اثر متقابل سرب و اسید سالیسیلیک بر برخی پارامترهای رشد کمی و کیفی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ریحان

علی پاداش[۱]، احمد قنبری[۱] و محمد رضا اصغری پور[۱*]

(تاریخ دریافت:۱۳۹۳/۱۱/۱۲؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۵/۲۲)

چکیده

امروزه، به منظور کاهش اثرهای منفی ناشی از تنش‌های مختلف، کاربرد ترکیبات فنلی و تنظیم‌کننده‌های رشد مانند اسید سالیسیلیک مطرح شده است. در این پژوهش گلخانه‌ای که در سال ۱۳۹۲ به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی اجرا شد، گیاهان ریحان (*Ocimum basilicum*)، رقم کشکنی لولو، که در چهار سطح سرب [صفر (شاهد)، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک] همراه با سه سطح محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک (صفر (شاهد)، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌لیتر در لیتر) در سه تکرار کاشته شده بودند، مقایسه شدند. نتایج نشان داد که افزودن سرب به طور معنی‌داری سطح برگ، تعداد برگ، ارتفاع بوته، فلورسانس و شاخص کلروفیل گیاه را کاهش و پرولین، کربوهیدرات‌های محلول و آنزیم‌های گایاکول و آسکوربات پراکسیداز را افزایش داد. محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک نیز بر تمام صفات تأثیر معنی‌داری (P≤۰/۰۱) داشت. غلظت ۱۰۰ میلی‌لیتر در لیتر اسید سالیسیلیک در سطح چهارم سرب (۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) سبب کاهش به ترتیب ۷۸/۶، ۷۳/۸ و ۲۴/۳ درصدی میزان فعالیت آنزیم‌های گایاکول، آسکوربات پراکسیداز و کربوهیدرات‌های محلول، در مقایسه با شاهد، شد. در این بررسی، اثر متقابل بین اسید سالیسیلیک و سرب بر سطح برگ، ارتفاع بوته، میزان کلروفیل برگ، فلورسانس، پرولین، قندهای محلول و آنزیم‌های گایاکول و آسکوربات پراکسیداز معنی‌دار بود، به‌طور کلی، نتایج آزمایش نشان داد که اسید سالیسیلیک نقش تعدیل‌کننده و کاهنده اثرهای منفی سمیت سرب را بر این ویژگی‌های گیاه ریحان دارا بود.

کلمات کلیدی: گیاهان دارویی، آنزیم‌های آنتی اکسیدان، پرولین، فلزات سنگین

مقدمه

فلزات سنگین به صورت قراردادی به عناصری با خصوصیات فلزی (انعطاف‌پذیر، هادی و پایدار مانند کاتیون‌ها و لیگاندهای اختصاصی) گفته می‌شود که عدد اتمی آنها بیشتر از ۲۰ باشد. در بین فلزات سنگین، سرب دارای اهمیت ویژه‌ای است. زیرا به راحتی توسط سیستم ریشه‌ای گیاه جذب و سمیت آن برای گیاه بین ۲ تا۲۰ برابر سایر فلزات سنگین می‌باشد. سرب یکی از پایدارترین فلزات است که می‌تواند ۵۰ تا ۱۵۰ سال در خاک باقی بماند. این عنصر، با ورود به زنجیره‌ی غذایی، در بدن انسان و حیوانات تجمع یافته و اثر سرطان‌زایی دارد (۲۴).

۱. گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل
*مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: m_asgharipour@yahoo.com

وجود آلاینده‌های سربی در خاک بر میزان تولید محصولات کشاورزی اثر قابل توجهی دارد. بیشترین میزان جذب سرب توسط گیاه از طریق سیستم‌های ریشه‌ای و به میزان کمتری از طریق برگ، به ویژه برگ‌های دارای کرک، می‌باشد. در چنین شرایطی، جذب سرب 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 (۱۷-۳۵). علی‌رغم اهمیت جهانی مسئله آلودگی سرب، هنوز نامشخص است که چه غلظت‌هایی از سرب سبب کاهش رشد گیاه می‌گردد و متأسفانه مکانیسم‌های سمیت سرب در گیاهان به میزان کمی شناخته شده است. سطح مجاز سرب در خاک ۶۰۰ (۲۷) و در بافت‌های گیاه ریحان ۰/۲ میلی گرم در کیلوگرم خاک گزارش شده است (۳۲).

اسید سالیسیلیک، به عنوان یک تنظیم‌کننده گیاهی، نقش محوری در تنظیم مراحل مختلف رشد و تکامل گیاه، جذب یون، فتوسنتز و جوانه‌زنی ایفا می‌کند (۲، ۱۶). مطالعات زیادی نشان می‌دهند که اسید سالیسیلیک می‌تواند مقاومت گیاه را در برابر تنش‌های محیطی از قبیل اشعه فرابنفش، خشکی، گرما، فلزات سنگین و شوری افزایش دهد (۲۰، ۲۱ و ۳۸). رنجبر و همکاران (۷) در پژوهش خود در خصوص تأثیر اسید سالیسیلیک بر رنگیزه‌های فتوسنتزی، میزان قند و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه کلزا تحت تنش سرب، دریافتند که با افزایش غلظت سرب در محیط هوگلند، گیاهان نتوانستند غلظت‌های زیاد سرب (۱/۵ و ۲ میلی مولار) را تحمل کنند. به‌علاوه، تنش سرب، میزان کلروفیل a، b و مجموع کلروفیل a و b و همچنین میزان قندهای محلول و نامحلول در ریشه و بخش‌های هوایی را به طور معنی‌داری کاهش داد. همچنین، کاربرد اسید سالیسیلیک در محیط حاوی سرب، منجر به افزایش صفات مذکور گردید. لاری یزدی و همکاران (۱۱) با بیان نتایج پژوهش‌های خود به این نتیجه رسیدند که با افزایش غلظت سرب، میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل a، b و a+b به طور معنی‌داری کاهش یافت. همچنین، میزان پرولین و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز افزایش یافت. استفاده از اسید سالیسیلیک باعث افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی و کاهش میزان پرولین و فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز نیز گردید.

