

Role of salicylic acid pretreatment in alleviating cadmium-induced toxicity in *Salvia officinalis* L.

Mahyar Gerami^{1*}, Abazar Ghorbani², Somayeh Karimi³

¹. Sana Institute of Higher Education, Sari, Iran

². Department of Biology, Mohaghegh Ardabili University, Ardabili, Iran

³. Sana Institute of Higher Education, Sari, Iran

Abstract

Cadmium (Cd) is an environmentally polluting metal that has a negative effect on plant growth and yield. In this study, to understand the role of salicylic acid (SA) in alleviating cadmium toxicity in Sage (*Salvia officinalis* L.), the changes of biochemical and physiological indexes in Sage seedlings exposed to 0, 100, 200 or 300 ppm Cd with or without 0.1, 0.5 and 1 mM SA for 30 days was investigated. The results showed that Cd treatment reduced the growth, photosynthetic pigments, soluble sugars and activity of catalase and peroxidase enzymes, while increased proline content, phenolic compounds, MDA and H₂O₂. However, SA pre-treatment improved the growth and increased content of photosynthetic pigments, proline, soluble sugars and phenolic compounds at all levels of cadmium. Furthermore, SA pretreatment increased the activity of antioxidant enzymes catalase and peroxidase, and reduced MDA and H₂O₂, which reduced the cadmium-induced oxidative stress and, consequently, increased Sage tolerance to cadmium. According to our results, it seems SA might regulate the antioxidant defense activities, increase osmolyte and secondary metabolite compound in Cd-treated Sage, thereby improving growth and tolerance of Sage to Cd stress.

Keywords: Salicylic acid, Cadmium stress, *Salvia officinalis* L., Antioxidant enzyme

* Corresponding Author: mahyar.gerami@yahoo.com

نقش پیش‌تیمار سالیسیلیک‌اسید در کاهش سمیت ناشی از کادمیوم در گیاه مریم‌گلی (*Salvia officinalis* L.)

مهیار گرامی^۱، اباذر قربانی^۲، سمیه کریمی^۳

^۱ مؤسسه آموزش عالی سنا، ساری، ایران

^۲ گروه زیست‌شناسی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

^۳ مؤسسه آموزش عالی سنا، ساری، ایران

چکیده

کادمیوم فلز آلاینده محیطی و دارای آثار منفی بر رشد و عملکرد گیاه است. در پژوهش حاضر برای بررسی نقش سالیسیلیک‌اسید بر کاهش سمیت کادمیوم در گیاه مریم‌گلی، تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی گیاهچه‌های مریم‌گلی تیمار شده با غلظت‌های مختلف کادمیوم کلرید (صفر، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ پی‌پی‌ام کادمیوم) و سالیسیلیک‌اسید (صفر، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار) ارزیابی شد. نتایج نشان دادند تیمار کادمیوم باعث کاهش رشد، محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی، قندهای محلول و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز و افزایش محتوای پرولین، ترکیبات فنولیک، مالون‌دی‌آلدئید و پراکسیدروژن می‌شود؛ با وجود این، پیش‌تیمار سالیسیلیک‌اسید باعث بهبود رشد و افزایش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی، پرولین، قندهای محلول و ترکیبات فنولیک در تمام سطوح کادمیوم می‌شود. سالیسیلیک‌اسید با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و پراکسیداز و کاهش مالون‌دی‌آلدئید و پراکسیدروژن باعث کاهش تنش اکسیداتیوی حاصل از سمیت کادمیوم و افزایش تحمل گیاه به تنش کادمیوم می‌شود. نتایج پژوهش حاضر نشان دادند پیش‌تیمار سالیسیلیک‌اسید ممکن است با بهبود سیستم آنتی‌اکسیدانی و افزایش ترکیبات اسمولیت و متابولیت‌های ثانویه در گیاهان در معرض تنش کادمیوم باعث افزایش تحمل گیاه نسبت به سمیت کادمیوم شود.

واژه‌های کلیدی: سالیسیلیک‌اسید، تنش کادمیوم، مریم‌گلی، آنزیم آنتی‌اکسیدان

مقدمه

سالیسیلیک‌اسید تنظیم‌کننده رشد گیاهی با ماهیت فنلی و دارای نقش مهمی در تنظیم تعدادی از فرایندهای فیزیولوژیک و حفاظت گیاهان در برابر تنش‌های زیستی است. سالیسیلیک‌اسید با اثر بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و متابولیت‌هایی مانند آسکوربیک‌اسید و گلوکاتینون آثار ناشی از تنش‌های خشکی، گرما، شوری، فلزهای سنگین و بیماری‌های گیاهی را کاهش می‌دهد (Choudhury and Panda, 2004). Kawano و Muto (۲۰۰۰) در مطالعه خود نشان دادند این ترکیب در گیاه تنباکو به افزایش غلظت کلسیم سیتوزولی (مؤثر به شکل پیامبر ثانویه در پاسخ‌های فیزیولوژیک) منجر می‌شود. Gharib (۲۰۰۷) نشان داد پرولین آزاد القاشونده توسط سالیسیلیک‌اسید غشاها و پروتئین‌ها را در برابر آثار مضر یون‌های کانی در ریحان و مرزنگوش محافظت می‌کند.

کادمیوم یک فلز آلاینده محیطی است که در محیط منتشر می‌شود و منابع گوناگونی شامل صنایع، فاضلاب شهری و مواد سوختی غلظت این آلاینده را افزایش می‌دهند. اگرچه کادمیوم برای رشد گیاهان ضروری نیست، ریشه گیاهان آن را به آسانی جذب می‌کند و این عنصر سبب تنش اکسیداتیو می‌شود. کادمیوم تغییرات ساختاری، بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و ریخت‌شناسی بسیاری را القا می‌کند؛ بنابراین به شدت بر تولید زیتوده تأثیر می‌گذارد و سرانجام موجب مرگ گیاه می‌شود. غلظت بحرانی کادمیوم در خاک ۳ تا ۸ پی‌پی‌ام گزارش شده است. بررسی آلودگی اراضی زراعی کشور نشان می‌دهد مقدار کادمیوم در بخشی از اراضی آلوده استان‌های گیلان، زنجان، اصفهان و چهارمحال و بختیاری به ترتیب ۱/۹، ۱۸۰/۵، ۸۹/۴، ۲۶۱۰/۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک است (Torabian and Mahjori, 2002). Moussa

و El-Gamal (۲۰۱۰) گزارش کردند تیمار غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار کادمیوم باعث کاهش وزن خشک ریشه و اندام هوایی می‌شود و انباشت کادمیوم در ریشه‌های گندم را افزایش می‌دهد.

مریم‌گلی (*Salvia officinalis* L.) گیاهی چندساله و علفی است که منشأ آن نواحی شمالی مدیترانه و شمال آفریقا گزارش شده است. این گیاه از راسته لب‌گلی‌ها و تیره نعناعیان است و توژان (۳۵ تا ۶۰ درصد)، سینتول، بورنتول و بوربورتول استات ترکیبات اصلی اسانس آن را تشکیل می‌دهند (Omid Beigi, 2005). مریم‌گلی به شکل چاشنی و طعم‌دهنده در صنایع غذایی و گل‌های آن برای تهیه نوعی دمنوش مانند چای استفاده می‌شود. این گیاه ضداسپاسم، ضدقبض، ضدعفونی‌کننده، آنتی‌بیوتیک، آرام‌بخش، محرک کبد و بهبوددهنده عمل هضم است که این خواص در صنایع دارویی بسیار کاربرد دارند (Eidi et al., 2005). با توجه به اهمیت گیاه مریم‌گلی به عنوان گیاهی دارویی و نقش مثبت سالیسیلیک‌اسید در افزایش تحمل گیاهان نسبت به تنش‌ها، در پژوهش حاضر تأثیر غلظت‌های مختلف سالیسیلیک‌اسید در تحمل گیاه نسبت به غلظت‌های مختلف کادمیوم بررسی شد.

