نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، سال سیزدهم، شماره ۵۱، پاییز ۱۳۹۷ / صفحات: ۱۶-۱

بررسی خصوصیات فیزیولوژیکی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی ریحان (*Ocimum basilicum* cv. Keshkeni luvelou) تحت سطوح مختلف متیل‌جاسمونات و سمیت سرب

سمیه اسدی[۱]، محمد مقدم[۱*]، عبداله قاسمی پیربلوطی[۲]، امیر فتوت[۳]

[۱] گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

[۲] مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرقدس، تهران، ایران

[۳] گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ دریافت: ۹۷/۳/۵ تاریخ پذیرش:۹۷/۸/۱۹

چکیده

آزمایشی به منظور بررسی تاثیر متیل‌جاسمونات بر خصوصیات فیزیولوژیکی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه ریحان تحت سمیت سرب بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل سه سطح نیترات سرب (صفر (شاهد)، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) و محلول‌پاشی متیل‌جاسمونات در سه غلظت (صفر، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار) بودند. صفات فیزیولوژی نظیر میزان کلروفیل a و b، کلروفیل کل، کارتنوئیدها، نشت الکترولیت، رطوبت نسبی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، کربوهیدرات‌های محلول، فنل کل و پرولین در نظر گرفته شد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد در گیاهان تیمار شده با سرب، میزان پرولین، محتوای نسبی آب، کلروفیل a، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنل کل در مقایسه با گیاهان شاهد کاهش معنی‌داری یافت و کاربرد متیل‌جاسمونات (۰/۵ میلی‌مولار) در شرایط تنش سرب، باعث افزایش این صفات گردید. علاوه بر این در شرایط تنش سرب، میزان نشت الکترولیت به میزان قابل توجهی افزایش یافت و محلول‌پاشی متیل‌جاسمونات سبب کاهش آن شد. همچنین استفاده از غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار آن در شرایط تنش عنصر سنگین سرب با تحریک ساخت آنتی اکسیدانت‌ها، منجر به کاهش و تعدیل اثرات این تنش گشت. بنابراین، استفاده از متیل‌جاسمونات برای حفظ عملکرد اقتصادی گیاهان تحت تنش قابل توجیه است.

واژه‌های کلیدی: پرولین، تنظیم کننده رشد، رنگیزه‌های فتوسنتزی، محتوای نسبی آب، نشت الکترولیت

مقدمه

وجود فلزات سنگین در محیط زیست گیاهان نوعی عامل تنش‌زا می‌باشد که باعث ایجاد تغییرات فیزیولوژیک شده و می‌تواند موجب کاهش توان رشد گیاه و در حالت شدیدتر باعث از بین رفتن گیاه گردد (Baker et al., 2000). سرب یکی از فلزات سنگین و از مهم‌ترین آلاینده‌های محیط زیست به‌شمار می‌آید (Islam et al., 2007). همچنین یکی از فلزات سمی برای انسان و جزء فلزات غیر ضروری برای گیاهان است که عملکرد بیولوژیک شناخته شده‌ای ندارد؛ ولی به علت انحلال‌پذیری این عنصر در آب، به‌راحتی توسط سیستم ریشه جذب گیاه می‌گردد (Kim et al., 2002) و از این طریق رشد و متابولیسم گیاهان با افزایش این در محیط تحت تاثیر قرار می‌گیرد

*نویسنده مسئول: m.moghadam@um.ac.ir

(Sharma and Dubey, 2004). گیاهانی که در معرض سرب قرار می‌گیرند، به منظور حفظ فعالیت متابولیسمی، فعالیت ترکیبات آنتی‌اکسیدانتی از جمله آنزیم‌ها و متابولیت‌های ثانویه در خود را افزایش می‌دهند. سیستم آنتی‌اکسیدانتی در گیاهان به‌عنوان یک عامل کلیدی در مکانیسم‌های دفاعی در تنش اکسیداتیو مطرح است (Neill et al., 2007) و به سلول کمک می‌کند تا بتواند شرایط تنش را تحمل کند (Verma and Dubey, 2003). سرب رشد برگ، محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی و فعالیت‌های آنزیمی برای جذب CO_2 را با مهار کردن بیوسنتز کلروفیل کاهش می‌دهد. جایگزینی منیزیم مرکزی کلروفیل با سرب مانع از گرفتن نور و منجر به نقص فتوسنتز می‌شود (Patra et al., 2004). در این راستا کاهش چشمگیر محتوای کلروفیل و کاروتنوئیدها در گیاه لوبیا تحت تیمار سرب گزارش شده است (Aldoobie and Beltagi, 2013).

جاسمونات‌ها به‌عنوان یک خانواده جدید از هورمون‌های گیاهی نقش مهمی در تنظیم فرایند رشد و نمو گیاهان دارند (Abdala et al., 2003). همچنین جاسمونات‌ها در واکنش به تنش‌های محیطی نقش تنظیم‌کننده‌ای را ایفا می‌کنند. در همین رابطه جاسمونیک اسید به‌عنوان یک تنظیم‌کننده کلیدی شناخته شده است، به این علت که در واکنش گیاهان نسبت به تنش، این ترکیب‌ها به عنوان کد کننده‌ی ژن‌های پروتئین‌های بازدارنده نظیر پروتئین‌های تئونین، اسموتین، هیدروکسی پرولین و پرولین و همچنین آنزیم‌های دخیل در بیوسنتز فلاونوئیدها در نظر گرفته می‌شوند (Creelman and Mullet, 1997). نتایج آزمایشی روی برنج حاکی از این بود که فعالیت آنتی‌اکسیدانی تحت تأثیر تنش سرب و متیل-جاسمونات کاهش یافت (Kang, and Saltveit, 2002). محققان گزارش کردند که با افزایش تجمع سرب در ریشه و اندام هوایی، میزان رشد گیاهچه‌های یونجه کاهش یافت و این گیاه برای تحمل تنش سرب از سازوکارهای محافظتی آنتی‌اکسیدان از قبیل افزایش میزان محتوای فلاونوئیدی و فنولی استفاده کرد (Ghelich et al., 2015).

