

تأثیر اسید سالیسیلیک بر مقاومت گیاه ریحان نسبت به سمیت سرب



علی پاداش، احمد قنبری، علی رضا سیروس مهر و محمد رضا اصغری پور*

زابل، دانشگاه زابل، دانشکده کشاورزی، گروه زراعت

تاریخ دریافت: ۹۳/۹/۲۴ تاریخ پذیرش: ۹۶/۳/۱۰

چکیده

امروزه کاربرد ترکیبات فنلی و تنظیم‌کننده رشد گیاه مانند اسید سالیسیلیک، به‌منظور کاهش اثرات منفی ناشی از تنش‌های مختلف مطرح شده است. هدف از این مطالعه ارزیابی تأثیر محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک بر سمیت سرب در گیاه ریحان پس از افزودن سرب به خاک بود. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار انجام شد. در این پژوهش گلخانه‌ای گیاهانی که در ۴ سطح سرب شامل صفر (شاهد)، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک همراه با ۳ سطح محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک به میزان صفر، ۵۰ و ۱۰۰ ppm کاشته شده بودند، مقایسه شدند. سمیت سرب برای گیاهان از طریق بررسی رشد اندام‌های هوایی و ریشه، غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی، غلظت کربوهیدرات و آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز تعیین گردید. افزودن سرب به‌طور معنی‌داری وزن تر و خشک اندام‌های هوایی و ریشه و رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه را کاهش و کربوهیدرات‌های محلول، آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز را افزایش داد. محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک نیز بر تمام صفات تأثیر معنی‌داری داشت. اثر متقابل بین اسید سالیسیلیک و سرب بر وزن تر و خشک اندام‌های هوایی، وزن تر ریشه، کلروفیل‌های a و b، کارتنوئید، کربوهیدرات، آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز معنی‌دار بود و اسید سالیسیلیک نقش تعدیل‌کننده و کاهش اثر منفی سمیت سرب را بر این خصوصیات دارا بود. نتایج این آزمایش نشان داد که کاربرد اسید سالیسیلیک در ریحان می‌تواند از طریق افزایش رشد و غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی در کاهش اثرات منفی تنش سرب مؤثر باشد.

واژه‌های کلیدی: ترکیبات فنلی، گیاه دارویی، ریحان، کاتالاز

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۵۴۳۲۲۳۲۶۰۰، پست الکترونیکی: m_asgharipour@uoz.ac.ir

مقدمه

میزان فتوسنتز می‌شود (۲۱). مسمومیت سرب در درجه اول بازدارنده رشد ریشه است که به‌دلیل تجمع زیاد سرب در ریشه و اثر سمی آن می‌باشد (۶، ۲۶). لاری یزدی و همکاران (۳) در بررسی اثر غلظت‌های مختلف سرب بر گیاه گندم نشان دادند که پرولین، قندهای محلول، آنزیم کاتالاز و پراکسیداز افزایش معنی‌داری را در اثر افزایش سطوح سرب نشان داد ولی مقدار نشاسته کاهش یافت.

مقابله با تنش سرب با روش‌های مختلف مانند استفاده از ترکیباتی که هزینه کمتر و کارایی بالاتری داشته باشند از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. اسید سالیسیلیک متعلق به گروهی از ترکیبات فنلی است که تقریباً بر بیشتر

آلودگی سرب یکی از مخاطرات مهم زیست محیطی در مناطق آلوده است، زیرا در بین فلزات سنگین، سرب به‌عنوان مهمترین فلز آلوده‌کننده محیط معرفی شده است (۲۶). وجود آلاینده‌های سربی در خاک بر میزان تولید محصولات کشاورزی اثرات مخرب فاحشی دارد. بیشترین میزان سرب از طریق سیستم‌های ریشه‌ای جذب گیاهان می‌شود و مقدار ناچیزی هم از طریق برگ، مخصوصاً برگ‌های دارای کرک جذب گیاهان می‌گردد (۲۱). چنین شرایطی موجب مسمومیت گیاه، کاهش رشد و میزان محصول، زردی برگ‌های جوان، کاهش جذب برخی عناصر ضروری مانند آهن و منیزیم و در نتیجه کاهش

این محققان همچنین در مورد تأثیر اسید سالیسیلیک بر رنگیزه‌های فتوسنتزی، محتوی قند و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه کلزا تحت تنش سرب دریافتند که با افزایش غلظت سرب در محیط هوگلند، گیاهان نتوانستند دو غلظت بالای سرب (۱/۵ و ۲ میلی مولار) را تحمل کنند و از بین رفتند، به علاوه اینکه تنش سرب میزان کلروفیل، میزان قندهای محلول و نامحلول را در ریشه و اندام‌هوایی به طور معنی‌داری کاهش داد، در حالی‌که فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز را به طور معنی‌داری افزایش داد (۲).

با توجه به اینکه ریحان (*Ocimum basilicum*) در خاک-های آلوده به فلزات سنگین مانند کادمیوم، سرب، مس و آرسنیک رشد می‌کند، بنابراین در این تحقیق با توجه به خواص آنتی‌اکسیدانی و نقش شبه هورمونی اسید سالیسیلیک، نقش این ترکیب بر تعدیل اثرات منفی تنش سرب بر روی گیاه ریحان مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

این مطالعه در سال ۹۲ و در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه زابل اجرا شد. خاک آزمایش دارای بافت لومی-شنی بود. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک قبل از اجرای آزمایش در جدول ۱ ارائه شده است.