مواد روش‌ها

پژوهش حاضر طی سال ۹۶-۱۳۹۵ در گلخانه مؤسسه آموزش عالی سنا به شکل فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام شد. فاکتور اول چهار سطح کادمیوم (صفر، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ پی‌پی‌ام) و فاکتور دوم محلول‌پاشی سالیسیلیک‌اسید در چهار سطح (صفر، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار) بود. بذرها را گیاه مریم‌گلی پس از جوانه‌زنی، در گلدان‌های پلاستیکی (قطر ۱۲

با ۳ میلی لیتر تری کلرواستیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد ساییده و به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. ۰/۵ میلی لیتر از عصاره رویی به ۰/۵ میلی لیتر بافر فسفات (با اسیدیته ۷) و ۱ میلی لیتر یدیدپتاسیم (KI) ۱ مولار اضافه شد. جذب در طول موج ۳۹۰ نانومتر خوانده و با ضریب خاموشی ۰/۲۸ بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر محاسبه شد.

میزان مالون دی آلدئید طبق روش Heath و Packer (۱۹۶۸) تعیین شد؛ به این ترتیب که ۰/۲ گرم بافت تازه برگگی در ۳ میلی لیتر تری کلرواستیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد عصاره گیری شد و سپس ۱ میلی لیتر تیوباربی توریک اسید (TBA) ۰/۵ درصد به ۱ میلی لیتر عصاره صاف شده اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. پس از سرد شدن نمونه، جذب در طول موج های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر خوانده و با ضریب خاموشی ۱۵۵ بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر محاسبه شد.

پرویلین و قندهای محلول: برای اندازه گیری پرویلین آزاد و قندهای محلول کل از عصاره الکلی برگ و ریشه استفاده شد. میزان پرویلین با خواندن جذب واکنش نین هیدرین در طول موج ۵۱۵ نانومتر طبق روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) محاسبه شد. برای محاسبه قندهای محلول، ۰/۱ میلی لیتر عصاره الکلی به ۳ میلی لیتر آنترون تازه آماده شده (۲۰۰ میلی گرم آنترون به اضافه ۱۰۰ میلی لیتر سولفوریک اسید ((w:w)) اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم قرار گرفت؛ سپس، میزان جذب نمونه در طول موج ۶۲۵ نانومتر خوانده شد (Irigoyen et al., 1992).

آنتوسیانین کل: برای سنجش میزان آنتوسیانین کل، مقدار ۰/۰۲ گرم بافت خشک برگ با ۴

سانتی متر و ارتفاع ۱۰ سانتی متر) با بستر حاوی پیت موس و پرلیت کشت شدند؛ سپس به مدت چهار هفته در اتاق کشتی با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری و با محلول غذایی هوگلند تغذیه شدند. تیمار سالیسیلیک اسید با اسپری روی برگ گیاه و در دو مرحله با فاصله زمانی ۵ روز انجام و تیمار شاهد با آب مقطر اسپری شد. پس از مرحله دوم اسپری سالیسیلیک اسید، تیمار غلظت های صفر، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ پی پی ام کادمیوم (با اضافه کردن کادمیوم کلرید به محلول هوگلند) اعمال شد و گلدانها بر حسب نیاز آبیاری شدند. نمونه برداری ۳۰ روز پس از اعمال تیمار کادمیوم انجام شد و صفت های ریخت شناسی مانند ارتفاع و طول ریشه گیاه با خط کش اندازه گیری شدند. سطح برگ هر گیاه با دستگاه Leaf Area Meter اندازه گیری شد. برای تعیین وزن خشک ریشه و اندام هوایی، نمونه ها به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۷۵ درجه سانتی گراد قرار گرفتند و سپس وزن شدند. نمونه های دیگر برای اندازه گیری شاخص های بیوشیمیایی در دمای منفی ۷۰ درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

اندازه گیری کلروفیل های a و b و کاروتنوئید: میزان رنگیزه های فتوسنتزی به روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) محاسبه شد؛ مطابق این روش، ۰/۵ گرم بافت تازه برگ وزن شد و رنگیزه ها با استون ۸۰ درصد استخراج شدند. پس از صاف کردن عصاره با کاغذ صافی، جذب در طول موج های ۴۷۰، ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده و میزان رنگیزه ها بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد.

اندازه گیری H₂O₂ و MDA: محتوای H₂O₂ برگ طبق روش Velikova و همکاران (۲۰۰۰) تعیین شد؛ به این منظور، ۰/۲ گرم بافت تازه برگگی

طول موج ۵۰۶ نانومتر خوانده شد. مقدار فلاونوئید کل از روی منحنی استاندارد کاتچین بر حسب میلی‌گرم کاتچین در گرم بافت تر بیان شد.

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و پروتئین محلول:

برای تهیهٔ عصارهٔ آنزیمی، مقدار ۰/۵ گرم بافت تازهٔ برگ با ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار (با اسیدیتهٔ ۶/۸) هم‌وزن و به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. فاز رویی برای اندازه‌گیری فعالیت کاتالاز، پراکسیداز و پروتئین محلول استفاده شد. فعالیت کاتالاز به روش Cakmak و Horest (۱۹۹۱) اندازه‌گیری شد. طبق تعریف، یک واحد کاتالاز مقدار آنزیمی است که موجب تجزیهٔ یک میکرومول H_2O_2 طی مدت یک دقیقه در دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد شود؛ بنابراین محلول واکنش حاوی ۰/۵ میلی‌لیتر H_2O_2 ۱۰ میلی‌مولار، ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم ۲۵ میلی‌مولار (با اسیدیتهٔ ۶/۸) و ۱۰۰ میکرولیتر عصارهٔ آنزیمی بود. واکنش با شروع تجزیهٔ H_2O_2 در محیط آغاز شد و میزان کاهش جذب در طول زمان در طول موج ۲۴۰ نانومتر خوانده شد. سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز به روش Hegar و همکاران (۱۹۹۶) انجام شد و معرف لازم برای این سنجش گایاکول بود. ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۶۰ میلی‌مولار (با اسیدیتهٔ ۶/۱)، ۰/۵ میلی‌لیتر گایاکول ۲۸ میلی‌مولار و ۰/۵ میلی‌لیتر H_2O_2 ۵ میلی‌مولار به ۱۰۰ میکرولیتر عصارهٔ آنزیمی اضافه و جذب محلول در طول موج ۴۷۰ نانومتر خوانده شد. برای اندازه‌گیری پروتئین از روش Bradford (۱۹۷۶) استفاده شد. جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده و منحنی رگرسیون رسم شد.

محاسبه‌های آماری: تجزیهٔ آماری داده‌ها با نرم‌افزار SAS و مقایسهٔ میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح ۵ درصد انجام شد.

میلی‌لیتر محلول کلریدریک‌اسید ۱ درصد متانول ساییده و محلول حاصل به مدت ۲۴ ساعت در یخچال نگهداری شد؛ سپس، محلول به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و جذب محلول رویی در طول موج‌های ۵۳۰ و ۶۵۷ نانومتر خوانده شد. کلریدریک‌اسید ۱ درصد متانول شاهد در نظر گرفته شد (Mita *et al.*, 1997).

فعالیت درصد مهار رادیکال آزاد DPPH: ۲

میلی‌لیتر محلول متانولی ۰/۰۰۴ درصد ۲ و ۲-دی فیل پیکریل هیدرازیل (DPPH) به عصاره‌های گیاهی اضافه شد. محلول شاهد شامل ۲ میلی‌لیتر DPPH و ۲ میلی‌لیتر متانول بود. محلول‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی و دمای اتاق انکوبه شدند و سپس، جذب آنها در ۵۱۷ نانومتر در مقایسه با شاهد متانول خوانده شد (Miliauskas *et al.*, 2004).

فنل و فلاونوئید کل: فنل کل به روش Folin-

Ciocalteu ارزیابی شد (Meyers *et al.*, 2003)؛ در این روش، عصارهٔ متانولی استخراج‌شده با ۱۲۵ میکرولیتر معرف فولین ۱۰ درصد مخلوط شد و پس از ۵ دقیقه در دمای ۳۵ درجهٔ سانتی‌گراد، ۱۰۰ میکرولیتر محلول ۷ درصد بی‌کربنات سدیم به آن اضافه شد. پس از ۱۲۰ دقیقه نگهداری در شرایط بدون نور، مقدار جذب محلول در طول موج ۷۶۵ نانومتر خوانده شد. مقدار فنل کل از روی منحنی استاندارد گالیک‌اسید بر حسب میلی‌گرم گالیک‌اسید در گرم بافت تازه بیان شد.

