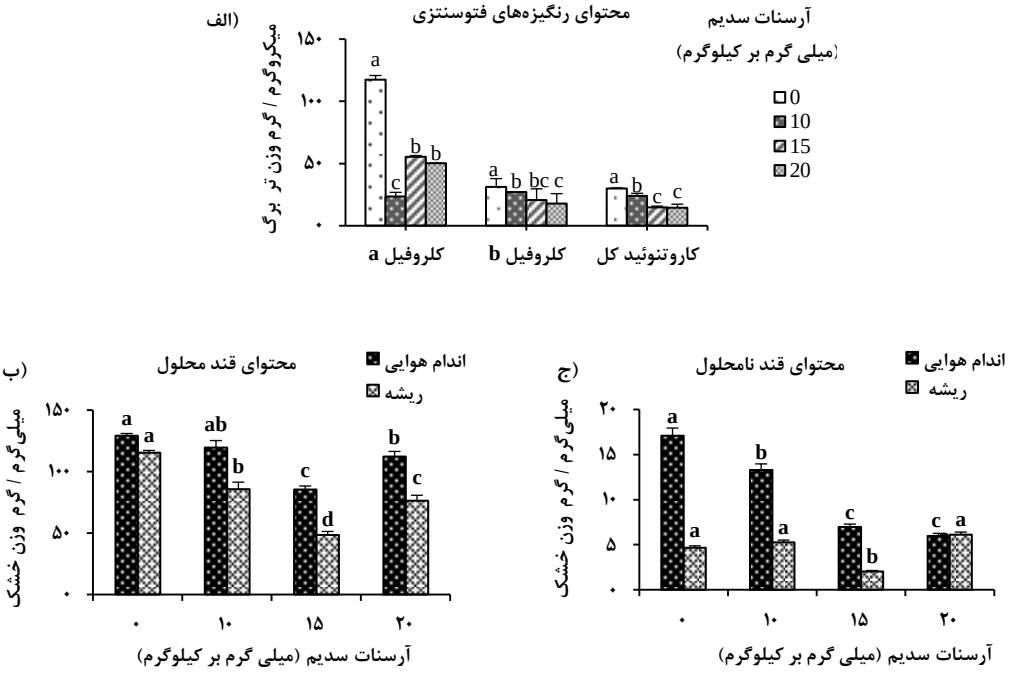
مقادیر، میانگین سه تکرار ± انحراف معیار می‌باشد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن انجام شده و حروف غیر مشترک بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح $P\leq$ ۰/۰۵ است.

جدول ۶: نتایج تجزیه واریانس اثر آرسنات سدیم برمولفه‌های فیزیولوژیکی در گیاه یونجه

		میانگین مربعات (MS)						
		ریشه		اندام‌های هوایی				
منابع تغییر	درجه آزادی	قند محلول	قند نامحلول	قند محلول	قند نامحلول	کلروفیل a	کلروفیل b	کاروتنویید کل
تیمار	۳	۲۲۸۶/۵۴۱*	۹/۲۵۵*	۱۰۶۳/۵۱۷*	۸۳/۶۸۰*	۴۷۳۵/۴۳۹*	۹۹/۸۹۱*	۱۶۷/۸۳۳*
خطا	۸	۲۰/۲۵۴	۰/۳۳۲	۲۳/۲۷۹	۱/۵۰۷	۵۹/۱۵۸	۴/۲۹۰	۷/۸۰۳
ضریب تغییرات (درصد)	-	۵/۶۱	۱۲/۷۵	۴/۳۲	۱۱/۳۵	۱۲/۴۹	۸/۵۸	۱۳/۵۲

*: معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.20084403.1399.12.45.2.2]



شکل ۲: نمودارهای مقایسه اثر غلظت‌های مختلف محلول آرسنات سدیم بر محتوای کلروفیل a, b و کاروتنویید کل (الف)، محتوای قند محلول و نامحلول ریشه و اندام هوایی (ب و ج) در گیاه یونجه

مقادیر، میانگین سه تکرار ± انحراف معیار می‌باشد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن انجام شده و حروف غیر مشترک بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح $P\leq ۰/۰۵$ است.