ریحان (*Ocimum basilicum* L.) متعلق به خانواده نعناعیان (Lamiaceae) گیاهی یکساله، علفی، ایستاده، تقریباً بدون کرک، معطر و به ارتفاع ۳۰-۶۰ سانتی‌متر است (Arabaci and Bayram, 2004; Prakash, 1990). ریحان جزء گیاهان دارویی و همچنین از سبزیجات مفید و عامه پسند می‌باشد که در تمام دنیا کشت می‌گردد. از این گیاه در طب و صنعت استفاده فراوان می‌شود. با توجه به اهمیت گیاه دارویی ریحان در درمان بیماری‌های ریه، سینه، اشتهاآور، ضد انگل، تب‌بر، افزایش دهنده خلط، ضدنفخ، موثر در درمان گوش درد، درمان بیماری‌های پوستی، محرک تمایلات جنسی، درمان آسم، ضدتشنج، ضدسردرد، سرگیجه، دل‌پیچه، ضدسرفه، سیاه زخم و آنژین موثر بوده و کاهش‌دهنده قند خون، ضد سرماخوردگی، یبوست و اسهال خونی است و در درمان سرطان، سوزاک و ضعف اعصاب مفید می‌باشد (Omidbaigi, 2004).

با توجه به اثرات متیل جاسمونات در کاهش اثرات مضر تنش بر روی گیاهان و اهمیت گیاهان ریحان به‌عنوان یکی از گیاهان پرمصرف، هدف از انجام این تحقیق بررسی تأثیر متیل‌جاسمونات بر خصوصیات فیزیولوژیکی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه ریحان رقم کشکنی‌لولو تحت سمیت سطوح مختلف سرب می‌باشد.

مواد و روش‌ها

کشت و تیمار گیاهان: به‌منظور بررسی خصوصیات فیزیولوژیکی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی

ریحان تحت سطوح مختلف متیل‌جاسمونات و سمیت سرب، پژوهشی در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد به صورت گلدانی و بر اساس آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل سه سطح نیترات سرب ($Pb(NO_3)_2$) صفر (شاهد)، ۲۰۰، ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک و سه سطح متیل‌جاسمونات شامل: صفر (شاهد)، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار به‌عنوان تخفیف‌دهنده تنش و در سه تکرار بود. بذور ریحان سبز رقم کشکنی‌لولو (*Ocimum basilicum* cv. Keshkeni luvelou) در سینی‌های نشاء کشت شده و سپس در مرحله چهار برگی به گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانه ۳۰ و ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر انتقال یافتند. بافت خاک مورد استفاده لوم رسی (۲۹٪ شن، ۳۱٪ لای و ۴۰٪ رس) با اسیدیته ۷/۹ و هدایت الکتریکی ۱/۳ µS/cm بود. بستر کشت گیاه در تیمارهای دارای عنصر سنگین سرب از قبل به آن آلوده شده بودند. نحوه آلوده‌سازی خاک این گونه بود که نیترات سرب در غلظت‌های مشخص در یک لیترآب برای حجم خاک یک گلدان (۱۲ کیلوگرم) در آب مقطر حل شده و بر روی خاک که روی پلاستیک به ضخامت ۱ یا ۲ سانتی‌متر پهن شده بود، اسپری شد. برای این‌که شرایط آلودگی خاک به عناصر سنگین تا حدی شبیه شرایط طبیعی موجود در زمین‌های آلوده گردد، نمونه‌های تیمار شده تا حد ظرفیت زراعی، مرطوب شده و به مدت ۱۵روز در این حد رطوبتی ثابت نگه‌داشته شدند. پس از این مدت نمونه‌ها در هوا خشک و پس از نرم کردن به مقدار ۱۲ کیلوگرم در هر گلدان ریخته شد. پس از آماده‌سازی نمونه‌های خاک، نسبت به انتقال نشاء اقدام گردید. در طی مراحل داشت مقدار رطوبت گلدان‌ها در حد ظرفیت زراعی ثابت نگه‌داشته شد. نیتروژن افزوده شده به خاک توسط نمک نیترات سرب، با افزودن مقادیر محاسبه شده با استفاده از اوره به تیمارهای مختلف تصحیح شد. پس از رسیدن گیاهان به رشد کافی و انتقال نشاء به گلدان‌های حاوی خاک آلوده به سرب، محلول‌پاشی تیمارهای متیل‌جاسمونات هم در دو مرحله قبل از گلدهی (اواسط خرداد ماه) و گلدهی (اوایل تیرماه) اعمال شد. سپس یک هفته پس از اعمال محلول‌پاشی دوم صفات مورد نظر اندازه‌گیری شدند.

سنجش نشت الکترولیت: جهت تعیین پایداری غشاء سلول‌های برگی از شاخص نشت الکترولیت (Electrolyte Leakage) به روش Lutts و همکاران (۱۹۹۵) استفاده شد. در این روش ابتدا قطعات برگی به اندازه ۲ سانتی‌متر تهیه شد. این قطعات پس از شستشو، همراه با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر، در داخل شیشه‌های ۵۰ میلی‌لیتری، به‌مدت ۲۴ ساعت در تاریکی قرار گرفتند. در این مرحله میزان نشت اولیه (EC_1) به‌وسیله دستگاه هدایت سنج (EC متر) اندازه‌گیری شد. سپس شیشه‌ها جهت کشته شدن سلول‌های برگی به اتوکلاو با دمای ۱۲۰ درجه به‌مدت ۲۰ دقیقه منتقل شدند. پس از سرد شدن محتویات داخل بطری‌ها، میزان نشت ثانویه (EC_2) اندازه‌گیری شد. درنهایت نشت الکترولیت از طریق رابطه زیر محاسبه گردید.