مقدار فلاونوئید کل به روش کالری‌متری آلومینیوم کلرید اندازه‌گیری شد (Du *et al.*, 2009)؛ ابتدا به ۱۵۰ میکرولیتر عصارهٔ استخراج‌شده به ترتیب ۱۷۰۰ میکرولیتر اتانول ۳۰ درصد، ۱۵۰ میکرولیتر نیتريت سدیم ۰/۵ میلی‌مولار و ۱۵۰ میکرولیتر آلومینیوم کلرید ۰/۳ میلی‌مولار اضافه شد. پس از ۱۰ تا ۱۵ دقیقه، میزان جذب در

نتایج

صفت‌های ریخت‌شناسی: نتایج تجزیه واریانس

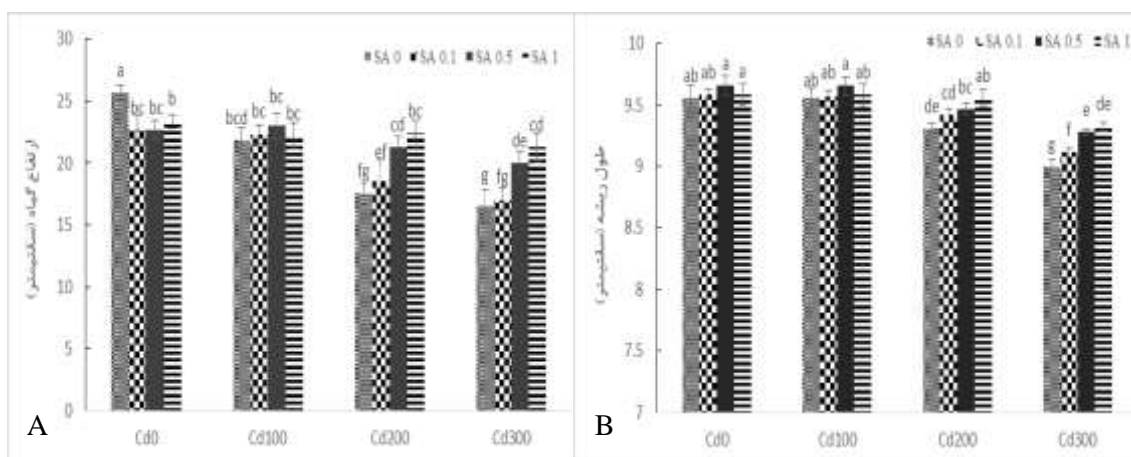
صفت‌های ریخت‌شناسی نشان دادند اثر تیمار کادمیوم، سالیسیلیک اسید و اثر متقابل تیمارها روی تمام صفت‌های ریخت‌شناسی در سطح ۱ درصد معنادار است (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین نشان دادند ارتفاع گیاه و طول ریشه افزایش غلظت کادمیوم به طور معناداری کاهش می‌یابند؛ به طوری که کمترین میزان ارتفاع و طول ریشه در غلظت ۳۰۰ پی‌پی‌ام کادمیوم مشاهده می‌شود. اسپری کردن سالیسیلیک اسید در تمام

سطوح کادمیوم صفت‌های یادشده را به طور معناداری افزایش داد؛ به طوری که بیشترین میزان ارتفاع و طول ریشه در غلظت ۱ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید ثبت شد (شکل ۱). مقایسه میانگین سه صفت وزن خشک ریشه، اندام هوایی و سطح برگ نشان داد افزایش غلظت کادمیوم با کاهش معنادار تمام صفت‌ها نسبت به تیمار شاهد همراه است؛ هرچند تیمار سالیسیلیک اسید باعث بهبود صفت‌های یادشده در شرایط سمیت کادمیوم می‌شود (شکل‌های ۲ و ۳).

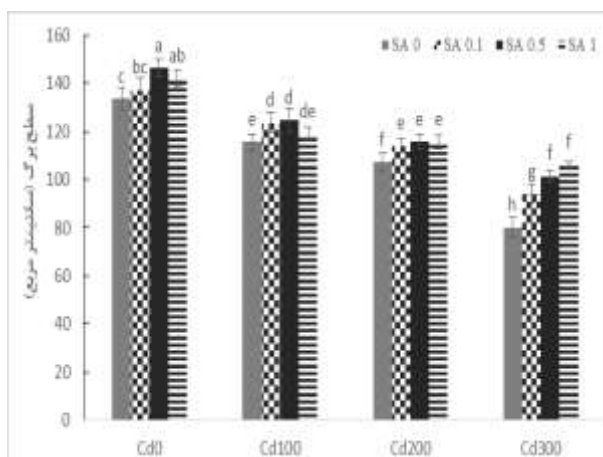
جدول ۱- تجزیه واریانس صفت‌های ریخت‌شناسی در شرایط تنش کادمیوم و سالیسیلیک اسید در گیاه مریم گلی

ارتفاع	سطح برگ	وزن خشک ریشه	وزن خشک اندام هوایی	طول ریشه	
۵۹/۴**	۴۰/۴**	۰/۰۰۵**	۰/۰۲۴**	۰/۴۷**	کادمیوم
۱۳/۲**	۴۰/۵**	۰/۰۰۰۷**	۰/۰۰۳**	۰/۰۷**	سالیسیلیک اسید
۸/۵**	۵۹**	۰/۰۰۰۱**	۰/۰۰۰۴**	۰/۰۱۳**	کادمیوم × سالیسیلیک اسید
۱/۰۷	۱۳/۰۷	۰/۰۰۰۰۹	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۴	خطا

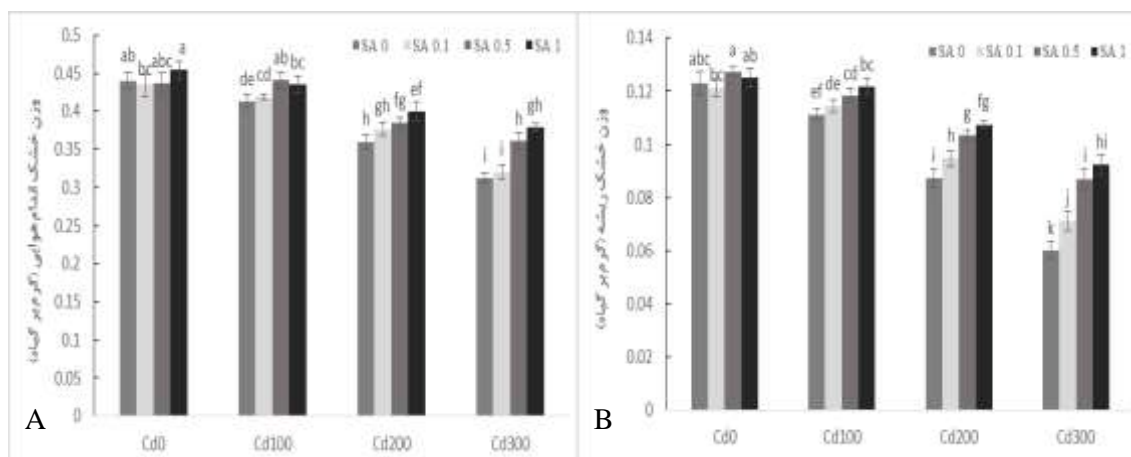
* و ** به ترتیب معنادار در سطح ۱ درصد و ۵ درصد هستند.



شکل ۱- مقایسه میانگین ارتفاع (A) و طول ریشه (B) گیاه مریم گلی در سطوح مختلف کادمیوم (Cd) و سالیسیلیک اسید (SA). مقادیر میانگین ۵ تکرار ± انحراف معیار هستند. تمام ستون‌ها در هر نمودار باهم مقایسه شده‌اند و حروف متفاوت در هر ستون بیان‌کننده معنادار بودن اثر تیمار بر میانگین با استفاده از آزمون LSD در سطح ۵ درصد است.