واکنش‌های متابولیسمی گیاه تأثیر گذاشته و موجب تغییراتی در آنها می‌شود. این تغییرات اغلب به صورت سازش‌هایی است که تحمل و سازگاری گیاهان را در مقابل عوامل محیطی افزایش می‌دهد (۱۹).

بسیاری از مطالعات نشان دادند که اسید سالیسیلیک می‌تواند مقاومت گیاه را در تنش‌های غیر زنده از قبیل: اشعه ماوراء بنفش، خشکی، فلزات سنگین، شوری و دماهای بالا افزایش دهد (۱۲، ۱۳، ۲۰). اسید سالیسیلیک، کاهش رشد ناشی از کادمیوم را برطرف می‌نماید و باعث افزایش بعضی از فرایندهای فیزیولوژیکی می‌گردد، به طوری که در گیاهان تیمار شده با کادمیوم، وزن تر و خشک ریشه، طول ریشه و طول ساقه کم می‌شود ولی اسید سالیسیلیک این کاهش را در اجزاء گیاه بهبود می‌بخشد و اثرات ناشی از تنش را تخفیف می‌دهد (۱۹، ۲۲). در آزمایشی مشاهده شد که اسید سالیسیلیک باعث افزایش معنی‌دار سطح برگ و وزن خشک اندام‌های هوایی و مقدار کلروفیل کل گیاه ریحان در مقایسه با عدم مصرف این اسید در شرایط تنش خشکی می‌گردد (۵). برومندجری و همکاران (۲) در پژوهش‌های خود در بررسی اثر سرب و اسید سالیسیلیک بر روی ارقام مختلف گیاه کلزا دریافتند با افزایش غلظت نیترات سرب، میزان قندهای محلول در ریشه و اندام‌هوایی رقم اکاپی کاهش در حالی که در رقم اپرا افزایش معنی‌داری یافت.

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک

شن	رس	لای	Mn	Zn	Fe	K	P	N	pH	هدایت الکتریکی
درصد			ppm					درصد		(dS m ⁻¹)
۴۱	۳۲	۲۷	۳/۱	۴/۸	۲/۲	۱۸۵	۱۲	۶/۳	۷/۱	۱/۸

۱۰۰ ppm (به ترتیب صفر، ۴۴۱ و ۸۸۲ میکرومولار) بودند. نیترات سرب از مرکز تحقیقات کرج و اسید سالیسیلیک (MERK ساخت آلمان) از آزمایشگاه تحقیقات دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل تهیه شده بود. قبل از کاشت، مقادیر کودهای پایه فسفر، پتاسیم و نیتروژن بر اساس نتایج تجزیه خاک، به خاک مورد آزمایش اضافه شدند. در این

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش چهار سطح سرب شامل مقادیر صفر (شاهد)، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم سرب در کیلوگرم خاک به شکل نیترات سرب و ۳ سطح محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک (وزن مولکولی ۱۳۸/۱ گرم بر مول) با غلظت‌های صفر، ۵۰ و

آزتون توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Unico UV-2100 ساخت آمریکا) خوانده شد (۷). اندازه‌گیری کربوهیدرات با استفاده از روش کریسی و همکاران (۱۵) با اندکی تغییر انجام شد. این روش به طور خلاصه به این صورت است که ۰/۵ گرم پودر غربال شده را با ۱/۵ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد مخلوط و به مدت ۱ ساعت در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس فاز مایع را جدا کرده و درون آن در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به منظور تبخیر شدن اتانول نگهداری شد. پس از خشک شدن نمونه‌ها مقدار ۱/۵ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه کرده و به شدت ورتکس شدند. سپس ۱۰ میکرولیتر از نمونه جدا کرده و ۲۵۰ میکرولیتر محلول فنل (۰/۵ درصد) به عنوان شناساگر اضافه شد و پس از ورتکس، مقدار ۱۲۵۰ میکرولیتر اسید سولفوریک (۹۸ درصد) به هر یک از نمونه‌ها اضافه شد و بعد میزان جذب نوری آنها در طول موج ۴۸۸ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد و بر اساس میکروگرم در گرم وزن تر از جدول استاندارد به دست آمد.

اندازه‌گیری مقدار پروتئین کل اندام‌هوایی گیاه توسط روش برادفورد (۹) انجام شد و با استفاده از رسم نمودار استاندارد آلومین سنجیده شد. اندازه‌گیری آنزیم کاتالاز (CAT) از روش برس و سائزر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۴۰ نانومتر انجام شد (۸). همچنین برای سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز از روش مک آدم و همکاران (۱۸) و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ۴۷۵ نانومتری در مدت ۶۰ ثانیه استفاده گردید. در این روش از بافر فسفات سدیم ۲۰ میلی مولار با اسیدیته ۶ و گایاکول ۲۰۰ میلی مولار به عنوان الکترون دهنده و ۱۰ میکرولیتر هیدروژن پراکسید (H₂O₂) ۳۰ درصد (W/V) به عنوان پذیرنده الکترون مورد استفاده قرار گرفت و بر حسب میکرومول فعالیت آنزیم در میلی گرم پروتئین بیان شد.