$$EL = (EC1/EC2)\times 100$$

سنجش محتوای نسبی آب برگ (RWC): پس از تهیه نمونه‌های برگی از گیاه، ابتدا وزن تر آن‌ها (FW) اندازه‌گیری گردید. سپس، وزن آماس (TW) نمونه‌ها، که به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق در آب مقطر غوطه‌ور شده بودند؛ محاسبه گردید. درنهایت نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد در آون قرار داده شدند و وزن خشک (DW) آن‌ها گرفته شد (Sánchez et al., 1998). برای تعیین میزان محتوای آب نسبی برگ از فرمول زیر استفاده گردید:

$$\% RWC= [(FW-DW)/(TW-DW)]\times 100$$

سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی: برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی ابتدا عصاره‌های متانولی برگ با استفاده از متانول خالص در دمای اتاق تهیه شد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی با ایجاد کمی تغییرات از طریق غیرفعال کردن رادیکال‌های آزاد شده توسط ماده DPPH (2,2-Diphenyl-1-picryl-hydrazul) صورت پذیرفت. ابتدا ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول متانولی نمونه مورد نظر در یک لوله آزمایش ریخته شد. سپس به آن ۱ میلی‌لیتر محلول متانولی DPPH اضافه شد. جذب محلول‌های حاصل و شاهد (حاوی کلیهٔ مواد غیر از نمونه) در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر قرائت شد (Moon and Terao, 1998). درصد بازداری از DPPH با مقایسه نمونه‌های عصاره و نمونه شاهد و استفاده از رابطه زیر به دست آمد.

$$I(\%)= 100\times(A0 - As)/A0$$

که A0 جذب کنترل (حاوی همه اجزاء واکنشگر بدون نمونه) و As جذب نمونه بود. سپس نتایج به‌صورت IC_{50} (مقداری از آنتی‌اکسیدان که لازم است تا غلظت DPPH به ۵۰ درصد مقدار اولیه برسد) بیان گردید.

سنجش فنل کل: فنل کل در عصاره برگ با معرف فولین سیکالتو اندازه‌گیری شد. مقدار جذب محلول با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر خوانده شد. از اسید گالیک به‌عنوان استاندارد استفاده شد و مقدار ترکیبات فنلی کل بر اساس معادل میلی‌گرم اسیدگالیک در ۱۰۰ گرم وزن خشک بیان شد. برای ساخت استاندارد، ۱۰۰ میلی‌گرم اسید گالیک را با ۱۰۰ میلی‌گرم آب مقطر مخلوط گردید و از این مقادیر ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میکرولیتر جدا شد و با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میکرولیتر رسانده شد. سپس از هر کدام ۲۵ میکرولیتر برداشته شد و مراحل فوق تکرار گردید (Singleton and Rossi, 1965).

سنجش کربوهیدرات‌های محلول: برای اندازه‌گیری کربوهیدرات‌های محلول ۰/۲ میلی‌لیتر از عصاره تغلیظ شده با ۳ میلی‌لیتر معرف آنترون مخلوط و به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. میزان جذب نور هر یک از نمونه‌ها پس از سرد شدن با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۳۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای محاسبه مقدار کربوهیدرات‌های محلول نمونه‌های مورد نظر از منحنی استاندارد گلوکز به عنوان شاهد در نظر گرفته شد و در نهایت داده‌ها بر اساس میلی‌گرم بر گرم وزن خشک گیاه بیان شدند (Sadasivam and Manickam, 1992).

اندازه‌گیری غلظت پرولین: ابتدا ۵۰۰ میلی‌گرم بافت زنده گیاهی در ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۳ درصد اسید سولفوسالیسیلیک در هاون ساییده، سپس مخلوط را با کاغذ صافی تصفیه و ۲ میلی‌لیتر از عصاره حاصله را در لوله آزمایش ریخته و ۲ میلی‌لیتر معرف اسید نین‌هیدرین (حاصل از افزودن ۱/۲۵ گرم نین‌هیدرین به ۳۰ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال) و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال به آن اضافه گردید. در مرحله بعد لوله‌ها به مدت یک ساعت در بن‌ماری و در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از خروج، نمونه‌ها در حمام یخ به‌مدت ۳۰ دقیقه نگهداری شدند. سپس ۴ میلی‌لیتر تولوئن به محتوای هر لوله اضافه و به مدت ۳۰ ثانیه به‌وسیله ورتکس مخلوط شد. لوله‌ها مدتی در دمای ثابت اتاق قرار گرفتند. در این مرحله دو لایه مجزا ایجاد و سرانجام جذب نوری لایه رنگی فوقانی در طول موج ۵۲۰ نانومتر با استفاده از تولوئن به‌عنوان شاهد به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت و مقدار پرولین با استفاده از منحنی استاندارد پرولین بر اساس میکروگرم بر گرم وزن تر تعیین گردید (Bates et al., 1973).

سنجش غلظت کلروفیل‌های a، b، کل و کارتنوئیدها: برای اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی ۰/۲ گرم (۲۰۰ میلی‌گرم) برگ تازه از برگ‌های جوان کاملاً توسعه یافته (از گره پنجم) را جدا کرده و آن را در هاون چینی با ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۹۹٪برای استخراج رنگدانه‌ها ساییده، سپس به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه انجام گرفت (Lutts et al., 1996). سپس عصاره استخراج شده را برداشته و با استفاده از اسپکتروفتومتر میزان جذب نور در طول موج‌های ۶۵۳، ۴۷۰ و ۶۶۶ نانومتر قرائت گردید. در نهایت مقدار کلروفیل با استفاده از روابط زیر به‌دست آمد.

$$Chla=15.65\ A666 - 7.34\ A653$$
$$Chlb=27.05\ A653 - 11/21\ A666$$
$$Cx+c= 1000\ A470 - 2.860\ CHLa - 129.2\ CHLb$$
$$Chlt = CHLa + CHLb + Cx+c$$

میزان کلروفیل a :Chla، میزان کلروفیل b :Chlb، کلروفیل کل :Chl_t، کاروتنوئید کل :Cx+c

داده‌های به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار JMP8 مورد تجزیه آماری قرار گرفتند و نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel 2010 رسم گردید. مقایسه میانگین‌ها نیز بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر متقابل تنش سرب و محلول‌پاشی متیل‌جاسمونات بر خصوصیات فیزیولوژیکی مانند میزان پرولین، نشت الکترولیت، محتوای نسبی آب برگ، کلروفیل a در سطح احتمال یک درصد و کاروتنوئیدها، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان فنل کل در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). همچنین اثر ساده محلول‌پاشی با متیل‌جاسمونات بر میزان کربوهیدرات‌های محلول معنی‌دار ($p\leq$۰/۰۵) شد (جدول ۱).