شکل ۲- مقایسه میانگین صفت سطح برگ گیاه مریم گلی در سطوح مختلف کادمیوم (Cd) و سالیسیلیک‌اسید (SA). مقادیر میانگین ۵ تکرار ± انحراف معیار هستند. تمام ستون‌ها در هر نمودار باهم مقایسه شده‌اند و حروف متفاوت در هر ستون بیان‌کننده معنادار بودن اثر تیمار بر میانگین با استفاده از آزمون LSD در سطح ۵ درصد است.



شکل ۳- مقایسه میانگین وزن خشک اندام هوایی (A) و ریشه (B) گیاه مریم گلی در سطوح مختلف کادمیوم (Cd) و سالیسیلیک‌اسید (SA). مقادیر میانگین ۵ تکرار ± انحراف معیار هستند. تمام ستون‌ها در هر نمودار باهم مقایسه شده‌اند و حروف متفاوت در هر ستون بیان‌کننده معنادار بودن اثر تیمار بر میانگین با استفاده از آزمون LSD در سطح ۵ درصد است.

می‌شود. اسپری برگی سالیسیلیک‌اسید باعث افزایش معنادار صفت‌های یادشده در تمام غلظت‌های کادمیوم شد؛ به طوری که تیمار ۱ میلی‌مولار باعث افزایش محتوای کلروفیل‌های a و b، کاروتنوئید و آنتوسیانین به ترتیب به میزان ۳۹/۷، ۱۶/۵، ۳۶/۲ و ۴۴/۹ درصد نسبت به تیمار غلظت ۳۰۰ پی‌پی‌ام کادمیوم به‌تنهایی شد (شکل‌های ۴ و ۵).

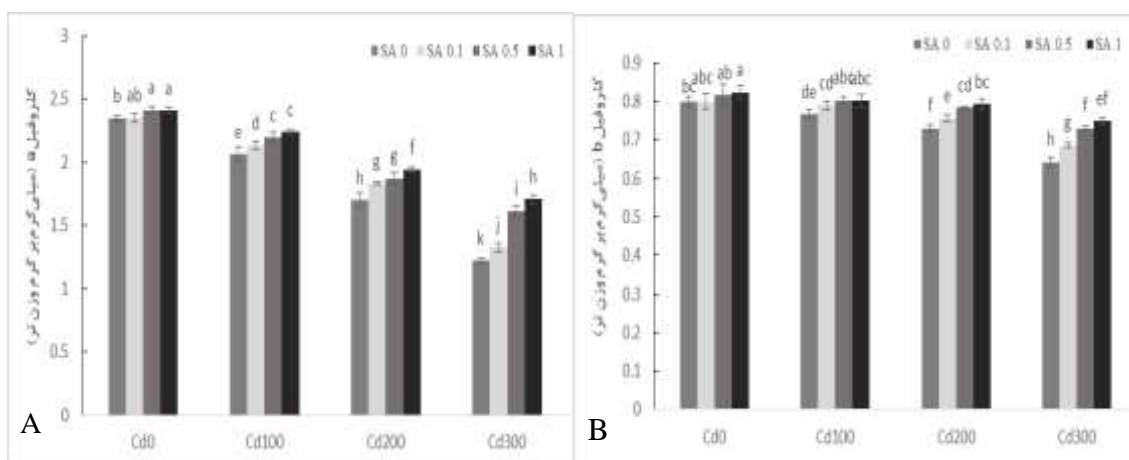
رنگیزه‌های فتوسنتزی و آنتوسیانین: تجزیه

واریانس رنگیزه‌های فتوسنتزی و آنتوسیانین نشان داد تیمار کادمیوم، سالیسیلیک‌اسید و اثر متقابل آنها روی صفت‌های یادشده تأثیر معناداری در سطح ۱ درصد دارد (جدول ۲). مقایسه میانگین صفت‌های یادشده نشان داد کادمیوم باعث کاهش معنادار رنگیزه‌های فتوسنتزی و آنتوسیانین می‌شود و بیشترین کاهش در غلظت ۳۰۰ پی‌پی‌ام مشاهده

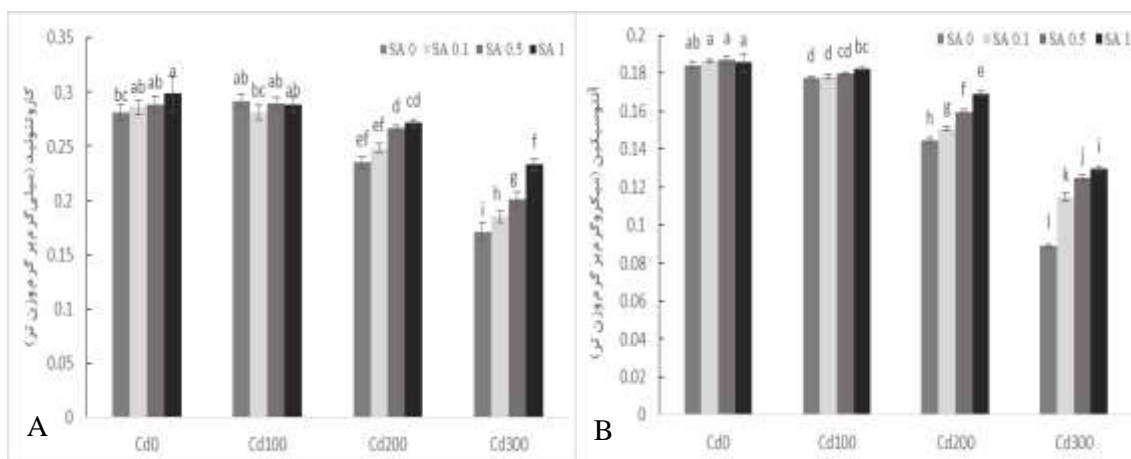
جدول ۲- تجزیه واریانس صفت‌های رنگیزه‌های فتوسنتزی، آنتوسیانین، پرولین، قندهای محلول، فنل و فلاونوئید کل در شرایط تنش کادمیوم و سالیسیلیک اسید در گیاه مریم گلی

کادمیوم	کلوئیل a	کلوئیل b	کاروتنوئید	آنتوسیانین	پرولین	قند محلول	فنل کل	فلاونوئید
کادمیوم	۱/۹**	۰/۰۳**	۰/۰۲**	۰/۰۱۲**	۳۱۲**	۵۷**	۲۸۰**	۵۶**
سالیسیلیک اسید	۰/۱۴**	۰/۰۰۸**	۰/۰۰۲**	۰/۰۰۰۷**	۶۸**	۳/۱**	۳۳**	۱/۲**
کادمیوم × سالیسیلیک اسید	۰/۰۳**	۰/۰۰۰۸**	۰/۰۰۰۵**	۰/۰۰۰۰۷**	۱/۴**	۰/۲۴**	۱**	۰/۲**
خطا	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۰۰۵	۰/۰۰۰۰۰۳	۰/۰۰۰۴۸	۰/۰۰۱۸	۰/۰۰۴۲	۰/۰۰۳۸

* و ** به ترتیب معنادار در سطح ۱ درصد و ۵ درصد هستند.



شکل ۴- مقایسه میانگین محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه مریم گلی در سطوح مختلف کادمیوم (Cd) و سالیسیلیک اسید (SA). مقادیر میانگین ۵ تکرار ± انحراف معیار هستند. تمام ستون‌ها در هر نمودار باهم مقایسه شده‌اند و حروف متفاوت در هر ستون بیان‌کننده معنادار بودن اثر تیمار بر میانگین با استفاده از آزمون LSD در سطح ۵ درصد هستند.



