اثر سالیسیلیک اسید بر بهبود رشد و تغییر پارامترهای بیوشیمیایی دانه‌رست‌های گندم تحت تنش کادمیوم

آزیتا بهنام[۱]، حسین عباسپور[۲]*، اکبر صفی پور افشار[۳]* و فاطمه سعید نعمت پور[۳]

[۱] **ایران، دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان، گروه زیست شناسی**

[۲] **ایران، تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، گروه زیست شناسی**

[۳] **ایران، نیشابور، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد نیشابور، گروه زیست شناسی**

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۲/۲۶ تاریخ پذیرش: ۹۷/۴/۱۸

چکیده

یکی از راهکارهای مورد استفاده جهت کاهش تاثیرات منفی ناشی از تنش‌های مختلف در گیاهان کاربرد تنظیم کننده‌های رشد از جمله اسید سالیسیلیک می‌باشد. این پژوهش به بررسی اثر متقابل سالیسیلیک اسید (صفر، ۰/۵ و ۱ میلی مولار) و کلرید کادمیوم (صفر، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکرومولار) بر صفات رشدی، رنگیزه‌های فتوسنتزی، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان، محتوای نسبی آب، میزان پرولین و همچنین مقدار قند گلوکز در دانه‌رست گندم پرداخته است. نتایج نشان داد که تنش کادمیوم باعث کاهش معنی‌دار ۳۰ تا ۵۰ درصد در صفات رشدی گیاه در مقایسه با گیاهان شاهد گردید. بعلاوه محتوای نسبی آب ۷٪ و میزان کلروفیل‌های a و b حدود ۲ برابر کاهش معنی‌دار یافت. تنش کادمیوم باعث افزایش سه برابری در فعالیت آنزیمهای کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز نسبت به شاهد گردید و میزان قند گلوکز با افزایش غلظت کادمیوم به ۲ برابر مقدار اولیه رسید. اسپری سالیسیلیک اسید در هر دو غلظت اثرات مثبت قابل ملاحظه ای بر صفات رشدی دانه‌رست‌های تحت تنش داشت و بین ۲۰ تا ۶۰ درصد این پارامترها را افزایش داد. همچنین محتوای نسبی آب این دانه‌رست‌ها به بیش از ۲ برابر رسید. سالیسیلیک اسید بر فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدان افزود و میزان کلروفیل و گلوکز را بیش از ۴۰ درصد افزایش داد. نتایج این تحقیق نشان داد که سالیسیلیک اسید در کاهش اثرات منفی تنش کادمیوم از طریق افزایش میزان کلروفیل، بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان و تغییر مقدار گلوکز درگندم تاثیر دارد.

واژگان کلیدی: آنزیم‌های آنتی اکسیدان، سالیسیلیک اسید، کادمیوم، گلوکز، گندم (*Triticum aestivum* L.)

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۵۱۴۲۶۱۳۹۰۵ ، پست الکترونیکی: asafshar@iau-neyshabur.ac.ir

مقدمه

کادمیوم یک عنصر سمی غیر ضروری است که به طور طبیعی در اکثر خاک‌ها وجود داشته (۲۶) و نیمه عمر طولانی دارد (۵۳). این عنصر اغلب از طریق کودهای فسفره و منابع مختلف دیگر نظیر آفت کش‌ها و حفاری معادن به خاک‌های کشاورزی و زراعی افزوده شده و در گیاهان انباشته می‌شود (۲۳). یکی از دلایل تجمع بالای این فلز در گیاهان انتقال و جابجایی سریع آن در بافت‌ها و اندام‌ها است. انباشتگی کادمیوم سبب تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و ساختاری بسیاری نظیر عدم تعادل آب، مهار جوانه زنی، مهار فتوسنتز، کاهش رشد به ویژه رشد ریشه، اختلال در تغذیه معدنی و متابولیسم قند در گیاه شده و بنابراین به شدت بر روی تولید بیومس تاثیر گذاشته و در نهایت می‌تواند سبب مرگ گیاه شود (۳۹). بعلاوه کادمیوم با ایجاد تنش

اکسیداتیو و در نتیجه تولید رادیکال‌های آزاد سبب توقف مسیرهای متابولیکی گیاه و تخریب ساختارهای سلولی می-شود (۲). بنابر تحقیقات متعدد یکی از راهکارهای کاهش آثار زیانبار فلزات سنگین در گیاه بکارگیری تنظیم کننده-های رشد قابل دسترس همچون اسید سالیسیلیک است (۴۱ و ۴۷).

طی سال‌های اخیر پژوهش‌های گسترده‌ای بر نقش اسید سالیسیلیک به عنوان یک ملکول پیام رسان مهم در واکنش گیاه به تنش‌های غیرزیستی انجام شده است. سالیسیلیک قابل حل در آب بوده و یک ترکیب آنتی اکسیدان و از جمله هورمون‌های گیاهی است که نقش مهمی در پاسخ گیاه به تنش‌های غیر زنده مانند خشکی، سرما، فلزات سنگین ، گرما و تنش اسمزی دارد (۵۶). به نظر می‌رسد که SA در غلظت‌های کم، همانند یک تنظیم کننده رشد، پاسخ‌های متابولیکی را تقویت کرده، بر پارامترهای فتوسنتزی و روابط آبی گیاه اثر می‌گذارد (۷). خیساندن دانه گندم در محلول سالیسیلات در کاهش اثرات تنش شوری و خشکی بر نرخ رشد و تعرق موثر بوده و فتوسنتز را افزایش می‌دهد (۲۵). کاربرد اسید سالیسیلیک، سبب بهبود محتوای آب نسبی در دانه‌رست‌های ذرت، هم در شرایط شوری و هم در گیاهان بدون اعمال شوری شد. اسید سالیسیلیک ممکن است ظرفیت سازگاری در برابر تنش را با بالا بردن تنظیم کننده‌های اسمزی فراهم کند. کاربرد اسید سالیسیلیک محتوای قندهای محلول را در گیاهان ریحان (۲۱)، گوجه (۳۲) و گندم (۱۰) افزایش داد. همچنین این هورمون اثرات زیان‌آور کادمیوم را روی رشد گیاهان کتان کاهش داده است (۱۵).

با توجه به گسترش زمین‌های آلوده به فلزات سنگین و کشت ناگزیر غلات استراتژیکی همچون گندم در این زمین‌ها و اینکه طبق تحقیقات گندم نسبت به سایر غلات رایج، کادمیوم بیشتری را انباشته می‌کند (۵۴)، در این تحقیق، پاسخ دانه‌رست‌های گندم به سالیسیلیک اسید در شرایط تنش کادمیوم مورد ارزیابی قرار گرفته است و پارامترهای رشدی، میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان، مقدار آب نسبی گیاه، میزان پرولین و تغییرات مقدار قند سلول در گیاه اندازه‌گیری شده است.