ریحان (*Ocimum basilicum*) به عنوان یک گیاه دارویی، ادویه‌ای و سبزی تازه استفاده می‌شود. برگ‌های معطر این گیاه به صورت تازه یا خشک شده به عنوان چاشنی و طعم دهندهٔ غذاها، شیرینی‌ها و نوشابه‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. مواد مؤثره پیکر رویشی این گیاه اشتهاآور است و برای درمان نفخ و تقویت دستگاه گوارش استفاده می‌شود (۱ و ۲۸). با توجه به اینکه ریحان در اراضی کشاورزی جنوب تهران و شهرری آلوده به فلزات سنگین نظیر کادمیم، سرب، مس و آرسنیک کشت می‌شود، لذا به‌کارگیری چنین ترکیباتی با هزینه اندک جهت تعدیل اثرات سوء فلزات سنگین ضروری می‌باشد. بنابراین، در این تحقیق، با توجه به خواص آنتی‌اکسیدان و نقش شبه‌هورمونی اسید سالیسیلیک، نقش این ترکیب بر تعدیل اثرهای منفی تنش سرب روی گیاه ریحان مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش برای مطالعه اثر محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک بر ویژگی‌های کمی و کیفی ریحان تحت تنش سرب و در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار و دو عامل، در سال ۱۳۹۲ اجرا گردید. عامل اول، کاربرد سرب به شکل نیترات سرب ($Pb(NO_3)_2$) در چهار سطح [صفر (شاهد)، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک خشک] و محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک در سه سطح [صفر (شاهد)، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌لیتر در لیتر] به عنوان عامل دوم بودند. سطوح تیمار سرب بر اساس مطالعه یاوری و همکاران (۱۲) و سطوح محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک بر اساس مطالعه دلاوری پاریزی و همکاران (۵) انتخاب گردیدند.

نیترات سرب از مرکز تحقیقات کرج و اسید سالیسیلیک

جدول ۱. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده

هدایت الکتریکی	pH	N	P	K	Fe	Zn	Mn	سیلت	رس	شن
(dS/m)	-	(٪)	(mg/kg)					(٪)		
۱/۸	۷/۱	۰/۰۶	۱۲	۱۸۵	۲/۲	۴/۸	۳/۱	۲۷	۳۲	۴۱

(MERK ساخت آلمان) از آزمایشگاه تحقیقات دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل تهیه شد. در این مطالعه، از بذر ریحان اصلاح شده رقم کشکنی لولو (Keshkeni Luvelou) استفاده شد که از مؤسسه پاکان بذر اصفهان خریداری گردیده بود. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک قبل از اجرای آزمایش، در جدول ۱ ارائه شده است.

به منظور تعیین خصوصیات شیمیایی خاک، نمونه‌های خاک پس از هواخشک شدن از الک عبور داده شدند. pH با کمک دستگاه pH متر و هدایت الکتریکی توسط دستگاه EC متر در عصاره گل اشباع اندازه‌گیری شد. کربن آلی به روش والکلی و بلک (۱۳)، نیتروژن کل به روش کلدال (۱۵)، فسفر قابل جذب به روش اولسون (۳۱)، پتاسیم قابل جذب از روش عصاره‌گیری با استات آمونیوم و به کمک دستگاه فلیم فتومتر (مدل Jenway-PFP7) تعیین شد (۳۱). عناصر آهن، روی و منگنز خاک، پس از استخراج، با دستگاه جذب اتمی مدل Shimadzu (AA-670) در طیف خاص هر عنصر، اندازه‌گیری شدند (۳۰).

قبل از کاشت، مقادیر کودهای پایه فسفر، پتاسیم و نیتروژن بر اساس نتایج تجزیه خاک، که در آزمایشگاه مورد آزمایش قرار گرفتند، به خاک اضافه شدند. در این آزمایش، مقادیر مختلف نیترات سرب براساس مقدار خاک یکسان برای هر گلدان (حدود دو کیلوگرم) و بر اساس تیمارهای مورد آزمایش محاسبه و قبل از کاشت با خاک مخلوط شده و بعد از سه هفته نگهداری خاک در نایلون‌های مخصوص به منظور آغشته شدن خاک با فلز سنگین با حفظ میزان رطوبت مناسب جهت جذب فلز سرب با خاک، گلدان‌ها با این خاک پر و سپس عملیات کاشت در ۷ فروردین انجام شد. بذرها در عمق یک سانتی‌متری سطح خاک قرار داده شدند. درون هر گلدان، بعد از جوانه‌زنی، شش عدد بوته با فاصله دو سانتی‌متر بین بوته‌ها نگهداری شد. تیمار اسید سالیسیلیک بعد از سبز شدن و استقرار گیاه، یعنی در مرحله ۸ تا ۱۰ برگی (حدود ۵۰ روز بعد از جوانه‌زنی) روی برگ‌های گیاه اعمال شد. گیاهان کاشته شده در گلدان‌ها یک روز در میان آبیاری شدند. گیاهان حدود ۶۵ روز پس از کاشت و در مرحله رویشی بودند که برداشت شدند.

ویژگی‌های ارزیابی شده در این مطالعه شامل سطح برگ، تعداد برگ، ارتفاع بوته، شاخص کلروفیل برگ، فلورسانس کلروفیل، غلظت پرولین، میزان کربوهیدرات‌های محلول و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گایاکول پراکسیداز (GPX) و آسکوربات پراکسیداز (APX) در بخش‌های هوایی بودند. سطح برگ با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری سطح برگ (مدل AT-DELTA-TDEVICESLTD) تعیین شد. شاخص کلروفیل (قرائت SPAD) با استفاده از دستگاه کلروفیل‌سنج (SPAD 502) ساخت کارخانه Minolta (ژاپن) و فلورسانس کلروفیل با استفاده از دستگاه فلورومتر مدل (Hansatech-V.D.C12) تعیین شد. میزان پرولین با استفاده از روش بیتس و همکاران (۱۴) توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر و بر اساس میکرومول بر گرم وزن تر اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری کربوهیدرات‌های محلول با استفاده از روش کرپسی و همکاران (۲۲) و بر حسب میکروگرم در گرم وزن تر از جدول استاندارد و در طول موج ۴۸۳ نانومتر انجام شد. فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز با استفاده از روش آپادایا و همکاران (۴۱) و فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با استفاده از روش ناکانو و آسادا (۳۳) به ترتیب در طول موج‌های ۴۷۰ و ۲۹۰ نانومتر و بر اساس میکرومول بر میلی‌گرم پروتئین تعیین شد.