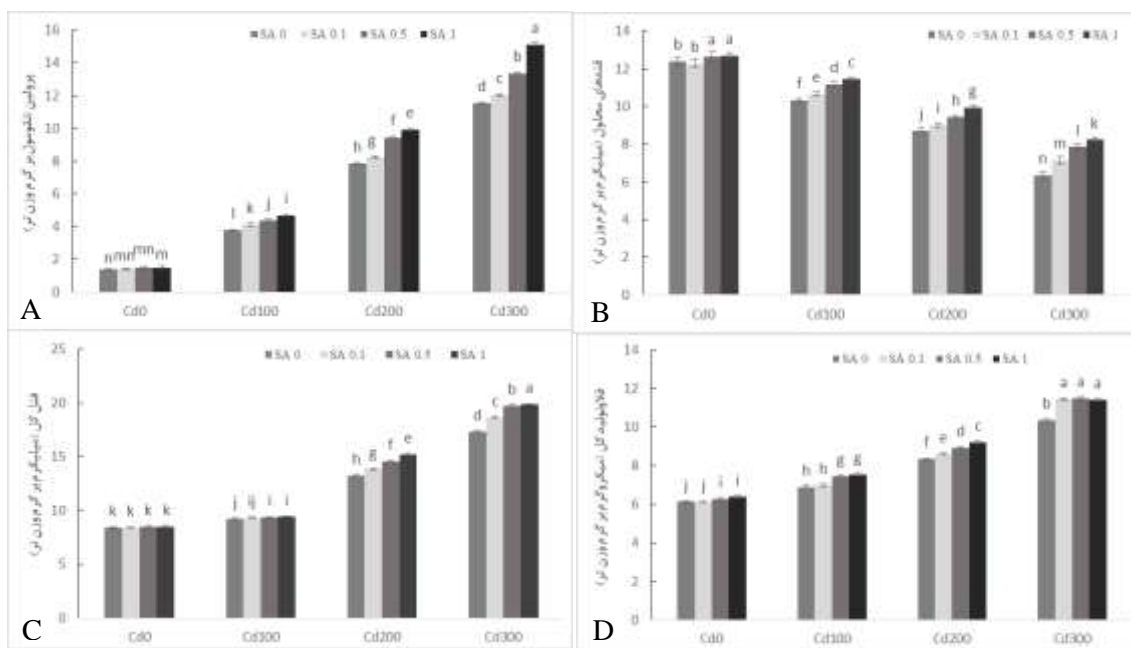
شکل ۵- مقایسه میانگین محتوای کاروتنوئید (A) و آنتوسیانین (B) گیاه مریم گلی در سطوح مختلف کادمیوم (Cd) و سالیسیلیک اسید (SA). مقادیر میانگین ۵ تکرار ± انحراف معیار هستند. تمام ستون‌ها در هر نمودار باهم مقایسه شده‌اند و حروف متفاوت در هر ستون بیان‌کننده معنادار بودن اثر تیمار بر میانگین با استفاده از آزمون LSD در سطح ۵ درصد هستند.

کادمیوم به ترتیب با ۱۰۵/۵ و ۶۱/۹ درصد افزایش نسبت به تیمار شاهد (بدون کادمیوم و سالیسیلیک‌اسید) ثبت شد. تیمار سالیسیلیک‌اسید باعث افزایش بیشتر فنل و فلاونوئید کل در تمام سطوح کادمیوم شد و بیشترین افزایش محتوای فنل و فلاونوئید کل به ترتیب در غلظت‌های ۱ و ۰/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک‌اسید با ۱۳۵/۵ و ۸۷/۷ درصد افزایش نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد (شکل‌های ۶C و ۶D).

محتوای MDA، H₂O₂ و DPPH: تجزیه واریانس صفت‌های MDA، H₂O₂ و DPPH نشان داد اثر تیمارهای کادمیوم، سالیسیلیک‌اسید و اثر متقابل آنها بر صفت‌های یادشده در سطح ۱ درصد معنادار است (جدول ۳). مقایسه میانگین میزان MDA و H₂O₂ نشان داد میزان صفت‌های یادشده با افزایش غلظت کادمیوم به‌طور معناداری افزایش می‌یابد؛ به طوری که بیشترین افزایش میزان MDA و H₂O₂ در غلظت ۳۰۰ پی‌پی‌ام کادمیوم به ترتیب با ۲۰۶/۲ و ۱۴۵/۵ درصد افزایش اندازه‌گیری شد. تیمار سالیسیلیک‌اسید باعث کاهش معنادار MDA و H₂O₂ در تمام سطوح کادمیوم شد و بیشترین میزان کاهش در غلظت ۱ میلی‌مولار سالیسیلیک‌اسید مشاهده شد (شکل‌های ۷A و ۷B). مقایسه میانگین DPPH نشان داد درصد مهار رادیکال آزاد با افزایش سطوح سالیسیلیک‌اسید و کادمیوم روند افزایشی نشان می‌دهد و درصد مهار رادیکال آزاد در سطوح مختلف کادمیوم با افزایش غلظت سالیسیلیک‌اسید افزایش می‌یابد (شکل ۸A).

پرولین و قندهای محلول: تجزیه واریانس نشان داد تیمار کادمیوم، سالیسیلیک‌اسید و اثر متقابل آنها روی محتوای پرولین و قندهای محلول برگ گیاه مریم‌گلی تأثیر معناداری در سطح ۱ درصد دارد (جدول ۲). مقایسه میانگین محتوای پرولین نشان داد تیمار کادمیوم باعث افزایش معنادار پرولین می‌شود و بیشترین افزایش محتوای پرولین در غلظت ۳۰۰ پی‌پی‌ام مشاهده می‌شود. تیمار سالیسیلیک‌اسید باعث افزایش بیشتر پرولین در تمام سطوح کادمیوم شد؛ به طوری که تیمار ۱ میلی‌مولار سالیسیلیک‌اسید در غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ پی‌پی‌ام کادمیوم به ترتیب باعث افزایش ۲۳/۸، ۲۶/۴ و ۳۰/۹ درصد پرولین نسبت به تیمار کادمیوم به تنهایی شد (شکل ۶A). مقایسه میانگین قندهای محلول برگ نیز نشان داد تیمار کادمیوم باعث کاهش قندهای محلول می‌شود و میزان کاهش قندهای محلول با افزایش غلظت کادمیوم افزایش می‌یابد. اسپری برگ سالیسیلیک‌اسید باعث افزایش میزان قندهای محلول در تمام سطوح کادمیوم شد که تأثیر مثبت این ترکیب بر محتوای قندهای محلول برگ را نشان می‌دهد (شکل ۶B).

محتوای فنل و فلاونوئید کل: تجزیه واریانس نشان داد تیمار کادمیوم، سالیسیلیک‌اسید و اثر متقابل آنها روی محتوای فنل و فلاونوئید کل تأثیر معناداری در سطح ۱ درصد دارد (جدول ۲). مقایسه میانگین محتوای فنل و فلاونوئید نشان داد محتوای فنل و فلاونوئید برگ با افزایش غلظت کادمیوم افزایش می‌یابد و بیشترین میزان افزایش محتوای فنل و فلاونوئید در غلظت ۳۰۰ پی‌پی‌ام

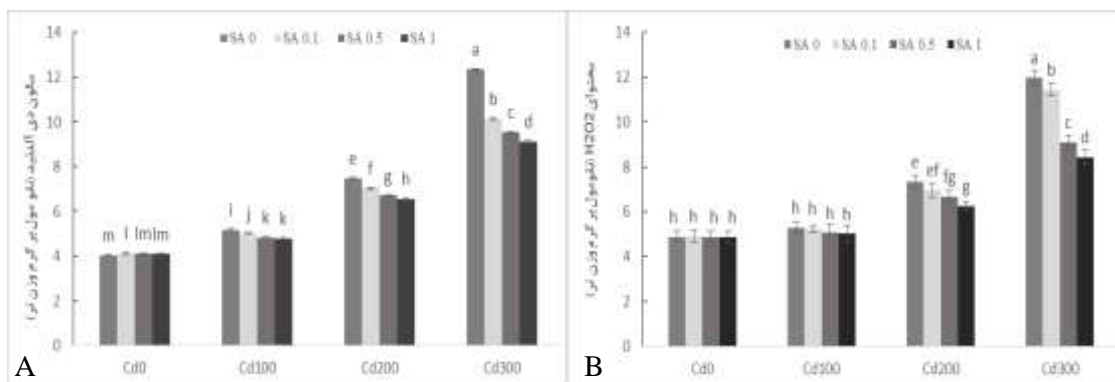


شکل ۶- مقایسه میانگین محتوای پرولین (A)، قندهای محلول (B)، فنل کل (C) و فلاونوئید کل (D) برگ گیاه مریم گلی در سطوح مختلف کادمیوم (Cd) و سالیسیلیک اسید (SA). مقادیر میانگین ۵ تکرار ± انحراف معیار هستند. تمام ستون‌ها در هر نمودار باهم مقایسه شده‌اند و حروف متفاوت در هر ستون بیان‌کننده معنادار بودن اثر تیمار بر میانگین با استفاده از آزمون LSD در سطح ۵ درصد هستند.