مشخص شده است که آرسنیک، غلظت رنگیزه‌ها را از طریق اثر منفی روی یکی از آنزیم‌های بیوسنتزی مهم کلروفیل، گاما- آمینولولینیک اسید دهیدراتاز که تبدیل ۵ آمینولوولینیک اسید به پرفوبیلینوژن را انجام می‌دهد که یکی از حساس‌ترین مراحل بیوسنتز کلروفیل در تنش فلزات سنگین می‌باشد (لاهوتی و همکاران، ۱۳۸۷). هم‌چنین با القاء فعالیت آنزیم تخریب‌کننده کلروفیل، کلروفیلاز را تغییر می‌دهد (Jain and Gadre, 2004). اختلال در وضعیت مواد مغذی، هنگام در معرض قرار گرفتن آرسنیک، به‌عنوان دلیلی برای کاهش سطح رنگیزه‌ها گزارش شده است (Li *et al*., 2006). کاروتنوییدها، رنگیزه‌های فتوسنتزی هستند که نقش مهمی در حفاظت رنگیزه کلروفیل تحت شرایط استرس دارند که این عمل را با خاموش‌سازی واکنش‌های فتودینامیک که منتهی به از دست رفتن کلروفیل می‌شود، انجام می‌دهند. افزایش در محتوای این رنگیزه‌ها در تحقیقات متعددی گزارش شده است (هوشنی، ۱۳۹۷؛ Vajpayee *et al*., 2001). اگرچه در مطالعه حاضر چنین پاسخی مشاهده نگردید، احتمالا می‌تواند مربوط به آسیب شدید ناشی از غلظت‌های سمی آرسنات مورد استفاده در گیاه یونجه باشد. آرسنات با جایگزین کردن آرسنیک به جای فسفات در مولکول‌های هدف مثل DNA، RNA و متابولیت‌های فسفریله شده دیگر، موجب مهار سنتز آدنوزین تری فسفات و واکنش‌های فسفریلاسیون مهم در

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.2008403.1399.12.45.2.2]

متابولیسم اولیه می‌گردد (Tripathi *et al*., 2007; Chen *et al*., 2012). شواهد مهم و قابل توجهی مبنی بر تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)[1]، همراه با تبدیل As^{5+} به As^{3+}، هنگام در معرض قرار گرفتن آرسنیک معدنی وجود دارد که منجر به سنتز آنزیم‌هایی مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند گلوتاتیون برای مهار گونه‌های فعال اکسیژن می‌گردد (Gupta *et al*., 2009; Dixit *et al*., 2015). رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌توانند موجب آسیب DNA گردیده و با عمل پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی و تخریب غشاهای سلولی موجب آسیب دستگاه فتوسنتزی و کاهش کارایی فتوسنتز شوند (Sharma and Dietz, 2009; Ahmad *et al*., 2012) که عواقب منفی بسیاری مانند کاهش آسیمیلاسیون کربن، رشد، بقا و تولید مثل را به دنبال دارد (Tripathi *et al*., 2012; Gupta and Ahmad, 2014).

در تحقیق حاضر، کاهش معنی‌دار ($P\leq ۰/۰۵$) در محتوای کربوهیدرات‌های گیاهان تحت تیمار، به موازات افزایش غلظت آرسنات در محیط کشت مشاهده گردید که می‌تواند به دلایل متعددی از جمله آسیب دستگاه فتوسنتزی، کاهش بازده فتوسنتز و به تبع آن کاهش کربوهیدرات‌ها (قربانلی، ۱۳۸۶)، هم‌چنین نیاز کم به مواد فتوسنتزی به‌دلیل کاهش رشد در گیاه یا به علت مصرف قندها در جهت سنتز پروتئین‌ها و پلی‌پپتیدها باشد. کاهش محتوای کربوهیدرات‌ها در این پژوهش، مخالف نتایج حاصل از تحقیق Bhattachary و همکاران (۲۰۱۳) بود. ساز و کار مقاومت به آرسنیک در گیاه با استراتژی‌های مختلفی انجام می‌گیرد. این ساز و کارها می‌توانند هم موجب آسیمیلاسیون کم‌تر آرسنیک از طریق اجتناب از جذب و هم کاهش انتقال آن به اندام‌های هوایی گردند. بنابراین آرسنیک می‌تواند با فرآیندهای مهم متابولیکی مرتبط با فتوسنتز و تنفس تداخل کند و بسته به شدت آن می‌تواند در نهایت موجب مرگ گیاه گردد (Lalith *et al*., 2018).