نتایج جدول ۲ نشان داد که در شرایط تنش سرب محلول‌پاشی متیل‌جاسمونات اثر مثبتی بر میزان پرولین برگ ریحان داشت. بیشترین میزان پرولین در سطح ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نیترات سرب با محلول‌پاشی ۰/۵ میلی‌مولار متیل‌جاسمونات به میزان ۲۹/۸۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر و کمترین آن در شرایط ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نیترات سرب بدون کاربرد متیل‌جاسمونات به مقدار ۷/۴۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر مشاهده گردید که از نظر آماری با شاهد (عدم تنش سرب و کاربرد متیل‌جاسمونات) در یک گروه آماری قرار گرفت (جدول ۲). به‌طور کلی نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که در شرایط اعمال تنش سرب محلول‌پاشی با متیل‌جاسمونات تأثیر مثبتی بر میزان پرولین داشت و سبب افزایش میزان این صفت گردید.

بیشترین میزان نشت الکترولیت در شاهد (عدم تنش سرب و کاربرد متیل‌جاسمونات) به میزان ۱۶/۱۸ درصد و کمترین آن در تیمار محلول‌پاشی ۰/۵ میلی‌مولار متیل‌جاسمونات بدون تنش سرب به میزان ۸/۰۸ درصد حاصل شد (جدول ۲). بر طبق نتایج به‌دست آمده از این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که در شرایط عدم تنش سرب، محلول‌پاشی با متیل‌جاسمونات تأثیر مثبتی بر کاهش میزان نشت الکترولیت داشت. در حالی که افزایش غلظت متیل‌جاسمونات در شرایط تنش سرب تأثیر منفی بر میزان نشت الکترولیت داشت و سبب افزایش میزان آن گردید.

بیشترین محتوای نسبی آب برگ در تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نیترات سرب و محلول‌پاشی ۰/۵ میلی‌مولار متیل‌جاسمونات به میزان ۷۹/۱۷ درصد

حاصل شد و کمترین آن مربوط به شرایط عدم تنش سرب و عدم کاربرد متیل جاسمونات به میزان ۴۶/۹۴ درصد بود که از لحاظ آماری با تیمار عدم تنش و محلول‌پاشی ۰/۵ میلی‌مولار متیل‌جاسمونات تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۲). نتایج این مطالعه حاکی از آن است که کاربرد متیل‌جاسمونات در شرایط عدم تنش باعث بهبود میزان رطوبت نسبی برگ گردید، در حالیکه در شرایط اعمال تنش سرب، محلول‌پاشی با ۰/۵ میلی‌مولار متیل‌جاسمونات میزان رطوبت نسبی را افزایش و با ازدیاد غلظت متیل‌جاسمونات از رطوبت نسبی گیاه کاسته شد.

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل a در شرایط عدم تنش سرب و محلول‌پاشی ۰/۵ میلی‌مولار متیل‌جاسمونات (۱۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و کمترین مقدار آن در سطح ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نیترات سرب و کاربرد غلظت ۱ میلی‌مولار متیل‌جاسمونات (۵/۵۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) به‌دست آمد که از نظر آماری تفاوت معنی‌داری با غلظت ۰/۵ میلی‌مولار متیل‌جاسمونات در همین شرایط نداشت. همچنین میزان کلروفیل a در شرایط تنش سرب و شرایط محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف متیل‌جاسمونات اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۲).

همانطور که در جدول ۲ نشان داده شده است، بیشترین میزان کارتنوئیدها در تیمار ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نیترات سرب و بدون کاربرد متیل‌جاسمونات (۲/۸۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و کمترین آن در تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سرب و محلول‌پاشی ۱ میلی‌مولار متیل‌جاسمونات (۱/۸۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مشاهده گردید.

بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۸۳/۹ درصد) در شرایط عدم تنش سرب و عدم کاربرد متیل‌جاسمونات مشاهده شد که از نظر آماری با محلول‌پاشی ۰/۵ میلی‌مولار متیل‌جاسمونات در همین شرایط تفاوت معنی‌داری نشان نداد. همچنین کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۴۹/۵ درصد) در گیاهان تحت تنش سرب در تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نیترات سرب و کاربرد ۱ میلی‌مولار متیل‌جاسمونات به‌دست آمد (جدول ۴). در مجموع می‌توان گفت که افزایش غلظت متیل‌جاسمونات سبب کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در تمامی سطوح تنش شد.

بر طبق نتایج مقایسه میانگین داده‌ها بیشترین میزان فنل کل در تیمار ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نیترات سرب و محلول‌پاشی ۱ میلی‌مولار متیل‌جاسمونات (۹/۸۳ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) حاصل شد که به لحاظ آماری با تیمار ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نیترات سرب و محلول‌پاشی ۰/۵ میلی‌مولار متیل‌جاسمونات، تیمار ۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم نیترات سرب و محلول‌پاشی ۱ میلی‌مولار متیل‌جاسمونات و محلول پاشی ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار متیل‌جاسمونات و بدون محلول پاشی و فاقد نیترات سرب از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۲). طبق نتایج حاصل از این آزمایش می‌توان نتیجه‌گیری نمود که در شرایط تنش سرب (غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نیترات سرب) افزایش غلظت متیل جاسمونات تأثیر مثبتی بر میزان فنل کل داشت، در صورتی که با سطح صفر تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. بیشترین میزان کربوهیدرات‌های محلول در تیمار محلول پاشی با ۰/۵ میلی‌مولار (۶۳/۱۶ میلی‌گرم بر گرم) مشاهده شد که با شاهد از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نداشت. کمترین میزان کربوهیدرات‌های محلول نیز در تیمار ۱ میلی‌مولار متیل‌جاسمونات (۵۵/۳۰ میلی‌گرم بر گرم) مشاهده گردید که نسبت به شاهد ۱۱/۰۲٪ کاهش داشت (شکل ۱).