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر سالیسیلیک اسید و کادمیوم بر برخی صفات‌های بیوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی گیاه مریم گلی

پراکسیداز	کاتالاز	پروتئین	DPHH	H ₂ O ₂	MDA	
۱۳/۳**	۱۹۸۸**	۱۳/۳**	۱۹۸۸**	۷۳**	۹۰**	کادمیوم
۱/۵**	۵۴**	۱/۴۸**	۵۴/۶**	۴/۱**	۲/۹**	سالیسیلیک اسید
۰/۴**	۱۳/۹**	۰/۴۳**	۱۳/۹**	۱/۹*	۱/۳**	کادمیوم × سالیسیلیک اسید
۰/۵۸	۱/۱۷	۰/۰۰۴۴	۰/۱۲۷	۰/۰۸	۰/۰۰۲۴	خطا

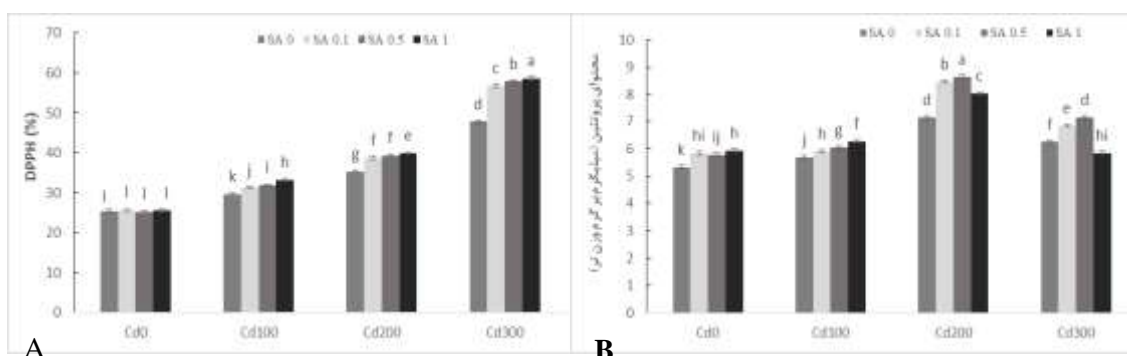
* و ** به ترتیب معنادار در سطح ۱ درصد و ۵ درصد هستند.



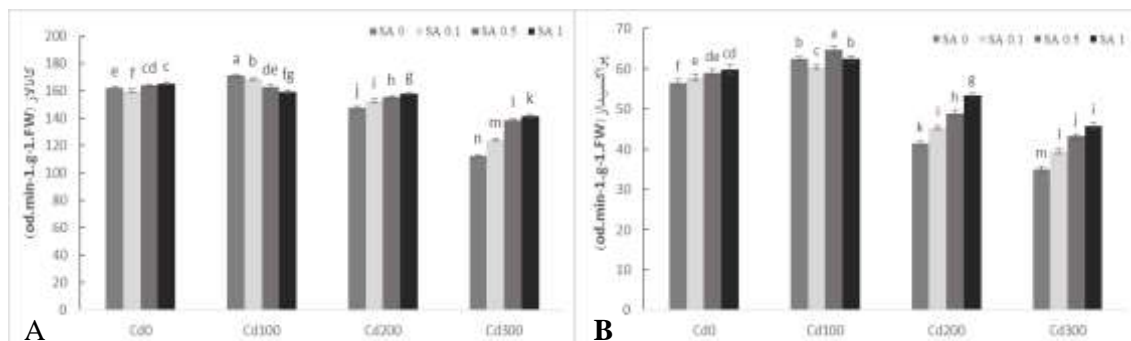
شکل ۷- مقایسه میانگین مالون‌دی‌آلدئید (A) و پراکسید هیدروژن (B) گیاه مریم گلی در سطوح مختلف کادمیوم (Cd) و سالیسیلیک اسید (SA). مقادیر میانگین ۵ تکرار ± انحراف معیار هستند. تمام ستون‌ها در هر نمودار باهم مقایسه شده‌اند و حروف متفاوت در هر ستون بیان‌کننده معنادار بودن اثر تیمار بر میانگین با استفاده از آزمون LSD در سطح ۵ درصد هستند.

پی‌پی‌ام کادمیوم باعث افزایش معنادار فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به شاهد می‌شود اما در غلظت ۲۰۰ و ۳۰۰ پی‌پی‌ام به ترتیب با کاهش ۸/۸ و ۳۰/۳ درصدی نسبت به شاهد همراه است. اسپری سالیسیلیک‌اسید در غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام کادمیوم باعث کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز و در سطوح ۲۰۰ و ۳۰۰ پی‌پی‌ام باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز شد. بررسی میانگین فعالیت پراکسیداز نشان داد تیمار غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام کادمیوم باعث افزایش ۱۰/۵ درصدی اما تیمار غلظت‌های ۲۰۰ و ۳۰۰ پی‌پی‌ام به ترتیب باعث کاهش ۲۶/۷ و ۳۸ درصدی نسبت به شاهد می‌شود. تیمار سالیسیلیک‌اسید باعث افزایش معنادار فعالیت پراکسیداز در تمام سطوح کادمیوم شد (شکل ۹).

میزان پروتئین محلول، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز: تجزیه واریانس نشان داد اثر تیمار کادمیوم، سالیسیلیک‌اسید و اثر متقابل آنها تأثیر معناداری بر میزان پروتئین و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در سطح ۱ درصد دارد (جدول ۳). مقایسه میانگین میزان پروتئین محلول برگ گیاه مریم‌گلی نشان داد تیمار کادمیوم باعث افزایش میزان پروتئین محلول نسبت به تیمار شاهد می‌شود و بیشترین میزان افزایش در غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام مشاهده می‌شود. تیمار سالیسیلیک‌اسید باعث افزایش بیشتر پروتئین‌های محلول در سطوح مختلف کادمیوم شد و این افزایش در غلظت ۰/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک‌اسید ثبت شد (شکل ۸B). مقایسه میانگین فعالیت آنزیم کاتالاز نشان داد تیمار غلظت ۱۰۰



شکل ۸- مقایسه میانگین DPPH (A) و پروتئین (B) برگ گیاه مریم‌گلی در سطوح مختلف کادمیوم (Cd) و سالیسیلیک‌اسید (SA). مقادیر میانگین ۵ تکرار ± انحراف معیار هستند. تمام ستون‌ها در هر نمودار با هم مقایسه شده‌اند و حروف متفاوت در هر ستون بیان‌کننده معنادار بودن اثر تیمار بر میانگین با استفاده از آزمون LSD در سطح ۵ درصد هستند.



شکل ۹- مقایسه میانگین فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (A) و پراکسیداز (B) گیاه مریم‌گلی در سطوح مختلف کادمیوم (Cd) و سالیسیلیک‌اسید (SA). مقادیر میانگین ۵ تکرار ± انحراف معیار هستند. تمام ستون‌ها در هر نمودار با هم مقایسه شده‌اند و حروف متفاوت در هر ستون بیان‌کننده معنادار بودن اثر تیمار بر میانگین با استفاده از آزمون LSD در سطح ۵ درصد هستند.

