

اثر سالیسیلیک اسید بر غلظت برخی عناصر غذایی، پروتئین و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ریحان (*Ocimum basilicum*) تحت تنش سرب

علی پاداش، احمد قنبری و محمدرضا اصغری پور *
گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

چکیده

امروزه کاربرد ترکیبات فنلی و تنظیم‌کننده رشد گیاه مانند سالیسیلیک اسید، به منظور کاهش آثار منفی ناشی از تنش‌های مختلف مطرح شده است. هدف از مطالعه حاضر، ارزیابی تأثیر محلول پاشی سالیسیلیک اسید بر سمیت سرب در گیاه ریحان پس از افزودن سرب به خاک بود. در این پژوهش گلخانه‌ای، گیاهانی که در چهار سطح سرب شامل صفر (شاهد)، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک همراه با سه سطح محلول پاشی سالیسیلیک اسید به میزان صفر، ۵۰ و ۱۰۰ قسمت در میلیون در سه تکرار کاشته شده بودند، مقایسه شدند. افزودن سرب به طور معنی داری غلظت عناصر: پتاسیم، منیزیم، کلسیم، فسفر و نیتروژن گیاه را کاهش و غلظت سدیم و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی پلی‌فنل اکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز را افزایش داد. محلول پاشی سالیسیلیک اسید نیز بر تمام صفات تأثیر معنی داری داشت؛ به طوری که غلظت ۱۰۰ میلی‌لیتر در لیتر باعث افزایش عناصر پتاسیم، منیزیم، کلسیم، فسفر، نیتروژن و کاهش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی پلی‌فنل اکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز شد. در این بررسی، اثر متقابل بین سالیسیلیک اسید و سرب بر پتاسیم، منیزیم، کلسیم، فسفر، نیتروژن، سدیم و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز معنی دار بود؛ و سالیسیلیک اسید نقش تعدیل‌کننده و کاهش‌دهنده اثر منفی سمیت سرب را بر این خصوصیات داشت. نتایج این آزمایش نشان داد که کاربرد سالیسیلیک اسید در ریحان می‌تواند علاوه بر افزایش جذب عناصر گیاهی ماکرو و میکرو مورد نیاز گیاه برای ادامه رشد، باعث کاهش قابل ملاحظه آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از تأثیرات منفی تنش سرب گردد.

واژه‌های کلیدی: سالیسیلیک اسید، پلی‌فنل اکسیداز، عناصر غذایی، فلز سنگین، گیاه ریحان

مقدمه

زیست‌محیطی عمده در جوامع بشری است که با انتقال

این عناصر سمی از طریق تولیدات گیاهی به انسان،

آلودگی خاک با فلزات سنگین یکی از مشکلات

* نگارنده مسؤول: نشانی پست الکترونیک: m_asgharipour@uoz.ac.ir، شماره تماس: ۰۵۴۳۲۲۳۲۱۱۲

است که این شکل‌های مختلف اکسیژن فعال، معمولاً با ایجاد آسیب‌های غشایی، فرآیندهای مختلف سلولی را مختل می‌نمایند (Pereira *et al.*, 2002).

مقابله با تنش سرب با روش‌های مختلف مانند استفاده از ترکیباتی که هزینه کمتر و کارایی بالاتری داشته باشند، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. سالیسیلیک اسید متعلق به گروهی از ترکیبات فنلی است که بر اغلب واکنش‌های متابولسمی گیاه تأثیر گذاشته، موجب تغییراتی در آنها می‌شود (Hashemian *et al.*, 2014). این تغییرات اغلب به صورت سازش‌هایی است که تحمل و سازگاری گیاهان را در مقابل عوامل محیطی افزایش می‌دهد (Metwally *et al.*, 2003). سالیسیلیک اسید به عنوان یک تنظیم‌کننده گیاهی، نقش محوری در تنظیم مراحل مختلف رشد و تکامل گیاه، جذب یون، فتوسنتز و جوانه‌زنی ایفا می‌کند (El-Tayeb, 2005). تأثیرات متابولیکی سالیسیلیک اسید و ترکیبات وابسته به آن با توجه به نوع گیاه، مقدار و نحوه کاربرد سالیسیلیک اسید تغییر می‌کند (Hayat *et al.*, 2009). سالیسیلیک اسید تأثیر خود را بر فتوسنتز از طریق تأثیر بر عوامل روزنه‌ای، رنگیزه‌ها و ساختار کلروپلاست و آنزیم‌های دخیل در مراحل فتوسنتز اعمال می‌کند (Ghai *et al.*, 2002). بسیاری از مطالعات نشان دادند که سالیسیلیک اسید می‌تواند مقاومت گیاه را در تنش‌های غیر زنده از جمله: اشعه ماورای بنفش، خشکی، فلزات سنگین، شوری و دماهای بالا افزایش دهد (Senaratna *et al.*, 2000; Horvath *et al.*, 2007; Iqbal *et al.*, 2006). Delavari Parizi و همکاران (۲۰۱۲) در بررسی آثار سالیسیلیک اسید بر مقاومت و القای تنش اکسیداتیو در

سلامتی افراد جامعه به خطر می‌افتد. سرب یکی از فلزات سنگین، سمی و آلوده‌کننده محیط است که آثار زیستی آن به خوبی شناخته نشده است. مقدار این عنصر در خاک‌های کشاورزی به علت مصرف سوخت‌های فسیلی و سایر فعالیت‌های صنعتی به سرعت افزایش یافته و آنها را آلوده می‌کند (Sheng *et al.*, 2004; Hamid *et al.*, 2010). سمیت سرب در اثر افزایش این عنصر به محیط رشد گیاه، به شکل‌های گوناگون گزارش شده است که شامل: کاهش پتانسیل آبی، اختلال در تغذیه معدنی گیاه، تغییر در تراوایی غشای سلولی، کاهش در مقدار هورمون‌های گیاه و فعالیت‌های انتقال الکترون، بازدارندگی در رشد ریشه، ایجاد کلروز یا زردی، توقف رشد ساقه، بازدارندگی یا افزایش فعالیت آنزیمی، کاهش در سنتز DNA، RNA، پروتئین و جوانه‌زنی است (Sharma and Dubey, 2005; Jimoh and Imam Mohammed, 2012). حضور سرب در خاک بر میزان تولید محصولات کشاورزی تأثیر چشمگیری دارد (Gil *et al.*, 2004). بیشترین میزان سرب از طریق سیستم‌های ریشه‌ای جذب گیاهان می‌شود و مقدار ناچیزی هم از طریق برگ، به ویژه، برگ‌های دارای کُرک. چنین شرایطی موجب مسمومیت گیاه، کاهش رشد و میزان محصول، زردی برگ‌های جوان، کاهش جذب برخی عناصر ضروری مانند آهن و منیزیم و در نتیجه کاهش میزان فتوسنتز می‌شود (Pallavi and Rama, 2005). اختلال برخی از فلزات سنگین از جمله سرب، بر رشد و نمو و عملکرد گیاهان اثر می‌گذارد. آثار سمی فلزات سنگین بر گیاهان، ناشی از تولید انواع اکسیژن فعال مانند سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیل

افزایش رشد و ویژگی‌های مورفولوژیک در گیاه بادمجان می‌گردد.