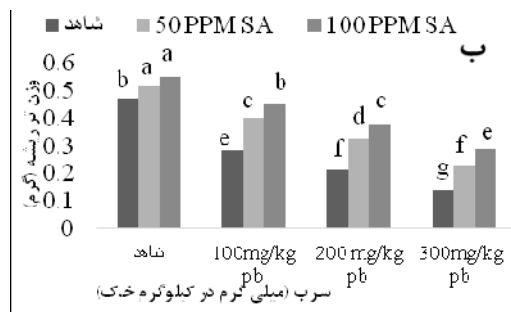
آزمایش مقادیر سرب بر اساس مقدار خاک یکسان برای هر گلدان (حدود ۲ کیلوگرم) و بر اساس تیمارهای مورد آزمایش، محاسبه و قبل از کاشت با خاک مخلوط شده و بعد از سه هفته نگهداری خاک در نایلون‌های مخصوص به منظور آغشته شدن خاک با فلز سنگین با حفظ میزان رطوبت مناسب برای جذب این عنصر با خاک، گلدان‌ها با این خاک پر و بعد کاشت در ۷ فروردین انجام گردید. بذرها در عمق ۱ سانتی‌متری از سطح خاک قرار داده شدند. پس از عبور گیاهان از مرحله گیاهچه‌ای درون هر گلدان ۶ عدد بوته با فاصله ۲ سانتی‌متر بین بوته‌ها نگهداری شد. تیمار اسید سالیسیلیک برای یکبار بعد از سبز شدن و استقرار گیاه، یعنی در مرحله ۸ تا ۱۰ برگی (حدود ۵۰ روز بعد از جوانه زنی) بر روی برگ‌های کاملاً توسعه یافته گیاه حدود ساعت ۱۰ تا ۱۱ قبل از ظهر اعمال شد. محلول پاشی اسید سالیسیلیک به شکلی انجام شد که سطح برگ‌ها توسط اسید سالیسیلیک به طور کامل خیس شود.

گیاهان کاشته شده در درون گلدان‌ها یک روز در میان آبیاری می‌شدند. گیاهان در مرحله رویشی (حدود ۶۵ روز پس از کاشت) برداشت شدند. در مرحله برداشت، گیاه را همراه ریشه با بیلچه از خاک درآورده و در ظرف مخصوصی قرار داده و با آب مقطر شسته تا خاک اطراف ریشه گیاه جدا گردید. سپس نمونه‌ها با استفاده از قیچی باغبانی از محل طوقه بریده و دسته بندی و اتیکت گذاری شد.

از هر گلدان شش گیاه برداشت شد و برای اندازه‌گیری وزن تر و خشک اندام هوایی و زیر زمینی (با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم)، محتوای کلروفیل a، b، کلروفیل کل، کارتنوئید، کربوهیدرات و آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز مورد استفاده قرار گرفت. برای محاسبه میزان کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کارتنوئید نمونه‌ها در طول موج‌های (۶۶۳nm، ۶۴۵ و ۴۷۰) با استفاده از روش

(شکل ۱ الف). به طوری که با افزایش سطوح سرب ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خاک، میزان وزن تر اندام هوایی کاهش یافت، اما اعمال محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک ۵۰ ppm در سطح چهارم سرب (۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) صفت مذکور را ۹/۳ درصد نسبت به شاهد افزایش داد (شکل ۱ الف).

در اثر متقابل سرب و اسید سالیسیلیک، استفاده از اسید سالیسیلیک منجر به افزایش وزن تر ریشه گردید، به نحوی که بیشترین صفت مذکور در استفاده توام ۱۰۰ ppm اسید سالیسیلیک و عدم استفاده از سرب (۰/۵۴۹ گرم) و کمترین آن در تیمار ترکیبی ۳۰۰ میلی‌گرم عنصر سنگین سرب و عدم استفاده از اسید سالیسیلیک با میانگین (۰/۱۳۹ گرم) به دست آمد (شکل ۱ ب). سطوح ۵۰ و ۱۰۰ ppm محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک سبب کاهش اثرات منفی تنش سرب بر وزن تر اندام هوایی و ریشه گردید.

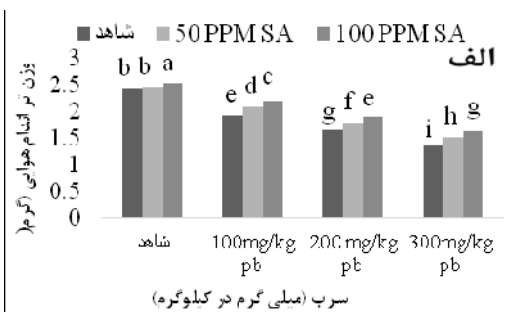


در پایان، تجزیه و تحلیل داده‌های به دست آمده با استفاده از SAS نسخه ۹/۱ و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD انجام شد.

نتایج

وزن تر اندام هوایی و ریشه: تأثیر سرب، اسید سالیسیلیک ($p < 0/01$) و اثرات متقابل سرب و اسید سالیسیلیک بر وزن تر اندام هوایی ($p < 0/05$) معنی‌دار بود. افزودن سرب به خاک منجر به کاهش صفت مذکور گردید، به طوری که تیمار سرب ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم با میانگین‌های ۱/۰۶، ۱/۷۷ و ۱/۵۰ گرم باعث کاهش معنی‌دار ۵۷/۰، ۲۸/۲ و ۳۹/۲ درصدی نسبت به شاهد شد.

نتایج به دست آمده نشان داد که در اثر متقابل سرب و اسید سالیسیلیک، اسید سالیسیلیک بر سمیت سرب اثر معنی‌داری بر میزان وزن تر اندام هوایی ($p < 0/05$) داشت



شکل ۱- اثر متقابل سرب و اسید سالیسیلیک روی وزن تر اندام هوایی (الف) و ریشه (ب) گیاه ریحان حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد بر اساس آزمون LSD است.