مواد و روشها

این تحقیق به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و در۳ تکرار اجرا گردید. بدین منظور دانه‌های همگن گندم (*Triticum aestivum* L.) رقم سیوند از مرکز تحقیقات کشاورزی شهرستان نیشابور تهیه شد. ابتدا سطح دانه‌ها با محلول هیپوکلریت سدیم ۵٪ برای ۱۰ دقیقه ضدعفونی شده و سپس سه بار با آب مقطر به طور کامل شسته شد. دانه‌ها در گلدان‌های حاوی شن شسته شده با ذرات متوسط کاشته شده و به گلخانه (دمای ۱۸/۲۳ درجه سانتی‌گراد؛ فتوپریود: ۱۶ساعت نور، ۸ ساعت تاریکی) منتقل شدند. تا مرحله جوانه زنی آبیاری با آب مقطر انجام شد. بعد از جوانه‌زنی، گلدان‌ها با محلول غذایی هوگلند هر دو روز یکبار آبیاری شدند. زمانیکه گیاهان در مرحله دو یا سه برگی بودند، تیمار سالیسیلیک اسید شروع شد. سالیسیلیک اسید در غلظت‌های صفر و ۰/۵ و ۱ میلی مولار بر روی برگ‌های گیاهان اسپری شد. در تیمار شاهد نیز آب مقطر به جای هورمون بکار گرفته شد. به منظور بررسی اثر توام هورمون و تنش کادمیوم، همزمان با تیمار هورمون، دانه‌رست‌ها با محلول غذایی هوگلند دارای غلظت‌های متفاوت کلرید کادمیوم (صفر، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکرومولار کلرید کادمیوم) آبیاری شدند. نمونه‌ها هر ۴۸ ساعت با تیمار و در فواصل آن با آب مقطر آبیاری شدند. تمام گیاهان ۱۴ روز پس از تیمار، برداشت شده و صفات رشدی آنها اندازه گیری شد. سپس نمونه‌ها برای سنجش‌های فیزیولوژیک در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره شدند.

صفات رشدی: رشد گیاهان با اندازه‌گیری طول ریشه، ساقه و وزن خشک و تر آنها مطالعه شد. از هر تکرار سه نمونه برداشت شد و طول ریشه و ساقه با کمک خطکش

میلی متری اندازه‌گیری شد. وزن تر به کمک ترازو با دقت هزارم گرم و وزن خشک بعد از قرار دادن ریشه‌ها و ساقه‌ها در آون با دمای ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت به کمک ترازو با دقت هزارم گرم انجام شد.

سنجش میزان قندهای محلول اندام هوایی: برای سنجش قندهای محلول (گلوکز) برگ، از روش فنل سولفوریک اسید استفاده شد (۵۲). به این صورت که روی ۰/۱ گرم از بافت خشک ساییده شده اندام‌های هوایی، ۱۰ میلی لیتر اتانول ۷۰٪ اضافه شد و به منظور آزاد شدن قندهای محلول، لوله‌ها به مدت یک هفته در یخچال نگهداری و هر روز هم زده شدند. پس از یک هفته از محلول رویی نمونه‌ها ۰/۵ میلی لیتر برداشته و حجم آن را با آب مقطر به دو میلی لیتر رسانده شد. سپس یک میلی لیتر فنل ۵٪ اضافه شد و خوب مخلوط گردید. به هر نمونه ۵ میلی لیتر اسید سولفوریک غلیظ با فشار اضافه شد و محلول زرد رنگی بدست آمد که به مرور زمان بسته به میزان قند موجود در آنها شدت رنگ بیشتر شد. پس از سرد شدن با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر، جذب در طول موج ۴۸۵ نانومتر خوانده شد و مقادیر قند نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد گلوکز بر اساس میلی گرم بر گرم وزن خشک ارزیابی گردید.

سنجش محتوای کلروفیل‌های a و b: اندازه‌گیری مقدار کلروفیل‌های a و b با استفاده از روش Arnon (۹) انجام گرفت. بدین منظور ۰/۵ گرم از برگ‌های گیاه در هاون چینی و با نیتروژن مایع ساییده شد و سپس ۲۰ میلی لیتر استن ۸۰٪ به نمونه اضافه شده و پس از همگن کردن صاف گردید. عصاره‌ها با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. جذب عصاره جدا شده فوقانی به طور جداگانه در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر قرائت و مقدار کلروفیل‌های a و b با استفاده از رابطه‌های زیر محاسبه شد.

کلروفیل a =[(19.3 × A_{663}) – (0.86 × A_{645})] V/100W

کلروفیل b = [(19.3 × A_{645}) – (3.6 × A_{663})] V/100W

V: حجم محلول فوقانی حاصل از سانتریفیوژ بر حسب میلی لیتر A: جذب نور در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ نانومتر، W: وزن تر بافت بر حسب گرم

محتوای نسبی آب (RWC): محتوای نسبی آب به روش Ritchie و همکاران (۴۳) سنجیده شد. نمونه برداری از آخرین برگ نمو یافته تمامی تیمارها انجام و با ترازوی ۰/۰۰۰۱ گرم وزن شد. نمونه برداری در هر کدام از زمان‌های ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت پس از تنش و همچنین در زمان برداشت نیز انجام گرفت و مراحل، طبق دستورالعمل صورت گرفت. سپس محتوای آب نسبی نمونه‌ها با استفاده از فرمول زیر بدست آمد:

$RWC=F_w- D_w/ S_w- D_w×100$

F_w: وزن تر برگ بلافاصله بعد از نمونه برداری D_w: وزن خشک برگ بعد از قرار گرفتن در آون

S_w: وزن اشباع برگ بعد از قرار گرفتن در آب مقطر

سنجش پرولین: برای اندازه‌گیری پرولین در برگ، از روش Bates و همکاران (۱۳) با اندکی تغییر استفاده شد. ابتدا ۱۰۰ میلی گرم از بافت تازه برگی در ۵ میلی لیتر اتانول ۴۰٪ ساییده شد. یک میلی لیتر از عصاره به همراه یک میلی لیتر محلول نین هیدرین در بن‌ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد به مدت یک ساعت قرار داده شد. بعد از سرد شدن به آن‌ها ۱۰ میلی لیتر تولوئن افزوده و لوله تکان داده شد. مایع رویی جدا شد و جذب آن در ۵۲۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. از غلظت‌های مختلف پرولین جهت رسم منحنی استاندارد استفاده شد.

سنجش فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدان

سنجش فعالیت کاتالاز: فعالیت این آنزیم طبق روش Aebi و Lester (۴) اندازه‌گیری شد. در این روش میزان تجزیه H_2O_2 بصورت کاهش در میزان جذب، در طول موج ۲۴۰ نانومتر ظرف مدت ۱ دقیقه، ملاک سنجش

فعالیت آنزیم است. به ۲ میلی لیتر عصاره گیاهی که ۲۰۰ بار توسط بافرفسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار رقیق شده، ۱ میلی لیتر H_2O_2 ۱۰ میلی مولار اضافه شد و بلافاصله پس از یک دقیقه، جذب در ۲۴۰ نانومتر خوانده شد. از قانون بیر- لامبرت (A= €bc) برای محاسبهٔ میزان فعالیت آنزیم استفاده گردید. فعالیت بر حسب میلی‌مول H_2O_2 اکسید شده در دقیقه در گرم وزن تر بافت سنجیده می‌شود.

سنجش فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز: سنجش فعالیت آنزیم SOD به روش Beauchamp و Fridovich (۱۴) انجام شد و فعالیت آن بر اساس مهار رقابتی احیای نیتروبلو تترازولیوم کلراید (NBT) توسط رادیکالهای سوپر اکسید تعیین شد. مخلوط واکنش (۲ میلی لیتر) برای سنجش شامل موارد زیر است: بافر فسفات ۵۰ میلی مولار با pH= ۷/۸ همراه با EDTA ۲ میلی مولار، متیونین ۹/۹ میلی مولار، NBT ۵۵ میکرومولار و ریبوفلاوین ۱ میلی مولار. ریبوفلاوین در آخرین مرحله و در تاریکی به ترکیب اضافه شد و بلافاصله به زیر نور فلورسنت منتقل گردید. بعد از ۱۰ دقیقه جذب در ۵۶۰ نانومتر قرائت شد.