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که آرسنات به عنوان یک ماده سمی به‌ویژه در غلظت‌های بالا، با القاء مسمومیت در مرحله جوانه‌زنی موجب کاهش جوانه‌زنی و رشد دانه‌رست‌های گیاه یونجه شد. هم‌چنین، در مرحله رشد نیز پس از جذب توسط ریشه، باعث آسیب دستگاه فتوسنتزی و کاهش کارایی آن شد که اثر آن به‌صورت کاهش در محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b، و کاروتنویید کل) و به دنبال آن کاهش کربوهیدرات‌ها در اندام‌های هوایی و ریشه، مشاهده شد. این اختلال‌های فیزیولوژیکی و متابولیکی ایجاد شده تحت اثر آرسنات، در نهایت منتهی به کاهش رشد گیاه زراعی یونجه شد.

1- Reactive Oxygen Species

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.20084403.1399.12.45.2.2]

منابع

جوانمرد، ح.، مختاری کرچگانی، ح. و غلامی، ع. ۱۳۹۷. اثر پلیمر سوپر جاذب، اسید هیومیک و باکتری بر صفات فیزیولوژیک یونجه یکساله (*Medicago scutella*) در خاک‌های آلوده به سرب. فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی گیاهان زراعی. ۱۰ (۳۷): ۱۳۸-۱۱۹.

جهان‌بخش شجاعی، م.، خدادادی، ا.، کلینی، م.ج. و هاشم‌زاده، ف. ۱۳۸۹. بررسی توزیع فلز آرسنیک در منابع آلاینده آب و خاک با استفاده از GIS در استان آذربایجان شرقی. مجموعه مقالات کنگره بین المللی معدن، خانه معدن ایران، تهران. صفحات ۲۹-۲۶.

شرفی، م.، رنجبر، ا. و بیگی هراگانی، ح.ا. ۱۳۹۰. مقایسه اثر کاربرد کبالت موجود در خاک بر ساخت کلروفیل a، b و کلروفیل کل در دو رقم لوبیاچیتی خمین و تلاش. فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی گیاهان زراعی. ۳ (۱۲): ۶۸-۵۵.

قربانلی، م.، میقانی، ف. و اسداللهی، ب. ۱۳۸۶. اثر تنش مس کلرید بر غلظت کلروفیل، انباشتگی کربوهیدرات و برخی از شاخص‌های رشد در دو رقم کلزا (*Brassica napus* L.). نشریه پژوهش و سازندگی در زراعت و باغبانی. ۷۶: ۱۴۱-۱۳۵.

لاهوتی، م.، گنجعلی، ع.، راشد محصل، م.ح. و خطیب، م. ۱۳۸۷. اثر غلظت‌های مختلف نیکل بر خصوصیات مورفولوژیکی گیاه جعفری. نشریه پژوهش‌های زراعی ایران. ۶ (۲): ۳۰۲-۲۹۵.

هوشنی، م. ۱۳۹۷. بررسی اثرات فیزیولوژیک و سرنوشت دو ترکیب فنانترن و پیرن در گیاه ذرت (*Zea mays* L.). پایان‌نامه دکتری فیزیولوژی گیاهی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز. صفحه ۷۰.

Abdul-Baki, A.A. and Andersom, J.D. 1973. Vigour determination in soyabean by multiple criteria. Crop Science. 10: 31-34.

Ahmad, M.A., Gaur, R. and Gupta, M. 2012. Comparative biochemical and RAPD analysis in two varieties of rice (*Oryza sativa*) under arsenic stress by using various biomarkers. Journal of Hazardous Materials. 217: 141–148.

Azam, S.M. and Gousul, G. 2015. Arsenic Removal from Contaminated Waters by Fe-Based (hydro) Oxides and its Phytoavailability in Soil-Plant System. Ph.D. Thesis, Universita degli Studi di Napoli Federico II, Neapel, Italy.

Bhattacharya, P., Samal, A.C., Majumdar, J. and Santra, S.C. 2010. Accumulation of arsenic and its distribution in rice plant (*Oryza sativa* L.) in Gangetic West Bengal, India. Journal of Paddy and Water Environment. 8: 63-70.