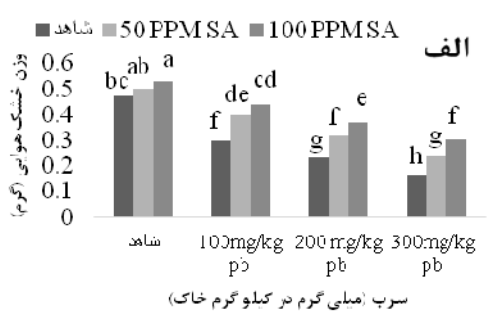
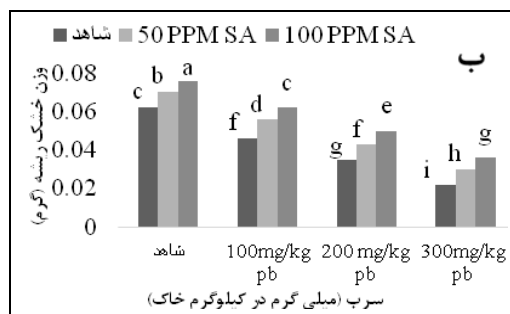
اسید سالیسیلیک، استفاده از اسید سالیسیلیک اثر مثبتی بر میزان وزن خشک اندام هوایی داشت. در سطح ۳۰۰ میلی‌گرم سرب در کیلوگرم خاک، با افزایش اسید سالیسیلیک به میزان ۵۰ و ۱۰۰ ppm وزن خشک اندام هوایی به ترتیب ۳۲/۵ و ۴۷/۲ درصد نسبت به شاهد افزایش یافت (شکل ۲ الف).

همچنین در بررسی اثر سرب بر وزن خشک ریشه، تأثیر این فلز سنگین در سطح احتمال ۱ درصد بر وزن خشک

وزن خشک اندام هوایی و ریشه: نتایج نشان داد که تأثیر سرب در سطح ۱ درصد و روابط متقابل آنها در سطح ۵ درصد بر وزن خشک اندام هوایی معنی‌دار شد. به نحوی که با افزایش سطوح سرب صفت مذکور کاهش معنی‌داری را نشان داد، به طوری که سطح ۲ نیترا سرب (۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) با میانگین ۰/۳۷۸ باعث کاهش ۲۴/۵ درصدی وزن خشک اندام هوایی گیاه گردید. همچنین داده‌های این پژوهش نشان داد که در اثر متقابل سرب و

سالیسیلیک (۰/۰۷۶ گرم) و کمترین میزان آن در صفت مذکور، به لحاظ آماری معنی‌دار نگردید. اثر متقابل سرب و اسید سالیسیلیک اثر معنی‌داری بر میزان وزن خشک ریشه نداشت، به طوری که بیشترین صفت مذکور در تیمار ترکیبی عدم استفاده از سرب (شاهد) و ۱۰۰ ppm اسید

ریشه نیز معنی‌دار بود، ولی در اثر متقابل بر روی صفت مذکور، به لحاظ آماری معنی‌دار نگردید. اثر متقابل سرب و اسید سالیسیلیک اثر معنی‌داری بر میزان وزن خشک ریشه نداشت، به طوری که بیشترین صفت مذکور در تیمار ترکیبی عدم استفاده از سرب (شاهد) و ۱۰۰ ppm اسید

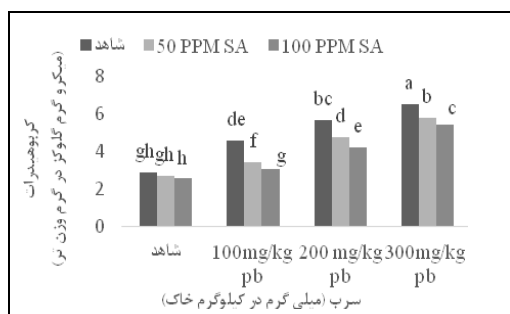


شکل ۲- اثر متقابل سرب و اسید سالیسیلیک بر روی وزن خشک ریشه (الف) و اندام هوایی (ب) گیاه ریحان

حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد بر اساس آزمون LSD است.

سالیسیلیک برخلاف عنصر سنگین نیترات سرب، منجر به افزایش صفات ذکر شده در گیاه ریحان گردید.

کربوهیدرات: تیمار نیترات سرب، اسید سالیسیلیک و اثر متقابل سرب x اسید سالیسیلیک تأثیر معنی‌داری بر میزان کربوهیدرات در سطح ۱ درصد داشتند. در سطح ۴ نیترات سرب، با افزایش اسید سالیسیلیک (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ ppm) به ترتیب با میانگین ۶/۵۴۸، ۵/۸۲۱ و ۵/۴۳۹ (میکروگرم گلوز در گرم وزن تر) میزان کربوهیدرات ۱۱/۱ و ۱۶/۹ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت. بیشترین میزان کربوهیدرات مربوط به تیمار ترکیبی ۳۰۰ میلی‌گرم از سرب و عدم استفاده از محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک (۶/۵۴ میکروگرم گلوز در گرم وزن تر) و کمترین میزان آن مربوط به تیمار توأم عدم استفاده از عنصر سنگین و ۱۰۰ ppm اسید سالیسیلیک (۲/۵۸ میکروگرم گلوز در گرم وزن تر) بود (شکل ۳).



