بررسی اثر سالیسیلیک اسید بر رشد، شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه دارویی بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) تحت تنش کادمیوم

منوره حیدری[۱]، صدیقه اسمعیل زاده بهابادی[۲*] و محمد حسین سنگتراش[۱]

[۱] **ایران، سیستان و بلوچستان، دانشگاه سیستان و بلوچستان، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی**

[۲] **ایران، زابل، دانشگاه زابل، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی**

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۳/۳۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۹/۱۷

چکیده

کادمیوم یکی از فلزات سنگین می‌باشد که در گیاهان تنش اکسیداتیو ایجاد می‌کند. در این راستا استفاده از تنظیم کننده‌های رشد گیاهی از جمله سالیسیلیک اسید جهت تخفیف اثرات سمی کادمیوم به عنوان گزینه‌ای مناسب مطرح می‌باشد. این مطالعه به‌منظور بررسی برهم‌کنش کلریدکادمیوم و سالیسیلیک اسید بر شاخص‌های رشد، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، میزان کربوهیدرات و پرولین گیاه بادرنجبویه اجرا گردید. این آزمایش در سال ۱۳۹۶ به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی و سه تکرار در دانشگاه زابل اجرا شد. عامل‌های آزمایش شامل چهار سطح کلرید کادمیوم (۰، ۰/۱، ۰/۵، ۱ میکرومولار) و عامل دوم محلول‌پاشی با سالیسیلیک اسید در سه سطح (۰، ۰/۵، ۱ میلی مولار) بود. نتایج نشان داد شاخص‌های مختلف رشد از جمله وزن ریشه و ساقه، طول ریشه و ساقه تحت تأثیر تنش کادمیوم کاهش یافت و افزودن سالیسیلیک اسید باعث بهبود شاخص‌های رشد شد. میزان کربوهیدرات و پروتئین تحت تنش کادمیوم کاهش یافت و سالیسیلیک اسید باعث تعدیل این کاهش شد. نتایج نشان داد که با بالارفتن سطح تنش، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات‌پراکسیداز، گایاکول‌پراکسیداز و میزان مالون‌دی‌آلدهید افزایش یافتند. درحالیکه سالیسیلیک اسید باعث کاهش میزان مالون‌دی‌آلدهید و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان گردید. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت گفت سالیسیلیک اسید به عنوان یک مولکول پیام‌رسان اثرهای مضر حاصل از تنش را کاهش داد و سبب بهبود تحمل تنش کادمیوم در بادرنجبویه شد.

واژه‌های کلیدی: بادرنجبویه، تنش کادمیوم، سالیسیلیک اسید، رشد، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۵۴۳۱۲۳۲۱۸۷، پست الکترونیکی: esmaeilzadeh@uoz.ac.ir

مقدمه

گیاهان دارویی یکی از منابع بسیار ارزشمند در گستره وسیع منابع طبیعی ایران هستند که در صورت شناخت علمی، کشت، توسعه و بهره برداری صحیح می‌توانند نقش مهمی در سلامت جامعه، اشتغال‌زایی و صادرات غیرنفتی داشته باشند. که می‌توان آن را گنجینه طلای سبز نامید. این گیاهان از دیرباز در طب سنتی بکار می‌رفته و امروزه با توجه به روند رو به رشد مصرف آن در دنیا، بر اهمیت آن افزوده می گردد. شناسایی، کشت و اهلی کردن گونه‌های مهم در جهت کاهش فشار به منابع طبیعی و حفاظت از منابع ژنتیکی اقدامی حائزاهمیت است (۱). بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) یک گیاه چند ساله معطر متعلق به خانواده نعناعیان بومی مدیترانه و به طور گسترده‌ای در مناطق اروپای مرکزی و جنوبی و آسیا رشد می‌کند (۳۷). در ایران برای درمان سردرد، سوء هاضمه، کولیک، تهوع، کم‌خونی، سرگیچه، ضعف، آسم، برونشیت، نارسایی قلبی، آریتمی قلبی، بی خوابی، صرع، افسرده‌گی،

هیستری، زخم استفاده می‌شود (۹). مهم‌ترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس بادرنجبویه شامل سیترونلال (۱۰ تا ۵۰ درصد) تشکیل می‌دهد. از ترکیبات دیگر شامل اسانس (میانگین ۰/۱ درصد با سیترال-ژرانیل و نرال، لینالول، اوژنول، سیترونلال، ژرانیول) تانن، ماده تلخ، رزین، پلی فنل‌ها، فلاونوئید، سوکسینیک اسید و رزمارینک اسید است (۱۰).