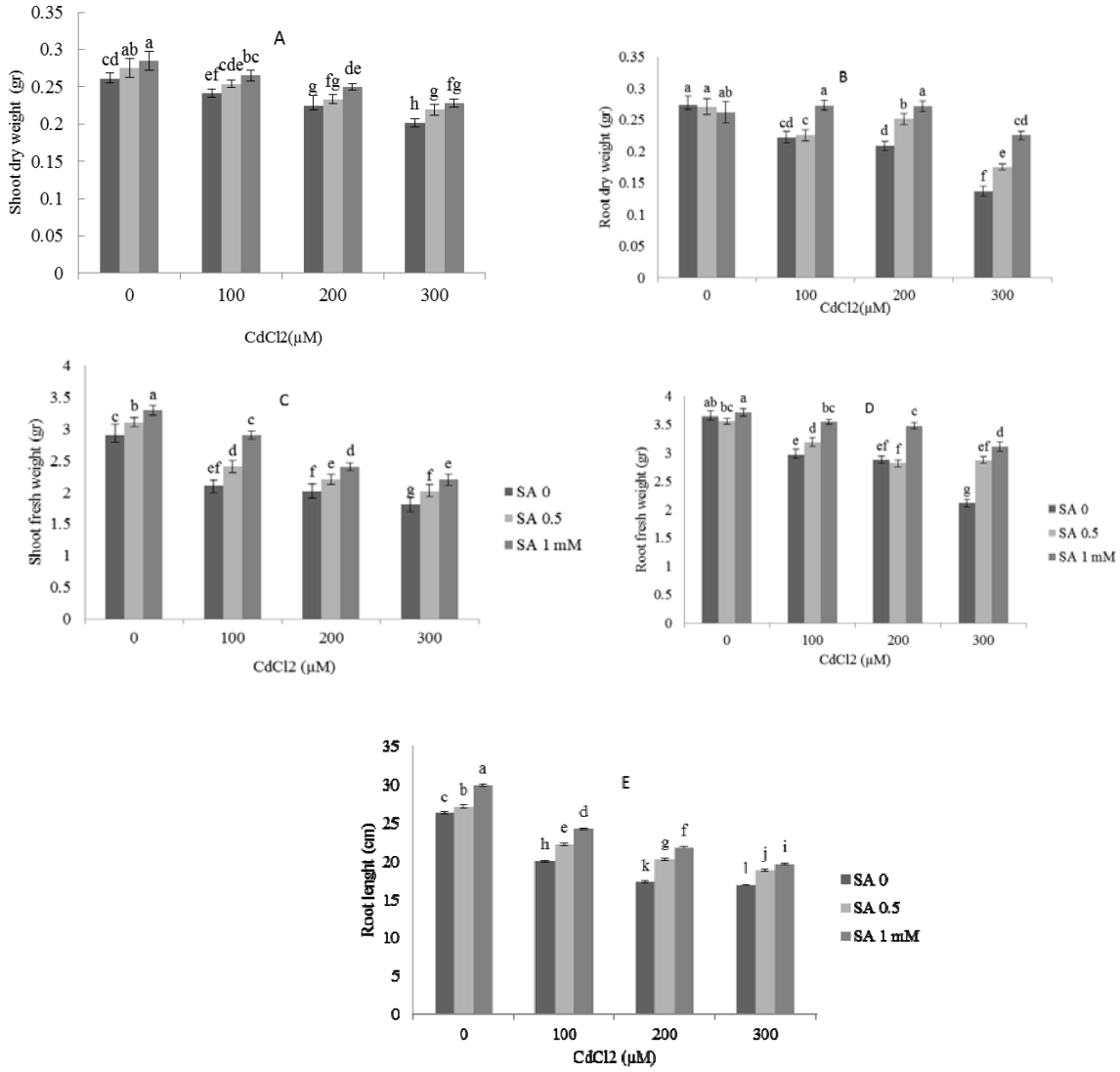
تحلیل داده ها: آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملا تصادفی و با سه تکرار به انجام رسید. آنالیز آماری با استفاده از نرم افزارهای SAS (9.4) و Statistix8 انجام شد. تجزیهٔ واریانس با ضریب اطمینان ۹۵٪ و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD صورت گرفت. رسم نمودارها و منحنی های استاندارد توسط نرم افزار Excel انجام گرفت.

نتایج

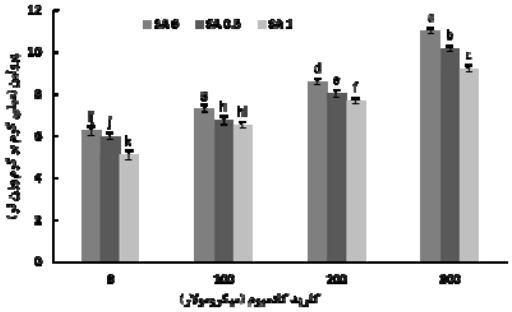
صفات موفولوژیک: تیمار کادمیوم باعث کاهش بیشتر پارامترهای رشدی سنجش شده در این تحقیق گردید. اما اثر کادمیوم بر طول ساقه معنی‌دار نبود. غلظت ۳۰۰ میکرومولار کادمیوم باعث کاهش ۳۵ درصدی در طول ریشه دانه رست‌ها شد. این کاهش در وزن خشک ساقه ۲۲٪، وزن تر ساقه ۳۴٪، وزن خشک ریشه ۵۰٪ و وزن تر ریشه حدود ۴۲٪ بود. در این شرایط تیمار سالیسیلیک اسید به ویژه در غلظت ۱ میلی مولار باعث بهبود معنی-داری در صفات رشدی شد. تیمار سالیسیلیک اسید باعث افزایش طول ریشه تا حدود ۱۴٪ نسبت به گیاهان فاقد هورمون در شرایط تنش کادمیوم گردید. تیمار با ۱ میلی مولار سالیسیلیک اسید باعث افزایش وزن تر ساقه در شرایط تنش کادمیوم تا حدود ۳۸٪ در غلظت ۱۰۰ میکرومولار کلرید کادمیوم و همچنین افزایش وزن تر ریشه تا حدود ۴۷٪ در غلظت ۳۰۰ میکرومولار کلرید کادمیوم گردید. ماکزیمم اثر سالیسیلیک اسید بر وزن خشک ساقه و ریشه نیز در غلظت ۳۰۰ میکرومولار کلرید کادمیوم مشاهده شد که غلظت ۱ میلی مولار سالیسیلیک اسید به ترتیب حدود ۱۳٪ و ۶۴٪ این پارامترها را افزایش داد (شکل ۱).

اثر متقابل سالیسیلیک اسید و کادمیوم بر میزان پرولین: میزان پرولین در گیاهان تحت تنش کادمیوم نسبت به گیاهان شاهد افزایش یافت. بیشترین مقدار پرولین در غلظت ۳۰۰ میکرومولار کلرید کادمیوم بود که این افزایش به ۷۶٪ نسبت به شاهد رسید. اما کاربرد سالیسیلیک اسید باعث کاهش میزان پرولین در تمام تیمارها شد و در غلظت ۱ میلی مولار سالیسیلیک اسید، گیاهان تیمار شده نسبت به سطح شاهد حدود ۹/۵٪ پرولین کمتری نشان دادند (شکل۲).

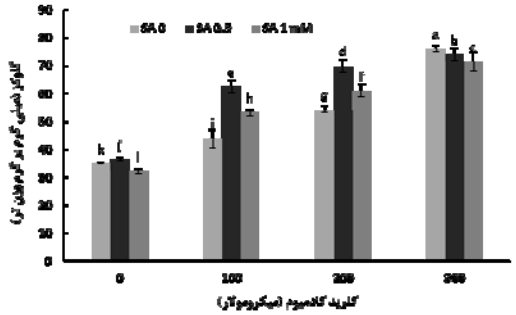
اثر متقابل سالیسیلیک اسید و کادمیوم بر میزان گلوکز: با افزایش غلظت کلرید کادمیوم میزان گلوکز در دانه‌رست‌ها افزایش یافت به‌طوریکه در غلظت ۳۰۰ میکرومولار کلرید کادمیوم به دو برابر سطح اولیه رسید. اسپری اسید سالیسیلیک بر گیاهان تحت تنش نیز سبب افزایش غلظت گلوکز شد. اما در تیمار ۳۰۰ میکرومولار کلرید کادمیوم، کاربرد هر دو غلظت اسید سالیسیلیک موجب کاهش محدودی در میزان گلوکز شد (شکل۳).