شکل ۳- اثر متقابل سرب و اسید سالیسیلیک بر روی کربوهیدرات گیاه ریحان

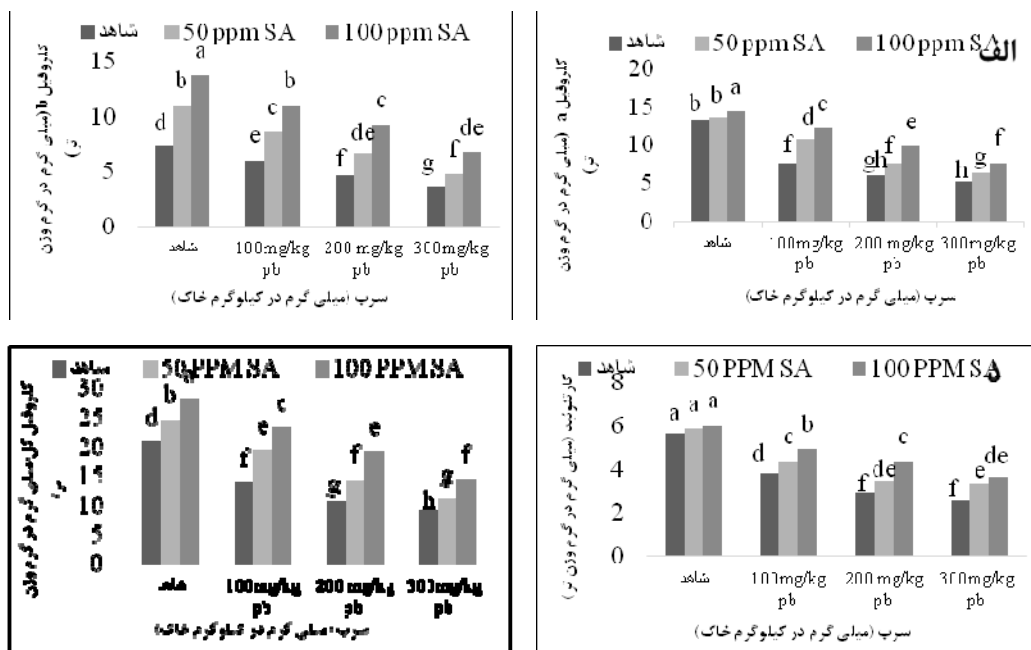
حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد بر اساس آزمون LSD است.

در برهم‌کنش تیمار اسید سالیسیلیک و نیترات سرب، با افزایش اسید سالیسیلیک (۵۰ و ۱۰۰ ppm) در سطح ۱۰۰ میلی‌گرم سرب در کیلوگرم خاک میزان کلروفیل a به ترتیب ۴۰/۲ و ۵۸/۵ درصد، کلروفیل b ۴۳/۳ و ۸۳/۲ درصد و کلروفیل کل ۴۱/۵ و ۶۹/۳ درصد نسبت به شاهد افزایش پیدا کردند (شکل ۴ الف-ج).

کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کارتنوئید: نتایج نشان داد که تیمار نیترات سرب، اسید سالیسیلیک و اثر متقابل سرب و اسید سالیسیلیک تأثیر معنی‌داری بر میزان کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کارتنوئید در سطح ۱ درصد داشتند. افزایش سطوح سرب باعث کاهش کلروفیل‌های a، b، کلروفیل کل و همچنین کارتنوئید گردید، اما کاربرد محلول‌پاشی اسید

همچنین در اثر متقابل تنش و محلول‌پاشی، با افزایش اسید سالیسیلیک، میزان رنگیزه‌های کارتوئید افزایش یافت، به‌طورمثال: در سطح ۳ نیترات سرب، با افزایش سطوح اسید سالیسیلیک (۵۰ و ۱۰۰ ppm) به‌ترتیب با میانگین غیر تنش، تأثیری بر میزان کارتوئید نداشت (شکل ۴ د).

همچنین در اثر متقابل تنش و محلول‌پاشی، با افزایش اسید سالیسیلیک، میزان رنگیزه‌های کارتوئید افزایش یافت، به‌طورمثال: در سطح ۳ نیترات سرب، با افزایش سطوح اسید سالیسیلیک (۵۰ و ۱۰۰ ppm) به‌ترتیب با میانگین غیر تنش، تأثیری بر میزان کارتوئید نداشت (شکل ۴ د).

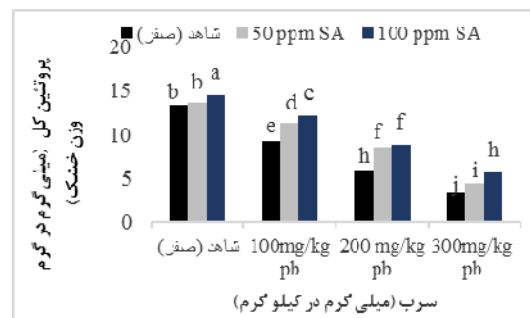


شکل ۴- اثر متقابل سرب و اسید سالیسیلیک بر روی کلروفیل a (الف)، b (ب)، کلروفیل کل (ج) و کارتوئید (د) گیاه ریحان. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد بر اساس آزمون LSD است.

اثر متقابل سالیسیلیک اسید و سرب بر پروتئین کل در گیاه ریحان معنی‌دار ($p < 0.05$) بود. به‌طور مثال غلظت ۵۰ میلی لیتر در لیتر سالیسیلیک اسید در سطح ۲۰۰ میلی‌گرم سرب در کیلوگرم خاک باعث افزایش ۱۸/۳ درصدی پروتئین کل نسبت به شاهد شد (شکل ۵).