رشد گیاه یکی از پیچیده‌ترین و حساس ترین پدیده‌های حیاتی نسبت به پارامترهای محیطی می‌باشد که بازتاب پاسخ گیاه نسبت به متغیرهای محیطی است. کاهش رشد تحت شرایط نامناسب محیطی به قطع ارتباط بین فرآورده‌های گیاه نسبت داده می شود. لذا رشد گیاه نیاز به ارتباط مناسب بین فرآیند های متابولیسمی بخش های مختلف دارد. واژه‌ی تنش به معنای از بین رفتن شرایط طبیعی در سطوح مختلف از جمله محیط، گیاه، سلول و حتی اجزای سلولی است. عوامل تنش‌زا اغلب با تغییر در فرآیندهای فیزیولوژیک گیاه باعث ایجاد صدمه و کاهش عملکرد می‌شوند. تأثیر هر عامل تنش‌زا بر فرآیندهای فیزیولوژیک در یک گونه گیاهی همواره ثابت نیست بلکه یک گیاه ممکن است در مراحل مختلف رشد نسبت به یک عامل حساسیت‌های متفاوتی نشان دهد. شرایط تنش می-تواند به صورت دائم یا موقت حادث شود و لزوما مرگ آنی گیاه را در پی ندارد. به طوری که اگر تنش پس از مدت کوتاهی حذف شود، گیاه به حالت طبیعی باز می-گردد و چنانچه تنش فراتر از محدوده تحمل گیاه باشد، آسیب و یا حتی مرگ گیاه را در پی خواهد داشت. تنش های محیطی به دو دسته شامل تنش‌های زنده و تنش‌های غیرزنده تقسیم می‌شوند از جمله تنش‌های زنده می‌توان به تنش ناشی از آفات و بیماری‌ها اشاره کرد و از تنش‌های غیرزنده می‌توان تنش‌های کم آبی، شوری، گرما، سرما، عناصر سنگین و غیره را نام برد که به صورت طبیعی موجب کاهش عملکرد گیاهان می‌شوند (۲۳). فلزات سنگین فلزاتی هستند که دارای چگالی بالاتر از ۵ گرم برسانتیمتر مکعب می‌باشند. در میان این فلزات سنگین عناصری وجود دارد که به عنوان ریزمغذی یا عناصر کم مصرف (Ni ، Zn ، Mn ، Mo ، Fe) برای متابولیسم گیاهی با اهمیت هستند. عناصر دیگری نیزکه نقش بیولوژیکی ناشناخته و خاصیت مسمومیت زایی بالایی برای گیاهان دارند (Cd ، Pb ، Sb ، Ag) وجود دارد. عناصر فلزی سنگین نظیر نیکل، سرب، کادمیوم، سلنیوم و غیره که در سطح کلوئیدهای خاک ذخیره می‌شوند، بسیار خطرناک هستند و با ورود به چرخه غذایی زیان‌های جبران ناپذیری را به جای می‌گذارند. مقاومت و پایداری عناصر سنگین در خاک نسبت به سایر آلاینده‌ها بسیار طولانی می‌باشد و آلودگی خاک توسط عناصر سنگین تقریبا دائمی است. اثرات زیان بار این عناصر بر موجودات زنده به اثبات رسیده است. برخی از این اثرات شامل اختلال فعالیت‌های بیولوژیک خاک، اثرات سمی بر گیاهان، جانوران و انسان‌ها در اثر ورود مواد به زنجیره غذایی است. فلزات سنگین باعث مهار فرایندهای فیزیولوژیکی مانند تنفس، فتوسنتز، طویل شدن سلول نیز می‌شوند (۲۸). کادمیوم یکی از فلزات سنگینی می‌باشد که در گیاهان تنش اکسیداتیو ایجاد می‌کند. سمیت کادمیوم تا ۲۰ برابر بیشتر از سایر فلزات سنگین است. اگر چه این فلز سنگین برای رشد گیاه ضروری نیست اما به راحتی از طریق ریشه گیاه جذب می‌شود وسبب کلروز و نکروز برگ‌ها و کاهش رشد و همچنین سبب کاهش مقدار کلروفیل کل و کاروتنوئیدها در گیاهان عالی می‌شود (۲۶). یکی از آسیب های مهم بافتی که در اثرقرار گرفتن گیاه در معرض فلزات سنگین از جمله کادمیوم اتفاق می افتد، افزایش تولید گونه های فعال اکسیژن و ایجاد تنش اکسیداتیو است. برای مقابله با تنش اکسیداتیوایجاد شده یک سیستم دفاع آنتی اکسیدانی با کارآیی بالا در گیاهان وجود دارد که می توانند رادیکال‌های آزاد را از بین ببرند (۱۲). Dogic و همکاران گزارش کردند کادمیم باعث افزایش میزان فنول و فلاونوئید کل گیاه ریحان گردید و

ظرفیت آنتی اکسیدانی و میزان پرولین را نیز افزایش داد در حالیکه میزان کربوهیدرات های کل گیاه تغییری نکرد (۱۶). نتایج تحقیق بارنده و کاوسی (۴) نشان داد با افزایش غلظت کادمیوم در گیاهچه‌های عدس، میزان پروتئین و رنگیزه های فتوسنتزی کاهش یافت ولی میزان پرولین و آنزیم های آنتی اکسیدان از جمله کاتالاز، سوپر اکسید دسموتاز و آسکوربات پراکسیداز افزایش یافت. گزارش‌ها حاکی از آن است که متاسفانه برخی از خاک‌های زراعی در کشور ما نیز آلوده به عناصر سنگین هستند. لذا به دلیل اهمیت افزایش تولید در گیاهان زراعی و نیز تأمین غذای سالم، مطالعه تأثیر این عناصر بر ویژگی‌های فیزیولوژیک، مورفولوژیک و نیز تولید گیاهان ضروری است (۲۴). گیاه بادرنجبویه به سمیت کادمیوم حساس بوده و رشد و نمو آن توسط این عنصر تحت تأثیر قرار می‌گیرد. با توجه به نقش سالیسیلیک اسید درون‌زاد در کنترل تنش‌ها، احتمال می‌رود که کاربرد خارجی آن نیز بتواند به عنوان یکی از روش‌های کاهش دهنده اثرات تنش روی گیاهان مفید باشد. سالیسیلیک اسید به عنوان ترکیبی فنولی با ماهیت هورمونی، باعث کاهش تنفس اکسیداتیو از طریق افزایش سطح آنتی‌اکسیدان ها می‌گردد. این هورمون دامنه وسیعی از فعالیت‌های گیاهی را کنترل می‌کند. از جمله نقش‌های آن می‌توان به باز و بسته شدن روزنه‌ها، جوانه زنی بذر، جذب یون‌ها، پاسخ به تنش‌های محیطی نظیر سرما، گرما، شوری، فلزات سنگین اشاره نمود. سالیسیلیک اسید گسترش، تقسیم و مرگ سلولی را تنظیم کرده، و در واقع بین رشد و پیری تعادل ایجاد می‌نماید. سالیسیلیک اسید و دیگر سالیسیلات‌ها بر روی فعالیت‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی مختلف گیاهان اثر گذاشته و ممکن است نقش کلیدی در تنظیم رشد داشته باشند. بسیاری از بررسی‌های انجام شده نشان داده است که کاربرد سالیسیلیک اسید به صورت خارجی در گیاهان تحت تنش می‌تواند اثرات تخریبی ناشی از تنش‌ها را کاهش دهد و فرآیندهای رشد را سریعا به حالت اول بر گرداند. در واقع سالیسیلیک اسید در تنش‌های محیطی نقش محافظتی داشته و موجب بهبود روند رشد در گیاه می‌شود (۱۲). سالیسیلیک اسید باعث بهبود رشد و افزایش میزان کارتنوئید ها در گیاهچه های بادرنجبویه تحت تنش نیکل گردید و سمیت نیکل در گیاه را کاهش داد (۳۳). همچنین گزارش شده است سالیسیلیک اسید باعث بهبود رشد، افزایش میزان پروتئین و کاهش میزان مالون‌دی‌آلدئید (MDA) در گیاهچه‌های لوبیا تحت تنش مس شد (۳۸). در این مطالعه به منظور درک بهتر نقش سالیسیلک اسید در تحمل تنش کادمیوم، شاخص‌های رشد، میزان پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی گیاهچه‌های بادرنجبویه بررسی گردید.

مواد و روشها

مراحل کاشتن گیاه: این پژوهش در آزمایشگاه تحقیقاتی فیزیولوژی گیاهی واقع در دانشکده علوم در دانشگاه زابل در پاییز ۱۳۹۶ به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. گلدان‌ها با مخلوطی ۳:۱ با پرلیت و ماسه که از قبل اتوکلاوه شده پر شده در هر گلدان ۱۲ بذر که از پاکان بذر اصفهان تهیه شده بود در عمق ۱ سانتی متری کاشته شد. ۱۲۰ عدد گلدان در اتاقک رشد (ژرمیناتور) با ابعاد (۳×۱/۵×۲) با دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد، ۱۶ ساعت روشنایی ۸ ساعت تاریکی و با رطوبت ۸۰-۷۰ درصد قرار داده شده است. از مرحله دو برگی با محلول غذایی هوگلند تغذیه شدند. قبل از اعمال تنش کادمیوم کار تنک کردن گلدان‌ها انجام شد، که در هر گلدان ۴ بوته گذاشته شد و باقی مانده‌ی بوته‌های اضافی حذف شد.