در پایان، تجزیه و تحلیل داده‌های به‌دست آمده با استفاده

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس اثر نیترات سرب و اسید سالیسیلیک بر برخی ویژگی‌های گیاه ریحان

		میانگین مربعات		
منابع تغییر	درجه آزادی	سطح برگ در بوته	تعداد برگ	ارتفاع بوته
بلوک (R)	۲	۵۴/۵۲۷**	۱/۰۲۷**	۳/۳۸۰**
نیترات سرب (Pb)	۳	۹۰۴/۰۲۷**	۱۱/۸۵۱**	۷۰/۸۳۱**
اسید سالیسیلیک (Sa)	۲	۴۷۴/۱۹۴**	۱/۴۴۴**	۴۳/۹۶۷**
Sa × Pb	۶	۵/۴۱۶**	۰/۰۷۴ ^{ns}	۰/۲۶۴*
خطا (E)	۲۲	۰/۸۹۱	۰/۱۷۹	۰/۰۹۵
CV (٪)	–	۲/۴۳	۳/۶۶	۲/۱۲

**، * و ns به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال ۱٪ و ۵٪ و بدون اختلاف معنی‌دار

جدول ۳. مقایسه میانگین اثر نیترات سرب و اسید سالیسیلیک بر سطح برگ، تعداد برگ و ارتفاع بوته ریحان

فاکتور	سطح	سطح برگ در بوته (cm)	تعداد برگ	ارتفاع بوته (cm)
سرب (mg/kg)	صفر (شاهد)	۵۱/۳۳۳a	۱۲/۸۸۸a	۱۷/۹۶۶ a
	۱۰۰	۴۱/۲۲۲b	۱۲/۰۰۰b	۱۵/۵۳۳ b
	۲۰۰	۳۵/۰۰۰c	۱۱/۱۱۱c	۱۳/۰۲۲ c
	۳۰۰	۲۷/۶۶۶d	۱۰/۲۲۲d	۱۱/۶۱۱ d
اسید سالیسیلیک(mg/L)	صفر (شاهد)	۳۲/۱۶۶c	۱۱/۱۶۶b	۱۲/۳۷۵c
	۵۰	۳۹/۵۸۳b	۱۱/۶۶۶a	۱۵/۲۰۰ b
	۱۰۰	۴۴/۶۶۶a	۱۱/۸۳۳a	۱۶/۰۲۵ a

تفاوت حروف در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ می‌باشد.

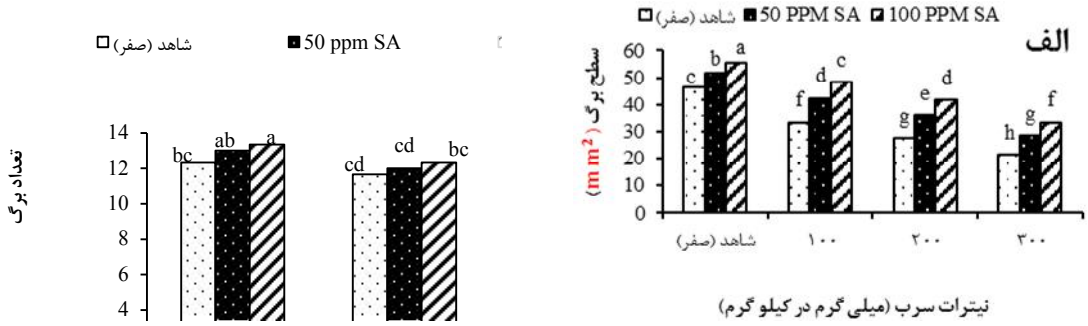
از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح ۵٪ انجام شد.

نتایج و بحث

سطح و تعداد برگ در بوته

اثر تنش سرب و اسید سالیسیلیک بر سطح و تعداد برگ در بوته در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود، به‌طوری که افزایش تنش سرب منجر به کاهش صفات مذکور گردید (جدول ۲). تنش سرب در سطوح ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک، به ترتیب باعث کاهش ۱۹/۷ و ۳۱/۸ درصدی سطح برگ و ۶/۹ و ۱۳/۷ درصدی تعداد برگ و با به‌کارگیری اسید سالیسیلیک (غلظت ۵۰ میلی‌لیتر در لیتر) به ترتیب باعث افزایش ۱۸/۹ و ۴/۳ درصدی صفات فوق نسبت به تیمار شاهد (بدون محلول‌پاشی) شد (جدول ۳).

اثر متقابل سرب و اسید سالیسیلیک در غلظت‌های مختلف تنش سرب (۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) بر سطح برگ ($P\leq ۰/۰۱$) معنی‌دار بود، به‌طوری که در سطح دوم سرب (۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) با افزایش اسید سالیسیلیک (۵۰ میلی‌لیتر در لیتر) سطح برگ افزایش ۲۷ درصدی را نسبت به شاهد (عدم تنش) نشان داد (شکل ۱- الف). تیمار سرب موجب کندی و تأخیر رشد و کاهش سطح برگ‌ها شده، که این پدیده موجب کاهش سطح تعرق می‌گردد. بنابراین، جریان ترکیباتی که باید به سمت ساقه‌ها و اندام‌های هوایی انتقال یابند با کاهش مواجه می‌شود و این نیز موجب کندی رشد در بخش‌های هوایی گیاه می‌شود (۳۵).



شکل ۱. اثر متقابل نیترات سرب و اسید سالیسیلیک بر سطح برگ (الف) و تعداد برگ (ب) گیاه ریحان

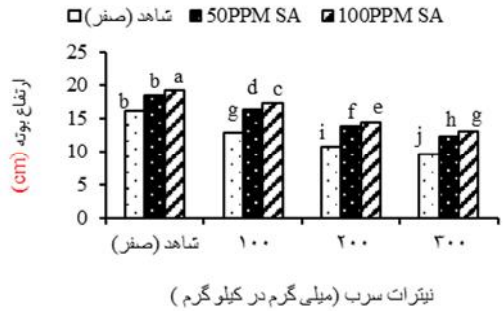
همچنین، در اثر متقابل تنش و محلول‌پاشی، با افزایش اسید سالیسیلیک (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌لیتر در لیتر) تعداد برگ در تیمار شاهد (عدم تنش) نسبت به تیمارهای تحت تنش سرب (۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) افزایش یافت. اما این افزایش به لحاظ آماری معنی‌دار ($P\leq$۰/۰۵) نبود. با این حال، بیشترین تعداد برگ در تیمار شاهد (بدون تنش) مشاهده شد که نسبت به سطح چهارم سرب (۳۰۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک) در حدود ۲۰/۶ درصد بیشتر بود (شکل ۱- ب). تعداد برگ در بوته از اهمیت خاصی برخوردار است. زیرا باعث افزایش جذب نور و در نتیجه افزایش فتوسنتز و رشد گیاه می‌گردد (۳۶). سادات پیروز و منوچهری کلانتری (۸) در بررسی تأثیر کروم بر رشد بخش‌های هوایی آفتابگردان گزارش کردند که فلز کروم سطح و تعداد برگ در گیاه آفتابگردان را به شدت کاهش داد. اما اسید سالیسیلیک که به عنوان یک سیگنال مولکولی مهم در واکنش‌های گیاهی در پاسخ به تنش‌های محیطی شناخته شده است، باعث افزایش سطح برگ و تعداد برگ شد، که با نتایج خداری (۲۳) در گیاه ذرت مطابقت دارد.