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.2008403.1399.12.45.2.2]

Bhattacharya, P., Samal, A.C., Majumdar, J., Banerjee, S. and Santra, S.C. 2013. In vitro assessment on the impact of soil arsenic in the eight rice varieties of West Bengal, India. Journal of Hazardous Materials. 262: 1091–1097.

Borges, A.C., Souza, T.D., Braga, A.F., Veloso, R.W. and Matos, A. 2019. Phytoremediation of arsenic-contaminated water by *Lemna Valdiviana*: An optimization study. Chemosphere. 234: 402-408.

Cai, Q. SH., Lou, L.Q., Yang, N., Meng, J.R., Zhu, SH. and Shi, G.L. 2015. Variation in arsenic accumulation and translocation among wheat cultivars: The relationship between arsenic accumulation, efflux by wheat roots and arsenate tolerance of wheat seedlings. Journal of Hazardous Materials. 289: 190–196.

Chatterjee, D., Halder, D., Majumder, S., Biswas, A., Nath, B., Bhattacharya, P., Bhowmick, S., Mukherjee-Goswami, A., Saha, D., Hazra, R., Maity, P.B., Chatterjee, D., Mukherjee, A. and Bundschuh, J. 2010. Assessment of arsenic exposure from groundwater and rice in Bengal Delta Region, West Bengal, India. Water Research. 44: 5803–5812.

Chen, X., Li, H., Chan, W.F., Wu, C., Wu, F., Wu, S. and Wong, M.H. 2012. Arsenite transporters expression in rice (*Oryza sativa* L.) associated with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) colonization under different levels of arsenite stress. Chemosphere. 89: 1248–1254.

Chiou, C.H. and Muller, C.H. 1972. Allelopathic mechanism of *Archtostaphylous glandulosa* variety Zazaeisis. American Midland Naturalist. 88: 324-347.

Dixit, G., Singh, A.P., Kumar, A., Singh, P.K., Kumar, S., Dwivedi, S., Trivedi, P.K., Pandey, V., Norton, G.J., Dhankher, O.P. and Tripathi, R.D. 2015. Sulfur mediated reduction of arsenic toxicity involves efficient thiol metabolism and the antioxidant defense system in rice. Journal of Hazardous Materials. 298: 241–251.

Draper, S.R. 1985. International rules for seed testing, seed. Journal of Agricultural Science and Technology. 13 (2): 322-323.

Drewniak, L. and Sklodowska, A. 2013. Arsenic-transforming microbes and their role in biomining processes. Environmental Science and Pollution Research. 20: 7728–7739.

Duman, F., Ozturk, F. and Aydin, Z. 2010. Biological responses of duckweed (*Lemna minor* L.) exposed to the inorganic arsenic species As (III) and As (V): Effects of concentration and duration of exposure. Ecotoxicology. 19: 983–993.

Duncan, E.G., Maher, W.A., Foster, S.D., Krikowa, F., O'Sullivan, C.A. and Roper, M.M. 2017. Dimethylarsenate (DMA) exposure influences germination rates, arsenic uptake and arsenic species formation in wheat. Chemosphere. 181: 44–54.

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.2008403.1399.12.45.2.2]

Farnese, F.S., Oliveira, J.A., Farnese, M.S., Gusman G.S., Silveira, N.M. and Siman, L.I. 2014. Uptake arsenic by plants: Effects on mineral nutrition, growth and antioxidant capacity. IDESIA (Chile) Enero-Febrero. 32 (1): 99-106.

Farnese, F.S., Felipe, R.T.A., Oliveira, J.A. and Leao, G.A. 2017. Phytoremediation of arsenic-contaminated water: the role of antioxidant metabolism of *Azolla caroliniana* Willd. Acta Botanica Brasilica. 31 (2): 161-168.

Farooq, M.A., Li, L., Ali, B., Gill, R.A., Wang, J., Ali, S, Gill, M.B. and Zhou, W.J. 2015. Oxidative injury and antioxidant enzymes regulation in arsenic-exposed seedlings of four *Brassica napus* L. cultivars. Environmental Science and Pollution Research. 22: 10699–10712.

Finnegan, P.M. and Chen, W. 2012. Arsenic toxicity: The effects on plant metabolism. Archive of Frontiers in Physiology. 3: 182.

Gupta, M., Sharma, P., Sarin, N.B. and Sinha, A.K. 2009. Differential response of arsenic stress in two varieties of *Brassica juncea* L. Chemosphere. 74: 1201–1208.