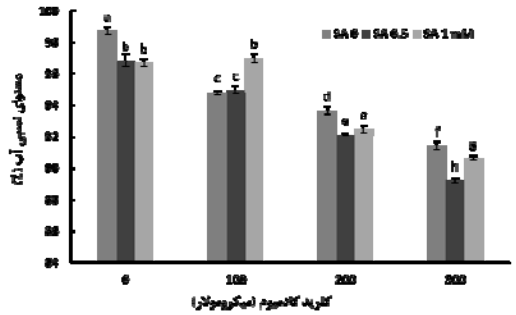
شکل۱- اثر متقابل سالیسیلیک اسید و کلرید کادمیوم بر پارامترهای رشدی دانه‌رست‌های گندم. A: وزن خشک ساقه، B: وزن خشک ریشه، C: وزن تر ساقه، D: وزن تر ریشه، E: طول ریشه. میانگین ها حاصل ۳ تکرار و حروف غیر مشترک نشانه اختلاف معنی دار در سطح پنج درصد بر اساس آزمون دانکن است. بارها نشاندهنده خطای استاندارد می‌باشند.



شکل۲- اثر متقابل سالیسیلیک اسید (و کادمیوم بر میزان پرولین دانه-رست‌های گندم. میانگین ها حاصل ۳ تکرار و حروف غیر مشترک نشانه اختلاف معنی دار در سطح پنج درصد بر اساس آزمون دانکن است. بارها نشاندهنده خطای استاندارد می‌باشند.



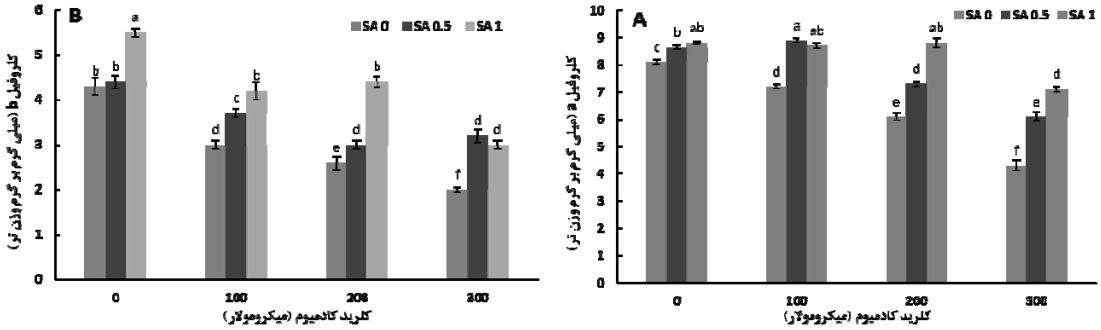
شکل۳- اثر متقابل سالیسیلیک اسید و کادمیوم بر میزان گلوکز دانه-رست‌های گندم. میانگین ها حاصل ۳ تکرار و حروف غیر مشترک نشانه اختلاف معنی دار در سطح پنج درصد بر اساس آزمون دانکن است. بارها نشاندهنده خطای استاندارد می‌باشند.



شکل۴- اثر متقابل سالیسیلیک اسید و کادمیوم بر محتوای نسبی آب دانه‌رست‌های گندم. میانگین ها حاصل ۳ تکرار و حروف غیر مشترک نشانه اختلاف معنی دار در سطح پنج درصد بر اساس آزمون دانکن است. بارها نشاندهنده خطای استاندارد می‌باشند.

اثر متقابل سالیسیلیک اسید و کادمیوم بر محتوای نسبی آب: طبق نتایج، با افزایش تنش کادمیوم محتوای نسبی آب حدود ۷٪ نسبت به شاهد کاهش یافت. کاربرد اسید سالیسیلیک در هر دو غلظت موجب کاهش بیشتری در محتوای نسبی آب در تیمارهای مورد مطالعه شد و تنها در غلظت ۱۰۰ میکرومولار کادمیوم کاربرد ۱ میلی مولار اسید سالیسیلیک منجر به افزایش حدود ۲ درصد در محتوای نسبی آب گردید (شکل ۴).

اثر متقابل سالیسیلیک اسید و کادمیوم بر میزان کلروفیل-های a و b: با افزایش تنش کادمیوم میزان کلروفیل b حدود ۲ برابر و کلروفیل a ۱/۸ برابر کاهش یافت و بیشترین کاهش در تیمار ۳۰۰ میکرو مولار کادمیوم مشاهده شد. کاربرد هر دو غلظت ۰/۵ و ۱ میلی مولار اسید سالیسیلیک منجر به افزایش میزان کلروفیل a وb گردید و افزایش حدود ۱/۶ برابر نسبت به سطح شاهد را باعث شد و بیشترین افزایش در غلظت ۲۰۰ میکرو مولار کلرید کادمیوم با تیمار ۱ میلی مولار اسید سالیسیلیک مشاهده شد (شکل ۵).



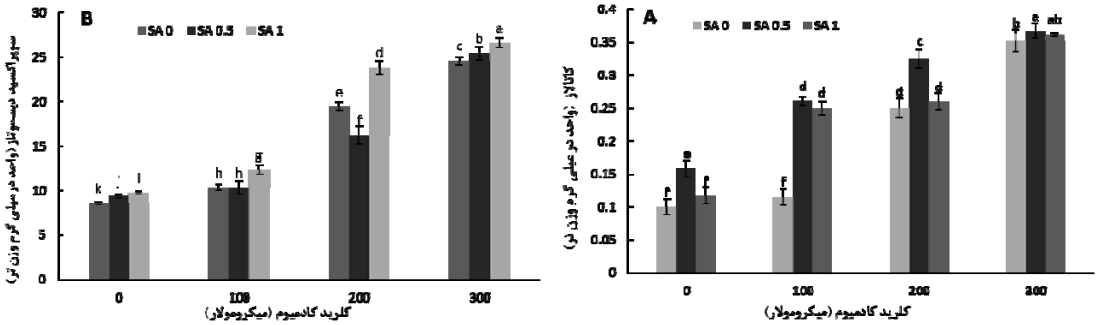
شکل۵- اثر متقابل سالیسیلیک اسید و کادمیوم بر میزان کلروفیل دانه‌رست‌های گندم. A: کلروفیلa، B: کلروفیل b. میانگین ها حاصل ۳ تکرار و حروف غیر مشترک نشانه اختلاف معنی دار در سطح پنج درصد بر اساس آزمون دانکن است. بارها نشاندهنده خطای استاندارد می‌باشند.

اثر متقابل سالیسیلیک اسید و کادمیوم بر فعالیت آنزیم-های آنتی اکسیدان

کاتالاز (CAT): تنش کادمیوم به طور معنی‌داری بر فعالیت آنزیم کاتالاز افزود. بیشترین مقدار فعالیت آنزیم در

غلظت ۳۰۰ میکرومولار مشاهده شد که به حدود ۳/۵ برابر مقدار شاهد رسید. هر دو غلظت سالیسیلات نیز باعث افزایش فعالیت کاتالاز در گیاهان تیمار شده نسبت به گیاهان شاهد شد. بیشترین افزایش مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز با کاربرد ۰/۵ میلی مولار سالیسیلات در ۱۰۰ میکرو مولار کادمیوم به دست آمد که حدود ۲ برابر سطح شاهد بود (شکل ۶).