ارتفاع بوته

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تیمار سرب در سطح احتمال ۱٪ تأثیر معنی‌داری بر ارتفاع بوته داشت. بیشترین کاهش ارتفاع بوته مربوط به سطح چهارم سرب (۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) و کمترین کاهش مربوط به عدم تنش (شاهد) بوده است (جدول ۲). در غلظت‌های مختلف تنش سرب، اسید سالیسیلیک با غلظت ۱۰۰ میلی‌لیتر در لیتر مؤثرتر بوده و سبب افزایش ۲۹/۴ درصدی طول ساقه نسبت به تیمارهای سرب گردید (جدول ۳). در مورد نقش اسید سالیسیلیک بر ویژگی‌های رشدی گزارش‌های متعددی وجود دارد. از جمله گزارش شده که اسید سالیسیلیک کاهش رشد ناشی از فلزات سنگین را بهبود می‌بخشد (۳۴). همچنین، تیمار با ۰/۵ میلی‌مول اسید سالیسیلیک، تقسیم سلولی را درون مریستم رأسی گیاهچه‌های گندم افزایش داده و رشد گیاه را بهبود می‌بخشد (۳۹). اثر متقابل سرب و اسید سالیسیلیک در غلظت‌های مختلف تنش سرب (۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) بر ارتفاع بوته ($P\leq$۰/۰۱) معنی‌دار بود، به‌طوری که در سطح سوم نیترات سرب (۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) و غلظت ۱۰۰ میلی‌لیتر در لیتر اسید سالیسیلیک، سبب افزایش ۳۴/۲ درصدی طول ساقه نسبت به شاهد شد (شکل ۲). نظیر چنین پدیده‌هایی در ساقه‌ها، به‌خصوص در ناحیه مریستمی، می‌توان مشاهده کرد که علاوه بر کاهش قدرت تقسیم، خاصیت ارتجاعی سلول‌ها و غشای آنها نیز کاهش می‌یابد (۲۹).

شاخص کلروفیل و فلورسانس کلروفیل

تنش سرب اثر معنی‌داری ($P\leq$۰/۰۱) بر شاخص کلروفیل داشت (جدول ۴). افزایش تنش سرب در سطح سوم نیترات سرب (۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک)، باعث کاهش ۱۹/۳ درصدی شاخص کلروفیل شد. در حالی که با به‌کارگیری اسید سالیسیلیک (غلظت ۱۰۰ میلی‌لیتر در لیتر)، اثر سرب تعدیل



شکل ۲. اثر متقابل نیترات سرب و اسید سالیسیلیک بر ارتفاع بوته گیاه ریحان

جدول ۴. نتایج تجزیه واریانس اثر سرب و اسید سالیسیلیک بر برخی ویژگی‌های کیفی گیاه ریحان

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		پرولین	شاخص کلروفیل	فلورسانس کل	کربوهیدرات	آنزیم آسکوربات	آنزیم گایاکول
بلوک (R)	۲	۰/۰۱۲ ns	۳/۰۵۱ **	۰/۰۰۰۵ ns	۰/۱۲۰ ns	۰/۰۰۰۰۲۹ **	۰/۰۰۰۰۰۰۹۶ **
نیترات سرب (pb)	۳	۱۲۲/۷۳۱ **	۲۳/۴۴۱ **	۰/۱۹۰۳ **	۱۷/۸۱۸ **	۰/۰۰۵۴۱۴ **	۰/۰۰۰۰۱۱۱۴ **
اسید سالیسیلیک (Sa)	۲	۱/۱۱۶ **	۹/۰۹۶ **	۰/۰۵۳۶ **	۳/۷۶۶ **	۰/۰۱۲۲۵۸ **	۰/۰۰۰۰۳۰۲۰ **
Sa × pb	۶	۰/۰۵۸ **	۰/۳۴۹ **	۰/۰۰۱۲ **	۰/۲۸۲ **	۰/۰۰۰۸۵ ۳ **	۰/۰۰۰۰۳۵۶ **
خطا (E)	۲۲	۰/۰۰۳۸	۰/۰۷۳	۰/۰۰۲۳	۰/۰۴۵	۰/ ۰۰۰۰۳۳	۰/۰۰۰۰۰۰۱۶
CV (٪)	–	۰/۵۳	۲/۱۲	۲/۵۸	۴/۹۵	۱۴/۸۷	۱۲/۵۹

**، * و ns به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال ۱٪ و ۵٪ و بدون اختلاف معنی‌دار

یافت و باعث افزایش ۱۴/۶ درصدی شاخص کلروفیل نسبت به تیمارهای تحت تنش سرب شد (جدول ۵).

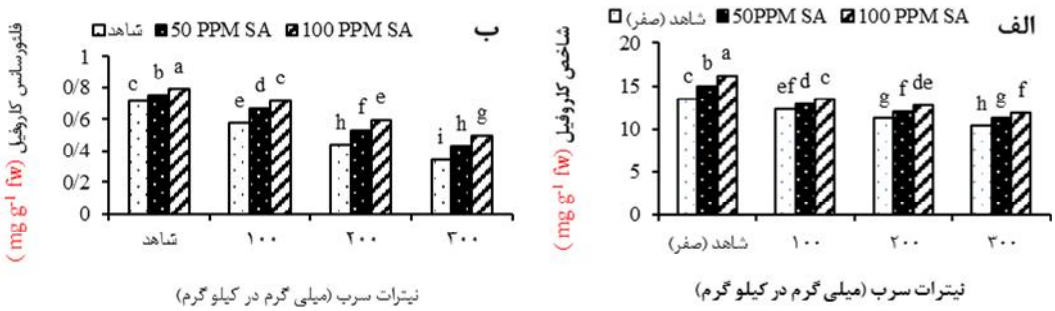
در همین راستا، نتایج آزمایش ژو و همکاران (۴۲) روی سویا نشان داد که افزایش در میزان فتوسنتز سویا، در اثر کاربرد ترکیبات فنلی، از جمله اسید سالیسیلیک، بوده و افزایش فعالیت آنزیم‌های فتوسنتزی را عامل بالا رفتن فتوسنتز به حساب آوردند. اثر متقابل سرب و اسید سالیسیلیک در تمامی سطوح تنش سرب بر شاخص کلروفیل معنی‌دار (P≤۰/۰۱) بود. به‌طور مثال، در سطح دوم نیترات سرب (۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) با افزایش اسید سالیسیلیک (۱۰۰ میلی‌لیتر در لیتر)، شاخص کلروفیل افزایش ۸/۸ درصدی را نسبت به تیمار شاهد (بدون محلول‌پاشی) نشان داد (شکل ۳- الف). نتایج تحقیق حاضر نشان‌دهنده کاهش شاخص کلروفیل در اثر سمیت سرب می‌باشد. به نظر می‌رسد از دلایل کاهش میزان کلروفیل می‌توان به جانشین شدن فلزات سنگین به جای منیزیم مرکزی کلروفیل اشاره کرد، که سبب کاهش دریافت نور به وسیله کلروفیل و زردی برگ‌ها و در نهایت کاهش فتوسنتز می‌شود (۲۵).