Gupta, M. and Ahmad, M.A. 2014. Arsenate induced differential response in rice genotypes. Ecotoxicology and Environmental Safety. 107: 46–54.

Gusman, G.S., Oliveira, J.A., Farnese, F.S. and Cambraia, J. 2013. Arsenate and arsenite: The toxic effects on photosynthesis and growth of lettuce plants. Acta Physiologiae Plantarum. 35: 1201–1209.

Hoang, T.H., Ju-Yong, K., Sunbaek, B. and Kyoung-Woong, K. 2010. Source and fate of As in the environment. Geosystems Engineering. 13: 35-42.

Imran, M.A., Khan, R.M., Ali, Z. and Mahmood, T. 2013. Toxicity of arsenic (As) on seed germination of sunflower (*Helianthus annuus* L.). Physical Science International Journal. 8: 840–847.

Iqbal, M.Z. and Shafiq, M. 1987. Plant sociology around the stone quarries and processing plants of Karachi and Thatta districts. International Journal of Ecology and Environmental Sciences. 13: 33-35.

Jain, M. and Gadre, R. 2004. Inhibition of δ-amino levulinic acid dehydratase activity by arsenic in excised etiolated *maize* leaf segments during greening. Plant Physiology. 161: 251–255.

Jia,Y., Huang, H., Sun, G.X., Zhao, F.J. and Zhu, Y.G. 2012. Pathways and relative contributions to arsenic volatilization from rice plants and paddy soil. Environmental Science and Technology. 46: 8090–8096.

Kochert, G. 1978. Carbohydrate determination by the phenol sulfuric acid method. In: Hellebust J.A, Craigie J.S (eds), Handbook of: Physiological and Biochemical Methods. Cambridge University, Press Cambridge. 95–97.

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.2008403.1399.12.45.2.2]

Lalith, D.B., Suriyagodaa, B.C., Klaus, D. and Hans, L.C. 2018. Mechanism of arsenic uptake, translocation and plant resistance to accumulate arsenic in rice grains. Agriculture, Ecosystems and Environment. 253: 23-37.

Leao, G.A., Oliveira, J.O., Felipe, R.T.A., Farnese, F.S. and Gusman, G.S. 2014. Anthocyanins, thiols, a antioxidant scavenging enzymes are involved in *Lemna gibba* tolerance to arsenic. Journal of Plant Interactions. 9: 143-151.

Li, W.X., Chen, T.B., Huang, Z.C., Lei, M. and Liao, X.Y. 2006. Effect of arsenic on chloroplast ultrastructure and calcium distribution in arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L. Chemosphere. 62: 803–809.

Li, R.Y., Ago, Y., Liu, W.J., Mitani, N. and Feldmann, J. 2009. The rice aquaporin Lsi1 mediates uptake of methylated arsenic species. Plant Physiology. 150: 2071–80.

Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids; pigments of photosynthetic membranes. Method in Enzymology. 148: 350-382.

Liu, Q., Hu, C., Tan, Q., Sun, X., Su, J. and Liang, Y. 2008. Effects of As on As uptake, speciation, and nutrient uptake by winter wheat (*Triticum aestivum* L.) under hydroponic conditions. Journal of Environmental Science. 20: 326-331.

Malik, J.A., Goel, S., Sandhir, R. and Nayyar, H. 2011. Uptake and distribution of arsenic in chickpea: Effects on seed yield and seed composition. Communications in Soil Science and Plant Analysis. 42: 1728-1738.

Manomita, P., Niidri, B., Buldbul, B. and Archana, SH. 2004. Comparision of mercury, lead and arsenic with respect to genotoxic effect on plant systems the development of genetic tolerance. Enviromental and Experimental Botany. 52: 199-223.

Mishra, B.K., Dubey, C.S., Shukla, D.P., Bhattacharya, P. and Usham, A.L. 2014. Concentration of arsenic by selected vegetables cultivated in the Yamuna flood plains (YFP) of Delhi, India. Environmental Earth Sciences. 72: 3281-3291.

Monteiro, C., Santos, C.A.O., Pinho, S.N., Oliveira, H., Pedrosa, T. and Dias, M.C. 2012. Cadmium-induced cyto-and genotoxicity are organ-dependent in lettuce. Chemical Research in Toxicology. 25: 1423-1434.