جنس *Ocimum* متعلق به تیره نعنائیان است که اکوتیپ‌های آن تنوع مورفولوژیک زیادی دارند. از میان گونه‌های این جنس، گونه ریحان با نام علمی *O. basilicum* اهمیت اقتصادی فراوان دارد و به عنوان گیاهی دارویی، ادویه‌ای و سبزی تازه استفاده می‌شود (Simon et al., 1990). همچنین، اسانس این گیاه به طور وسیع در صنایع غذایی و همچنین در صنعت عطرسازی و تهیه فرآورده‌های دهان و دندان کاربرد دارد (Darrah, 1998). با توجه به این که ریحان در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین نظیر کادمیوم، سرب، مس و آرسنیک رشد می‌کند، ارزیابی تأثیر ترکیباتی نظیر سالیسیلیک اسید جهت تعدیل آثار سوء فلزات سنگین ضروری است. در پژوهش حاضر، با توجه به ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و نقش شبه‌هورمونی سالیسیلیک اسید، نقش این ترکیب بر تعدیل آثار منفی تنش سرب روی گیاه ریحان بررسی شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۹۲ برای مطالعه اثر محلول پاشی سالیسیلیک اسید بر غلظت برخی عناصر غذایی، پروتئین و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ریحان تحت تنش سرب و در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل به صورت آزمایش فاکتوریل با دو عامل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار اجرا گردید. عامل اول: کاربرد سرب به شکل نترات سرب ($Pb(NO_3)_2$) در چهار سطح شامل: صفر (شاهد)، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم

گیاه ریحان سبز تحت تنش شوری دریافتند که میزان سدیم برگ با افزایش شدت تنش افزایش و در تیمار با سالیسیلیک اسید کاهش می‌یابد. Rezayatmand و همکاران (۲۰۱۳) در بررسی اثر سالیسیلیک اسید بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه درمنه کوهی تحت تنش شوری به این نتیجه رسیدند که تنش شوری باعث کاهش جذب پتاسیم و افزایش جذب سدیم می‌شود، در حالی که تیمار گیاهان با سالیسیلیک اسید سبب افزایش مقادیر جذب پتاسیم و کاهش جذب سدیم شد. Sadat Pirooz و Manouchehri Kalantari (۲۰۱۲) در بررسی تأثیر فلز کروم بر اندام هوایی گیاه آفتابگردان به این نتیجه رسیدند که با افزایش غلظت کروم، میزان پروتئین کل در بخش‌های هوایی گیاه کاهش می‌یابد. Momeni و همکاران (۲۰۱۳) در بررسی اثر سدیم کلرید و سالیسیلیک اسید بر شاخص‌های فتوسنتزی و تغذیه معدنی گیاه ذرت به این نتیجه رسیدند که تنش شوری باعث کاهش مقدار پتاسیم و افزایش مقدار سدیم، فسفر و منیزیم شد و بر مقادیر نیتروژن و کلسیم تأثیری نداشت، در صورتی که کاربرد سالیسیلیک اسید باعث افزایش یون‌های کلسیم، نیتروژن و کاهش یون‌های فسفر و سدیم تحت شرایط تنش (شوری) شد. Ranjbar و همکاران (۲۰۱۱) نیز اثر متقابل سرب و سالیسیلیک اسید را بر رشد، رنگیزه‌های فتوسنتزی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کلزا بررسی نمودند. نتایج آنها نشان داده است که سالیسیلیک اسید می‌تواند آثار سمیت سرب در ممانعت از رشد را تا حد زیادی کاهش دهد. Tavakoli و همکاران (۲۰۱۱) بیان کردند که کاربرد سالیسیلیک اسید تحت تنش سرب باعث

تهیه شد. در این مطالعه، از بذر ریحان اصلاح شده رقم کشکنی لولو (Keshkeni Luvelou) از مؤسسه پاکان بذر اصفهان استفاده شد. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک یش از اجرای آزمایش در جدول ۱ ارائه شده است.

خاک خشک و سه سطح محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید به میزان صفر (شاهد)، ۵۰ و ۱۰۰ قسمت در میلیون بودند. نترات سرب از مرکز تحقیقات کرج و سالیسیلیک اسید (شرکت Merck، آلمان) از آزمایشگاه تحقیقات دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک

هدایت الکتریکی	pH	درصد					ppm			بافت خاک	
		N	P	K	Fe	Zn	Mn	لای رس	شن		
۱/۸	۷/۱	۰/۰۶	۱۲	۱۸۵	۲/۲	۴/۸	۳/۱	۲۷	۳۲	۴۱	لومی شنی

در ظرف مخصوصی قرار داده و با آب مقطر شسته شد تا خاک اطراف ریشه گیاه جدا گردد. سپس، با استفاده از قیچی باغبانی اندام‌های هوایی از ریشه جدا شده و جهت اندازه‌گیری عناصر: پتاسیم، سدیم، کلسیم، منیزیم، فسفر، نیتروژن و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی پلی فنل اکسیداز، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز در اندام‌های هوایی گیاه مورد استفاده قرار گرفتند.

برای اندازه‌گیری عناصر: سدیم، پتاسیم و فسفر از روش خاکستری‌گیری خشک استفاده شد. مقادیر دو عنصر سدیم و پتاسیم بر حسب قسمت در میلیون (ppm) در دستگاه فلیم‌فتومتر (مدل PFP7، شرکت جنوی، انگلستان) خوانده و در پایان، با کمک جدول استاندارد و بر اساس میلی گرم در گرم ماده خشک محاسبه شدند. مقدار عنصر فسفر با روش رنگ‌سنجی با محلول معرف آمونیوم وانادات و با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Aquarius، شرکت سیسل، انگلستان) طول موج ۴۲۰ نانومتر به دست آمد (Emami, 1996). مقدار کلسیم و منیزیم با استفاده از

پیش از کاشت، مقادیر کودهای پایه فسفر، پتاسیم و نیتروژن بر اساس نتایج تجزیه خاک، به خاک افزوده شد. در این آزمایش، مقادیر نترات سرب بر اساس مقدار خاک یکسان برای هر گلدان (حدود ۲ کیلوگرم) و بر اساس تیمارهای مورد آزمایش، محاسبه و پیش از کاشت با خاک مخلوط شد و پس از سه هفته نگهداری خاک در نایلون‌های مخصوص به منظور آغشته شدن خاک با فلز سنگین با حفظ میزان رطوبت مناسب جهت جذب فلز سرب با خاک، گلدان‌ها با این خاک پر شد. عملیات کاشت بذرها در عمق ۱ سانتی متری سطح خاک در ۷ فروردین انجام شد. درون هر گلدان پس از جوانه‌زنی ۶ عدد بوته با فاصله ۲ سانتی متر بین بوته‌ها نگهداری شد.

تیمار سالیسیلیک اسید پس از سبز شدن و استقرار گیاه، یعنی در مرحله ۸ تا ۱۰ برگی (حدود ۵۰ روز پس از جوانه‌زنی) روی برگ‌های گیاه اعمال شد. در طول آزمایش، گلدان‌ها یک روز در میان آبیاری شدند. حدود ۶۵ روز پس از کاشت گیاهان که در مرحله رویشی بودند همراه ریشه با بیلچه از خاک در آورده و

در اندام‌های هوایی گیاه ریحان منجر گردید (جدول ۳).

تیمار سرب و سالیسیلیک اسید تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد بر پتاسیم و کلسیم داشت. بیشترین کاهش پتاسیم و کلسیم در بخش‌های هوایی گیاه ریحان مربوط به سطح چهارم سرب (۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) و کمترین کاهش مربوط به عدم تنش (شاهد) بود (جدول ۲). در غلظت‌های مختلف تنش سرب، سالیسیلیک اسید غلظت ۱۰۰ میلی‌لیتر در لیتر بر میزان پتاسیم و کلسیم در گیاه ریحان مؤثرتر بود و سبب افزایش ۳۴/۸ و ۳۳/۳ درصدی صفات مذکور نسبت به تیمارهای سرب گردید (جدول ۳).

اثر متقابل سرب و سالیسیلیک اسید، بر جذب فسفر ($P < 0.01$) و نیتروژن ($P < 0.05$) در بخش‌های هوایی گیاه ریحان معنی‌دار بود. برای مثال، با افزایش غلظت سالیسیلیک اسید از صفر به ۵۰ میلی‌لیتر در لیتر در سطح سوم سرب (۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)، صفات مذکور به ترتیب ۳۲/۶ و ۱۸/۳ درصد نسبت به شاهد (عدم تنش) افزایش یافتند (شکل‌های ۱ و ۲).