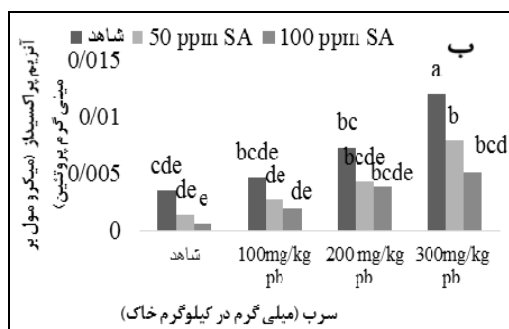
پروتئین کل: تأثیر تنش سرب و سالیسیلیک اسید بر غلظت پروتئین کل در گیاه ریحان معنی‌دار ($p < 0.01$) بود.

آنزیم کاتالاز (CAT): اثر متقابل سرب x اسید سالیسیلیک در سطح ۱ درصد تأثیر معنی‌داری روی میزان فعالیت آنزیم کاتالاز داشتند. به‌طوری‌که بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز مربوط به تیمار ترکیبی ۳۰۰ میلی‌گرم از سرب و عدم استفاده از محلول‌پاشی (۰/۰۰۸۴ میکرو مول بر میلی‌گرم پروتئین) و کمترین میزان فعالیت این آنزیم مربوط به تیمار شاهد در بالاترین سطح محلول‌پاشی اسید



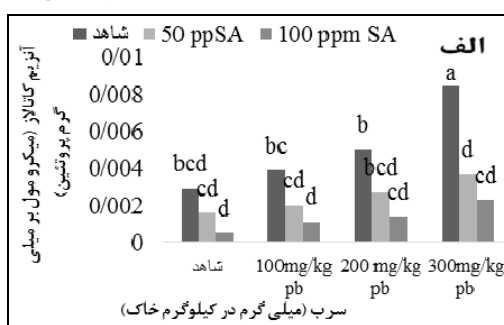
شکل ۵- اثر متقابل سرب و اسید سالیسیلیک بر روی پروتئین کل گیاه ریحان. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد بر اساس آزمون LSD است.

نیترات سرب، با افزایش سطوح اسید سالیسیلیک (۵۰ و ۱۰۰ ppm) میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز کاهش یافت، به‌طور مثال در سطح ۳ نیترات سرب، همراه با کاربرد ۵۰ و ۱۰۰ ppm اسید سالیسیلیک مقادیر فعالیت آنزیم پراکسیداز به‌ترتیب برابر ۰/۰۰۴۳ و ۰/۰۰۳۹ میکرو مول بر میلی‌گرم پروتئین به‌دست آمد، که نشان‌دهنده کاهش ۴۱/۱۰ و ۴۶/۵۷ درصدی میزان فعالیت این آنزیم با افزایش سطوح اسید سالیسیلیک می‌باشد (شکل ۶ ب).



سالیسیلیک ۱۰۰ ppm (۰/۰۰۰۵ میکرو مول بر میلی‌گرم پروتئین) می‌باشد که نشان‌دهنده میزان تأثیر اسید سالیسیلیک روی کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز است (شکل ۶ الف).

آنزیم پراکسیداز POX: تیمار نیترات سرب، اسید سالیسیلیک و اثر متقابل سرب و اسید سالیسیلیک تأثیر معنی‌داری ($p < 0/01$) روی میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز داشت. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که در تمام سطوح



شکل ۶- اثر متقابل سرب و اسید سالیسیلیک بر روی کاتالاز (الف) و پراکسیداز (ب) گیاه ریحان

حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد بر اساس آزمون LSD است.

افزایش داشته است که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. محققان در مطالعه اثر متقابل اسید سالیسیلیک و کادمیوم بر ریشه گیاه برنج به این نتیجه رسیدند که با به‌کارگیری اسید سالیسیلیک در شرایط تنش، رشد ریشه گیاه برنج افزایش می‌یابد (۱۰) که با نتایج تحقیق اخیر در این مطالعه همخوانی دارد. نورانی آزاد و کفیل‌زاده (۴) تأثیر سمیت کادمیوم بر رشد قندهای محلول، رنگیزه‌های فتوسنتزی و برخی آنزیم‌ها در گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) را مورد بررسی قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که با افزایش غلظت کادمیوم، وزن خشک هوایی گیاه گلرنگ کاهش معنی‌داری پیدا کرد. اسید سالیسیلیک در اغلب موارد سبب بهبود عوارض ناشی از سرب گردید و می‌توان از تیمار اسید سالیسیلیک در سم‌زدایی و کاهش تأثیرات مسمومیت با سرب استفاده نمود. با توجه به غلظت به کار رفته، گیاه، گونه، دوره رشدی و شرایط محیطی اسید سالیسیلیک اثرات متفاوتی روی فرایندهای مختلف فیزیولوژیکی مانند

بحث

وجود تنش‌های محیطی و غیر محیطی، سبب پیدایش یک مجموعه واکنش‌ها در گیاهان می‌شود. یک بخش از تنش‌های محیطی، فلزات سمی موجود در خاک هستند که سبب اختلال در چرخه حیات و فعال شدن تعدادی از واکنش‌های بیوشیمیایی می‌گردند. مطالعات نشان می‌دهند اسید سالیسیلیک، از درجه اهمیت بالایی برای کاهش اثرات فلزات سمی به‌ویژه در مرحله رشد گیاه برخوردار است. همچنین اسید سالیسیلیک به‌عنوان یک سیگنال مولکولی مهم در واکنش‌های گیاهی در پاسخ به تنش‌های محیطی شناخته شده است (۲۳). برومندجری و همکاران (۲) در بررسی اثرات مخرب فلز سرب بر روی صفات رشد گیاه کلزا از قبیل وزن تر هوایی و وزن تر ریشه نشان دادند با افزایش سطوح نیترات سرب، وزن تر اندام هوایی گیاه کلزا کاهش یافت، همچنین دریافتند با به‌کارگیری اسید سالیسیلیک توأم با سرب، میزان وزن تر هوایی گیاه