Muhammad, A.I., Zahoor, A.S. and Muhammad N.C. 2015. Arsenic (As) Toxicity to Germination and Vegetative Growth of Sunflower (*Helianthus annuus* L.). Polish Journal of Environmental Studies. 24 (5): 1993-2002.

Niazi, N.K., Bibi, I., Shahid, M., Ok, Y.S., Burton, E.D., Wang, H., Shaheen, S.M., Rinklebe, J. and Luttge, A. 2018. Arsenic removal by perilla leaf biochar in aqueous solutions and groundwater: An integrated spectroscopic and microscopic examination. Environmental Pollution. 232: 31-41.

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.2008403.1399.12.45.2.2]

Paivoke, A.E.A. and Simola, L.K. 2001. Arsenate toxicity to *Pisum sativum*: mineral nutrients chlorophyll content and phytase activity. Ecotoxicology and Environmental Safety. 49: 111-121.

Rakesh, T., Manju, S., Smita, K., Debasis, C., Prabodh, K.T., Shekhar, M., Prashant, M., Devesh, S., Seema, M., Sudhakar, S. and Rudra, D.T. 2009. Effect of arsenic on growth, oxidative stress, and antioxidant system in rice seedlings. Ecotoxicology and Environmental Safety. 72: 1102-1110.

Sawrwar, A.K.M.G., Hossain, M.A. and Uddin, M.N. 2007. Toxicity of arsenic on germination and seedling growth of rice. Bangladesh Journal of Scientific Research. 4 (1-2): 153-156.

Shanker, A.K., Carlos, C. and Herminia, L.T. 2005. Chromium toxicity in plants. Environment International. 31: 739-753.

Sharma, S.S. and Dietz, K.J. 2009. The relationship between metal toxicity and cellular redox imbalance. Trends Plant Science. 14: 43-50.

Shri, M., Kumar, S., Chakrabarty, D., Trivedi, P.K., Mallick, S., Misra, P., Shukla, D., Mishra, S., Srivastava, S., Tripathi, R.D. and Tuli, R. 2009. Effect of arsenic on growth oxidative stress, and antioxidant system in rice seedlings. Ecotoxicology and Environmental Safety. 72: 1102-1110.

Srivastava, S., Siddiqui, F. and Tandon, P.K. 2015. Analysis of arsenic induced physiological and biochemical responses in a medicinal plant, *Withania somnifera*. Physiology and Molecular Biology of Plants. 21 (1): 61-69.

Sun, H.H., Sun, A.C., Myung-Hyun, L., Bo, R.M., Cheolho, Y., Hyeon, Y. and Kynungsuk, C. 2011. Effect of arsenic species on the growth and arsenic accumulation in *Cucumis sativus*. Environmental Geochemistry and Health. 33: 41-47.

Swarnakar, A. and Mukherji, S. 2005. Amelioration of arsenic toxicity by phosphate salts in mungbean seedlings. Journal of Environmental Biology. 26 (3): 551-555.

Tomlinson, K.W., Sterck, F.J., Bongers, F., da Silva, D.A., Barbosa, E.R.M., Ward, D., Bakker, F.T., van Kaauwen, M., Prins, H.H.T., de Bie, S. and van Langevelde, F. 2012. Biomass partitioning and root morphology of savanna trees across a water gradient. Journal of Ecology. 100: 1113-1121.

Tripathi, R.D., Srivastava, S., Mishra, S., Singh, N., Tuli, R., Gupta, D.K. and Maathuis, F.J.M. 2007. Arsenic hazards: strategies for tolerance and remediation by plants. Trends in Biotechnology. 25: 158-165.

Tripathi, P., Mishra, A., Dwivedi, S., Chakrabarty, D., Trivedi, P.K., Singh, R.P. and Tripathi, R.D. 2012. Differential response of oxidative stress and thiol metabolism in contrasting rice genotypes for arsenic tolerance. Ecotoxicology and Environmental Safety. 79: 189-198.

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.2008403.1399.12.45.2.2]

Turner, L.G. and Marshal, C. 1972. Accumulation of Zinc by subcellular fraction of root of *Agrostis tennis* in relation of Zinc tolerance. New Phytologist. 71: 671-676.