اعمال تیمار: کلرید کادمیوم در چهار غلظت (۰/۱، ۰/۵، ۱ میکرومولار) (۱۷) به گیاه در مرحله ۸ برگی تنش اعمال شد و سالیسیلیک اسید در دو غلظت (۱ و ۰/۵ میلی مولار) (۲) اسپری برگی شد و گیاهان بعد از گذشت ۲۱ روز برداشت شدند، و در هر مرحله برداشت گیاهان از هر

تیمار فقط گیاهان سه گلدان واز هر گلدان ۴ بوته گیاه برداشت می‌شد، و سایر گلدان‌ها بدون آسیب باقی می‌ماندند. در مراحل برداشت گیاهان بدون این که آسیب ببینند اندام‌های مختلف گیاهان برداشت می‌شدند.

اندازه‌گیری طول ریشه و ساقه: پس از هر مرحله برداشت نمونه‌های شاهد و تیمار طول ریشه از ناحیه‌ی یقه تا نوک ریشه و طول ساقه از ناحیه‌ی یقه تا نوک جوانه انتهایی با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری وزن‌تر اندام هوایی و وزن تر ریشه: در هر مرحله از برداشت وزن‌تر اندام‌های هوایی و وزن‌تر ریشه‌های گیاهان مربوط به هر گلدان با استفاده از ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری شدند. سپس نمونه‌ها در دمای منفی ۷۰ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شدند.

سنجش میزان پروتئین: غلظت مقدار پروتئین نمونه‌ها به‌روش برادفورد تعیین شد (۱۳). برای تعیین غلظت پروتئین‌های نمونه‌ها از هرعصاره پروتئینی مقدار ۵۰ میکرولیتر در لوله‌ی آزمایش ریخته و ۲/۵ میلی‌لیتر محلول برادفورد به آن اضافه شد و پس از ورتکس کردن، مقدارجذب آن‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر مدل jenway 6405 سنجیده شد، و غلظت پروتئین با استفاده از منحنی استاندارد آلبومن گاوی محاسبه و بر حسب میلی‌گرم برگرم وزن‌تر محاسبه گردید.

اندازه‌گیری میزان کربوهیدرات: میزان کربوهیدرات‌های محلول به روش Dubois و همکاران سنجیده شد (۱۸). مقدار ۰/۵ گرم وزن‌تر گیاه از هر تیمار توزین شد و در داخل ۵ میلی‌لیتر آب مقطر به وسیله هاون خوب له گردید سپس با تنظیف صاف شد و از عصاره گیاهی حاصل ۲ میلی‌لیتر برداشته شد و به داخل یک لوله آزمایش منتقل گردید، روی آن ۱ میلی‌لیتر فنل ۵٪ (v/w) ریخته شد و به آن ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک اضافه شد و کاملا مخلوط شد در نهایت به هرکدام از لوله‌ها به مدت ۱ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به حال خود رها شدند تا رنگ ظاهر و تثبیت شود. برای شاهد به جای عصاره گیاهی از ۲ میلی‌لیتر آب مقطر استفاده گردید و مراحل فوق در مورد آن نیز اجرا شد. بعد از ظهور رنگ میزان جذب در ۴۹۰ نانومتر توسط دستگاه توسط اسپکتروفتومتر مدل jenway 6405 سنجیده شد. جهت محاسبه مقدار قند از منحنی استاندار تهیه شده از گلوکز استفاده خواهد شد.

سنجش میزان پرولین: میزان پرولین آزاد در قسمت‌های مختلف نمونه‌های شاهد و تیمار بر طبق روش Bates و همکاران اندازه‌گیری شد (۱۱). برای سنجش میزان پرولین ۰/۱ گرم برگ نمونه‌ها به همراه ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳ درصد در هاون ساییده شد و به مدت ۷۲ ساعت در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی گراد قرار داده شد تا اسید آمینه‌ی پرولین آزاد شود. بعد از ۷۲ ساعت نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور سانتریفوژ (Eppendorf 5810R) شدند، سپس به ۲ میلی‌لیتر از محلول رویی ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال و ۲ میلی‌لیتر معرف نین هیدرین (شامل ۲۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۶ مولار، ۳۰ میلی‌لیتر استیک اسید گلاسیال و ۱/۲۵ گرم نین هیدرین) اضافه شده و نمونه‌ها به مدت ۱ ساعت در حمام آب گرم ۱۰۰ درجه مدل (Memmert WNB22) قرار داده شد. بعد از خارج ساختن نمونه‌ها از حمام آب گرم، نمونه‌ها به وسیله‌ی یخ به سرعت سرد شدند و روی هر نمونه ۴ میلی‌لیتر تولوئن اضافه و به هم زده شد. بعد از تشکیل دو فاز جذب فاز رویی برای هر نمونه در طول موج ۵۲۰ نانومتر توسط دستگاه توسط اسپکتروفتومتر مدل jenway 6405 خوانده شد. جهت تعیین میزان پرولین، منحنی استاندارد با استفاده از غلظت‌های معلوم پرولین تهیه گردید.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT): سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از روش Aebi انجام شد (۷). مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی مولار(PH=۷) محتوی ۰/۲میلی‌لیتر H_2O_2 ۱درصد و ۰/۳

میلی‌لیتر عصاره‌ی استخراجی بود. فعالیت آنزیم کاتالاز به صورت کاهش در جذب طی ۱ دقیقه در طول موج ۲۴۰ نانومترتوسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Rayleigh, uv-2100 محاسبه شد. برای سنجش میزان فعالیت از ضریب خاموشی (۰/۰۴۳۶ $Mm^{-1}\,cm^{-1}$) استفاده شد.

سنجش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز(GPX): سنجش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز با استفاده از روش Upadhyaya و همکاران انجام شد (۳۶). مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (PH=۷) محتوی ۱ میلی‌لیتر گایاکول پراکسیداز ۱ درصد، ۱ میلی-لیتر H_2O_2 ۱درصد و ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره‌ی استخراجی بود. فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز به‌صورت افزایش در جذب طی ۱ دقیقه در طول موج ۴۲۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر مدل jenway 6405 محاسبه شد. برای سنجش میزان فعالیت از ضریب خاموشی ($Mm^{-1}\,cm^{-1}$ ۲۶/۶) استفاده شد.

سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX): سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با استفاده از روش Nakano و Asada انجام شد (۲۹). مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (با اسیدیته ۷) محتوی EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، آسکوربیک اسید ۰/۵ میلی مولار، ۰/۳ میلی‌لیتر H_2O_2 ۱ درصد و ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره استخراجی بود. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به صورت کاهش در جذب H_2O_2 طی ۱ دقیقه در طول موج ۲۴۰ نانومتر به‌وسیله اسپکتروفتومتر مدل Rayleigh, uv-2100 محاسبه شد ($mM^{-1}\,cm^{-1}$ ۲/۸ = ضریب خاموشی).