فلورسانس کلروفیل نیز تحت تأثیر تنش سرب کاهش معنی‌داری (P≤۰/۰۱) یافت. نتایج نشان داد که سطح چهارم تنش سرب (۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) نسبت به شاهد (عدم محلول‌پاشی) باعث کاهش ۴۳/۷ درصدی فلورسانس کلروفیل شد (جدول ۴). اعمال محلول‌پاشی اسیدسالیسیلیک منجر به افزایش معنی‌دار فلورسانس کلروفیل گردید، به‌طوری که سطح سوم محلول‌پاشی (۱۰۰ میلی‌لیتر در لیتر) نسبت به تیمار شاهد، افزایش ۲۵/۸ درصدی را نشان داد (جدول ۵). از آنجایی که میزان کلروفیل، فتوسنتز و تولید ماده خشک با همدیگر مرتبط هستند، بیشتر بودن میزان کلروفیل با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک، می‌تواند به افزایش فرایند فتوسنتز و تولید ماده

جدول ۵. مقایسه میانگین اثر سرب و اسید سالیسیلیک بر کلروفیل برگ، فلورسانس، کربوهیدرات، پرولین، گایاکول و آسکوربات پراکسیداز گیاه ریحان

فاکتور	سطح	پرولین (mg/g fw)	شاخص کلروفیل (mg/g fw)	فلورسانس کلروفیل (mg/g fw)	کربوهیدرات (µg/g fw)	آسکوربات پراکسیداز (µM/mg protein)	گایاکول پراکسیداز (µM/mg protein)
سرب (mg/kg)	صفر (شاهد)	۷/۸۱۰d	۱۴/۹۳۴a	۰/۷۵۵a	۲/۷۰۵d	۰/۰۱۶۴d	۰/۰۰۱۴d
	۱۰۰	۹/۷۶۴c	۱۲/۹۳۸b	۰/۶۵۵b	۳/۶۹۱c	۰/۰۳۶۳c	۰/۰۰۲۳c
	۲۰۰	۱۲/۹۶۱b	۱۲/۰۴۲c	۰/۵۲۲c	۴/۸۹۰b	۰/۰۵۱۱b	۰/۰۰۳۰b
	۳۰۰	۱۶/۲۴۸a	۱۱/۱۶۶d	۰/۴۲۵d	۵/۹۳۶a	۰/۰۷۶۴a	۰/۰۰۴۰a
اسید سالیسیلیک (mg/L)	صفر (شاهد)	۱۱/۹۹۵a	۱۱/۸۷۵c	۰/۵۱۹c	۴/۹۲۰a	۰/۰۸۰۷a	۰/۰۰۴۴a
	۵۰	b۱۱/۶۲۸	۱۲/۸۲۰b	۰/۵۹۶b	۴/۱۷۴b	۰/۰۳۳۰b	b۰/۰۰۲۳
	۱۰۰	۱۱/۳۸۹c	۱۳/۶۱۵a	۰/۶۵۳a	۳/۸۲۳c	۰/۰۲۰۱c	۰/۰۰۱۳c

تفاوت حروف در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ می‌باشد.

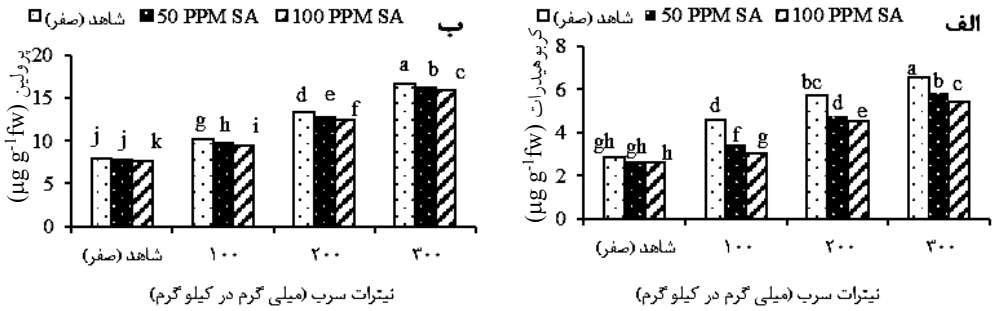


شکل ۳. اثر متقابل نیترات سرب و اسید سالیسیلیک بر کلروفیل برگ (الف) و فلورسانس (ب) گیاه ریحان

خشک منجر شود (۶). اثر متقابل سرب و اسید سالیسیلیک در سطوح مختلف تنش سرب بر فلورسانس کلروفیل معنی‌دار ($P\leq$۰/۰۱) بود، به‌طوری که در سطح چهارم نیترات سرب (۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) با افزایش اسید سالیسیلیک (۵۰ میلی‌لیتر در لیتر)، سبب افزایش ۲۵/۲ درصدی فلورسانس کلروفیل نسبت به تیمار شاهد (بدون تنش) شد (شکل ۳- ب). صارمی راد و همکاران (۹) در بیان نتایج پژوهش‌های خود گزارش کردند که با افزایش سطح کادمیم، میزان فلورسانس کلروفیل در گیاه گندم تحت تنش فلزات سنگین، دارای روند کاهشی بود که با نتایج پژوهش اخیر در مورد صفت مذکور همخوانی داشت.