سوپر اکسید دیسموتاز(SOD): تنش کادمیوم فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز را افزایش داد و در ۳۰۰ میکرو مولار به ۲/۸ برابر نسبت به سطح شاهد رسید. هر دو سطح هورمون سالیسیلات نیز اثر افزاینده بر فعالیت آنزیم در گیاهان تیمار شده نسبت به گیاهان شاهد داشت. بیشترین مقدار مربوط به کاربرد ۱ میلی مولار سالیسیلات در کادمیوم ۲۰۰ میکرو مولار بود که در این حالت ۲۲٪ بر میزان فعالیت SOD افزوده شد (شکل ۶).



شکل۶- اثر متقابل سالیسیلیک اسید و کادمیوم بر فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدان دانه‌رست‌های گندم. A: کاتالاز B: سوپر اکسید دیسموتاز. میانگین ها حاصل ۳ تکرار و حروف غیر مشترک نشانه اختلاف معنی دار در سطح پنج درصد بر اساس آزمون دانکن است. بارها نشاندهنده خطای استاندارد می‌باشند.

بحث

کادمیوم پس از ورود به گیاه، در ریشه‌ها انباشته شده و سبب اختلال در رشد می‌شود. کاهش رشد به‌خاطر تنش کادمیوم، مستقیما به مهار طولی نوک ریشه و فعالیت میتوزی مرتبط می‌شود (۲۲). در تحقیق حاضر تنش کادمیوم باعث کاهش طول ریشه شد، در حالی که بر طول ساقه تاثیر معنی داری نداشت، طبق گزارشات قبلی این نتایج قابل انتظار است زیرا کادمیوم ابتدا در ریشه‌ها تجمع می‌یابد و ریشه ها مرکز اصلی تجمع آن هستند (۱۸). طبق گزارشات Konate و همکاران (۳۱) کادمیوم سبب کاهش طول ریشه بر روی گیاهچه گندم گردید. یون کادمیوم از تقسیم سلولی و رشد سلول‌های حاصل از آن در ناحیه مریستمی ریشه جلوگیری می‌کند (۳۱). همچنین کادمیوم تمایز زودرس و چوبی شدن دیواره سلول‌های واقع در منطقه رشد طولی ریشه را تحریک نموده و از رشد آن ممانعت می‌نماید (۵۴).

طبق نتایج پژوهش حاضر، کاربرد SA منجر به افزایش پارامترهای رشدی هم در شرایط تنش کادمیوم و هم در شرایط بدون تنش شد. اثر بهبود دهنده SA در گیاهان مختلفی تحت شرایط تنش غیرزیستی گزارش شده است که به نقش SA در جذب عناصر غذایی، توانایی فتوسنتز و رشد نسبت داده شده است (۴۲). به طور مثال کاربرد SA اثرات زیان‌آور کادمیوم را روی رشد گیاهان کتان کاهش داده است (۱۵). SA بوسیله‌ی سلول‌های ریشه تولید می‌شود و نقش محوری در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف مثل رشد، نمو گیاه، جذب یون، فتوسنتز و جوانه‌زنی ایفا می‌کنند. در مقایسه‌ای که روی دانه‌رست جو انجام گرفت، SA به عنوان برطرف کننده آسیب‌های اکسیداتیو و موثر بر مکانیسم‌های سم زدایی کادمیوم معرفی

شد (۳۷). همچنین اسید سالیسیلیک با اثر روی ABA و انباشتگی این هورمون در گیاه باعث سازگاری به تنش‌های محیطی می‌شود (۴۵).

نتایج نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم به تدریج مقدار پرولین افزایش یافت و به کارگیری اسید سالیسیلیک در هر دو غلظت ۰/۵ و ۱ میلی مولار باعث کاهش میزان پرولین نسبت به تیمار شاهد شد. پرولین دارای یک نقش سازشی در تنظیم اسمزی و حفظ ساختارهای زیرسلولی در گیاهان تحت تنش، تثبیت کننده واکنش‌های فتوسنتزی و سنتز ATP و فعال سازی آنزیم‌ها می‌باشد (۱۷). چهار دلیل برای افزایش تجمع پرولین در حین تنش پیشنهاد شده است که عبارتند از: تحریک سنتز آن از اسید گلوتامیک، کاهش انتقال آن از طریق آوند آبکش، جلوگیری از اکسیداسیون آن در طول تنش و تخریب و اختلال در فرآیند سنتز پروتئین (۳۵). تیمار اسید سالیسیلیک باعث افزایش پرولین و تولید شیب اسمزی در گیاه می‌شود که سبب مقاومت در برابر کاهش آب برگ و افزایش سرعت رشد گیاه در شرایط استرس می‌شود (۴۹). تجمع پرولین در گیاه موجب کاهش آسیب به غشا و پروتئین‌ها می‌گردد. پرولین علاوه بر تنظیم اسمزی، در تنظیم pH سلول وتنظیم اکسیداسیون و احیا، منبع کربن و نیتروژن احیا شده نیز شرکت دارد. در آرابیدوپسیس افزایش غلظت پرولین و گلوتاتیون در اثر افزایش غلظت کادمیوم گزارش گردیده است (۵۵) که با نتایج این تحقیق هم‌راستا است.

در این مطالعه، محتوای نسبی آب تحت تنش کادمیوم کاهش و کاربرد اسید سالیسیلیک تنها در غلظت ۱۰۰ میکرومولار کلرید کادمیوم موثر عمل نموده و منجر به بهبود محتوای نسبی آب نسبت به شاهد شد. اندازه‌گیری این پارامتر یکی از روش‌های معمول برای تعیین وضعیت آبی گیاه است و از آنجایی که روزنه‌ها تعادل بین جریان خروجی و ورودی برگ را تنظیم می‌کنند. تنش فلزات سنگین مانع از تقسیم سلولی و باعث کاهش فشار تورگور در سلول‌های گیاهی می‌شود (۳۰). کاهش در محتوای نسبی آب برگ‌ها در بررسی اثر کروم بر روی گیاه جو نیز گزارش شده است (۲۷). در تیمار با فلزات سنگین جذب آب در گیاه کاهش می‌یابد که احتمالاً به دلیل تغییر در عملکرد آنزیم‌های تجزیه کننده پروتئین می‌باشد که این مسئله در مورد کادمیوم به اثبات رسیده است (۱۲). علاوه بر این کاهش رشد ریشه‌ها منجر به کاهش جذب و انتقال آب به برگ‌های گیاه می‌شود (۴۶). افزایش محتوای نسبی آب توسط اسید سالیسلیک و مشتقات آن می‌تواند به دلیل نقش اسید سالیسیلیک در افزایش توان سامانهٔ دفاعی آنتی اکسیدانی، افزایش همبستگی و پایداری غشا و تعدیل و تنظیم اسمزی از راه افزایش مقدار پتاسیم به عنوان یون بسیار مهم در حفظ فشار آماس یاخته‌ای باشد (۳۳). کاربرد SA، سبب بهبود محتوای آب نسبی در دانه‌های ذرت، هم در شرایط شوری و هم در گیاهان بدون اعمال شوری شد. همچنین تأثیر مثبت آن در گندم (۵) و جو (۲۲) در تنش شوری گزارش شده است. در این تحقیق، تنها تاثیر مثبت آن در تیمار ۱۰۰ میکرومولار کادمیوم مشاهده شد که به نظر می‌رسد در نتیجه اسپری سالیسیلیک اسید فشار آماس درون سلولی بیشتر شده و توسعه سلولی و رشد برگ بهبود پیدا کرده است.