اثر متقابل سالیسیلیک اسید و سرب بر جذب پتاسیم در گیاه ریحان معنی‌دار ($P < 0.05$) بود. برای مثال، افزایش سالیسیلیک اسید (از صفر به ۵۰ میلی‌لیتر در لیتر) در سطح دوم سرب (۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) باعث افزایش ۳۰/۸ درصدی پتاسیم برگ نسبت به شاهد (عدم تنش) شد (شکل ۳)؛ اما در اثر متقابل تنش و محلول‌پاشی با افزایش سالیسیلیک اسید (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌لیتر در لیتر) میزان کلسیم در برگ ریحان افزایش یافت اما این افزایش به لحاظ آماری معنی‌دار ($P < 0.05$) نبود.

دستگاه جذب اتمی (مدل ۳۰۳۰، شرکت پرکین‌المر، آمریکا) اندازه‌گیری شد. مقدار نیتروژن کل اه روش تیتراسیون پس از تقطیر با استفاده از سیستم خودکار (کجل اتو آنالیزور) محاسبه شد (Kjeldal, 1998). اندازه‌گیری مقدار پروتئین کل اندام‌های گیاه با روش Bradford (۱۹۷۶) انجام و با استفاده از رسم منحنی استاندارد آلومین سنجیده شد. سنجش مقدار آنزیم پلی‌فنل اکسیداز (PPOX) با روش Raymond و همکاران (۱۹۹۳)، آنزیم پراکسیداز (POX) روش Mac Adam و همکاران (۱۹۹۲) و آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) با روش Nakano و Asada (۱۹۸۱) به ترتیب در طول موج‌های: ۴۳۰، ۴۷۰ و ۲۹۰ نانومتر بر اساس میکرومول بر میلی‌گرم پروتئین، و همچنین آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) با روش Giannopolitis و Ries (۱۹۷۷) طول موج ۵۶۰ نانومتر و بر اساس میکرومول بر گرم وزن تر سنجیده شد. در پایان، داده‌های به دست آمده با نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ تحلیل و میانگین‌ها داده‌ها با استفاده از آزمون LSD مقایسه شد.

نتایج

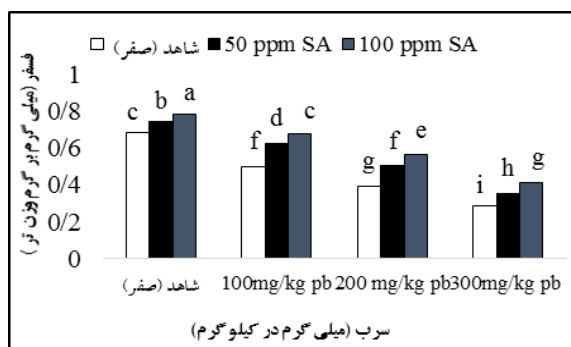
اثر سرب و سالیسیلیک اسید بر فسفر و نیتروژن در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲)؛ به طوری که تنش سرب در سطوح ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک، به ترتیب باعث کاهش ۱۸/۴ و ۳۳/۸ درصدی فسفر و ۲۳/۸ و ۴۳/۷ درصدی نیتروژن نسبت به تیمار شاهد (بدون تنش) شد. همچنین، استفاده از سالیسیلیک اسید در غلظت ۱۰۰ میلی‌لیتر در لیتر به افزایش ۲۱/۲ و ۲۹/۷ درصدی فسفر و نیتروژن

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر سرب و سالیسیلیک اسید بر پتاسیم، سدیم، کلسیم، منیزیم، فسفر و نیتروژن گیاه ریحان. *، ** و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح ۵ درصد و ۱ درصد و عدم معنی‌داری است.

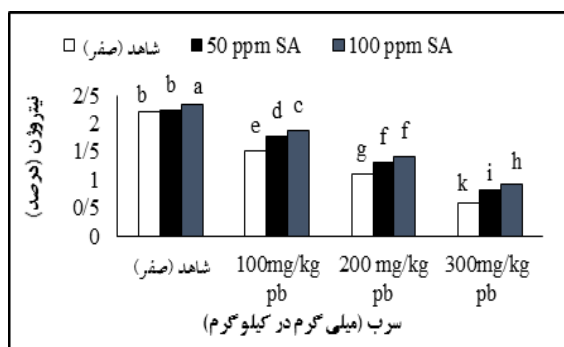
منابع تغییرات	درجه آزادی	فسفر	نیتروژن	پتاسیم	کلسیم	سدیم	منیزیم
بلوک	۲	۰/۰۰۰۳ ^{ns}	۰/۱۲۴۲ ^{**}	۰/۰۰۰۶ ^{ns}	۰/۰۰۰۱ ^{**}	۰/۰۰۱۳ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۶۴ ^{ns}
نیترات سرب	۳	۰/۲۴۱۸ ^{**}	۴/۵۷۲۰ ^{**}	۰/۴۵۶۸ ^{**}	۰/۰۰۲۷۴ ^{**}	۰/۴۴۸۳ ^{**}	۰/۰۰۰۱۲۶۵۴ ^{**}
سالیسیلیک اسید	۲	۱/۰۶۲۳ ^{**}	۰/۲۵۲۵ ^{**}	۰/۰۸۷۰ ^{**}	۰/۰۰۰۴۹ ^{**}	۰/۰۸۷۹ ^{**}	۰/۰۰۰۰۰۶۵۷ ^{**}
نیترات سرب × سالیسیلیک اسید	۶	۰/۰۰۱۳ ^{**}	۰/۰۱۰۷ [*]	۰/۰۰۴۳ ^{**}	۰/۰۰۰۰۲۲ ^{ns}	۰/۰۰۴۴ ^{**}	۰/۰۰۰۰۰۰۴۷ ^{ns}
خطا	۲۲	۰/۰۰۰۳۱	۰/۰۰۰۳۵۱	۰/۰۰۰۵۳	۰/۰۰۰۰۰۲	۰/۰۰۰۰۴۹	۰/۰۰۰۰۰۰۳۷
ضریب تغییرات (درصد)	-	۳/۲۶	۳/۹۳	۵/۸۸	۴/۶۹	۵/۷۲	۳/۵۶

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر سرب و سالیسیلیک اسید روی پتاسیم، کلسیم، فسفر، نیتروژن، منیزیم و سدیم گیاه ریحان. تفاوت حروف در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.

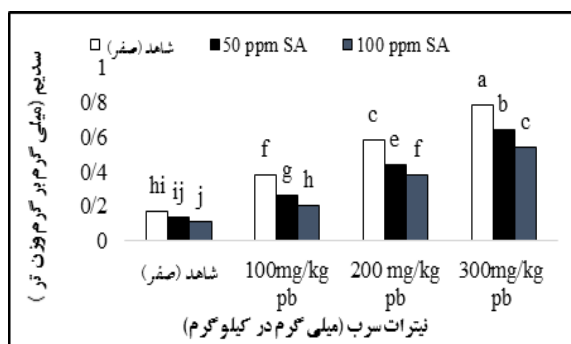
تیمار	پتاسیم (میلی‌گرم در گرم وزن تر)	کلسیم (میلی‌گرم در گرم وزن تر)	فسفر (میلی‌گرم در گرم وزن تر)	نیتروژن (درصد)	منیزیم (میلی‌گرم در گرم وزن تر)	سدیم (میلی‌گرم در گرم وزن تر)
نیترات سرب (میلی‌گرم در کیلوگرم)						
صفر (شاهد)	۰/۶۶۳a	۰/۰۵۲a	۰/۷۳۷a	۲/۲۵۸a	۰/۰۲۱a	۰/۶۵۴d
۱۰۰	۰/۴۷۵b	۰/۰۳۵b	۰/۶۰۱b	۱/۷۲۰b	۰/۰۱۸b	۰/۴۶۸c
۲۰۰	۰/۲۹۰c	۰/۰۲۴c	۰/۴۸۸c	۱/۲۷۱c	۰/۰۵۱c	۰/۲۸۳b
۳۰۰	۰/۱۴۴d	۰/۰۱۱d	۰/۳۵۲d	۰/۷۸۲d	۰/۰۱۲d	۰/۱۴۱a
سالیسیلیک اسید (ppm)						
صفر (شاهد)	۸/۳۱۶c	۵/۰۲۴c	۰/۴۶۷c	۱/۳۵۲c	۰/۰۱۶c	۰/۴۷۹c
۵۰	b۹/۳۷۸	۷/۰۳۱ b	۰/۵۵۷b	۱/۵۳۳b	۰/۰۱۷b	b۰/۳۷۱
۱۰۰	۱۱/۴۵۸a	۱۰/۰۳۶a	۰/۶۱۰a	۱/۶۳۸a	۰/۰۱۸a	۰/۳۱۰a