جدول ۱: تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیکی مورد اندازه‌گیری در ریحان رقم کشکنی‌لولو تحت شرایط تنش سرب و محلول‌پاشی متیل‌جاسمونات

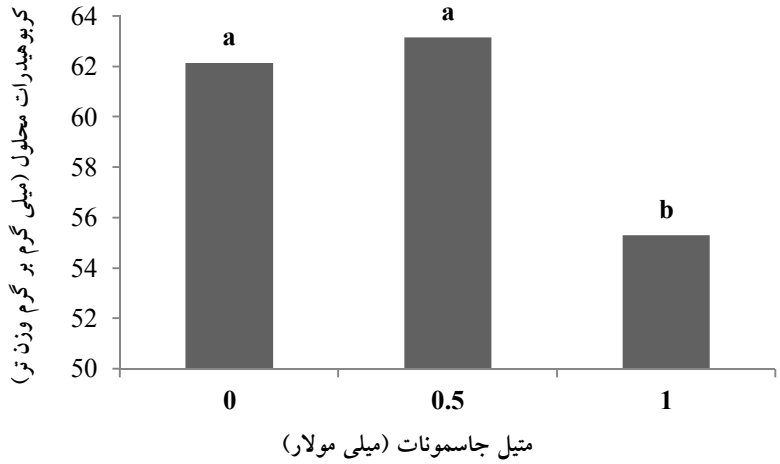
منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات									
		پرولین	نشت الکترولیت	رطوبت نسبی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کارتنوئیدها	فعالیت آنتی‌اکسیدانی	کربوهیدرات های محلول	فنل کل
نیترات سرب	۲	۹۶/۰۱**	۰/۹۰^{ns}	۹۸۵/۷۲**	۱۷/۵۲**	۵/۳۲^{ns}	۴/۸۶^{ns}	۰/۴۸**	۶۲۰/۹۹**	۱۴۶/۷۷^{ns}	۲/۰۲*
متیل‌جاسمونات	۲	۲۳۳/۰۸**	۶/۱۱^{ns}	۱۲۳/۰۳**	۴/۱۸**	۰/۶۲^{ns}	۵/۷۹^{ns}	۰/۳۸**	۷۳۲/۸۴**	۱۶۴/۶۸*	۲/۵۳*
متیل‌جاسمونات × نیترات سرب	۴	۱۰۳/۱۱**	۳۳/۸۶**	۹۶/۱۳**	۵/۹۰**	۰/۵۶^{ns}	۳/۸۹^{ns}	۰/۱۳*	۱۷۴/۹۰**	۶۴/۲۵^{ns}	۱/۶۹*
خطا	۱۸	۲/۰۳	۴/۴۵	۱۸/۵۱	۰/۵۲	۲/۸۴	۲/۱۲	۰/۰۴	۲۴/۰۸	۴۳/۹۹	۰/۴۵

ns، ** و * به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح ۱ و ۵ درصد بر اساس آزمون LSD

جدول ۲: مقایسه میانگین صفات بیوشیمیایی و رنگیزه‌های فتوسنتزی ریحان رقم کشکنی‌لولو تحت تأثیر تنش سرب و محلول‌پاشی متیل‌جاسمونات

نیترات سرب (mg/kg)	متیل جاسمونات (mM)	پرولین (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک)	نشت الکترولیت(٪)	رطوبت نسبی(٪)	کلروفیل a (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	کارتنوئیدها (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	فعالیت آنتی‌اکسیدانی(٪)	فنل کل (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)
۰	۰	۸/۹۸^{f}	۱۶/۱۸^{a}	۴۶/۹۴^{d}	۸/۱۸^{bc}	۲/۵۹^{abc}	۸۳/۹۰^{a}	۹/۱۳^{ab}
	۰/۵	۱۳/۴۷^{de}	۸/۰۸^{d}	۴۸/۱۰^{d}	۱۱/۰۰^{a}	۲/۷۱^{ab}	۷۵/۹۶^{a}	۸/۹۰^{ab}
	۱	۱۶/۱۶^{c}	۹/۷۱^{bcd}	۵۹/۹۰^{c}	۸/۳۲^{bc}	۲/۴۵^{bc}	۵۰/۵۶^{c}	۸/۹۴^{ab}
۲۰۰	۰	۷/۴۴^{f}	۹/۲۶^{bcd}	۶۵/۲۶^{bc}	۷/۸۱^{c}	۲/۲۳^{c}	۴۹/۵۰^{c}	۷/۷۳^{c}
	۰/۵	۱۳/۷۹^{cde}	۱۰/۵۳^{bcd}	۷۹/۱۷^{a}	۵/۷۸^{d}	۲/۴۶^{bc}	۵۹/۹۳^{b}	۸/۲۴^{bc}
	۱	۲۰/۳۲^{b}	۱۲/۳۲^{bc}	۷۰/۰۵^{b}	۵/۵۶^{d}	۱/۸۰^{d}	۵۴/۸۶^{bc}	۹/۱۶^{ab}
۴۰۰	۰	۱۱/۹۱^{e}	۸/۷۱^{cd}	۶۵/۴۷^{bc}	۹/۲۴^{b}	۲/۸۸^{a}	۵۰/۷۰^{c}	۷/۷۰^{c}
	۰/۵	۲۹/۸۷^{a}	۱۱/۴۸^{bcd}	۶۹/۳۱^{b}	۷/۲۲^{c}	۲/۴۲^{bc}	۵۹/۴۰^{b}	۹/۱۹^{ab}
	۱	۱۵/۰۸^{cd}	۱۲/۵۲^{b}	۶۷/۲۱^{bc}	۷/۳۵^{c}	۲/۳۳^{c}	۶۰/۹۳^{b}	۹/۸۳^{a}

*در هر ستون میانگین‌های با حروف مشابه در سطح احتمال آماری ۵ درصد بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری ندارند.