کربوهیدرات‌های محلول

تأثیر تنش سرب بر میزان کربوهیدرات‌های محلول در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار شد. نتایج (جدول ۴) نشان داد که با افزایش غلظت سرب، میزان کربوهیدرات‌های محلول در بخش هوایی گیاه افزایش یافت. بیشترین میزان کربوهیدرات‌های محلول به غلظت چهارم سرب (۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) و کمترین آن به تیمار شاهد (بدون تنش) تعلق داشت و استفاده از اسید سالیسیلیک (غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌لیتر در



شکل ۴. اثر متقابل نیترات سرب و اسید سالیسیلیک بر کربوهیدرات (الف) و پرولین (ب) گیاه ریحان

لیتر) به ترتیب باعث کاهش ۱۷/۲ و ۲۴/۳ درصدی میزان کربوهیدرات‌های محلول نسبت به تیمار شاهد شد (جدول ۵). برهمکنش سرب و اسید سالیسیلیک اثر معنی‌داری ($P\leq$۰/۰۱) بر کربوهیدرات‌های محلول داشت. به‌طور نمونه، در سطح سوم نیترات سرب (۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک)، با افزایش اسید سالیسیلیک (۵۰ میلی‌لیتر در لیتر)، میزان کربوهیدرات‌های محلول نسبت به شاهد (بدون محلول‌پاشی) ۱۶/۷ درصد کاهش یافت (شکل ۴- الف).

بسیاری از فلزات سنگین، با تغییر در فعالیت پروتئین‌های کانالی انتقال آب و با بستن روزنه‌های برگ، جریان آب را در گیاه متوقف می‌سازند. با کاهش انتقال آب به برگ‌ها و به دنبال تجمع فلزات سنگین در سلول‌ها، میزان قندهای محلول در گیاه افزایش می‌یابد. این ویژگی یک روش سازگاری گیاه برای حفظ شرایط اسمزی است. علاوه بر این، افزایش قندهای محلول به گیاه کمک می‌کند تا بتواند ذخیره کربوهیدراتی خود را برای حفظ سوخت و ساز پایه در شرایط تنش در حد مطلوب نگه دارد. افزایش کربوهیدرات‌های محلول در زمان تنش را می‌توان به توقف رشد، تخریب قندهای محلول و همچنین تولید این ترکیبات از مسیر غیرفتوسنتزی که باعث افزایش قندهای محلول می‌شود، نسبت داد (۳).

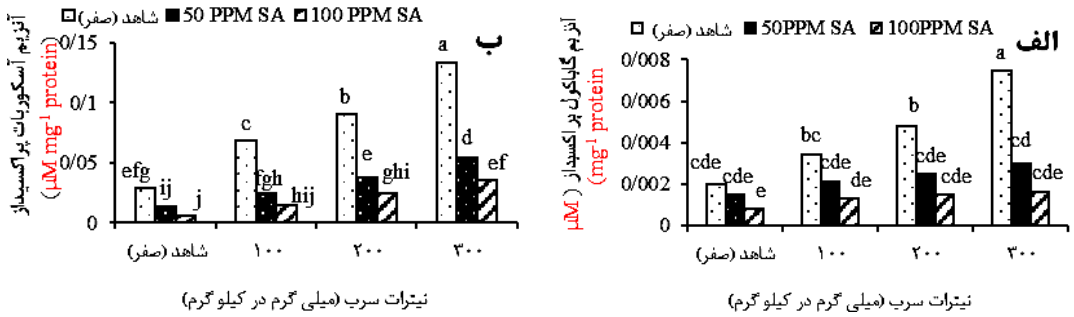
پرولین

بررسی نتایج جدول ۴ نشان داد که با افزایش غلظت سرب، به‌تدریج مقدار پرولین در بخش هوایی گیاه افزایش معنی‌داری یافت و به‌کارگیری اسید سالیسیلیک (غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌لیتر در لیتر) باعث کاهش میزان پرولین نسبت به تیمار شاهد (بدون تنش) شد (جدول ۵). افزایش تولید پرولین یکی از راهکارهای گیاهان در واکنش به تنش فلزات سنگین می‌باشد که با کاهش پراکسیداسیون لیپیدها خطر گونه‌های فعال اکسیژن را کاهش داده و موجب کاهش آسیب‌دیدگی غشاها می‌گردد (۳۷ و ۴۰). در اثر متقابل تنش سرب و محلول‌پاشی، با افزایش اسید سالیسیلیک (۱۰۰ میلی‌لیتر در لیتر)، میزان پرولین کاهش معنی‌داری ($P\leq$۰/۰۱) پیدا کرد، به طوری که در سطح دوم سرب (۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) صفت مذکور کاهش ۶/۸ درصدی نسبت به تیمار شاهد (عدم تنش) را نشان داد (شکل ۴- ب). افزایش پرولین در گیاهان به هنگام تنش یک نوع مکانیسم دفاعی است. پرولین با چندین سازو کار مانند حذف رادیکال‌های هیدروکسیل، تنظیم اسمزی، جلوگیری از تخریب آنزیم‌ها، حفظ و ساخت پروتئین، بردباری و مقاومت گیاه را در برابر تنش‌ها افزایش می دهد. (۲۶).

گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۴) نشان داد که تأثیر تیمار سرب در سطح احتمال ۱٪ بر میزان آنزیم‌های گایاکول و آسکوربات پراکسیداز معنی‌دار بود. در حالی که محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌لیتر در لیتر) به ترتیب باعث کاهش ۴۷/۷ و ۷۰/۴ درصدی میزان آنزیم‌های گایاکول و آسکوربات پراکسیداز نسبت به تیمارهای بدون محلول‌پاشی (شاهد) گردید (جدول ۵).

اثر متقابل اسید سالیسیلیک و سرب در غلظت‌های مختلف



شکل ۵. اثر متقابل نیترات سرب و اسید سالیسیلیک بر گایاکول پراکسیداز (الف) و آسکوربات پراکسیداز (ب) گیاه ریحان

تنش سرب (۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) بر میزان آنزیم‌های گایاکول و آسکوربات پراکسیداز معنی‌دار ($P\leq$۰/۰۱) بود، به‌طوری که در سطح چهارم سرب (۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) با افزایش اسید سالیسیلیک (۱۰۰ میلی‌لیتر در لیتر) مقادیر فعالیت آنزیم گایاکول و آسکوربات پراکسیداز به ترتیب برابر ۰/۰۰۱۶ و ۰/۰۳۵۱ میکرومول بر میلی‌گرم پروتئین به دست آمد، که به‌ترتیب نشان‌دهنده کاهش ۷۸/۶ و ۷۳/۸ درصدی میزان آنزیم‌های گایاکول و آسکوربات پراکسیداز با افزایش سطح اسید سالیسیلیک می‌باشد (شکل‌های ۵- الف و ب).