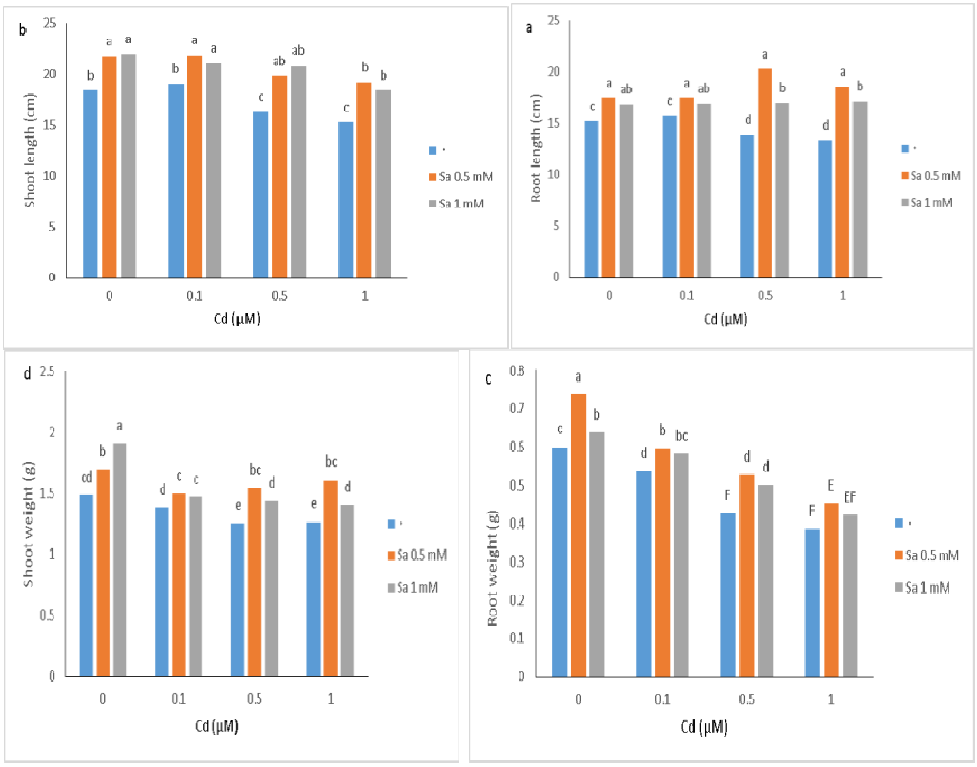
سنجش میزان پراکسیداسیون لیپید: اندازه‌گیری میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی به وسیله تست تیوباربیتوریک اسید (TBAT) با سنجش میزان MDA انجام شد. ۰/۲ گرم بافت تر برگ و ریشه در ۵ میلی‌لیتر تری کلرواستیک‌اسید (TCA) ۰/۱ درصد همگن شده سپس عصاره‌ی حاصل به فالکون انتقال یافته و به مدت ۵ دقیقه در g ۶۰۰۰ سانتریفیوژ شد. به یک میلی‌لیتر از محلول رویی ۴ میلی‌لیتر TCA ۲۰ درصد که حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیتوریک‌اسید بود اضافه شد. مخلوط فوق به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم (۹۵ درجه سانتی گراد)، انکوبه گردیدند. سپس مخلوط حاصل بلافاصله در حمام یخ سرد شد و بعد از آن در سرعت ۶۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ (Eppendorf 5810R) گردید. میزان جذب مایع رویی در طول موج ۵۳۲ نانومتر تعیین و جذب ویژه در ۶۰۰ نانومتر از آن کسر شد. غلظت MDA با استفاده از ضریب تصحیح (۰/۱۵۵ ($\mu\,mol^{-1}\,cm^{-1}$) محاسبه و براساس واحد میکرومول‌برگرم وزن‌تر ($\mu mol\,g^{-1}\,FW$) بیان شد (۲۱).

آنالیز آماری داده‌ها: آزمایش به‌صورت فاکتوریل، در قالب طرح کاملاً تصادفی و با ۳ تکرار انجام شد. تجزیه‌ی واریانس و مقایسه میانگین داده ها توسط آزمون دانکن در سطح احتمال آماری $P<0.05$ با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام گرفت. نمودارها نیز با استفاده از نرم افزار EXCELسری ۲۰۱۳ رسم شدند.

نتایج

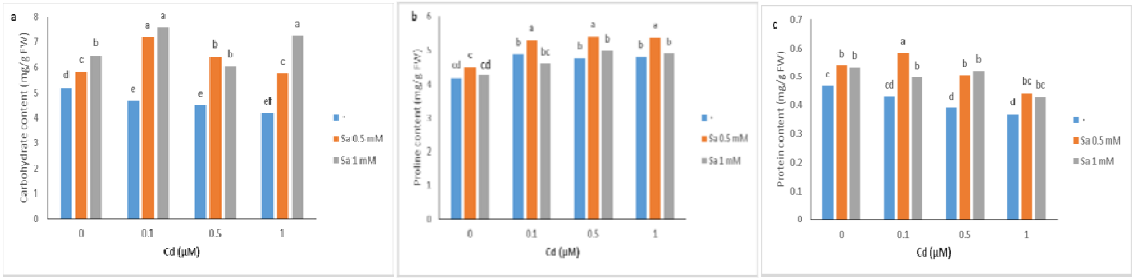
اثر کلرید کادمیوم و سالیسیلیک اسید بر رشد و نمو گیاه بادرنجبویه: طول ریشه: طول ریشه گیاه بادرنجبویه در سه غلظت کلرید کادمیوم (۰/۱، ۰/۵، ۱ میکرومولار) و دو غلظت سالیسیلیک اسید (۰/۵، ۱ میلی مولار) و برهمکنش کلرید کادمیوم و سالیسیلیک اسید مورد بررسی قرار گرفت. طول ریشه تحت تأثیر غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی مولار سالیسیلیک اسید نسبت به شاهد افزایش معنی دار پیدا کرد (شکل 1a). نتایج بررسی اثر غلظت ۰/۱ میکرومولار کادمیوم نشان می‌دهد که طول ریشه نسبت به شاهد تغییر معنی داری نداشت ولی تحت تأثیر غلظت ۰/۵ و ۱ میکرومولار کادمیوم نسبت به شاهد کاهش معنی دار پیدا کرد. طول ریشه تحت تأثیر برهمکنش غلظت های مختلف

کادمیوم و غلظت ۰/۵ و ۱ میلی مولار سالیسیلیک نسبت به شاهد افزایش معنی دار داشت (شکل ۱a). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که طول ساقه تحت تأثیر غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی مولار سالیسیلیک اسید نسبت به شاهد افزایش معنی دار پیدا کرد (شکل ۱b). غلظت ۰/۵ و ۱ میکرومولار کادمیوم باعث کاهش طول ساقه نسبت به شاهد شد ولی سالیسیلیک با عث افزایش طول ساقه شد. وزن ریشه و اندام هوایی تحت تأثیر غلظت ۰/۵ و ۱ میکرومولار کادمیوم نسبت به شاهد کاهش یافت و غلظت های مختلف سالیسیلیک اسید باعث افزایش وزن ریشه و اندام هوایی در گیاهان تحت تنش شد (شکل۱d و۱c).