شکل ۱: مقایسه میانگین اثر ساده متیل‌جاسمونات بر میزان کربوهیدرات‌های محلول برگ ریحان رقم کشکنی لولو

بحث

پرولین علاوه بر حفظ تعادل اسمزی گیاه به عنوان پایدارکننده پروتئین‌ها، کلات‌کننده فلزی، مهارکننده پراکسیداسیون لیپیدی و حذف‌کننده رادیکال‌های آزاد شناخته می‌شود (Mishra and Dubey, 2006). متیل‌جاسمونات نیز در شرایط تنش فلزی میزان پرولین را افزایش می‌دهد که به‌نظر می‌رسد در واکنش گیاهان نسبت به تنش، اسید جاسمونیک به عنوان تنظیم‌کننده‌ی ژن‌های پروتئین‌های بازدارنده نظیر تئونین، اسموتین، هیدروکسی پرولین و پرولین عمل کرده و با تنظیم افزایشی آنها به ویژه پرولین سبب افزایش میزان این اسیدآمینه در شرایط تنش می‌شود (Wasternack and Kombrink, 2009). در مطالعه‌ای که توسط John و همکاران (۲۰۰۹)، روی گیاه *Brassica juncea* L. انجام شده مشخص گردید که غلظت ۰ تا ۱۵۰۰ میکرومولار از سرب تاثیر بسیار اندکی بر تجمع پرولین دارد. Singh و همکاران (۲۰۱۲)، در تحقیقات خود که بر روی نهال‌های گیاه (*Vingna mungo* L.) که با غلظت‌های ۱۰ تا ۱۰۰ میکرومولار سرب تیمار شده بودند نشان دادند که با افزایش غلظت فلز، میزان سنتز پرولین افزایش می‌یابد. Amirjani و همکاران (۲۰۱۵)، در پژوهش خود مشاهده کردند که محتوی پرولین در کالوس گیاه پریوش (*Catharantus roseus* L.) در نتیجه تیمار با سرب (۰ تا ۵۰ میکرومولار) به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. تحقیقات انجام شده توسط محققان دیگر نیز با نتایج به‌دست آمده در مطالعه حاضر مطابقت دارد (John et al., 2009; Naderi et al., 2013). محققین دریافتند که افزایش تجمع پرولین در تنش سرب ممکن است به دلیل افزایش سنتز و یا کاهش تجزیه پرولین و یا هردو باشد (Naderi et al., 2013). بدین‌ترتیب با افزایش پرولین در سلول اسیدیفیکاسیون سلولی القاء شده توسط تنش را کاهش می‌دهد (Tan et al., 2008).

فلزات سنگین از طریق افزایش تجمع ROS و در اثر تنش اکسیداتیو حاصل از آن، منجر به تخریب ساختار غشاء می‌شود. گونه‌های فعال اکسیژن منجر به پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و تغییر در نفوذپذیری آن (نشت یونی) و خسارت به سلول می‌گردند. لذا غشاءهای زیستی آسیب‌دیده و قابلیت نفوذپذیری آنها مختل می‌شود. همین امر باعث نشت الکترولیت‌ها به خارج سلول می‌گردد. نتایج به‌دست آمده از محتوای

رطوبت نسبی برگ در گونه گیاهی خلر (*Lathyrus sativus* L.) نشان داد که وضعیت آب در بافت برگ‌ها تحت تیمار سرب قرار نگرفت. زیرا محتوای رطوبت نسبی در هر دو گروه از گیاهان (تیمار شاهد و گیاهان تیمار شده با سرب) تقریبا یکسان بود و از آن جایی که آب نسبی در بافت‌های برگ گیاهانی که تحت تیمار سرب قرار داشتند تا حدی بیش از گیاهان شاهد بود (Beladi et al., 2010)، احتمال می‌رود که روزنه‌های برگ در نتیجه تاثیر سرب بسته شده و فعالیت تثبیت کربن اتمسفر دچار لطمه شده باشد (Brunet et al., 2008). در شرایطی که گیاهان بتوانند محتوای نسبی آب خود را بیشتر حفظ کنند، تورژسانس بیشتری را نیز حفظ کرده و در نتیجه اندام‌های هوایی و ریشه‌های آنها بهتر رشد می‌کنند (Morgan, 1988) که با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت دارد. اکثر تنظیم‌کننده‌های رشد اگر با غلظت مناسبی استفاده شوند، قادرند نیتریک اسید تولید کنند که این ترکیب سبب افزایش غلظت کلسیم در سیتوسول سلول‌های محافظ و خروج پتاسیم از سلول می‌شود که نتیجه آن بسته شدن روزنه و جلوگیری از اتلاف آب توسط گیاه است (Garcia-Mata and Lamattina, 2001). متیل‌جاسمونات با تاثیر بر سلول‌های روزنه گیاه، موجب افزایش محتوای نسبی آب برگ می‌شود و از طرف دیگر به علت عدم اثر منفی بر فتوسنتز گیاه، به رشد گیاه کمک می‌کند (Garcia-Mata and Lamattina, 2001). در این تحقیق نیز افزایش محتوای نسبی آب برگ، احتمالا به دلیل بسته‌شدن روزنه‌ها بوده تا آب کمتری از سلول هدر رود و رشد گیاه افزایش یابد (Garcia-Mata and Lamattina, 2001). در این راستا تیمار متیل جاسمونات سبب بهبود وضعیت آب بافت از طریق بسته شدن روزنه‌ها و کاهش تعرق در گیاه جو شد (Horton, 1991). همچنین تیمار متیل‌جاسمونات، تعرق را در توت‌فرنگی کاهش داد و در تحمل به تنش آبی موثر بود (Wang, 1999) محتوای نسبی آب برگ شاخص مناسبی برای بیان وضعیت آب در گیاهان بوده و وضعیت فراگیرتری از تعادل بین میزان عرضه آب نسبی برگ و میزان تعرق را نشان می‌دهد (Kumar and Elston, 1992). چنانچه محتوای نسبی آب برگ بالا باشد گیاه تورم سلولی خود را حفظ کرده و رشد آن تداوم می‌یابد (Rao and Mendham, 1991).