تجمع ترکیب‌های فنلی در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیر زیستی در گیاهان در مطالعات متعددی گزارش شده است (۴، ۶ و ۱۹). این ترکیب‌ها به عنوان آنتی‌اکسیدان شناخته شده‌اند که با سازوکارهای متعددی مثل حذف رادیکال آزاد، دادن هیدروژن و حذف اکسیژن تک اتمی، کلات کردن یون‌های فلزی و یا قرار گرفتن به عنوان سوبسترای آنزیم‌های پراکسیداز نقش آنتی‌اکسیدانی خود را ایفا می‌کنند. همچنین، پلی‌فنل‌ها در سمیت‌زدایی پراکسید هیدروژن بسیار اهمیت دارند (۱۸).

حیدری و همکاران (۴) گزارش کردند که با افزایش غلظت نیکل، فعالیت آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در گیاه بنگ‌دانه افزایش یافت، که نتایج پژوهش‌های آنها با پژوهش اخیر در مورد افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تحت تنش فلز سرب مطابقت دارد. از طرفی، کاظمی و همکاران (۱۰) در بررسی تأثیر اسید سالیسیلیک بر گیاه کلزا تحت تنش نیکل، به این نتیجه رسیدند که اسید سالیسیلیک با مهار نیکل در ریشه‌ها و جلوگیری از انتقال آن به بخش‌های هوایی از بروز علائم سمیت نیکل در بخش‌های هوایی گیاه می‌کاهد.

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی، از نتایج به دست آمده چنین استنباط می‌شود که تأثیر تنش ناشی از افزایش غلظت سرب بر فرایندهای فیزیولوژیک و مورفولوژیک گیاه متفاوت می‌باشد. گیاه به منظور سازگاری و تحمل بیشتر در برابر غلظت‌های سمی این فلز سنگین (۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) مبادرت به تجمع آن در ریشه و محدود کردن انتقال آن به بخش‌های هوایی می‌کند. همچنین، گیاه با افزایش میزان قندهای محلول در بخش‌های هوایی برای حفظ شرایط اسمزی سازش نشان می‌دهد. کاهش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی و افزایش آنزیم‌های گایاکول و آسکوربات پراکسیداز برگ‌ها، نشان از آثار سمیت سرب و تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌باشد که آسیب‌های اکسایشی و کاهش رشد را به دنبال دارد. همچنین اسید سالیسیلیک به عنوان یک تنظیم‌کننده رشد گیاهی از طریق افزایش پرولین، شاخص کلروفیل و سازماندهی سازوکارهای دفاعی آنتی‌اکسیدان، اثرهای زیانبار ناشی از سمیت سرب را تخفیف می‌دهد. در مجموع، می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که در بین غلظت‌های اسید سالیسیلیک به کار رفته، غلظت ۱۰۰ میلی‌لیتر در لیتر بیشترین تأثیر مثبت را در کاهش آثار ناشی از تنش سرب بر گیاه ریحان دارد.

منابع مورد استفاده

۱. امید بیگی، ر. ۱۳۸۶. رهیافت‌های تولید و فراوری گیاهان دارویی. جلد دوم، انتشارات طراح نشر، تهران.

۲. برومند جزی، ش.، م. رنجبر و ح. لاری یزدی. ۱۳۹۰. اثر اسید سالیسیلیک بر واکنش کلزا به سرب در شرایط کشت هیدروپونیک. یافته‌های نوین کشاورزی ۶(۴): ۲۸۲-۲۹۴.

۳. حاجبی، ا. ح. و ح. حیدری شریف آباد. ۱۳۸۳. بررسی اثر تنش خشکی بر رشد و گره‌زایی سه گونه شبدر. پژوهش و سازندگی ۶۶: ۱۳-۲۲.

۴. حیدری، ط.، ز. اسرار و ف. نصیبی. ۱۳۹۰. اثر مقادیر مختلف نیکل بر برخی پارامترهای فیزیولوژیکی و سنتز ترکیب‌های ثانویه در گیاه بنگ‌دانه (*Hyoscyamus niger* L.). تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۳۰(۳): ۴۰۲-۴۱۳.

۵. دلاوری پاریزی، م.، ا. باقی زاده، ش. انتشاری و خ. منوچهری کلانتری. ۱۳۹۱. مطالعه تأثیر سالیسیلیک اسید بر مقاومت و القای تنش اکسیداتیو تحت تنش شوری در گیاه ریحان سبز (*Ocimum basilicum* L.). زیست‌شناسی گیاهی ۴(۱۲): ۲۵-۳۶.

۶. رمرودی، م. و ع. خمر. ۱۳۹۲. اثرات متقابل محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک و تیمارهای مختلف آبیاری بر برخی ویژگی‌های کمی، کیفی و تنظیم‌کننده‌های اسمزی ریحان. تحقیقات کاربردی اکوفیزیولوژی گیاهان ۱(۱): ۱۹-۲۶.

۷. رنجبر، م.، ح. لاری یزدی و ش. برومند جزی. ۱۳۹۰. تأثیر سالیسیلیک اسید بر رنگیزه‌های فتوسنتزی، محتوای قند و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه کلزا تحت تنش سرب. مجله زیست‌شناسی گیاهی ۳(۹): ۳۹-۵۲.

۸. سادات پیروز، پ. و خ. منوچهری کلانتری. ۱۳۹۰. تأثیر فلز سنگین کروم بر میزان تجمع، عوامل رشد و القای تنش اکسیداتیو در اندام هوایی گیاه آفتابگردان (*Heliantus annus*). مجله زیست‌شناسی گیاهی ۴(۱۳): ۹۷-۱۱۴.

۹. صارمی راد، ب.، ع. ا. اسفندیاری، م. شکرپور، ا. سفالیان، ا. آوانس و س. ب. موسوی. ۱۳۹۰. اثر کادمیوم روی برخی ویژگی‌های ریخت‌شناسی و فیزیولوژیک گندم در مرحله گیاهچه‌ای. مجله پژوهش‌های گیاهی ۲۷(۱): ۴۷-۵۸.

۱۰. کاظمی، ن.، ر. خاوری نژاد، ح. فهیمی، س. سعادتمند و ط. نژاد ستاری. ۱۳۸۹. تأثیر سالیسیلیک اسید برون‌زا بر پراکسیداسیون لیپید و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در برگ‌های گیاهان کلزا تحت تنش نیکل. فصلنامه علوم زیستی ۳(۳): ۷۱-۸۰.