نتایج بیانگر افزایش میزان گلوکز با افزایش تنش کادمیوم است. بعلاوه کاربرد ۰/۵ میلی مولار سالیسیلیک اسید در سطوح ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرو مولار کادمیوم منجر به افزایش غلظت گلوکزگردید. گزارش شده است که قندها علائم‌های مولکولی مهمی هستند که پاسخ‌های فیزیولوژیکی متنوعی را در ژن‌های مؤثر در فتوسنتز و متابولیسم و پاسخ‌های دفاعی تحت تأثیر قرار می‌دهند(۴۴). در گیاهک برنج (*Oryza sativa*) کادمیوم سبب افزایش قندهای احیاء کننده می‌شود و با کاهش انتقال آب به برگ‌ها و اختلال در سرعت تعرق برگ منجر به بروز تغییرات فراساختاری اندامک‌های سلول و تغییر در رفتار آنزیم‌های کلیدی چند مسیر متابولیسمی از جمله متابولیسم

قند می‌شود. با کاهش انتقال آب به برگ‌ها و بدنبال تجمع کادمیوم در سلول‌ها، محتوای قندهای احیا کننده در گیاه افزایش می‌یابد. این پدیده احتمالاً مکانیسم سازشی گیاه برای حفظ پتانسیل اسمزی در شرایط سمیت با کادمیوم است. علاوه بر آن آن تصور می‌شود با افزایش قندهای حل شونده گیاه بتواند ذخیره کربوهیدارتی خود را برای حفظ متابولیسم پایه سلول در شرایط تنش در حد مطلوب نگه‌دارد (۵۲). تیمار با اسید سالیسیلیک نیز محتوای قندهای محلول را در گیاهان مرزنگوش (۲۱)، گوجه (۳۲)، گندم (۹) و بامیه(۱۱) افزایش داد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. در تیمار همزمان سرب و سالیسیلیک اسید این هورمون با تعدیل در مقدار رنگیزه های فتوسنتزی و حفظ ساختار و فعالیت روبیسکو باعث افزایش مقدار قندهای محلول و نامحلول شد (۱). میزان قندهای قابل احیا در گل داوودی توسط تیمار با سالیسیلیک اسید تا سطح ۱۰ میکرومولار افزایش یافت که علت در کاهش تنفس سلولی و بهبود شرایط فتوسنتزی عنوان شده است (۳). اثر اسید سالیسیلیک بر متابولیسم ساکارز نشان داد که این هورمون از طریق افزایش فعالیت آنزیم اینورتاز در سلول، میزان گلوکز و فروکتوز را در شرایط تنش افزایش می‌دهد. آنزیم اینورتاز در ریشه نقش مهمی در کنترل و تنظیم تقسیم سلولی و همینطور طویل شدن سلول‌ها و تمایز آن‌ها بوسیله تولید هگزوزها (گلوکز و فروکتوز) ایفا می‌کند که نه تنها کربن و انرژی را برای رشد ریشه فراهم می‌کند بلکه حسگرهای قند را نیز تحریک می کند (۸).

در این تحقیق، میزان کلروفیل‌های a و b تحت تنش کادمیوم کاهش یافت و کلروفیل b کاهش بیشتری را نشان داد. در مطالعات بسیاری نیز گزارش شده است که تحت تأثیر کادمیوم مقدار کلروفیل کل در گیاه کاهش می‌یابد. کادمیوم به غشاهای تیلاکوئیدی کلروپلاست آسیب می‌زند و ظرفیت فتوسنتزی را به شدت کاهش داده و رشد گیاه را متوقف می‌سازد (۲۸). کادمیوم با مهار فعالیت آنزیم‌های چرخه کالوین از جمله روبیسکو و زنجیره انتقال الکترون و آسیب به سلول‌های روزنه‌ای، فتوسنتز و رشد را کاهش می‌دهد (۴۸). غلظت‌های بالای کادمیوم در بافت برگ به طور غیرمستقیم از طریق اختلال در فرایند متابولیک گیاه و پیری زودرس بر روی محتوای کلروفیل تأثیر می‌گذارد (۵۱). طبق پژوهش حاضر کاربرد اسید سالیسیلیک در هر دو غلظت ۰/۵ و ۱ میلی مولار منجر به افزایش میزان کلروفیل نسبت به شاهد شد. در زمان تنش، اسید سالیسیلیک از دستگاه فتوسنتزی از طریق افزایش توانایی آنتی‌اکسیدانی سلول و سنتز پروتئین‌های جدید محافظت می‌کند. سالیسیلیک اسید جذب عناصری نظیر منیزیم را بهبود می بخشد و به این ترتیب میزان کلروفیل را ثابت نگه داشته و نرخ تثبیت دی اکسید کربن فتوسنتزی را بهبود می‌بخشد (۴۰). این هورمون همچنین سمیت کادمیوم را از طریق توزیع بهتر پتاسیم که در بسته شدن روزنه‌ها دخالت دارد، کاهش می‌دهد (۲۰). سالیسیلیک اسید باعث حفاظت از فعالیتهای فتوشیمیایی غشای کلروپلاستی و واکنشهای کربوکسیلاسیون فتوسنتزی می‌گردد (۴۲).

طبق نتایج پژوهش حاضر، با افزایش تنش کادمیوم میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز برگ افزایش یافت. به نظر می‌رسد که با افزایش غلظت کادمیوم میزان تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن شدت بیشتری پیدا کرده و گیاه برای مبارزه با آن القاء فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی خود را افزایش داده است. در این مطالعه تنش کادمیوم باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های SOD و کاتالاز شد که می‌توان دلیل غیرمستقیمی بر افزایش فعالیت رادیکال‌های آزاد تحت تنش کادمیوم در گندم باشد. میزان آسیب سلول‌های تحت تنش فلزات سنگین به میزان تولید رادیکال‌های آزاد و همچنین کارآیی مکانیسم‌های سم‌زدایی در گیاهان بستگی دارد. افزایش مشابهی در فعالیت آنزیم SOD در پاسخ کادمیوم در توت سفید (۵۰) و لوبیا (۶) گزارش شده است. همچنین افزایش کادمیوم سبب القاء فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در گیاه *Achnatherum inebrians* می‌شود (۵۷). در این تحقیق کاربرد اسید

سالیسیلیک منجر به افزایش فعالیت این دو آنزیم شد. بردباری به کادمیوم تحت تاثیر سالیسیلیک اسید به افزایش فعالیت سیستم دفاع آنتی اکسیدانی نسبت داده می‌شود. در تنش کادمیوم این هورمون منجر به تنظیف ROS و پایداری غشا شده و تعادل اکسیداسیون ـ احیا را از طریق تنظیم افزایشی پاسخهای آنتی اکسیدانی بهبود می‌بخشد (۴۲). سالیسیلیک اسید خارجی فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز را در گیاهان ذرت (۳۴)، برنج (۲۴) و گندم (۲۹) افزایش داده است. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز اولین پروتئینی است که در پاسخ به تنش تولید می شود و یون سوپر اکسید را به اکسیژن و پراکسید هیدروژن تجزیه می‌کند. آنزیم بعدی کاتالاز است که با پراکسید هیدروژن واکنش می‌دهد. در بعضی تحقیقات سالیسیلیک اسید منجر به افزایش فعالیت کاتالاز می‌شود (۵). ایزوزیم‌های مختلفی از این آنزیم در گیاهان شناسایی شده است. بیان بیش از حد CAT3 در گیاه *Brassica napus* در شرایط تنش کادمیوم مشاهده شده است (۳۸). اما گاهی فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تاثیر سالسیسلیک اسید مهار می‌شود که علت آن می‌تواند مربوط به اثر سالیسیسلات بر کمپلکس‌های حاوی آهن از طریق شلات کردن آهن باشد (۳۶).