گزارش شده است که غلظت‌های کم متیل‌جاسمونات، شاخص کلروفیل را افزایش می‌دهد، ولی افزایش غلظت این ماده موجب کاهش کلروفیل a و b می‌شود (Maciejewska and Krupa, 2002). Pallavi و Rama (۲۰۰۵) و Samardakiew و Wozny (۲۰۰۰) بیان کردند که آلودگی سرب، فرآیندهای فتوسنتزی را به شدت تحت تاثیر قرار داده و موجب کاهش فتوسنتز می‌گردد که از جمله عوامل کاهش فتوسنتز جلوگیری از بیوسنتز کلروفیل می‌باشد. نتایج مشابهی از اثرات بازدارندگی سایر فلزات بر کاهش مقدار کلروفیل در گیاهان دیگر گزارش شده است. از طرفی گزارش‌هایی نیز مبنی بر افزایش میزان کلروفیل در اثر وجود بعضی از عناصر وجود دارد. به‌عنوان مثال نتایج Resh (۲۰۰۱) نشان داد که افزایش گوگرد سبب افزایش میزان کلروفیل می‌گردد. کاهش محتوای کاروتنوئیدها در گیاه ریحان پس از تیمار با سالیسیلیک اسید در شرایط تنش سرب و همچنین همراه با آسکوربیک اسید در مطالعات Mazaheri Tirani و همکاران (۲۰۰۸) و Hashemi و همکاران (۲۰۱۰) گزارش شده است. سالیسیلیک اسید معمولاً با اثر بر روی هورمون‌های آبسیزیک اسید (Senaranta et al., 2002) و اتیلن (Zhang et al., 2002) بسیاری از روندهای فیزیولوژیکی و رشد گیاه

را تنظیم می‌کند. از جمله با اثر بر روی آبسیزیک اسید و تجمع این هورمون در گیاه باعث خوگیری گیاهان نسبت به تنش‌های محیطی می‌شود (Shakirova et al., 2003). بنابراین کاهش مشاهده شده در مقدار کاروتنوئیدها در این پژوهش می‌تواند به دلیل تبدیل کاروتنوئیدها به آبسیزیک اسید باشد (Mazaheri Tirani et al., 2008). کاهش میزان کلروفیل و روبیسکو در برگ‌های جو تحت تیمار با متیل‌جاسمونات گزارش شده است (Weidhase et al., 1987). مطالعات انجام شده توسط Jung (۲۰۰۴) در گیاه آرابیدوپسیس نشان داد که ۷ روز بعد از تیمار با متیل‌جاسمونات، محتوای کلروفیل‌های a، b و کاروتنوئیدها کاهش یافت. به نظر می‌رسد متیل‌جاسمونات به سرعت باعث القای ژن کلروفیلاز در گیاه شده است (Tsuchiya et al., 1999).

متیل‌جاسمونات می‌تواند تولید ROS را در گیاهان القا نماید، بنابراین یک سیستم آنتی‌اکسیدان موثر برای حفظ عملکردهای متابولیکی در شرایط تنش و غیرتنش ضروری می‌باشد (Choudhury and Panda, 2004; Chen et al., 2007). در نتیجه متیل‌جاسمونات با تاثیر بر افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، در کاهش رادیکال‌های آزاد در گیاهان ایفای نقش می‌نماید (Kumari et al., 2006). به‌نظر می‌رسد غلظت‌های بالای فلزات سنگین با تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن به سلول‌های گیاهی آسیب وارد می‌کنند (Mittler et al., 2004). رادیکال‌های آزاد هیدروکسیل آغازگر واکنش‌هایی است که موجب پراکسیداسیون چربی می‌شود (Chen et al., 2007). رادیکال دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH) یک رادیکال آزاد است که به‌طور وسیع برای آزمایش پاک کردن رادیکال‌های آزاد مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این تحقیق اثر عصاره ریحان در جاروب کردن رادیکال‌های آزاد DPPH مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آزمایش حاکی از این بود که فعالیت آنتی‌اکسیدانی تحت تأثیر تنش سرب و متیل‌جاسمونات کاهش یافت. در آزمایش Saltveit و Kang (۲۰۰۲) نیز قدرت جاروب کردن رادیکال DPPH در ریشه‌چه گیاه برنج، با تنش سرمایی روند نزولی را طی نمود.

یکی از سازوکارهای مؤثر در افزایش میزان تحمل فلزات سنگین تولید و انباشتگی ترکیبات فنلی است. مطالعات نشان داده است که کاهش میزان ترکیبات فنلی محلول می‌تواند به علت سنتز سایر ترکیبات فنلی از جمله لیگنین باشد. همچنین مشخص شده است که در استرس فلزات سنگین فنل‌های متصل به دیواره بیشتر از فنل‌های محلول تحت تأثیر قرار می‌گیرند (Kovacik et al., 2010). همچنین تجمع ترکیبات فنلی در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیر زیستی از جمله فلزات سنگین و پاتوژن‌ها گزارش شده است (Bruni and Sacchetti, 2009). فنل‌ها به‌طور موقتی به عناصر سنگین کلات می‌شوند و گونه‌های اکسیژن فعال را جاروب کرده و یا موجب به دام انداختن الکوکسی لیپیدها می‌شوند (Arora et al., 2000). محققان گزارش کردند که با افزایش تجمع سرب در ریشه و اندام هوایی، میزان رشد گیاهچه‌های یونجه کاهش یافت و این گیاه برای تحمل تنش سرب از سازوکارهای محافظتی آنتی‌اکسیدان از قبیل افزایش میزان محتوای فلاونوئیدی و فنولی استفاده کرد (Ghelich et al., 2015). این نتایج با نتایج سایر پژوهشگران در بلوبری (*Cyanococcus blueberry* L.) (Wang et al., 2009)، کنگرفرنگی (*Cynara scolymus* L.) در شرایط درون‌شیشه‌ای (Samadi et al., 2014)، سیب (*Malus domestica* L.) (Rudell and Matteis, 2002)، توت فرنگی (*Fragaria ananassa* L.) (Ayala-Zavala et al., 2005)، گواوا (*Psidium guajava* L.) (Gonzalez-Aguilar et al., 2004) که میزان فنل کل با محلول‌پاشی

متیل‌جاسمونات افزایش داشته است، مطابقت دارد. براساس مطالعات قبلی رابطه مثبتی بین استعمال خارجی متیل جاسمونات و سنتز ترکیبات فنلی وجود دارد که احتمالاً به‌عنوان بخشی از واکنش دفاعی گیاه نشان داده شده است (Heredia and Cisneros Zevallos, 2009). براساس مطالعات قبلی بین ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گونه‌های گیاهی همبستگی مشاهده شد (Ksouri et al., 2007; Sonar et al., 2011).