۱۱. لاری یزدی، ح.، م. رنجبر و ش. برومند جزی. ۱۳۹۰. بررسی اثر متقابل سرب و اسید سالیسیلیک بر رنگیزه‌های فتوسنتزی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز پراکسیداز و محتوای پرولین در بخش‌های هوایی و زیرزمینی گیاه ۱۰ روزه کلزا رقم اکاپی. پژوهش‌های علوم گیاهی ۶(۲): ۳۱-۳۹.

۱۲. یاوری، ش.، ع. میرحسینی، س. قاسمی عمران و ح. مرادی. ۱۳۹۲. بررسی اثر غلظت‌های مختلف سرب بر پارامترهای فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.). اولین همایش ملی تنش‌های گیاهی غیر زیستی، اصفهان.

13. Allison, L.E. 1965. Organic carbon. *In:* Black, C.A., D.D. Evans, J.L. White, L.E. Ensminger and F.E. Clark (Eds.), Methods of Soil Analysis, Part 2, Chemical and Microbiological Properties, ASA, Madison, WI.
14. Bates, L.S., R.D. Walderen and I.D. Taere. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil 39: 205-207.
15. Bremner, J.M. and M. Mulvaney. 1982. Nitrogen total. PP. 595-624. *In:* Page, A.L., R.H. Miller and R.R. Keeney (Eds.), Methods of Soil Analysis, Part 2, ASA, Madison, WI.
16. El-Tayeb, M.A. 2005. Response of barley grain to the interactive effect of salinity and salicylic acid. Plant Growth Regul. 42: 215-224.
17. Fageria, N.K. and V.C. Baligar. 2005. Enhancing nitrogen use efficiency in crop plants. J. Adv. Agron. 88: 97-185.
18. Hamilton, R., C. Kalu, E. Prisk, F. Padley and H. Pierce. 1997. Chemistry of free radical in lipids. Food Chem. 60(2): 193-199.

19. Hayat, S., A. Masood, M. Yusef, Q. Fariduddin and A. Ahmad. 2009. Growth of Indiamusard (*Brassica juncea* L.) in response to salicylic acid under high temperature stress. Braz. J. Plant Physiol. 21(3):187-195.
20. Horva´th, E., M. Pa´l, G. Szalai, E. Paldiand and T. Janda. 2007. Exogenous 4-hydroxybenzoic acid and salicylic acid modulate the effect of short-term drought and freezing stress on wheat plants. Biol. Plant. 51: 480-487.
21. Iqbal, M., M. Ashraf, A. Jamil and U.R.M. Shafiq. 2006. Does seed priming induce changes in the levels of some endogenous plant hormones in hexaploid wheat plant under salt stress? J. Integrative Plant Biol. 48(2): 181-189.
22. Kerepsi, I., M. Toth and L. Boross. 1996. Water-soluble carbohydrates in dried plant. J. Agric. Food Chem. 10: 3235-3239.
23. Khodary, S.E.A. 2004. Effect of salicylic acid on the growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism in salt stressed maize plant. J. Int. Biol. 6: 5-8.
24. Knasmuller, W., W. Blum, F. Jakwer, K. Roth and I. Vla deva. 1998. Effects of soil properties and cultivar on heavy metals accumulation in wheat grain. Z. Pflanzenernahr Bod. 159: 609-614.
25. Kupper, H., F. Kupper and M. Spiller. 1996. Environmental relevance of heavy metal substituted chlorophylls using the example of water plants. J. Exp. Bot. 47: 259-266.
26. Kuznetsov, W. and N.L. Shevyankova. 1997. Stress responses of tobacco cells to high temperature and salinity. Proline accumulation and phosphorylation of polypeptides. Plant Physiol. 100: 320-326.
27. Madhavan, S., K.D. Rosenman and T. Shehata. 1989. Lead in soil: Recommended maximum permissible levels. Environ. Res. 49(1): 136-142.
28. Marrotti, M., R. Piccaglia and E. Giovanelli. 1996. Differences in essential oil composition of basil (*Ocimum basilicum* L.) Italian cultivars related to morphological characteristics. J. Agric. Food Chem. 44: 3926-3929.
29. Mohanty, N., I. Vass and S. Demeter. 1989. Copper toxicity affects photosystem Π electron transport at QB. Plant Physiol. 90: 175-179.
30. Moral, R., J. Navarro-Pedreno, I. Gomez and J. Mataix. 1994. Distribution and accumulation of heavy metals in tomato plant. Environ. Bull. 3: 395-399.
31. Moreno, G., J.J. Obrador and A. Garcia. 2007. Impact of evergreen oaks on soil fertility and crop production in intercropping. Agric. Ecosys. Environ. 119: 270-280
32. Mousavi, Z., P. Ziarati, M. Esmaeli Dehaghi and M. Qomi. 2014. Heavy metals (lead and cadmium) in some medicinal herbal products in Iranian market. Iran. J. Toxicol. 8(24): 1004-1010.
33. Nakano, Y. and K. Asada. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant Cell Physiol. 22: 867-880.
34. Pal, M., Z. Szalai, E. Horvath, E. Paldi and T. Janda. 2002. Effect of salicylic acid during heavy metals stress. Acta Biol. Szegediensis 46(34): 119-120.
35. Pallavi, S. and S.D. Rama. 2005. Lead toxicity in plant. Braz. J. Plant Physiol. 17: 1-6.
36. Reddy, R.K., H.F. Hodges and J.M. Mckinion. 1997. Modeling temperature effect on cotton internode and leaf growth. Crop Sci. 37: 503-507.
37. Schaller, H. 2003. The role of sterols in plant growth and development. Prog. Lipid Res. 42: 63-175.
38. Senaratna, T., D. Touchell, E. Bunn and K. Dixon. 2000. Acetyl salicylic acid (Aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. Plant Growth Regul. 30: 157-161.
39. Shakirova, A., A.R. Sakhabutdinova, M.V. Bezrukova and D.R. Fatkhutdhnnova. 2003. Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. Plant Sci. 164: 317-322.
40. Siripornadulsil, S., S. Traina, D.S. Verma and R.T. Sayre. 2002. Molecular mechanism of proline mediated tolerance to toxic heavy metals in transgenic microalgae. Plant Cell 14: 2837-2847.
41. Updhyaya, A., D. Sankhla, T.D. Davis, N. Sankhla and B.N. Smith. 1985. Effect of paclobutrazol on the activities of some enzymes of activated oxygen metabolism and lipid peroxidation in senescing soybean leaves. Plant Physiol. 121: 453-461.
42. Zhou, Z.S., K. Guo, A.A. Elbaz and Z.M. Yang. 2008. Salicylic acid alleviates mercury toxicity by preventing oxidative stress in roots of *Medicago sativa*. Environ. Exp. Bot. 8: 152-161.