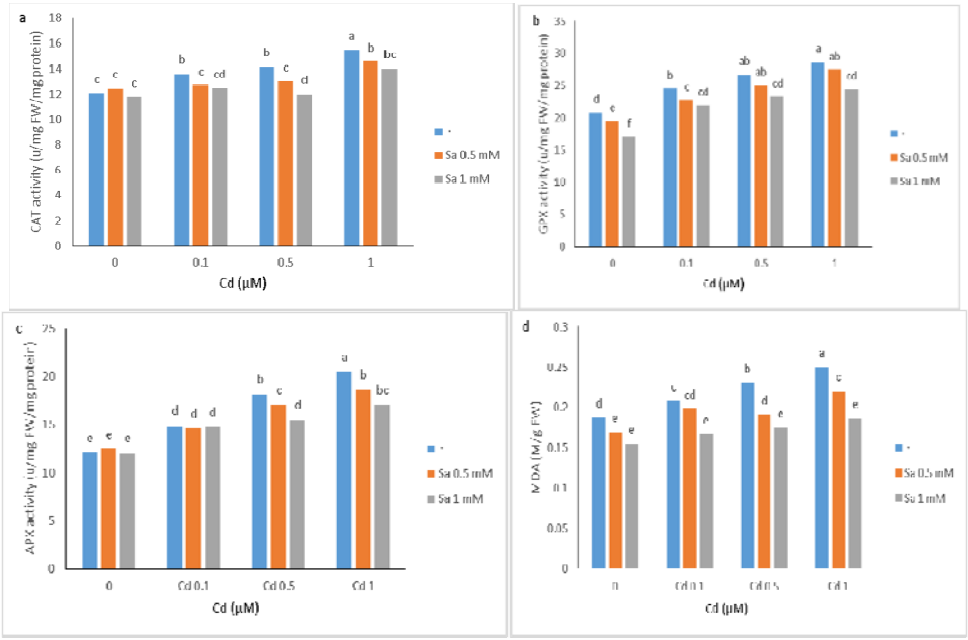
شکل ۱ – اثر غلظت‌های مختلف کلریدکادمیوم و سالیسیلیک اسید بر پارامترهای رشد (طول ریشه a، طول ساقه b، وزن ریشه c، وزن اندام هوایی d، گیاه بادرنجبویه. مقادیر نشان داده شده میانگین ۳ تکرار و SE ± (انحراف معیار) می‌باشد. میانگین‌های دارای حرف مشترک از نظر آماری در سطح ($p\leq0.05$) تفاوت معنی دار ندارند.

اثر کلریدکادمیوم و سالیسیلیک اسید بر میزان کربوهیدرات، پرولین و پروتئین گیاه بادرنجبویه: همان طور که در شکل ۲a نشان داده شده است، میزان کربوهیدرات در غلظت‌های مختلف کادمیوم نسبت به شاهد کاهش یافت در حالیکه تحت تأثیر غلظت‌های مختلف سالیسیلیک اسید در تمامی شرایط تنش نسبت به شاهد افزایش پیدا کرد. براساس مقایسه میانگین داده‌ها میزان پرولین تحت تأثیر غلظت‌های مختلف کادمیوم نسبت به شاهد افزایش یافت که غلظت ۰/۵ میلی مولار سالیسیلیک اسید باعث افزایش بیشتر میزان آن تحت شرایط تنش شد (شکل ۲ b). میزان پروتئین تحت تأثیر غلظت های ۰/۵ و ۱ میکرومولار کادمیوم نسبت به شاهد کاهش یافت و غلظت های مختلف سالیسیلیک اسید باعث افزایش مقدار پروتئین گردید (شکل ۲ c).



شکل ۲- اثر غلظت‌های مختلف کلریدکادمیوم و سالیسیلیک اسید بر میزان کربوهیدرات (a)، میزان پرولین (b) و پروتئین (c) گیاه بادرنجبویه. مقادیر نشان داده شده میانگین ۳ تکرار و SE ± (انحراف معیار) می‌باشد. میانگین‌های دارای حرف مشترک از نظر آماری در سطح ($p\leq0.05$) تفاوت معنی دار ندارند.

اثر کلریدکادمیوم و سالیسیلیک اسید بر میزان فعالیت آنزیم های آنتی‌اکسیدانی و میزان پراکسیداسیون لیپیدی: براساس نتایج تحقیق حاضر آنزیم کاتالاز تحت تأثیر غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی مولار سالیسیلیک اسید نسبت به شاهد تغییری نکرد (شکل ۳a). نتایج بررسی اثر غلظت های مختلف کادمیوم نشان داد که کاتالاز نسبت به شاهد افزایش پیدا کرد که این افزایش از لحاظ آماری معنادار بود (شکل ۳a). کاتالاز تحت تأثیر برهمکنش غلظت ۰/۱ کادمیوم و غلظت ۰/۵ سالیسیلیک نسبت به شاهد کاهش پیدا کرد. این کاهش از لحاظ آماری معنادار بود (شکل ۳a). کاتالاز تحت تأثیر برهمکنش غلظت های مختلف کادمیوم و غلظت های ۰/۵ و ۱ میلی مولارسالیسیلیک اسید نسبت به شاهد کاهش پیدا کرد. براساس نتایج تحقیق حاضر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز تحت تاثیرغلظت-های ۰/۵ و ۱ سالیسیلیک اسید نسبت به شاهد کاهش پیدا کرد. (شکل ۳b). فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز تحت تاثیر غلظت های مختلف کادمیوم نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار پیدا کرد. (شکل ۳b). فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز تحت تأثیر برهمکنش غلظت ۰/۱ میکرومولار کادمیوم و غلظت ۰/۵ و ۱ میلی مولار سالیسیلیک اسید نسبت به شاهد کاهش پیدا کرد (شکل ۳b) در حالیکه تحت تأثیر برهمکنش غلظت ۰/۵ و ۱ میکرومولار کادمیوم و غلظت ۰/۵ سالیسیلیک نسبت به شاهد اختلاف معناداری را نشان نداد ولی تحت تأثیر غلظت ۱ سالیسیلیک اسید نسبت به شاهد کاهش پیدا کرد. میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز تحت تأثیر غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی مولار سالیسیلیک اسید نسبت به شاهد تغییری نکرد (شکل ۳c). فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز تحت تاثیر غلظت های مختلف کادمیوم نسبت به شاهد افزایش معنی‌داریافت (شکل ۳c). آسکوربات پراکسیداز تحت تأثیر برهمکنش غلظت ۰/۱ میکرومولار کادمیوم و غلظت ۰/۵ و ۱ میلی مولار سالیسیلیک اسید تغییری نشان نداد. آسکوربات پراکسیداز تحت تأثیر برهمکنش غلظت ۰/۵ و ۱ کادمیوم و غلظت ۰/۵ و ۱ میلی مولار سالیسیلیک نسبت به شاهد کاهش پیدا کرد (شکل ۳c). نتایج نشان داد که میزان MDA تحت تأثیر غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی مولار سالیسیلیک اسید نسبت به شاهد کاهش پیدا کرد. نتایج بررسی اثر غلظت های مختلف کادمیوم نشان می‌دهد که MDA نسبت به شاهد افزایش پیدا کرد. MDA تحت تأثیر برهمکنش غلظت ۰/۱ میکرومولار کادمیوم و غلظت ۰/۵ میلی مولار سالیسیلیک اسید نسبت به شاهد تغییر معناداری نداشت. MDA تحت تأثیر برهمکنش غلظت ۰/۱کادمیوم و غلظت ۱ میلی مولار سالیسیلیک اسید کاهش معنی دار پیدا کرد. هر دو غلظت سالیسیلیک اسید باعث کاهش MDA در تنش ۰/۵ و ۱ میکرومولار کادمیوم شد (شکل ۳d).