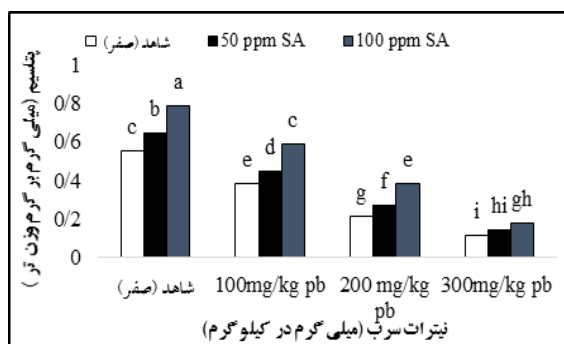
شکل ۲- اثر متقابل سرب و سالیسیلیک اسید بر فسفر گیاه ریحان. مقادیر میانگین ۳ تکرار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P \leq 0.05$ است.



شکل ۳- اثر متقابل سرب و سالیسیلیک اسید بر نیتروژن گیاه ریحان. مقادیر میانگین ۳ تکرار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P \leq 0.05$ است.



شکل ۴- اثر متقابل سرب و سالیسیلیک اسید بر سدیم گیاه ریحان. مقادیر میانگین ۳ تکرار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P \leq 0.05$ است.



شکل ۳- اثر متقابل سرب و سالیسیلیک اسید بر پتاسیم گیاه ریحان. مقادیر میانگین ۳ تکرار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P \leq 0.05$ است.

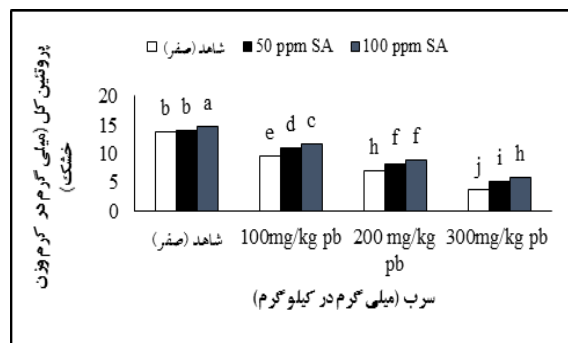
استفاده از سالیسیلیک اسید (غلظت ۱۰۰ میلی لیتر در لیتر) باعث افزایش ۱۲/۵ درصدی منیزیم نسبت به شاهد گردید (جدول ۳). در اثر متقابل تنش و محلول پاشی، با افزایش سالیسیلیک اسید (۵۰ و ۱۰۰ میلی لیتر در لیتر) عنصر منیزیم نسبت به تیمارهای تحت تنش سرب افزایش یافت، ولی این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبود ($P < 0.05$).

تأثیر تنش سرب و سالیسیلیک اسید بر غلظت پروتئین کل در گیاه ریحان معنی‌دار ($P < 0.05$) بود (جدول ۴). افزایش غلظت سرب به کاهش ۲۳/۷ درصدی میزان پروتئین کل در بخش‌های هوایی گیاه ریحان نسبت به شاهد (عدم تنش) منجر شد و استفاده از محلول پاشی سالیسیلیک اسید (غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی لیتر در لیتر) باعث افزایش ۱۱/۸ و ۱۷/۵ درصدی صفت مذکور گردید (جدول ۵).

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

تأثیر تنش سرب و سالیسیلیک اسید بر غلظت عنصر سدیم در گیاه ریحان معنی‌دار ($P < 0.01$) بود (جدول ۲). با افزایش غلظت سرب، میزان سدیم در بخش‌های هوایی گیاه افزایش یافت، به طوری که سطح چهارم سرب (۳۰۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک) عنصر سدیم در برگ ریحان افزایش ۳۱/۹ درصدی نسبت به تیمار شاهد (بدون تنش) از خود نشان داد. استفاده از سالیسیلیک اسید (۵۰ و ۱۰۰ میلی لیتر در لیتر)، باعث کاهش ۲۲/۵ و ۳۵/۳ درصدی عنصر سدیم نسبت به شاهد شد (جدول ۳). برهم کنش سرب و سالیسیلیک اسید اثر معنی‌داری ($P < 0.01$) بر سدیم داشت، به طوری‌که سطح سوم سرب (۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک) با افزایش سالیسیلیک اسید (۱۰۰ میلی لیتر در لیتر) میزان سدیم برگ ۳۴/۸ درصد نسبت به تیمار شاهد (عدم تنش) کاهش نشان داد (شکل ۵).

نتایج نشان داد اثر تنش سرب و سالیسیلیک اسید در سطح احتمال ۱ درصد بر عنصر منیزیم در گیاه ریحان معنی‌دار بود (جدول ۲). به طوری که سطح دوم سرب (۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم خاک) باعث کاهش ۱۴/۳ درصدی منیزیم نسبت به سطح اول (بدون تنش) شد و



شکل ۵- اثر متقابل سرب و سالیسیلیک اسید بر روی پروتئین کل گیاه ریحان. مقادیر میانگین ۳ تکرار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح (P<0.05) است.

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

آنزیم پلی فنل اکسیداز (PPOX) و آسکوربات

پراکسیداز (APX): تأثیر تیمار سرب و سالیسیلیک اسید در سطح احتمال ۱ درصد بر غلظت آنزیم‌های پلی فنل اکسیداز و آسکوربات پراکسیداز معنی‌دار بود (جدول ۴). با افزایش غلظت سرب تا ۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک به ترتیب باعث افزایش ۵۲/۴ و ۶۷/۹ درصدی آنزیم‌های پلی فنل اکسیداز و آسکوربات پراکسیداز نسبت به تیمار شاهد (عدم تنش) گردید. محلول پاشی سالیسیلیک اسید (غلظت ۱۰۰ میلی لیتر در لیتر) به ترتیب باعث کاهش ۱۷/۶ و ۷۵/۱ درصدی میزان آنزیم‌های پلی فنل اکسیداز و آسکوربات

پراکسیداز نسبت به تیمارهای بدون تنش (شاهد) گردید (جدول ۵).

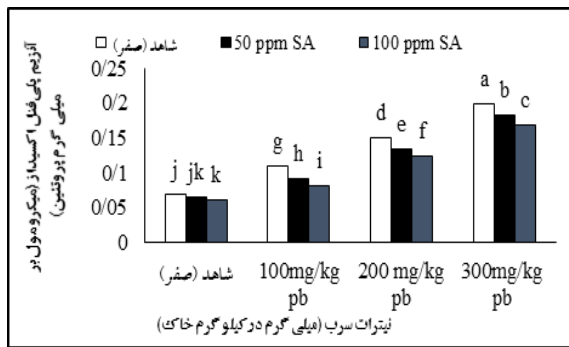
اثر متقابل سالیسیلیک اسید و سرب بر میزان آنزیم‌های پلی فنل اکسیداز و آسکوربات پراکسیداز معنی‌دار (P<0.01) بود، به طوری که در سطح چهارم سرب (۳۰۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک) با افزایش سالیسیلیک اسید (۵۰ میلی لیتر در لیتر) مقادیر آنزیم‌های مذکور به ترتیب برابر با ۰/۱۸۱ و ۰/۰۵۴ میکرومول بر میلی گرم پروتئین به دست آمد که نشان‌دهنده کاهش ۹/۱ و ۵۹/۴ درصدی میزان آنزیم‌های پلی فنل اکسیداز و آسکوربات پراکسیداز با افزایش سطوح سالیسیلیک اسید است (شکل‌های ۶ و ۷).