نتیجه گیری

نتایج نشان داد کادمیوم به ویژه در غلظت ۳۰۰ میکرومولار باعث کاهش پارامترهای رشدی گیاه گردید و اسپری سالیسیلیک اسید در گیاهان تحت تنش کادمیوم اثرات بهبود دهنده‌ای بر پارامترهای رشد گیاه داشت. به طور کلی از نتایج بدست آمده چنین استنباط می‌شود که کادمیوم بر فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف تاثیر گذار می‌باشد. گیاه به منظور سازگاری و تحمل بیشتر در برابر غلظت‌های سمی این فلز سنگین (صفر، ۱۰۰ ، ۲۰۰ و۳۰۰ میکرومولار) با افزایش میزان قندهای محلول و پرولین به منظور حفظ شرایط اسمزی سازش واکنش نشان می‌دهد. سالیسیلیک اسید به عنوان یک تنظیم کننده رشد گیاهی از طریق کاهش پرولین و افزایش کلروفیل‌های a و b سمیت ناشی از کادمیوم را تخفیف می‌دهد. در این تحقیق با توجه به خاصیت القا کنندگی سالیسیلیک اسید نقش این ترکیب با تعدیل تنش کادمیوم توانسته است اثرات مخرب فلز سنگین کادمیوم را مهار کند.

منابع

۱- پاداش، ع.، لاری قنبری، ا.، سیروس مهر، ع.، اصغری پور، م. ۱۳۹۷. تأثیر اسید سالیسیلیک بر مقاومت گیاه ریحان نسبت به سمیت سرب. پژوهش‌های گیاهی. جلد ۳۱. شماره ۱. صفحه ۷۹-۶۸

۲- طویلی، ع.، صابری، م.، شهریاری، ع. و حیدری، م. ۱۳۹۲. بررسی اثر پیش‌تیمار سالیسیلیک اسید بر ویژگیهای جوانه‌زنی بذر و رشد اولیه دانه‌رست *Bromus tomentellus* Boiss. در شرایط تنش کادمیوم. پژوهش‌های گیاهی. جلد ۲۶. شماره ۲. صفحه ۲۱۶-۲۰۸

۳- منصوری، م.، شور، م.، تهرانی فر، ع.، سلاح ورزی، ی. ۱۳۹۳. بررسی تغییرات بیوشیمیایی ایجاد شده در اثر محلول پاشی سالیسیلیک اسید و تیامین بر گل ژربرا رقم پینک الگانس (*Gerbera jamesonii* L., cv. Pink Elegance). نشریه علوم باغبانی. جلد ۲۹. شماره ۱. صفحه ۱۲۷-۱۳۳

4- Aebi, H. and Lester, P. 1984. Catalase in vitro. Methods in enzymology 105:121–126.

5-Agarawal, S., Sairam, R.K., Srivasta, G.C., Meena, R.C. 2005. Changes in antioxidant enzymes activity and oxidative stress by abscisic acid and salicylic acid in wheat genotypes. Biologia Plantarum 49: 541-550.

6-Ahmadvand, S., Bahmani, R., Habibi, D., and Forouzesh, P. 2013. Investigation of cadmium chloride effect on growth parameters and some physiological characteristics in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings. Journal of Agronomy and Plant Breeding 8(4): 167-182.

7-Akbari, M., Baradaran Firouzabadi, M., Asghari, H., Farrokhi, N., Ghorbani, H. 2013. Complimentary response of salicyclic acid and

cadmium on growth and yield traits of soybean. International Journal of Agronomy and Plant Production 4 (7): 1684-1696.

8- Al-HakiMi, A.M. and HAMAdA, A.M. 2011. Ascorbic Acid, Thiamine or Salicylic Acid Induced Changes in Some Physiological Parameters in Wheat Grown under Copper Stress. Plant Protection Science 47(3): 92–108

9- Arnon, A. N. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agronomy Journal 23:112-121.

10- Azooz, M.M. and Youssef, M.M. 2010. Evaluation of heat shock and salicylic acid treatments as inducers of drought stress tolerance in hassawi wheat. American Journal of Plant Physiology 5(2):56-70.

11- Baghizadeh, A., Ghorbanli, M., Haj Mohammad Rezaei, M., Mozafari, H. 2009. Evaluation of interaction effect on drought stress with ascorbat and salicylic acid on some of physiological and biochemical parameters in okra (*Hibiscus esculentus* L.). Research Journal of Biological Sciences 4(4): 380-387.

12- Barket, A., Indu, R., Shamsul, H., Aqil, A. 2007. Effect of 4-cl-indol-3- acetic acid on the seed germination of *Cicer arietinum* exposed to cadmium. Acta Botanica Croatica 66:57-65.

13- Bates L, Waldren SRP, Teare ID. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil 39:205-207.

14- Beauchamp C.O., Fridovich I. 1971: Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. Analytical Biochemistry 44: 276–287.

15- Belkhadi, A., Hediji, H., Abbes, Z., Nouairi, I., Barhoumi, Z., Zarrouk, M., Chabi, W., Djebali, W. 2010. Effects of exogenous salicylic acid pre-treatment on cadmium toxicity and leaf lipid content in *Linum usitatissimum* L. Ecotoxicology and Environmental Safety 73: 1004–1011.

16-Chen, W., Hou, Z., Wu, L., Liang, Y. and Wei, C. 2010. Effect of salicylic acid and nitrogen on cotton growth in arid environment. Plant and Soil 326: 61-73.

17-Chen, J., Cheng, Z. and Zhong, S. 2007. Effect of exogenous salicylic acid on growth and H2O2-Metabolizing enzymes in rice seedlings lead stress. Journal of Environmental sciences 19:44-49.

18-Daneshmand, F., Arvin, M.J., Manuchehry Kalantari, Kh. 2010. Acetylsalicylic acid (Aspirin) induces salinity and osmotic tolerance in *Solanum acaule in vitro*. Agrochimica 54(1): 52-64.

19-De Maria S, Puschenreiter M, Rivelli A. R. 2013. Cadmium accumulation and physiological response of sunflower plants to Cd during the vegetative growing cycle. Plant, Soil and Environment 59 (6): 254–261.

20- Drazic G, Mihailovic N (2005) Modification of cadmium toxicity in soybean seedlings by salicylic acid. Plant Science 168:511–517

21- El-Lateef Gharib, F. 2006. Effect of salicylic acid on the growth, metabolic activities and oil content of basil and marjoram. International Journal of Agriculture & Biology 8(4): 485-492.

22- El-Tayeb, M.A. 2005. Response of barley grain to the interactive effect of salinity and salicylic acid. Plant Growth Regulation 42: 215-224.

23-Fayez, K.A. 2017. Action of cadmium toxicity on growth, physiological activities and subcellular components of watercress (*Eruca sativa* L.) plant: The protective role of salicylic acid. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences 8(2): 1853

24- Guo B, Liang Y, Zhu Y, Zhao F. 2007. Role of salicylic acid in alleviating oxidative damage in rice roots (*Oryza sativa*) subjected to cadmium stress. Environmental Pollution 147:743–749

25- Hamada, A.M., and Al-Hakimi, A.M.A. 2001. Salicylic acid versus salinity-drought-induced stress on wheat seedlings. Rostlinna vyroba 47: 444-450.

26- Harris, N.S., Taylor, G.J. 2013. Cadmium uptake and partitioning in durum wheat during grain filling. Harris and Taylor BMC Plant Biology 13(1): 103.

27-Hauschild, M.Z. 1993. Putrescine (1,4-diaminobutane) as an indicator of pollution induced stress in higher plants: barley and rape stressed with Cr(III) or Cr(VI). Ecotoxicology and Environmental Safety 26: 228-247.

28- Jianpeng, F., Qinghua, S., Xiufeng. W., Min, W. 2010. Silicon supplementation ameliorated the inhibition of photosynthesis and nitrate metabolism by cadmium toxicity *Cucumis sativus* L. Science Horticulture 123: 521-530.