بحث

بر رشد جو (Metwally *et al.*, 2003) و برنج (Choudhury and Panda, 2004) است. همچنین گزارش شده است پیش تیمار سالیسیلیک اسید با کاهش میزان جذب کادمیوم باعث کاهش سمیت کادمیوم در گیاه می شود (Gondor *et al.*, 2016). نتایج نشان دادند در شرایط سمیت کادمیوم، میزان پرولین افزایش و میزان قندهای محلول کاهش می یابد و تیمار اسپری سالیسیلیک اسید باعث افزایش دو ترکیب یادشده در تمام سطوح کادمیوم می شود. پژوهشگران دیگر نیز افزایش تجمع پرولین را در شرایط تیمار کادمیوم در برنج (Choudhury and Panda, 2004) و گندم (Amani, 2008) گزارش کرده اند. در پژوهش حاضر، تیمار سالیسیلیک اسید باعث افزایش تجمع پرولین در گیاهان شاهد و گیاهان تیمار شده با کادمیوم شد که با گزارش El-Tayeb و همکاران (۲۰۰۶) مطابقت دارد؛ آنها گزارش کرده اند سالیسیلیک اسید باعث تجمع پرولین در بخش های مختلف گیاه آفتابگردان در مقایسه با گیاه شاهد می شود. ارتباط معکوس بین زیتوده و تجمع پرولین در شرایط سمیت کادمیوم گزارش شده است و نشان می دهد این اسمولیت ممکن است تولید شود تا در رشد گیاه مصرف شود (Maggio *et al.*, 2002). افزایش میزان قندهای محلول در شرایط تیمار سالیسیلیک اسید مطابق نتایج El-Tayeb و همکاران (۲۰۰۶) است؛ آنها نشان داده اند سالیسیلیک اسید باعث افزایش تجمع قندهای محلول در ساقه و برگ گیاه تیمار شده با مس می شود که تأثیر سالیسیلیک اسید روی متابولیسم کربوهیدرات را نشان می دهد. همان طور که کربوهیدرات ها باعث محافظت و ثبات غشاهای

در مطالعه حاضر، تأثیر مثبت غلظت های مختلف سالیسیلیک اسید بر گیاهان مریم گلی در شرایط سمیت کادمیوم در شرایط گلخانه ای بررسی شد. نتایج نشان دادند تمام صفت های ریخت شناسی مطالعه شده (ارتفاع گیاه، طول ریشه، سطح برگ، وزن خشک ریشه و اندام هوایی) با افزایش غلظت کادمیوم کاهش می یابند. ممانعت از رشد همراه با کاهش رنگیزه های فتوسنتزی حاصل سمیت کادمیوم است. ممانعت رشد ایجاد شده در اثر کادمیوم ناشی از ممانعت تقسیم سلولی و میزان طویل شدن سلول ها است که عمدتاً به دلیل مهار برگشت ناپذیر پمپ های پروتون مسئول فرایند رشد سلولی ایجاد می شود (Liu *et al.*, 2004). تأثیر منفی کادمیوم روی رشد تا اندازه ای به علت تأثیر عناصر سنگین بر رنگیزه های فتوسنتزی و میزان فتوسنتز است (Metwally *et al.*, 2003). سمیت کادمیوم باعث کاهش تثبیت دی اکسید کربن و کارایی فتوسنتزی و افزایش تجزیه و مهار سنتز کلروفیل می شود که در نتیجه باعث اختلال در زنجیره انتقال الکترون و تولید انواع رادیکال های آزاد اکسیژن می شود (Moussa, 2004)؛ مشابه با نتایج یادشده، تیمار کادمیوم باعث کاهش وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی گیاه جو (Metwally *et al.*, 2003) و کاهش وزن خشک گیاه لوبیا به میزان ۳۵ درصد (Rady, 2011) می شود. نتایج نشان دادند اسپری برگی سالیسیلیک اسید سبب افزایش چشمگیر رشد گیاه قرار گرفته در شرایط تنش کادمیوم و گیاه شاهد (بدون کادمیوم) می شود که مطابق نتایج اثر مثبت سالیسیلیک اسید بر کاهش آثار منفی سمیت کادمیوم

میزان مالون‌دی‌آلدئید شد و بیشترین کاهش در تیمار ۱ میلی‌مولار مشاهده شد. اسیدهای چرب و لیپیدها حساسیت زیادی به اکسیژن دارند و به سرعت اکسید می‌شوند و از آنجا که غشای سلولی غشایی فسفولیپیدی است، واکنش اکسیژن با آن سبب تخریب غشای سلولی و ترشح الکترولیت‌ها به بیرون سلول می‌شود. سالیسیلیک‌اسید با پاکسازی اکسیژن‌های فعال باعث کاهش اکسیداسیون لیپیدهای غشای سلولی و در نتیجه کاهش محتوای مالون‌دی‌آلدئید برگ‌های تیمار شده با سالیسیلیک‌اسید می‌شود. کاهش آسیب غشای سلولی در پاسخ به سالیسیلیک‌اسید نشان‌دهنده‌ی القای سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی به وسیله سالیسیلیک‌اسید با از بین بردن رادیکال‌های آزاد به‌طور مستقیم و یا توسط آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی است که خسارت ناشی از این گونه‌های فعال را کاهش می‌دهد و این با نتایج Agami و Mohamed (۲۰۱۳) مطابقت دارد.

این موضوع به خوبی اثبات شده است که سیستم آنتی‌اکسیدانی نقش مهمی در تحمل گیاه به شرایط تنش‌زا دارد و فعالیت یک یا تعداد بیشتری از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان یا ترکیبات غیر آنزیمی آنتی‌اکسیدان در گیاهان قرار گرفته در شرایط تنش افزایش می‌یابد و باعث افزایش تحمل گیاه به تنش می‌شود (Kadioglu *et al.*, 2011). آنزیم سوپراکسید دیسموتاز خط اول دفاعی را در برابر انواع اکسیژن‌های فعال تشکیل می‌دهد و برای خنثی‌سازی O_2^- حیاتی است که همیشه با تولید پراکسید هیدروژن همراه است. پراکسید هیدروژن به آسانی از غشا عبور می‌کند و سمی است (Foyer

زیستی می‌شوند باعث کاهش تولید مالون‌دی‌آلدئید و بهبود غلظت پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌شوند. کاهش میزان پراکسیداسیون غشا و پراکسیداسیون هیدروژن مشاهده شده در گیاهان تیمار شده با سالیسیلیک‌اسید ممکن است به علت افزایش ظرفیت محافظت گیاه در برابر تنش اکسیداتیو ایجاد شده در اثر سمیت کادمیوم باشد. فلاونوئیدها و ترکیبات فنلی در سیتوپلاسم و سطح سیتوپلاسمی شبکه آندوپلاسمی سنتز می‌شوند و با فعالیت آنتی‌اکسیدانی در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی نقش حفاظتی دارند. اکسیداسیون فلاونوئیدها در شرایط تنش سبب تولید ترکیبات جاروب‌کننده پراکسید هیدروژن مانند سمی کوئینون و کوئینون‌ها می‌شود (Shakirova *et al.*, 2016). نتایج حاضر نشان می‌دهند تیمار کادمیوم باعث افزایش فنل و فلاونوئید می‌شود و پیش‌تیمار سالیسیلیک‌اسید باعث افزایش بیشتر این ترکیبات در تمام سطوح سمیت کادمیوم می‌شود؛ این امر نقش مثبت سالیسیلیک‌اسید را در افزایش تحمل گیاه نسبت به سمیت کادمیوم نشان می‌دهد. نتایج یاد شده با نتایج Agami و Mohamed (۲۰۱۳) مطابقت دارند.

در مطالعه حاضر، میزان مالون‌دی‌آلدئید، پراکسید هیدروژن و درصد مهار رادیکال آزاد با افزایش غلظت کادمیوم کلرید افزایش یافت. همچنین تیمار سالیسیلیک‌اسید سبب کاهش اکسیداسیون چربی‌های غشای سلولی و کاهش محتوای مالون‌دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن و افزایش درصد مهار رادیکال آزاد در برگ‌ها شد. استفاده از سالیسیلیک‌اسید باعث کاهش معنادار

نشان می دهند سالیسیلیک اسید تنظیم کننده رشد بالقوه برای بهبود رشد گیاه در شرایط سمیت کادمیوم است. نتایج پژوهش حاضر تا حدی در شناخت نقش سالیسیلیک اسید در مقاومت گیاه مریم گلی به تنش کادمیوم مفید است.

سپاسگزاری

از حمایت های علمی و فنی مؤسسه آموزش عالی سنا ساری تشکر و سپاسگزاری می شود.