جدول ۴ - آنالیز واریانس اثر سرب و اسد سالیسیلیک بر پروتئین کل، آنزیم‌های پلی فنل اکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز گیاه ریحان. *، ** و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح ۵ درصد و ۱ درصد و عدم معنی‌داری است.

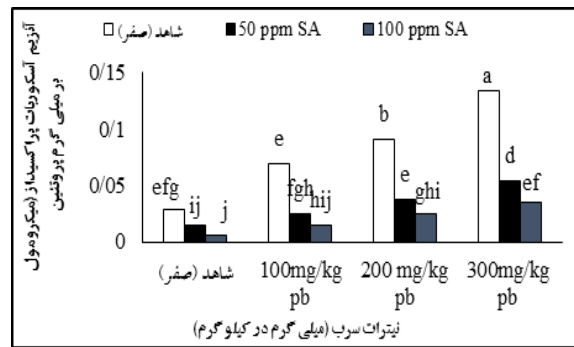
منابع تغییرات	درجه آزادی	پروتئین کل	آنزیم آسکوربات پراکسیداز	آنزیم پلی فنل اکسیداز	آنزیم پراکسیداز	آنزیم سوپراکسید دیسموتاز
بلوک	۲	۴/۸۵۶**	۰/۰۰۰۲۹ ^{ns}	۰/۰۰۰۱۶**	۰/۰۰۰۰۲۹ ^{ns}	۰/۰۰۰۲۰*
نیترات سرب	۳	۱۳۹/۵۲۶**	۰/۰۰۵۴۱۴**	۰/۰۰۲۳۹۰**	۰/۰۰۰۰۵۴۱۴**	۰/۰۰۲۶۰۸**
سالیسیلیک اسید	۲	۹/۸۶۴**	۰/۰۱۲۲۵۸**	۰/۰۰۰۱۶۱**	۰/۰۰۰۰۱۲۲۵۸**	۰/۰۰۰۲۲۰**
نیترات سرب × سالیسیلیک اسید	۶	۰/۴۲۰*	۰/۰۰۰۸۵۲**	۰/۰۰۰۰۸**	۰/۰۰۰۰۰۸۵۳**	۰/۰۰۰۰۱۷*
خطا	۲۲	۰/۱۳۷	۰/۰۰۰۰۳۳	۰/۰۰۰۰۰۷۹	۰/۰۰۰۰۰۰۳۳	۰/۰۰۰۰۰۴۹۹
ضریب تغییرات (درصد)	-	۳/۹۳	۱۲/۹۵	۲/۳۵	۱۲/۹۵	۳/۳۴

جدول ۵ - مقایسه میانگین اثر سرب و سالیسیلیک اسید روی پروتئین کل، آنزیم‌های پلی‌فنل اکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز گیاه ریحان. تفاوت حروف در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.

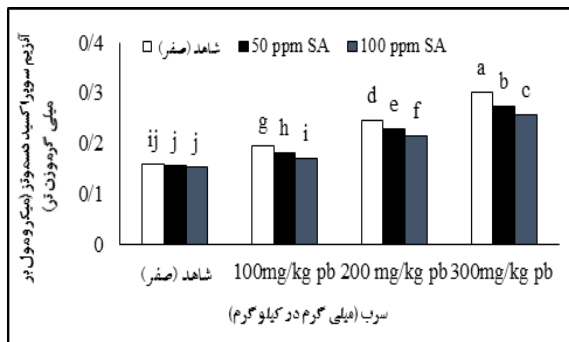
تیماز	پروتئین کل (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	آنزیم آسکوربات پراکسیداز (میکرومول بر میلی‌گرم پروتئین)	آنزیم پلی‌فنل اکسیداز (میکرومول بر میلی‌گرم پروتئین)	آنزیم پراکسیداز (میکرومول بر میلی‌گرم پروتئین)	آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (میکرومول بر میلی‌گرم وزن تر)
نیترات سرب (میلی‌گرم در کیلوگرم)					
صفر (شاهد)	۱۴/۱۱۲a	۰/۱۶۴d	۰/۰۶۵۰d	۰/۰۱۸d	۰/۱۵۵۶d
۱۰۰	۱۰/۷۵۵b	۰/۰۳۶۳c	۰/۰۹۴۲c	۰/۰۰۳۱c	۰/۱۸۲۲c
۲۰۰	۷/۹۴۴c	۰/۰۵۱۱b	۰/۱۳۶۵b	۰/۰۰۵۲b	۰/۲۳۰۰b
۳۰۰	۴/۸۸۸d	۰/۰۷۴۶a	۰/۱۸۳۳a	۰/۰۰۸۳a	۰/۲۷۷۶a
سالیسیلیک اسید (ppm)					
صفر (شاهد)	۸/۴۵۰ c	۰/۰۸۰۸a	۰/۱۳۱۹a	۰/۰۰۶۸a	۰/۱۹۸۸a
۵۰	b۹/۵۸۳	۰/۰۳۳۰ b	۰/۱۱۸۶b	۰/۰۰۴۱b	۰/۲۰۹۵b
۱۰۰	۱۰/۲۴۲ a	۰/۰۲۰۱c	۰/۱۰۸۸c	۰/۰۰۲۹c	۰/۲۲۵۷c



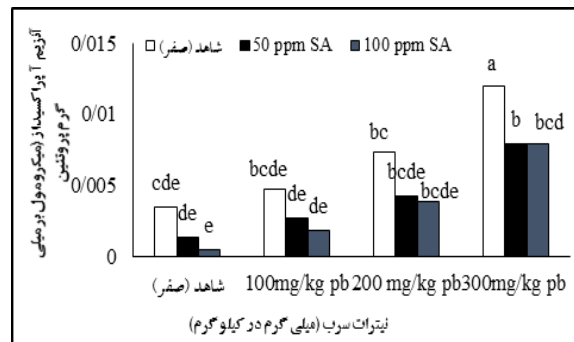
شکل ۷- اثر متقابل سرب و سالیسیلیک اسید بر آنزیم پلی‌فنل اکسیداز گیاه ریحان. مقادیر میانگین ۳ تکرار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح (P<0.05) است.



شکل ۶- اثر متقابل سرب و سالیسیلیک اسید بر آنزیم آسکوربات پراکسیداز گیاه ریحان. مقادیر میانگین ۳ تکرار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح (P<0.05) است.



شکل ۹- اثر متقابل سرب و سالیسیلیک اسید بر آنزیم سوپراکسید دیسموتاز گیاه ریحان. مقادیر میانگین ۳ تکرار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح (P<0.05) است.



شکل ۸- اثر متقابل سرب و سالیسیلیک اسید بر آنزیم پراکسیداز گیاه ریحان. مقادیر میانگین ۳ تکرار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح (P<0.05) است.

فسفر از عناصر ضروری برای رشد گیاه است و نقش مهمی در ساختمان مولکول‌های زیستی و انتقال انرژی دارد و جزو عناصر پرمصرف طبقه بندی می‌شود. Jiang و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کردند که سمیت کادمیوم سبب بروز کمبود فسفر در گیاه خردل هندی شد. Dusek (۱۹۹۵) و Diani و Raeisi (۲۰۰۶) در بیان نتایج پژوهش‌های خود گزارش کردند که سرب به دلیل آسیب به جمعیت میکروبی خاک و اختلال در فرآیند معدنی شدن نیتروژن می‌تواند آثار منفی بر جذب نیتروژن گیاه داشته باشد. همچنین Hassan Dar و Mishra (۱۹۹۴) گزارش کردند که افزودن ۲۵ تا ۵۰ میلی‌گرم کادمیوم در کیلوگرم خاک سبب کاهش معدنی شدن نیتروژن آلی و زیست‌توده میکروبی در خاک شد. در همین راستا، Walker و همکاران (۱۹۹۷) گزارش کردند که در گیاه ذرت تحت تنش سرب، جذب عناصر غذایی پتاسیم، منیزیم، کلسیم و فسفر کاهش یافت. سالیسیلیک اسید به طور قابل توجهی کاهش رشد گیاهان تحت تیمار سرب را تعدیل نمود، مقدار سرب در بافت‌های گیاهی با بالا رفتن غلظت آن در محیط کشت افزایش یافت. Amooaghaie و همکاران (۲۰۱۲) اثر متقابل سالیسیلیک اسید و کادمیوم بر رشد، رنگیزه‌های فتوسنتزی و تجمع برخی عناصر در بخش‌های هوایی گیاهچه سویا را بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که کاربرد سالیسیلیک اسید در گیاهان تیمار شده با کادمیوم باعث افزایش میزان عناصر پتاسیم و کلسیم در بخش هوایی به ترتیب به میزان ۱۲ و ۱۰ درصد شد. تجمع سدیم و تغییر نسبت K^+/Na^+ در سیتوپلاسم می‌تواند روی فرآیندهای انرژی‌زا اثر بگذارد.

آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و

پراکسیداز (POD): تیمار سرب، سالیسیلیک اسید و اثر متقابل سرب × سالیسیلیک اسید تأثیر معنی‌داری ($P < 0.01$) بر آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز داشت (جدول ۴). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که در تمامی سطوح سرب (۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) با افزایش سالیسیلیک اسید (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌لیتر در لیتر) میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز کاهش یافت (جدول ۵). در اثر متقابل تنش و محلول پاشی، افزایش معنی‌داری ($P < 0.01$) در آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز ($P < 0.05$) و پراکسیداز ($P < 0.01$) مشاهده شد، به طوری که سطح چهارم سرب (۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) با افزایش سالیسیلیک اسید (۱۰۰ میلی‌لیتر در لیتر)، به ترتیب باعث کاهش ۱۴/۳ و ۵۷/۵ درصدی میزان آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز نسبت به تیمارهای بدون تنش (شاهد) گردید (شکل‌های ۸ و ۹).

بحث

بر اساس نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر، با افزایش غلظت سرب در محیط، میزان عناصر فسفر، نیتروژن، پتاسیم، کلسیم و منیزیم در بخش‌های هوایی گیاه ریحان کاهش یافت؛ در حالی که با به کارگیری سالیسیلیک اسید در محیط، تأثیرات سرب تعدیل شد و باعث افزایش میزان عناصر فوق نسبت به تیمارهای سرب گردید که با یافته‌های سایر محققان (Gunes *et al.*, 2007; Safarzadeh Shirazi *et al.*, 2012) مطابقت دارد.

مربوط باشد، به گونه‌ای که با صدمه زدن به پروتئوم گیاه باعث نابودی شمار زیادی از پروتئین‌های گیاه می‌شود (Sundaramoorthy *et al.*, 2010).

تجمع ترکیب‌های فنلی در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیر زیستی در گیاهان در مطالعات متعددی گزارش شده است (Ramroudi and Khamar, 2013؛ Heidari *et al.*, 2014). این ترکیب‌ها به عنوان آنتی‌اکسیدان شناخته شده‌اند که با سازوکارهای متعددی مثل: خوردگی رادیکال آزاد، دادن هیدروژن، خاموش کردن اکسیژن تک اتمی، کلاته کردن یون‌های فلزی یا قرار گرفتن به عنوان سوبسترای آنزیم‌های پراکسیداز نقش آنتی‌اکسیدانی خود را ایفا می‌کنند. همچنین، پلی‌فنل‌ها در سمیت‌زدایی پراکسید هیدروژن بسیار اهمیت دارند (Hamilton *et al.*, 1997). Haghghi و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که با افزایش غلظت کادمیوم فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز در برگ‌های کاهو به طور معنی‌داری افزایش یافت. سوپراکسید دیسموتاز حساس‌ترین آنزیم به این تنش محیطی است که در اثر افزایش رادیکال‌های آزاد، افزایش می‌یابد (Bowler *et al.*, 1994). Heidari *et al.* و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند که با افزایش غلظت نیکل فعالیت آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در گیاه بنگ‌دانه افزایش یافت، از سوی دیگر، Kazemi و همکاران (۲۰۱۰) در بررسی تأثیر سالیسیلیک اسید برون‌زا بر گیاه کلزا تحت تنش نیکل، به این نتیجه رسیدند که سالیسیلیک اسید با مهار نیکل در ریشه‌ها و جلوگیری از انتقال آن به اندام‌های هوایی از بروز علائم سمیت نیکل در بخش‌های هوایی گیاه می‌کاهد. تحت

جایگزینی سدیم به جای پتاسیم می‌تواند سبب غیرفعال شدن آنزیم‌ها، کاهش رشد و حتی مرگ سلول یا گیاه شود (Kao، Rahnama and Ebrahimzadeh, 2004). کاهش مقدار پتاسیم (Wu *et al.*, 2008؛ *et al.*, 2006). کاهش مقدار پتاسیم برگ در محیط حاوی سرب به این علت است که شباهت این دو یون در اندازه شعاع هیدراته و رقابت برای ورود به داخل سلول، پروتئین‌های انتقال‌دهنده آنها در تشخیص دچار اشتباه شوند؛ بنابراین، سدیم به راحتی از طریق ناقل‌های با تمایل کم نسبت به پتاسیم وارد سلول می‌شود و جذب پتاسیم کاهش می‌یابد. از سوی دیگر، سدیم با ورود به فضای آپوپلاستی و جایگزینی با کلسیم، غشای سلول را دپلاریزه کرده، به ایجاد اختلال در جذب انتخابی برخی یون‌ها منجر می‌شود (Aqueel Ahmad *et al.*, Molassiotis *et al.*, 2006). Gunes. 2007. و همکاران (۲۰۰۵ و ۲۰۰۷) گزارش کردند که سالیسیلیک اسید باعث کاهش غلظت سدیم و کلر و افزایش کاتیون‌ها از جمله پتاسیم، نیتروژن، منیزیم، آهن، منگنز و مس در گیاه ذرت در تنش‌های مختلف شد که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت داشت. گزارش شده است که کاهش در محتوای پروتئینی در غلظت‌های بالای یون می‌تواند به علت کاهش در ساخت بعضی پروتئین‌ها یا احتمالاً افزایش فعالیت آنزیم‌های پروتئولیتیک باشد (Khudsar *et al.*, 2001). بنا بر گزارش Palma و همکاران (۲۰۰۲) پروتئولیز نیز به عنوان یک فرآیند مهم همراه با اکسیداسیون پروتئین در شرایط تنش اکسیداتیو توسط فرآیندهای پیری و فلزات سنگین القا می‌شود. کاهش در محتوای پروتئین گیاهان تحت تیمار با غلظت‌های بالای کروم همچنین می‌تواند به اثر متفاوت گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)

فرآیندهای فیزیولوژیک و مورفولوژیک گیاه متفاوت است. گیاه به منظور سازگاری و تحمل بیشتر در برابر غلظت‌های سمی این فلز سنگین به تجمع آن در ریشه و محدود کردن انتقال آن به اندام‌های هوایی مبادرت می‌کند. کاهش میزان عناصر غذایی نظیر: پتاسیم، فسفر، نیتروژن، کلسیم و منیزیم و افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، پلی‌فنل اکسیداز و آسکوربات پراکسیداز برگ‌ها، نشان از آثار سمیت سرب و تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن است که آسیب‌های اکسیداتیو و کاهش رشد را به دنبال دارد، و همچنین سالیسیلیک اسید به عنوان یک تنظیم‌کننده رشد گیاهی از طریق افزایش عناصر فوق، پروتئین کل و سازماندهی سازوکارهای دفاعی آنتی‌اکسیدان، آثار زیانبار ناشی از تنش و سمیت سرب را تخفیف می‌دهد. در مجموع، می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که از میان غلظت‌های سالیسیلیک اسید به کار رفته، غلظت ۱۰۰ میلی‌لیتر در لیتر بیشترین تأثیر مثبت را در کاهش تأثیرات ناشی از تنش سرب بر این گیاه دارویی دارد. به طور کلی، در خاک‌هایی که در معرض سمیت عناصر سنگینی نظیر سرب قرار دارند، می‌توان با استفاده از مواد آنتی‌اکسیدان زمینه کشت گیاهانی نظیر ریحان را فراهم نمود.