29- Kang G, Li G, Liu G, Xu W, Peng X, Wang C, Zhu Y, Guo T. 2013. Exogenous salicylic acid enhances wheat drought tolerance by influence on the expression of genes related to ascorbate-glutathione cycle. Biologia Plantarum 57:718–724

30- Kastori, R.M., Petrovic, M., Petrovic, N. 1997. Effect of excess lead, cadmium, copper and zinc on water relation in sunflower. Journal of Plant Nutrition 15: 2427-2439.

31- Konate, A., He, X., Zhang, Z., Ma, Y. and Zhang, P. 2017. Magnetic (Fe3O4) Nanoparticles Reduce Heavy Metals Uptake and Mitigate Their Toxicity in Wheat Seedling. Sustainability 9(5): 790.

32- Kord, M. and Hathout, T. 1992. Changes in some growth criteria, metabolic activities and endogenous hormones in tomato plants consequent to spraying with different concentrations of salicylaldehyde. Egypt Journal of Physiology Science 16: 117–39

33- Korkmaz, A., Uzunlu, M., and Demirkairan, A.R. 2007. Treatment with acetylsalicylic acid protects muskmelon seedlings against drought stress. Acta Physiologia Plantarum 29: 503-508.

34-Krantev A, Yordanova R, Janda T, Szalai G, Popova L. 2008. Treatment with salicylic acid decreases the effect of cadmium on photosynthesis in maize plants. Journal of Plant Physiology 165:920–931

35-Lamas, A. 2001. Ullrich and membrane permeability of rice (*Oryza sativa*) roots. Plants and Soil. 219: 21-28.

36-Liu, Z., Ding, Y., Wang, F., Ye, Y., Zhu, Ch. 2016. Role of salicylic acid in resistance to cadmium stress in plants. Plant Cell Reports 35(4):719-31.

37-Metwally, A., Finkemeier, I., Georgi, M., Dietz, K.J. 2003. Salicylic Acid Alleviates the Cadmium Toxicity in Barley Seedlings. Plant Physiology 132: 272–281.

38-Minglin, L, Yuxiu Z, Tuanyao C. 2005. Identification of genes up- regulated in response to Cd exposure in *Brassica juncea* L. Gene. 363:151–158

39-Moussa, H.R., El-Gamal, S.M. 2010. Effect of salicylic acid pretreatment on cadmium toxicity in wheat. Biologia Plantarum 54 (2): 315-320.

40-Pal, M, Szalai G, Horva´th E, Janda T, Pa´ldi E. 2002. Effect of salicylic acid during heavy metal stress. Acta Biologica Szege- diensis 46:119–120

41- Peleg, Z., and Blumwald, E. 2011. Hormone balance and abiotic stress tolerance in crop plants. Current Opinion in Plant Biology 14(3): 290–295.

42- Popova L., Maslenkova L., Yordanova R., Krantev A., Szalai G. and Janda T. 2009. Salicylic acid protects photosynthesis against cadmium toxicity in pea plants. Plant Physiology 34: 133-148.

43- Ritchie, S. W., Nguyen, H. T. and Holaday, A. S. 1990. Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. Crop Science 30: 105-111.

44- Roitsch, T. 1999. Source-sink regulation by sugars and stress. Current Opinion in Plant Biology 2:198-206

45-Shah, F.S., Watson, C. E., cabera, E.R. 2002. Seed vigor testing of subtropical Corn Hybrids Research. Report 23 (2): 56-68.

46- Shanker, A.K., Cervantes, C., Loiza-Tavera, H., Audainayagam, S. 2005. Chromium toxicity in plants. Journal of Environmental International 31: 739-753.

47- Singh, S., Parihar, P., Sing, R., Singh, V. P., and Prasad, Sh. M. 2016. Heavy Metal Tolerance in Plants: Role of Transcriptomics, Proteomics, Metabolomics, and Ionomics. Frontiers in Plant Science. 6: 1-36.

48- Souza, J.F., Dolder, H., Cortelzaao, AL. 2005. Influence of Mn toxicity on photosynthesis in *vigna umbellate* seedling. Phptosynthetica 38: 449-453

49- Tasgin, E., Atici, O., Nalbantoglu, B. 2006. Effects of salicylic acid and cold on freezing tolerance in winter wheat leaves. Plant Growth Regulation 41: 231-236.

50- Tewari, R.K., Kumar, P., and Sharma, P.N. 2008. Morphology and physiology of zinc-stressed mulberry plants. Journal of Plant Nutrition and Soil Science 171: 286-294.

51- Vassilev, A., Yordanov, I., and Tsonev, T. 1997. Effects of Cd2+ on the physiological state and photosynthetic activity of young barely plants. Photosynthetica 34: 293–302.

52- Verma, S., and Dubey, R.S. 2001. Effect of Cd on soluble sugars and enzymes of their metabolism in rice. Biologia plantarum 44(1): 117-123

53- Wang, F., Wang, Z. and Zhu, Ch. (2012). Heteroexpression of the wheat phytochelatin synthase gene (TaPCS1) in rice enhances cadmium sensitivity. Acta Biochimica et Biophysica Sinica 44(10):886-893.

54- Wangstrand, H., Eriksson, J. and Born, I.O. 2007. Cadmium concentration in winter wheat as affected by nitrogen fertilization. European Journal of Agronomy 26: 209–214.

55- Xu, J., Yin, H., Liu, X. and Li, X. 2010. Salt effects plant Cd-stress responses by modulating growth and Cd accumulation. Planta 231: 449-459.

56- Zaki, R.N., and Radwan, T.E. 2011. Improving wheat grain yield and its quality under salinity conditions at a newly reclaimed soil by using different organic sources as soil or foliar applications. Journal of Apply Science Research 7(1): 42-55.

57- Zhang, X., Fan, X., Li, C., and Nan, Z. 2010. Effects of cadmium stress on seed germination, seedling growth and antioxidative enzymes in *Achnatherum inebrians* plants infected with a Neotyphodium endophyte. Plant Growth Regulation 60 (2): 91-97.

Effects of salicylic acid on growth improvement and changes of biochemical parameters of wheat seedlings in cadmium stress

Behnam A.[1], Abbaspour H.[2], Safipour afshar A.[3] and Nematpour F.S.[3]

[1] Dept. of Biology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran.

[2] Dept. of Biology, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, I.R. of Iran

[3] Dept. of Biology, Neyshabur Branch, Islamic Azad University, Neyshabur, Iran.

Abstract

One of the strategies used to reduce the negative effects of various stresses on plants is the application of growth regulators such as salicylic acid. This study investigated the interaction between salicylic acid (0, 0.5 and 1 mM) and cadmium chloride (0, 100, 200 and 300 µM) on growth traits, photosynthetic pigments, antioxidant enzymes activity, relative water content, proline and glucose content in wheat seedlings. The results showed that cadmium stress reduced growth treats of plants from 30 to 50 percent compared to control untreated plants, significantly. Moreover, relative water content decreased by 7% and the chlorophylls a and b levels were about 2 times lower. Cadmium stress caused a three-fold increase in the activity of catalase and superoxide dismutase enzymes and also glucose levels dropped by 2 times. Salicylic acid spray had significant positive effects on growth traits of cadmium-stressed seedlings and between 20% to 60% increased these parameters. The relative water content of these seedlings also increased 2 times. Salicylic acid has increased the activity of antioxidant enzymes and increased levels of chlorophyll and glucose by over 40% compared to control plants. The results of this study showed that salicylic acid is effective in reducing the negative effects of cadmium stress by increasing the amount of chlorophyll, improving the activity of antioxidant enzymes and changing the amount of glucose in Wheat.

Key words: Antioxidant enzymes, Cadmium, glucose, salicylic acid, Wheat (*Triticum aestivum* L.).