References

- Agami, R. A. and Mohamed G. F. (2013) Exogenous treatment with indole-3-acetic acid and salicylic acid alleviates cadmium toxicity in wheat seedlings. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 94: 164-171.
- Amani, A. F. (2008) Cadmium induced changes in pigment content, ion uptake, proline content and phosphoenolpyruvate carboxylase activity in *Triticum aestivum* seedlings. *Australian Journal of Basic and Applied Science* 2(1): 57-62.
- Bates L. S., Waldren R. P. and Teare I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil* 39: 205-207.
- Bradford, M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantization of protein utilizing the principle of protein- day binding. *Annual Review of Biochemistry* 72: 248-254.
- Cakmak, I. and Horest, W. J. (1991) Effect of aluminum on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). *Physiologia Plantarum* 83(3): 463-468.
- Cho, U. H. and Seo, N. H. (2005) Oxidative stress in *Arabidopsis thaliana* exposed to cadmium is due to hydrogen peroxide accumulation. *Plant Science* 168: 113-120.
- et al., 1997). کاتالاز و پراکسیداز با شکستن پراکسید هیدروژن و تبدیل آن به آب باعث ختنی سازی این ترکیب سمی می شوند (Ekmekci (2008). در مطالعه حاضر، تیمار کادمیوم (۰/۵ و ۱ میلی مولار) باعث کاهش چشمگیر فعالیت دو آنزیم کاتالاز و پراکسیداز نسبت به گیاه شاهد شد؛ در حالی که تیمار سالیسیلیک اسید باعث افزایش فعالیت آنزیم های یاد شده در شرایط سمیت کادمیوم شد که مشابه نتایج Cho و Seo (۲۰۰۵) و Lu و همکاران (۲۰۱۸) است. Guo و همکاران (۲۰۰۷) بیان کردند پیش تیمار سالیسیلیک اسید با افزایش آنتی اکسیدان های آنزیمی و غیر آنزیمی و غلظت گلوکاتایون و تیول های غیر پروتئینی که باعث اتصال کادمیوم به گروه تیول آنها می شود باعث ختنی کردن سمیت کادمیوم در ریشه و برگ گیاه برنج تیمار شده با کادمیوم و افزایش تحمل گیاه قرار گرفته در معرض تنش کادمیوم می شود؛ این افزایش در سیستم های آنتی اکسیدان به کاهش آسیب اکسیداتیو منجر می شود که با کاهش H_2O_2 و مالون دی آلدئید (محصول نهایی پراکسیداسیون لیپید) نشان داده می شود. افزایش محتوای پروتئین محلول با تیمار سالیسیلیک اسید ممکن است به علت افزایش سنتز پروتئین هایی باشد که در ختنی کردن تنش اکسیداتیوی نقش دارند (Guo et al., 2007).

جمع بندی

نتایج کلی پژوهش حاضر نشان می دهند سالیسیلیک اسید سمیت کادمیوم را در گیاه مریم گلی قرار گرفته در تنش کادمیوم از طریق بهبود رنگیزه های فتوسنتزی و تنظیم متابولیت های ثانویه و سیستم آنتی اکسیدانی کاهش می دهد. این نتایج

- Choudhury, S. and 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.
- Du, G., Li, M., Ma, F. and Liang, D. (2009) Antioxidant capacity and the relationship with polyphenol and Vitamin C in Actinidia fruits. *Food Chemistry* 113: 557-562.
- Eidi, M., Eidi, A. and Zamanizadeh, H. (2005) Effect of *Salvia officinalis* L. leaves on serum glucose and insulin in healthy and streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology* 100: 310-313.
- Ekmekci, Y., Tanyolac, D. and Ayhan, B. (2008) Effects of cadmium on antioxidant enzyme and photosynthetic activities in leaves of two maize cultivars. *Journal of Plant Physiology* 165: 600-611.
- El-Tayeb, M., El-Enany, A. and Ahmed, N. L. (2006) Salicylic acid-induced adaptive response to copper stress in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Plant Growth Regulation* 50: 191-199.
- Foyer, C. H., Looez-Delgado, H., Dat, J. F. and Scott, I. M. (1997) Hydrogen peroxide and glutathione-associated mechanisms of acclamatory stress tolerance and signaling. *Physiologia Plantarum* 100: 241-254.
- Gharib, F. A. G. (2007) 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
- Gondor, O. K., Pál, M., Darkó, É., Janda, T., Szalai, G. (2016) Salicylic acid and sodium salicylate alleviate cadmium toxicity to different extents in maize (*Zea mays* L.). *PLOS ONE* 11(8): e0160157.
- Guo, B., Liang, Y. and Zhue, Y. (2007) 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.
- Heath, R. L. and Packer L. (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 125(1): 189-198.
- Hegar, H., Ueda, N. and Shal, S. V. (1996) Role of reactive oxygen metabolites in DNA damage and cell death in chemical hypoxic injury LLC-PK1 cells. *American Journal of Physiology* 271: 209-215.
- Irigoyen, J. J., Emerich, D. W. and Sanchez-Diaz, M. (1992) Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia Plantarum* 84: 67-72.
- Kadioglu, A., Saruhan, N., Saglam, A., Terzi, R. and Acet, T. (2011) Exogenous salicylic acid alleviates effects of long-term drought stress and delays leaf rolling by inducing antioxidant system. *Plant Growth Regulation* 64: 27-37.
- Kawano, T. and Muto, S. (2000) Mechanism of peroxidase actions for salicylic acid-induced generation of active oxygen species and an increase in cytosolic calcium in tobacco cell suspension culture. *Journal of Experimental Botany* 51: 685-693.
- Lichtenthaler, H. (1987) Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods of Enzymology* 148: 350-382.
- Liu, D., Jiang, W. and Gao, X. (2004) Effects of cadmium on root growth, cell division and nucleoli in root tip cells of garlic. *Plant Biology* 47: 79-83.
- Lu, Q., Zhang, T., Zhang, W., Su, C., Yang, Y., Hu, D. and Xu, Q. (2018). Alleviation of cadmium toxicity in *Lemna minor* by exogenous salicylic acid. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 147: 500-508.
- Maggio, A., Miyazaki, S., Veronese, P., Fujita, T., Ibeas, J. I., Damsz, B., Narasimhan, M. L., Hasegawa, P. M., Joly, R. J. and Bressan, R. A. (2002)

- Does proline accumulation plays an active role in stress-induced growth reduction? *Plant Journal* 31(6): 699-712.
- Metwally, A., Finkemeier, I., Georgi, M. and Dietz, K. J. (2003) Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in barley seedlings. *Plant Physiology* 132: 272-281.
- Meyers, K., Watkins, C., Pritts, M. and Liu, R. H. (2003) Antioxidant and antiproliferative activities of strawberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 6887-6892.
- Miliauskas, G., Yenkutonis, P. R. and Vanbeek, T. A. (2004) Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plants extracts. *Food Chemistry* 85: 231-237.
- Mita, S., Murano, N., Akaike, M. and Nakamura, K. (1997) Mutants of *Arabidopsis thaliana* with pleiotropic effects on the expression of the gen for beta-amylase and on the accumulation of anthocyanin that are inducible by sugars. *Plant Journal* 11: 841-851.
- Moussa, H. R. (2004) Effect of cadmium on growth and oxidative metabolism of *faba bean* plants. *Acta Agronomy Hungarica* 52: 269-276.
- Moussa, H. R. and El-Gamal, S. M. (2010) Effect of salicylic acid pretreatment on cadmium toxicity in wheat. *Biologia Plantarum* 54: 315-320.
- Omid Beigi, R. (2005) Production and processing of medicinal plants, Astan Quds Razavi publications. Behnashr, Mashhad (in Persian).
- Rady, M. M. (2011) Effect of 24-epibrassinolide on growth, yield, antioxidant system and cadmium content of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants under salinity and cadmium stress. *Science Horticulture* 129: 232-237.
- Shakirova, F. M., Allagulova, Ch. R., Maslennikova, D. R., Klyuchnikova, E. O., Avalbaev, A. M. and Bezrukova, M. V. (2016) Salicylic acid-induced protection against cadmium toxicity in wheat plants. *Environmental and Experimental Botany* 122: 19-28
- Torabian, A. S., and Mahjori, M. (2002) Investigation of the effect of irrigation by sewage on heavy metal adsorption by southern Tehran vegetation. *Soil and Water Science* 16(2): 39-52. (in Persian).
- Velikova, V., Yordanov, I. and Edreva, A. (2000) Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants. *Plant Science* 151(1): 59-66.