شکل ۳- اثر غلظت‌های مختلف کلریدکادمیوم و سالیسیلیک اسید بر میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه بادرنجبویه. آنزیم کاتالاز (a)، آنزیم گایاکول پراکسیداز (b) آنزیم آسکوربات پراکسیداز (c)، میزان MDA (d). مقادیر نشان داده شده میانگین ۳ تکرار و SE ± (انحراف معیار) می‌باشد. میانگین-های دارای حرف مشترک از نظر آماری در سطح ($p\leq0.05$) تفاوت معنی دار ندارند.

بحث و نتیجه گیری

وجود فلزات سنگین از جمله کادمیوم در محیط، یکی از عوامل محدودکننده رشد گیاهان محسوب می‌شود. با این حال، برخی گیاهان از مکانیسم‌های فیزیولوژیک خاصی استفاده می کنند که می‌توانند در حضور مقادیر بالایی از فلزات سنگین که به طور طبیعی برای بیشتر گیاهان سمی-اند، به فعالیتهای حیاتی خود ادامه دهند. تنظیم کننده‌های رشدی نقش حیاتی در طی مراحل رشد و نموی گیاهان ایفا می‌کنند و کاربرد آنها می‌تواند باعث بهبود و افزایش عملکرد گیاهان شود. سالیسیلیک اسید یک تنظیم کننده درون‌زای رشد با ماهیت فنلی است که نقش مهمی در تنظیم تعدادی از فرایندهای فیزیولوژیک داشته و نیز حفاظت در برابر تنش‌های زیستی را در گیاهان فراهم می-کند و نقش آن به عنوان یک سیگنال دفاعی در گیاهان ثابت شده است (۲۶و۳۵).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد شاخص های رشد از جمله، طول ریشه و ساقه، وزن اندام هوایی و ریشه و میزان پروتئین تحت تنش کادمیوم نسبت به شاهد کاهش داشت و سالیسیلیک اسید باعث بهبود شاخص‌های رشد شد. نتایج تحقیقات نشان می دهد کادمیوم باعث کاهش رشد در گیاهان از طریق کاهش فتوسنتز، اختلال در متابولیسم عناصر و القای پراکسیداسیون لیپیدها می شود (۲۰). همچنین کادمیوم با تولید رادیکال‌های آزاد سبب تخریب ساختار پروتئین‌ها و اکسید شدن آنها می شود (۳۰). سالیسیلیک اسید در غلظت های مناسب به عنوان یک تنظیم کننده رشد عمل می کند و باعث کاهش سمیت کادمیوم و بهبود رشد می شود (۳۴). نقش سالیسلیک اسید در تنظیم تقسیم سلولی و رشد کاملا مشخص نیست ولی احتمالا با مسیرهای پروتئین کینازهای فعال شده با میتوژن (MAPK)، کلسیم، اکسین و تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن در ارتباط باشد (۱۲). در شرایط تنش، گیاه برای حفظ تعادل اسمزی و توانایی جذب بیشتر آب از محیط

ریشه، ترکیباتی مانند کربوهیدرات‌ها که در ساختار سلول‌ها شرکت دارند و باعث رشد گیاه می‌شوند، را در خـود افزایش می‌دهد تا تنظیم اسمزی بهتر صورت گیرد (۶). اثر کادمیوم و سالیسیلیک اسید بر میزان کربوهیدرات نشان داد که کادمیوم باعث کاهش میزان آن نسبت به شاهد شد و سالیسیلیک اسید این کاهش را جبران کرد. این نتایج با نتایج دیگر محققین در گیاهانی چون ذرت و گندم مطابقت دارد (۳ و ۱۵). سازش گیاهان به تنش‌های محیطی با انباشتن متابولیت‌هایی مانند ترکیبات نیتروژن‌دار (پرولین، سایر اسیدهای آمینه و پلی‌آمین‌ها) انجام می‌گیرد. القای سنتز پرولین از نخستین پاسخ‌های گیاه به تنش محیطی محسوب می‌شود. تجمع پرولین یک مکانیسم مقاومتی گیاهان به عامل‌های تنشی مختلف از جمله، فلزات سنگین است (۱۹). در تحقیق حاضر اگرچه تحت تاثیرکادمیوم میزان پرولین افزایش یافت ولی سالیسیلیک اسید در غلظت ۰/۵ میلی مولار باعث افزایش بیشتر آن شد. سالیسیلیک اسید باعث القای بیشتر میزان پرولین در گیاه سیب زمینی تحت تنش کادمیوم گردید و تحمل بهتر گیاه به شرایط تنش را بهبود بخشید (۲۵). در تحقیق حاضر، اثر کادمیوم و سالیسیلیک اسید بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی از جمله: کاتالاز، گایاکول پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و مالون‌دی‌آلدهید نیز بررسی گردید. طبق نتایج این تحقیق، تنش کادمیوم فعالیت آنزیم کاتالازرا افزایش داد و محلول پاشی با سالیسیلیک اسید سبب کاهش آن گردید. سالیسیلیک اسید به عنوان یک مولکول سیگنالی از طریق مهار فعالیت آنزیم کاتالازباعث تغییر سیستم آنتی اکسیدانی می گردد (۲۶). سالسیسلیک اسید، فعالیت آنزیم کاتالاز که یک آنزیم پاکسازی کننده پراکسیدهیدروژن بوده را کم کرده و در نتیجه با کاهش فعالیت این آنزیم سبب افزایش پراکسیدهیدروژن در گیاه می‌شود (۲۲). گزارش هایی مبنی بر تغییر در الگوی فعالیتی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در شرایط تنش عناصر سنگین تحت تیمارهای سالیسیلیک اسید وجود دارد (۲۷) که نشان می‌دهد سالیسیلیک اسید با باندشدن به آنزیم کاتالاز، سبب کاهش فعالیت آن در توتون (۱۴) و چندین گونه‌ی دیگر گیاهی می‌شود (۲و۳۱). در این مطالعه فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز با افزایش غلظت کادمیوم افزایش یافت که تیمار با سالیسیلیک اسید باعث کاهش فعالیت آن شد. این نتایج با نتایج محققین روی گیاه کنجد و ذرت مطابقت دارد (۲۴و۳۲). پراکسیدازها مسئول حذف مقادیر اضافی پراکسید هیدروژن می‌باشند که سالیسیلیک اسید می‌تواند به عنوان یک سوبسترای دهنده‌ی الکترون برای پراکسیداز عمل نماید (۵). پراکسیداز نقش مهمی را در پاکسازی پراکسیدهیدروژن با استفاده از سالیسیلیک اسید بازی می‌کند، چرا که سالیسیلات دهنده‌ی الکترون بوده و سبب احیاء پراکسیدهیدروژن به آب می‌شود (۲). چنین به‌نظر می رسد که کاهش یون سوپر اکسید توسط سالیسیلیک اسید تولید این ماده را کاهش داده و در نتیجه فعالیت آنزیم پراکسیداز برای تجزیه پراکسید هیدروژن کاهش می‌یابد (۲۶). میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با افزایش غلظت کادمیوم افزایش یافت که تیمار با سالیسیلیک اسید سبب کاهش فعالیت این آنزیم شد همانند نتیجه ای که در گیاه گلرنگ مشاهده شد (۲). در این مطالعه با افزایش غلظت کادمیوم میزان MDA افزایش یافت که تیمار با سالیسیلیک اسید سبب کاهش در اکسیداسیون اسیدهای چرب غشا و کاهش میزان MDA گردید. در توافق با مطالعه حاضر، میزان تجمع MDA در گیاهچه‌های برنج در تنش کادمیوم افزایش یافت در حالی که در شرایط حضور سالیسیلیک اسید میزان MDA به طور معنی‌داری کاهش یافت (۱۵).