Vajpayee, P., Rai, U.N., Ali, M.B., Tripathi, R.D., Yadv, V., Sinha, S. and Singh, S.N. 2001. Chromium induced physiologic changes in *Vallisneria spiralis* L. and its role in phytoremediation of tannery effluent. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 67: 246-256.

Vromman, D., Lutts, S., Lefevre, I., Somer, L., De Vreese, O., Slejkovec, Z. and Quinet, M. 2013. Effects of simultaneous arsenic and iron toxicities on rice (*Oryza sativa* L.) development, yield-related parameters and As and Fe accumulation in relation to As speciation in the grains. Plant and Soil. 371: 199-217.

Weijun, Z., Muhammad, A., Farooq, F.A., Islam, B., Ali Ullah, N., Bizeng, M., Rafaqat, A., Gill, G.Y. and Kadambot, H.M.S. 2016. Arsenic toxicity in plants: Cellular and molecular mechanisms of its transport and metabolism. Environmental and Experimental Botany. 132: 42-52.

Wilkins, D.A. 1978. The measurement of tolerance to edaphic factors by means of root growth. New Phytologist. 80: 623-633.

Williams, P.N., Islam, S., Islam, R., Jahiruddin, M., Adomako, E., Soliaman, A.R.M., Rahman, G.K.M.M., Lu, Y., Deacon, C., Zhu, Y.G. and Meharg, A.A. 2009. Arsenic limits trace mineral nutrition (selenium, zinc, and nickel) in Bangladesh rice grain. Environmental Science and Technology. 43: 8430-8436.

Yin, X., Chen, J., Qin, J., Sun, G., Rosen, B. and Zhu, Y. 2011. Biotransformation and volatilization of arsenic by three photosynthetic cyanobacteria. Plant Physiology. 156 (3): 1631-1638..

Yoon, Y., Lee, W.M. and An, Y.J. 2015. Phytotoxicity of arsenic compounds on crop plant seedlings. Environmental Science and Pollution Research. 22 (14):11047-11056.

Zhao, F.J., McGrath, S.P. and Meharg, A.A. 2010. Arsenic as a food chain contaminant: mechanisms of plant uptake and metabolism and mitigation strategies. Annual Review Plant Biology. 61: 535–559.

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.2008403.1399.12.45.2.2]

Effect of arsenate different levels on germination, growth and some physiological parameters of Alfalfa (*Medicago sativa* L.)

F. Zargari[1], L. Pourakbar[2]*, S.Y. Salehi-Lisar[3], J. Razeghi[4] and R. Motafakker Azad[5]

1) Ph.D. Student of Biology Department, Urmia University, Urmia, Iran.

2) Associate Professor of Biology Department, Urmia University, Urmia, Iran.

3) Associate Professor of Plant Sciences Department, Tabriz University, Tabriz, Iran.

4 & 5) Assistant Professor of Plant Sciences Department, Tabriz University, Tabriz, Iran.

***Corresponding authors: l.pourakbar@urmia.ac.ir**

This article is extracted from Ph.D. thesis.

Received date: 2019.12.07 **Accepted date: 2020.02.26**

Abstract

Mineral arsenic (As) is a pervasive peripheral carcinogen substance and consuming foods and drinking water contaminated with this element can have consequences for human and animals health. Arsenic accumulates in surface soils in response to the weathering of rocks, cliffs, as well as human activities. Arsenic-exposed plants exhibit cytotoxic effects, such as growth retardation, cellular dysfunction and metabolism dysfunction. In the present research, effect of different concentrations of sodium arsenate solution (zero, 5, 10, 15 and 20 milligram per liter) was investigated on germination, growth and some physiological parameters of alfalfa in hydroponic medium. The results indicated that by increasing the concentration of arsenate, the percentage and rate of seeds germination, growth, concentration of photosynthetic pigments and concentration of root carbohydrates and aerial parts of alfalfa plants decreased. Also, the assessment of tension and growth indices (tolerance index, toxicity percentage, seedling vigor index and relative growth rate) confirmed these negative effects. According to the obtained results, it seems that arsenate, especially in high concentrations, appears to disrupt photosynthesis system, metabolism and inhibition of growth and development in the alfalfa plant, by inducing toxicity in plant and interfering with metabolic processes and mineral uptake.

Keywords: Arsenic, Toxicity, Carbohydrates and Photosynthetic pigments.

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.2008403.1399.12.45.2.2]