تنش عمل می‌کنند. نتایج به‌دست آمده از این آزمایش با نتایج شالینی و دوی (۲۴) در مورد نقش و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نسبت به شرایط تنش‌های غیر زیستی مثل تنش سرب مطابقت دارد. اسید سالیسیلیک با تأثیر بر آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و تنظیم‌کننده‌های اسمزی مثل پرولین، گلیسین و بتائین آثار ناشی از تنش خشکی، فلزات سنگین، گرما، سرما و شوری را کاهش می‌دهد (۲۳). همچنین محققان دیگری در بررسی اثر متقابل سرب و اسید سالیسیلیک بر روی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه کلزا به این نتیجه رسیدند که با افزایش غلظت سرب فعالیت آنزیم پراکسیداز افزایش می‌یابد، همچنین استفاده از اسید سالیسیلیک سبب کاهش میزان سرب در گیاه می‌شود (۳).

به‌طور کلی نتایج حاصل از این تحقیق مبین آن است که اسید سالیسیلیک از طریق افزایش وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه، رنگیزه‌های فتوسنتزی و سازماندهی مکانیسم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدان و تجمع کربوهیدرات، اثرات زیانبار ناشی از تنش و سمیت سرب را تخفیف می‌دهد. در مجموع می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که در بین غلظت‌های اسید سالیسیلیک به کار رفته، غلظت ۱۰۰ ppm بیشترین تأثیر مثبت را در کاهش اثرات ناشی از تنش سرب بر این گیاه دارویی دارد، به‌طور کلی در خاک‌هایی که در معرض سمیت عناصر سنگینی مانند سرب قرار دارند، می‌توان با استفاده از مواد آنتی‌اکسیدان زمینه کشت گیاهانی مانند ریحان را فراهم کرد (۱).

شروع برخی فرایندها و ممانعت برخی دیگر دارد (۱۴). محققان در بررسی اثر سرب بر روی وزن خشک گیاه کلزا به این نتیجه رسیدند که با افزایش غلظت سرب و همچنین توام با اسید سالیسیلیک وزن خشک ریشه گیاه کاهش پیدا کرد که نتایج آزمایش آنها با یافته‌های این پژوهش مطابقت دارد (۲).

نتایج این تحقیق نشان‌دهنده کاهش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی بر اثر اعمال سرب می‌باشد. بنابراین به نظر می‌رسد از دلایل کاهش میزان کلروفیل می‌توان به جانشین شدن فلزات سنگین به جای Mg مرکزی کلروفیل اشاره کرد که این جانشینی سبب کاهش دریافت نور به وسیله کلروفیل شده و منجر به زردی برگ‌ها و در نهایت کاهش فتوسنتز می‌شود (۲۵). طبق نتایج به‌دست آمده با افزایش غلظت سرب در محیط، از میزان کلروفیل a کاسته شد، در حالی که با به کارگیری اسید سالیسیلیک در محیط، اثرات سرب تعدیل یافت و باعث افزایش میزان کلروفیل‌ها نسبت به تیمارهای سرب گردید که با یافته‌های سایر محققان (۱۶) مطابقت دارد.

نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که اسید سالیسیلیک نقش کلیدی در کاهش تنش ناشی از سرب روی کربوهیدرات و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله کاتالاز و پراکسیداز ایفا می‌کند. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله کاتالاز و پراکسیداز نقش بسیار مهمی در پاسخ به تنش‌های غیر زیستی مثل تنش سرب دارند، زیرا این آنزیم‌ها به‌عنوان مکانیسم دفاعی ثانویه در مقابل شرایط

منابع

۱. لاری یزدی، ح.، قربانعلی، م.، میرزایی، م. و هاشمی، ا. ۱۳۹۰. بررسی اثر غلظت‌های مختلف سرب بر پرولین، فندهای محلول، نشاسته و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز در گیاه گندم *Triticum aestivum L.* رقم پشته‌ناز، اولین همایش ملی مباحث نوین در کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه، ۴-۱.

۱. آرمزجو، ا.، حیدری، م. و قنبری، ا. ۱۳۸۹. اثر تنش خشکی و نوع کود بر عملکرد و کیفیت بابونه آلمانی. *مجله علوم زراعی ایران*، ۱۱۱-۱۰۰: (۲)۱۱۲.

۲. برومندجری، ش.، رنجبر، م. و لاری یزدی، ح. ۱۳۹۰. بررسی اثرات مخرب فلز سرب بر روی پارامترهای رشد گیاه کلزا و اثر اسید سالیسیلیک بر کاهش و تعدیل اثرات مخرب فلز سرب، *فصلنامه یافته‌های زیست‌شناسی*، ۸(۱): ۱۲-۱۸.

گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.)، مجله زیست‌شناسی
ایران، ۳۴(۶): ۵-۱۲.