اسیدهای چرب و لیپیدها حساسیت زیادی به اکسیژن دارند و به سرعت اکسید می‌شوند. سالیسیلیک اسید با پاکسازی اکسیژن فعال سبب کاهش در اکسیداسیون چربی‌های غشای سلولی و کاهش میزان MDA می‌گردد. به‌نظر می‌رسد سالیسیلیک اسید از طریق القای سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی با از بین بردن رادیکالهای آزاد به‌طور مستقیم

و یا توسط آنزیم‌های آنتی اکسیدان سبب کاهش آسیب غشای سلولی می‌شود (۱۲). با این حال هنوز مکانیسم دقیق سالیسیلیک اسید در افزایش تحمل تنش کادمیوم در گیاه مشخص نیست.

نتیجه گیری کلی

نتایج این تحقیق نشان داد که تنش کلرید کادمیوم اثرهای فیزیولوژیک خود را از طریق افزایش پرولین، فعالیت آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز، مالون‌دی‌آلدهید، کاتالاز و آسکوربات‌پراکسیداز بروز می‌دهد، که همگی نتیجه بروز تنش اکسیداتیو در سلول است. همچنین کلرید کادمیوم اثرات کاهشی بر طول ریشه، طول ساقه، وزن اندام هوایی و ریشه، پروتئین و کربوهیدرات داشت. محلول‌پاشی با سالیسیلیک اسید اثر کاهنده بر فعالیت کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، گایاکول‌پراکسیداز و MDA داشت و اثر افزایشی بر طول ریشه و ساقه وزن اندام هوایی و ریشه، پروتئین، و کربوهیدرات داشته ونشان می‌دهد که توانسته تا از اثرات سمی کادمیوم درگیاه بادرنجبویه ممانعت نماید.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت مالی دانشگاه زابل انجام شده است (شماره گرنت: UOZ-GR-9718-6).

منابع

۱- اکبری نیا، الف.، باباخانلو، پ. و مظفریان، و. ۱۳۸۵. بررسی فلورستیکی و ویژگیهای زیستی گیاهان دارویی استان قزوین. مجله پژوهش وسازندگی در منابع طبیعی، ۷۲: ۷۶-۷۰.

۲- بادپا،خ.، موحدی دهنوی، م. و بدوی، ع. ۱۳۹۳. برهم‌کنش نیترات کادمیوم و سالیسیلیک اسید بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان، پروتئین محلول و مالون دی آلدهید برگ گلرنگ رقم صفه، فرآیند و کارکرد گیاهی. ۳ (۹): ۲۱-۳۳.

۳- بهنام،آ.، عباسپور، ح.، صفی پور افشار، ا.، سعیدنعمت پور، ف. ۱۳۹۸. اثر سالیسیلیک اسید بر بهبود رشد و تغییر پارامترهای بیوشیمیایی دانه‌رست‌های گندم تحت تنش کادمیوم. مجله پژوهش‌های گیاهی. ۳۲ (۲): ۲۴۷-۲۳۶.

۴- کاوسی، ح. و بارنده، ف. ۱۳۹۵. اثر کلرید کادمیوم بر رنگیزه های فتوسنتزی، محتوای پرولین و میزان پروتئین های محلول گیاهچه های عدس . ۵ (۱۶): ۱۳۲-۱۱۷.

۵- جباری، ف،ع. احمدی، ع.، پوستینی، ک. و علیزاده، ح. ۱۳۸۴. ارتباط بین بعضی از انواع آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و غشاء سلولی و مقاومت کلروفیل به تحمل خشکی در ارقام گندم حساس، مجله علوم کشاورزی ایران. ۳۷ (۲): ۳۱۶-۳۰۷.

6- Abdalla, M.M. and El-Khoshiban, N.H. 2007. The influence of water stress on growth, relative water content, photosynthetic pigments, some metabolic and hormonal contents of two *Triticum aestivum* cultivars. Journal of Applied Science Research, 3(12): 2062-2074.

7- Aebi, H**.** 1984. Catalase in vitro. Methods in enzymology, 105: 121-126.

8- Ahmad, P., Nabi, G., Ashraf, M. 2010. Cadmium-induced oxidative damage in mustard [*Brassica juncea* (L.) Czern.& Coss.] plants can be alleviated by salicylic acid. South African Journal of Botany, 77(1):36-44.

9- Anon, N. 2002. Iranian herbal pharmacopoeia. Tehran. Ministry of Health Publication, 1: 114-121.

10- Awad, R., Muhammad, A., Durst, T., Trudeau, V.L. Arnason, J.T. 2009. Bioassay-guided fractionation of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) using an in vitro measure of gaba transaminase activity. Phytotherapy Research, 23(8), 1075-1081.