سپاسگزاری

نگارندگان از تمامی اساتید ارجمند و آزمایشگاه بیوسنتر دانشگاه زابل که در مراحل گوناگون انجام این تحقیق نقش ویژه داشته‌اند، قدردانی می‌نمایند.

تأثیر تیمار محلول پاشی سالیسیلیک اسید، می‌توان به نقش مثبت این تنظیم‌کننده رشد در دستگاه فتوسنتزی و حفاظت از دستگاه فتوسنتزی، مقدار فتوسنتز، فعالیت آنزیم رویسکو، مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی، هدایت روزنه‌ای، سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی، کاهش تنش اکسیداتیو و نشت یونی، افزایش همبستگی غشاهای زیستی، متابولیسم نیتروژن و تغذیه معدنی گیاه اشاره کرد که در مطالعه‌های مختلف به آنها پرداخته شده است (Stevens *et al.*, 2006; El-Tayeb, 2005; Popova *et al.*, 2009; Korkmaz *et al.*, 2007).

مهم‌ترین نتیجه به دست آمده از پژوهش حاضر، افزایش عناصر غذایی در تیمارهای دارای سالیسیلیک اسید بود. سالیسیلیک اسید علاوه بر کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان با ممانعت از انتقال سرب جذب شده از خاک به اندام‌های هوایی نیز موجب کاهش قابل ملاحظه آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از تنش سرب در گیاه ریحان شد. با توجه به این که اغلب گیاهان بردبار به عناصر سنگین، مقدار زیادی از یون‌های فلزی را در ریشه‌های خود انباشته می‌کنند و باقی ماندن عناصر سنگین در ریشه‌ها، به ویژه در گیاهانی که ریشه آنها مورد استفاده انسان قرار نمی‌گیرد، یکی از اهداف مهم بسیاری از پژوهش‌های حال حاضر دنیا به شمار می‌رود، بنابراین نتایج حاصل از پژوهش حاضر دارای اهمیت است.

جمع‌بندی

تأثیر تنش ناشی از افزایش غلظت سرب بر

منابع

Amooaghaie, R., Marefat, A. and Shabani, L. (2012) Interaction of salicylic acid and cadmium on

- growth, photosynthetic pigments and ion distribution in aerial parts of soybean plantlets. *Journal of Plant Biology* 4(14): 75-88 (in Persian).
- Aqueel Ahmad, M. S., Javed, F. and Ashraf, M. (2007) Role of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany* 59(2): 206-216.
- Bowler, C. W., Van Camp. M., Van Montagu, M. and Lnze, D. (1994) Superoxide dismutase in plants. *Critical Reviews in Plant Sciences* 13(3): 199-218.
- Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Darrah, H. H. (1998) *The cultivated basil*. Buckeye Printing Inc., Missouri.
- Delavari Parizi, M., Baghizadeh, A., Enteshari, Sh. and Manouchehri Kalantari, K. (2012) The study of the interactive effects of salicylic acid and salinity stress on induction of oxidative stress and mechanisms of tolerance in *Ocimum basilicum* L.. *Journal of Plant Biology* 4(12): 25-36.
- Diani, L. and Raeisi, F. (2006) Phosphatase and urease activity in a soil contaminated with cadmium. In: *Proceedings of the International Conference on Soil, Environment and Sustainable Development*, Tehran, Iran (in Persian).
- Dusek, L. (1995) The effect of cadmium on the activity of nitrifying populations in two different grassland soils. *Plant and Soil* 177: 45-53.
- El-Tayeb, M. A. (2005) Response of barley grain to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Plant Growth Regulation*. 42: 215-224.
- Emami, A. (1996) *Methods of plant analysis*. Soil and Water Research Institute. 1(982): 128 (in Persian).
- Ghai, N., Setia, R. C. and Setia, N. (2002) Effect of paclobutrazol and salicylic acid on chlorophyll content, hill activity and yield components in *Brassica napus* L. (cv. GSL 1). *Phytomorphology* 52: 83-87.
- Giannopolitis, C. N. and Ries, S. K. (1977) Superoxide dismutase 1. occurrence in higher plants. *Plant Physiology* 59: 309-314.
- Gil, C., Boluda, R. and Ramos, J. (2004) Determination and evaluation of cadmium, lead and nickel in greenhouse soils of Almería (Spain). *Chemosphere* 55: 1027-1034.
- Gunes, A., Inal, A., Alpaslan, M., Cicek, N., Guneri, E., Eraslan, F. and Guzelorda, T. (2005) Effects of exogenously applied salicylic acid on the induction of multiple stress tolerance and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.). *Archive of Agronomy and Soil Science* 51: 687-695.
- Gunes, A., Inal, A., Alpaslan, M., Eraslan, F., Guneri, E. and Cicek, N. (2007) Salicylic acid induced changes on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.) grown under salinity. *Journal of Plant Physiology* 164: 728-736.
- Haghighi, M., Kafi, M., Taghavi, T. S., Kashi, A. K., Savabeghi, Gh. R. (2010) Effect of humic acid on N, P and stress indicators of lettuce polluted by cadmium. *Journal of Soil and Water Science*, 1/20(1): 88-98 (in Persian).
- Hamid, N., Bukhari, N. and Jawaid. F. (2010) Physiological responses of *Phaseolus vulgaris* to different lead concentrations. *Pakistan Journal of Botany* 42(1): 239-246.
- Hamilton, R., Kalu, C., Prisk., E., Padley, F. and Pierce, H. (1997) Chemistry of free radical in lipids. *Food Chemistry* 60(2): 193-199.
- Hashemian, S., Landi, A., Khademi, H. and Hojjati, S. (2014) Removal of lead and cadmium from

- aqueous solutions using natural zeolite of Iran. *Journal of Ecology* 40(1): 189-198 (in Persian).
- Hassan Dar, G. and Mishra, M. (1994) Influence of cadmium on carbon and nitrogen mineralization in sewage sludge amended soils. *Environmental Pollution* 84: 285-290.
- Hayat, S., Masood, A., Yusef, M., Fariduddin, Q. and Ahmad, A. (2009) Growth of indiamusard (*Brassica juncea* L.) in response to salicylic acid under high- temperature stress. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 21(3): 187-195.
- Heidari, T., Asrar, Z. and Nasibi, F. (2014) Effect of different nickel amounts on some physiological parameters and secondary metabolite synthesis in *Hyoscyamus niger* L.. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 30(2): 402-413 (in Persian).
- Horvath, E., Pa'1, M. Szalai., G. Paldiand, E. and Janda, T. (2007) Exogenous 4-hydroxybenzoic acid and salicylic acid modulate the effect of short-term drought and freezing stress on wheat plants. *Biologia Plantarum* 51: 480-487.
- Iqbal, M., Ashraf, M., Jamil, A. and Shafiq, U. R. M. (2006) Does seed priming induce changes in the levels of some endogenous plant hormones in hexaploid wheat plant under salt stress?. *Journal of Integrative Plant Biology* 48(2): 181-189.
- Jiang, X. J., Luo, Y. M., Liu, Q., Liu, S. L. and Zhao, Q. G. (2004) Effects of cadmium on nutrient uptake and translocation by Indian mustard. *Environmental Geochemistry and Health* 26: 319-324.
- Jimoh, W. and Imam Mohammed, M. (2012) Assessment of cadmium and lead in soil and tomatoes grown in irrigated farmland of the Kaduna Metropolis Nigeria. *Research Journal of Environmental and Earth Sciences* 4(1): 55-59.
- Kao, W. Y., Tsai, T. T., Tsai, H. C. and Shih, C. N. (2006) Response of three glycine species to salt stress. *Environmental and Experimental Botany* 56: 120-125.
- Kazemi, N., Khavarinezhad, R., Fahimi, H., Saadatmand, S. and Nezhadsattari, T. (2010) Effects of exogenous salicylic acid on lipid peroxidation and enzyme activity in leaves of canola under nickel stress. *Journal of Biological Sciences, Islamic Azad University of Zanjan* 3(3): 71-80 (in Persian).
- Khudsar, T., Zafar, M. and Iqbal, M. (2001) Cadmium-induced changes in leaf epidermis, photosynthetic rate and pigment concentrations in *Cajanus cajan*. *Biologia Plantarum* 44(1): 59-64.
- Kjeldal, S. E. (1998) An investigation of several psychological factors impinging on the perception of fresh fruits and vegetables. PhD thesis, University of New England, Australia.
- 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.
- Mac Adam, J. W., Nelson, C. J. and Sharp, R. E. (1992) Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tallfescue. *Plant Physiology* 99: 872-878.
- Metwally, A., Finkemeier, I., Georgi, M. and Dietz, K. J. (2003) Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in barley seedling. *Plant Physiology* 132: 272-281.
- Molassiotis, A. N., Sotiropoulos, T., Tanou, G., Kofidis, G., Diamantidis, G. and Therios, I. (2006) Antioxidant and anatomical responses in shoot culture of the apple rootstock MM 106 treated with NaCl, KCl, mannitol or sorbitol. *Biologia Plantarum* 50(1): 61-68.
- Momeni, N., Arvin, M. J., Khagoei Negad, G. R., Keramat, B. and Daneshmand, F. (2013) Effects of sodium chloride and salicylic acid on some photosynthetic parameters and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.) plants. *Journal of Plant Biology* 5(15): 15-30.
- Nakano, Y. and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in

- spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology* 22: 867-880.
- Pallavi, Sh. and Rama, Sh. D. (2005) Lead toxicity in plant. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 17: 1-6.
- Palma, J. M., Sandalio, L. M., Corpas, F. J., Romero-Puertas, M. C., McCarthy, I. and Rio, L. A. (2002) Plant proteases, protein degradation and oxidative stress: role of peroxisomes. *Plant Physiology and Biochemistry* 40: 521-530.
- Pereira, G. J., Molina, G. and Zevedo, R. A. (2002) Activity of antioxidant enzymes in responses to Pb in *Crotalaria juncea*. *Plant and Soil* 239: 123-132.
- Popova, L. P., Maslenskova, L. T., Yordanova, R. Y., Ivanova, A. P., Krantev, A. P., Szalai, G. and Janda, T. (2009) Exogenous treatment with salicylic acid attenuates cadmium toxicity in pea seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry* 47: 224-231.
- Rahnama, H. and Ebrahimzadeh, H. (2004) The effect of NaCl on proline accumulation in potato seedlings and calli. *Acta Physiologia Plantarum* 26(3): 263-270.
- Ramroudi, M. and Khamar, A. R. (2013) Interaction effect of salicylic acid spraying and different irrigation levels on some quantity and quality traits, and osmoregulators in basil (*Ocimum basilicum*). *Journal of Applied Research of Plant Ecophysiology* 1(1): 19-26 (in Persian).
- Ranjbar, M., Lari Yazdi, H. and Boroumand Jazi, Sh. (2011) The effect of Salicylic acid on photosynthetic pigments, contents of sugar and antioxidant enzymes under lead stress in *Brassica napus* L.. *Journal of Plant Biology* 3(9): 39-52.
- Raymond, M., Poulin, E., Boirox, V., Dupont, E. and Pasteur, N. (1993) Stability of insecticide resistance due to amplification of esterase genes in *Cluex pipiens*. *Heredity* 70: 301-307.
- Rezayatmand, Z., Khavari-Nejad, R. A. and Asghari G. R. (2013) The effect of salicylic acid on some of physiological and biochemical parameters of *Artemisia aucheri* Boiss. under salt stress. *Journal of Plant Biology* 5(16): 57-70.
- Sadat Pirooz, P. and Manouchehri Kalantari, K. (2012) Effect of the heavy metal of chromium on growth, bioaccumulation and oxidative stress induction on shoots of sunflower (*Helianthus annuus*). *Journal of Plant Biology* 4(13): 97-114.
- Safarzadeh Shirazi, S., Ronaghai, A. M., Karimian, N., Yasrebi, J. and Emam, Y. (2012) Influence of cadmium toxicity on nitrogen and phosphorous uptake and some vegetative growth parameters in shoot of seven rice cultivars. *Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture* 3(9): 107-117 (in Persian).
- Senaratna, T., Touchell, D., Bunn, E. and Dixon, K. (2000) Acetyl salicylic acid (Aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. *Journal of Plant Growth Regulation* 30: 157-161.
- Sharma, P. and Dubey, R. S. (2005) Lead toxicity in plants. *Brazilian Journal Plant Physiology* 17(1): 35-52.
- Sheng, P. X., Ting, Y. P., Chen, J. P. and Hong, L. (2004) Sorption of lead, copper, cadmium, zinc and nickel by marine algal biomass: characterization of bio sorption capacity and investigation mechanism. *Journal of Colloid and Interface Science* 275: 131-141.
- Simon, J. E., Quinn, J. and Murray, R. G. (1990) Basil: a source of essential oils. In: *Advances in new crops* (Eds. Janick, J. and Simon, J. E.) 484-489. Timber Press, Portland.
- Stevens, J., Senaratna, T. and Sivasithamparam, K. (2006) Salicylic acid induces salinity tolerance in tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Roma): associated changes in gas exchange, water relations

- and membrane stabilization. *Journal of Plant Growth Regulation* 49: 77-83.
- Sundaramoorthy, P., Alagappan, C., Kaliyaperumal, S. G., Pachikkaran, U. and Logalashmanan, B. (2010) Chromium stress in paddy: (i) Nutrient status of paddy under chromium stress; (ii) Phytoremediation of chromium by aquatic and terrestrial weeds. *Comptes Rendus Biologies* 333: 597-607.
- Tavakoli, M., Chehregani Rad, A. K., Lariyazdi, H. and Pakdel, A. (2011) Study on the effects of different concentrations of Pb and salicylic acid on some growth factors in eggplant (*Solanum melongena* L.). *Journal of Plant Biology* 3(7): 29-40.
- Walker, W. M., Miller, J. E. and Hassett, J. J. (1997) Effect of Pb and Cd upon the Ca, Mg, K and P concentration in corn Plants. *Soil Science* 124: 145-151.
- Wu, Y., Hu, Y. and Xu, G. (2008) Interactive effects of potassium and sodium on root growth and expression of K/Na transporter genes in rice. *Journal of Plant Growth Regulation* 57(3): 271-280.

Effect of salicylic acid on Concentration of nutrients, protein and antioxidant enzymes of basil under lead stress

Ali Padash, Ahmad Ghanbari and Mohammad Reza Asgharipour *

Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran

Abstract

Today, phenolic compounds and plant growth regulator has been proposed, to reduce the negative effects of stress. Salicylic acid is a substance that causes plant resistance to biotic and abiotic stresses. This experiment was conducted in Zabol University during 2013 as factorial randomized complete block design with 3 replications. Factors included 4 levels of lead nitrate; 0 (control), 100, 200 and 300 mg per kg of soil and foliar application of salicylic acid at 3 levels of 0, 50 and 100 ppm. Addition of lead significantly reduced concentrations of potassium, magnesium, calcium, phosphorous and nitrogen and increased concentrations of sodium, polyphenol oxidase, ascorbate peroxidase, superoxide dismutase and peroxidase. In addition, salicylic acid spraying had a significant influence on all traits, and salicylic acid spraying at 100 mL/L increased concentrations of potassium, magnesium, calcium, phosphorus, nitrogen and decreased concentrations of polyphenol oxidase, ascorbate peroxidase, superoxide dismutase and peroxidase. In this study the interaction between salicylic acid and lead on potassium, magnesium, calcium, phosphorus, nitrogen, sodium and catalase, guaiacol peroxidase and polyphenol oxidase were significant, and salicylic acid play moderating role and reducing the negative effects of lead toxicity. The results suggested salicylic acid application in basil can increase uptake of macro and micro nutrients required for plant growth and reduce the negative effects of stress lead-induced oxidative damage.

Key words: Salicylic acid, Polyphenol oxidase, Nutrients, Heavy metals, Basil plant

* Corresponding Author: m_asgharipour@uoz.ac.ir