5. Abd El-Lateef, F. 2006. Effect of salicylic acid on the growth, metabolic activities and oil content of basil and marjoram. *International Journal of Agriculture and Biology*, 4: 485-492.
6. Antoniadis, N. and Alloway, B. J. 2001. Availability of Cd, Ni and Zn to rye grass in sewage sludge treated soils at different temperatures. *Water, Air and soil pollution*, 132: 201 - 204.
7. Arnon, A. N. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal*, 23: 112-121.
8. Beers, G.R. and Sizer, I.V. 1952. Aspectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *Biological Chemistry*, 95:133-140.
9. 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: 248-254.
10. Choudhury, S. and Panda, S. K. 2004. Role of salicylic acid in regulating cadmium induced oxidative stress in *Oryza sativa* L. roots. *Journal of Plant Physiology*, 30(3): 95- 110.
11. Fageria, N. K. and Baligar, V. C. 2005. Enhancing nitrogen use efficiency in crop plants. *Advances of Agronomy Journal*, 88: 97-185.
12. He, Y.L., Liu, Y.L., Cao, W.X., Huai, M.F., Xu, B.G. and Huang, B.R. 2005. Effects of salicylic acid on heat tolerance associated with antioxidant metabolism in Kentucky bluegrass. *Crop Science*, 45: 988-995.
13. Horvath, E., Pal, M., Szalai, G., Paldi, E. and Janda, T. 2007. Exogenous 4-hydroxybenzoic acid and salicylic acid modulate the effect of short-term drought and freezing stress on wheat plants. *Biology Plant*, 51: 480-487
14. Iqbal, M., Ashraf, M. Jamil, A. and Shafiq, U. R. M. 2006. Does seed priming induce changes in the levels of some endogenous plant hormones in hexaploid wheat plant under salt stress. *Journal of Integrative Plant Biology*, 48(2): 181-189.
15. Kerepsi, I., Toth, M. and Boross, L. 1996. Water-soluble carbohydrates in dried plant. *Journal of Agricultur Food Chemical*, 10: 3235-3239.
16. Khodary, S.E.A. 2004. Effect of salicylic acid on the growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism in salt stressed Maize plant, *International Journal of Biology*, 6:5-8.
17. Liu, Q. J., Zheng, C. M., Hu, C. X., Tan, Q. L., Sun, X. C. and Su, J. J. 2012. Effects of high concentrations of soil arsenic on the growth of safflower and rape. *Plant Soil Environmental*, 58(1): 22-27.
18. Mac Adam, J.W., C. J. Nelson and R. E. Sharp. 1992. Peroxidase Activity in the leaf elongation zone of tallfescue. *Plant Physiology*, 99:872-878.
19. Metwally, A., Finkemeier, I., Georgi, M., Dietz, K. J. 2003. Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in Barley seedling, *Plant Physiology*, Vol, 132, PP, 272-281.
20. Ogawa, D., Nakajima, N., Sano, T., Tamaoki, M., Aono, M., Kwbo, A., Kanna, M., Ioki, M., Kamada, H. and Saji, H. 2005. Salicylic acid accumulation under O₃ exposure is regulated by ethylene in tobacco plants. *Plant Cell Physiology*, 46: 1062-1072.
21. Pallavi, Sh. and Rama, Sh. D. 2005. Lead toxicity in plant. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17: 1-6.
22. Rao, S. R., Qayyum, A., Razzaq, A., Ahmad, M., Mahmood, I. and Sher, A. 2012. Role of foliar application of salicylic acid and l-tryptophan in drought tolerance of maize. *The Journal of Animal and Plant Sciences*, 22(3): 768-772.
23. Senaratna, T., Touchell, D. Bunn, E. and Dixon, K. 2000. Acetyl salicylic acid (Aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. *Plant Growth Regular*, 30: 157-161.
24. Shalini, V., Duey, R.S. 2003. Lead toxicity induced lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plant, *Plant Science*. 164: 1645-1655.
25. Sharma, R. K. and Agrawel, M. 2006. Single and combined effects of cadmium and zinc on carrots: uptake and bioaccumulation. *Journal of Plant Nutrition*, 31: 19-34.
26. Yell Yang, Y. 2000. Identification of rice varieties with high tolerance or sensity to lead and characterization of the mechanism of to tolerance, *Plant Physiology*, Vol, 124, 1019-1026.

Effect of salicylic acid on basil resistance against lead

Padash A., Ghanbari A., Sirousmehr A.R. and Asgharipour M.R.

Agronomy Dept., College of Agriculture, University of Zabol, Zabol, I.R. of Iran

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effects of salicylic acid on lead toxicity in basil following lead addition to soil. This experiment was conducted as Randomized Complete Block with Factorial arrangement. Factors included the 4 levels of lead nitrate; 0 (control), 100, 200 and 300 mg per kg of soil and foliar application of salicylic acid at 3 levels of 0, 50 and 100 ppm. Phytotoxicity of Lead was determined as plant growth, concentration of photosynthetic pigments and catalase enzymes. Addition of lead significantly reduced dry weight of shoots and roots and photosynthetic pigments and increased soluble carbohydrates, catalase and peroxidase. In addition, salicylic acid spraying had a significant influence on all traits. In this study the interaction between salicylic acid and lead on shoot fresh and dry weight, root fresh weight, chlorophyll a and b, carotenoids, carbohydrates, catalase and peroxidase were significant, and salicylic acid play moderating role and reducing the negative effects of lead toxicity. The results of this experiment suggested salicylic acid application in basil can be reduced lead toxicity by increasing growth and concentration of photosynthetic pigments.

Key words: Phenolic compounds, Medicinal plants, Basil, Catalase