11- Bates, L.S., Waldron, R.P., Teare, I.D**.** 1973**.** Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil, 39: 205–208.

12- Bin, G., Liu, C., Liang, Y., Li, N. Fu, Q. 2019. Salicylic acid signals plant defence against cadmium toxicity. International Journal of Molecular Sciences, 20 (12): 1-19.

13- Bradford, M.M**.** 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein–dye binding. Analytical Biochemistry, 72:248–254.

14- Chen, Z., Ricigliano, J. R., Klessig, D. F. 1993. Purification and characterization of a soluble salicylic acid binding protein from tobacco. Soil Science, 90: 9533-9537.

15- Choudhury S., Panda S. K. 2004. Role of salicylic acid in regulating cadmium induced oxidative stress in *Oryza Sativa* L. roots. Bulgarian Journal of Plant Physiology, 30: 95-110.

16- Dogic, S., Dzubur, N., Karalija, E., Paric, A. 2017. Biochemical responses of basil to aluminium and cadmium stresses. Acta Agriculturae Serbica, 43: 57-651.

17- Dong, J., Wu, F. Zhang, G. 2005. Effect of cadmium on growth and photosynthesis of tomato seedlings. Journal of Zhejiang University Science, 6B (10):974-980.

18- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., Smith, F**.** 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry, 28: 350–6

19- Eraslan, F., Inal, A., Gunes, A., Alpaslan, M. 2007. Boron toxicity alters nitrate reductase activity, proline accumulation, membrane permeability, and mineral constituents of tomato and pepper plants. Journal of plant nutrition, 30(6): 981-994.

20- Guo, B., Liang, Y., Zhu, Y. 2009. Does salicylic acid regulate antioxidant defense system, cell death, cadmium uptake and partitioning to acquire cadmium tolerance in rice? Journal of Plant Physiology, 166: 20-31.

21- Heath, R.L., Packer, L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics, 125:189–198.

22- Horvath, E., Janda, T. S. Paldi, G. 2007. In vitro salicylic acid inhibition of catalae activity in maize differences between the isozymes and a possible role in the induction of chilling tolerance. Plant Science, 163: 1129-1135.

23- Jaleel, C.A., Manivannan, P., Wahid, A., Farooq, M., Somasundaram, R., Panneerselvam, R. 2009. Drought Stress in Plants: A review on morphological characteristics and pigments composition. International Journal of Agricultural and Biological Engineering, 11: 100–105.

24- 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.

25- Li, Q., Wang, G., Wang, Y., Yang, D., Guan, C., Ji, J. 2019. Foliar application of salicylic acid alleviate the cadmium toxicity by modulation the reactive oxygen species in potato. Ecotoxicology and Environmental Safety, 172: 317–325.

26- Liu, Z., Ding, Y., Wang, F., Ye, Y., Zhu, C. 2016. Role of salicylic acid in resistance to cadmium stress in plants. Plant Cell Report, 35:719–731.

27- Metwally A., Finkemeier I., Georgi M., Dietz K. J. 2003. Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in barley seedlings. Plant Physiology, 132: 272-281.

28- Michalak, A. 2006. Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. Polish Journal of Environmental Studies, 15: 523–530.

29- Nakano, Y., Asada, K**.** 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant Cell Physiology, 22: 867-880.

30- Noctor, G., Foyer, C. H. 1998. Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control Annual Review of Plant Physiology and Biology 49: 249-279.

31- Sanchez-Casas, P., Klessig, D. F. 1994. A salicylic acid-binding activity and a salicylic acid Inhabitable cataloes activity is present in a variety of plant species. Plant Physiology 106: 1675-1679.

32- Shi, G., Cai, Liu, Q. Q., Wu, L. 2009. Salicylic acid-mediated alleviation of cadmium toxicity in hemp plants in relation to cadmium uptake, photosynthesis, and antioxidant enzymes. Acta Physiol Plant, 31:969–977.

33- Soltani, E., Radjabian, T., Abrishamchi, P., Talei, D. 2017. Physiological and biochemical responses of *Melissa officinalis* L. to nickel stress and the protective role of salicylic acid. Archives of Agronomy and Soil Science, 63 (3): 330-343.

34- Shakirova, F.M., Allagulova, Ch.R., Maslennikova, D.R., Klyuchnikova, E.O., Avalbaev, A.M., Bezrukova, M.V. 2016. Salicylic acid-induced protection against cadmium toxicity in wheat plants. Environmental and Experimental Botany, 122: 19–28.

35- Shi Q., Zhu Z. 2008. Effects of exogenous salicylic acid on manganese toxicity, element contents and antioxidative system in cucumber. Environmental and Experimental Botany, 63: 317-326.

36- Updhyaya, A., Sankhla, D., Davis, T. D., Sankhla, N., Smidth, B.N. 1985. Effect of paclobutrazol on the activies of some enzymes of activated oxygen metabolism and lipid peroxidation in senescing soybean leaves. Plant Physiology, 121: 453-461.

37- Zargari, A.I. 1990. Medicinal plants. Tehran: Tehran University Press, 1: 77–81.

38- Zengin, F., 2014. Exogenous treatment with salicylic acid alleviating copper toxicity in bean seedlings. National Academy of Sciences, 84 (3), 1-7.

Effect of salicylic scid on growth, physiological and biochemical characteristics of *Melissa officinalis* L. under Cadmium Stress

Heidari M.[1], Esmaeilzadeh Bahabadi S.[2] and Sangtarash M.H.[1]

لطفا اسامی و نویسندگان به لاتین اضافه شوند

Abstract

Cadmium is one of the heavy metals that causes oxidative stress in plants. In this regard, the use of plant growth regulators such as salicylic acid is suggested as a suitable compound to alleviate the toxic effects of cadmium. This study was conducted to investigate the interaction between cadmium chloride and salicylic acid on growth characteristics, antioxidant enzymes activity, carbohydrate and proline content of lemon balm. This research was carried out in a factorial experiment in a completely randomized design with three replications in a plant physiology research laboratory located at the University of Zabol in 1396. Expriments factors include four different cadmium levels (0, 1, 0.5, 1 µM) and three levels of salicylic acid (0, 0.5, 1 mM). The results showed that different growth characteristics, including root and stem weight, root and shoot length, were decreased by cadmium stress. The addition of SA improved the growth characteristics. Carbohydrate and protein content were reduced by cadmium stress and SA reduced the decline. Antioxidant enzymes activity (catalase, ascorbate peroxidase, Guaiacol peroxidase) as well as malondialdehyde content increased under cadmium stress conditions. While SA decreased malondialdehyde content and antioxidant enzymes activity. These findings suggest that the use of salicylic acid somewhat eliminates some of the toxic effects of cadmium and improved the tolerance of lemon balm under cadmium stress.

Key words: Antioxidant enzymes, Cadmium stress, Growth, Lemon balm, Salicylic acid.