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج این تحقیق نشان داد عنصر سرب بر صفات فیزیولوژیکی ریحان رقم کشکنی‌لولو تاثیرگذار بود و متیل‌جاسمونات از راه‌های مختلف سبب افزایش سازگاری گیاه به شرایط تنش شد. داده‌های حاصل از این تحقیق بیانگر آن است که با افزایش غلظت سرب در خاک محتوای فنل کل، پرولین و رطوبت نسبی ریحان افزایش می‌یابد. تیمار گیاه با متیل‌جاسمونات در شرایط تنش سرب باعث حفاظت محتوای بیشتر این ترکیبات شده و موجب افزایش مقاومت گیاه به تنش سرب گردید. غلظت ۰/۵ میلی‌مولار متیل‌جاسمونات نسبت به غلظت دیگر آن که در این پژوهش به کار رفته است بهترین نتیجه را بر روی شاخص‌های فیزیولوژی گیاه ریحان داشت. استفاده از متیل‌جاسمونات که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی است، برای حفظ عملکرد اقتصادی گیاهان تحت تنش قابل توجیه است. همچنین استفاده از غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار متیل جاسمونات در شرایط تنش عنصر سنگین سرب با تحریک ساخت آنتی‌اکسیدانت‌ها، منجر به کاهش و تعدیل اثرات این تنش می‌شود.

References

Abdala, G., Miersch, O., Kramell, R., Vigliocco, A., Agostini, E., Forchetti, G. and Alemano, S. (2003). Jasmonate and octadecanoid occurrence in tomato hairy roots. Endogenous level changes in response to NaCl. Plant Growth Regulation. 40: 21-27.

Al-Amier, H. and Craker, L. E. (2007). In-vitro selection for stress tolerant spearmint. Issues in New Crops and New Uses, pp. 306-310.

Aldoobie, N.F. and Beltagi, M.S. (2013). Physiological, biochemical and molecular responses of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants to heavy metals stress. African Journal of Biotechnology. 12(29): 4614-4622.

Amirjani, M., Abnosi, M.H., Mahdieh, M. and Ghareshekhlou, S. (2015). Study of the effect of lead on the activity of antioxidant enzymes, proline and total alkaloids of callus of Catharantus roseus. Cell and Tissue Journal. 6(1): 9-21. (In Persian).

Arabaci, D. and Bayram, E. (2004). The effect of nitrogen fertilization and different plant densities on some agronomic and technologic characteristic of *Ocimum basilicum* L. (Basil). Journal of Plant Biology Research. 3(4): 255-62.

Arora, A., Byrem, T.M., Nair, M. and Strasburg, G.M. (2000). Modulation of liposomal membrane fluidity by flavonoids and isoflavonoids. Archives of Biochemistry and Biophysics. 373:102–109.

Asadi Karam, A., Asrar, Z. and Keramat, B. (2013). Effect of methyl-jasmonate treatment on the content of phenolic compounds and PAL activity in Lepidium sativum under the toxicity of copper. Journal of Plant Process and Function. 2(6): 89-96. (In Persian).

Ayala-Zavala J.F., Wang, S.Y., Wang, C.Y. and Gonzalez-Aguilar, G.A. (2005). Methyl jasmonate in conjunction with ethanol treatment increases antioxidant capacity, volatile

compounds and post-harvest life of straw berry fruit. European Food Research and Technology. 221: 731-8.

Babst, B.A., Ferrieri, R.A., Gray, D.W., Lerdau, M., Schyler, D.J., Schueller, M., Thorpe, M.R. and Orians, C.M. (2005). Jasmonic acid induces rapid changes in carbon transport and partitioning in populus. New Phytologist. 167: 63-72.

Baker, A.J.M., Mc Grath, S.P., Reeves, R.D. and Smith, J.A.C. (2000) . Metal hyperaccumulator plants: a review of the ecology and physiology of a biological resource for phytoremediation of metal-polluted soils. In: Phytoremediation of contaminated soil and water (eds. Terry, N. and Banuelos, G.). *C*RC Press, Boca Raton, Florida, USA. 85-107.

Barrientos Carvacho, H., Pérez, C., Zúñiga, G. and Mahn, A. (2014). Effect of methyl jasmonate, sodium selenate and chitosan as exogenous elicitors on the phenolic compounds profile of broccoli sprouts. Journal of the Science Food and Agriculture. 63(1): 20-31.

Bates, L.S., Waldren, R.P. and Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil. 39(1): 205-207.

Beladi, S.M., Kashani, A., Habibi, D., Paknejad, F. and Golshan, M. (2010). The effect of lead and copper on some physiological traits of Lathyrus sativus L. New Finding in Agriculture. 5(1): 9-20. (In Persian).

Brunet, J., Repellin, A., Varrault, G., Terrync, N. and Zuily-fodil, Y. (2008). Lead accumulation in the roots of grass pea (*Lathyrus sativus*): a novel plant for phytoremediation systems. Comptes Rendus Biologies. 331: 859-864 .

Bruni, R. and Sacchetti, G. (2009). Factors affecting polyphenol biosynthesis in wild and field grown St. John´s Wort (*Hypericum perforatum* L. Hypericaceae/ Guttiferael). Molecules. 14: 682-725.

Capitani, F., Biondi, S., Falasca, G., Ziosi, V., Balestrazzi, A., Carbonera, D., Torrigiani, P. and Altamura, M. (2005). Methyl jasmonate disrupts shoot formation in tobacco thin cell layers by over-inducing mitotic activity and cell expansion. Planta. 220: 507-519 .

Chen, J., Zhu, C., Lin, D. and Sun, Z. X. (2007). The effects of Cd on lipid peroxidation, hydrogen peroxide content and antioxidant enzyme activities in Cd-sensitive mutant rice seedlings. Canadian Journal of Plant Science. 87: 49-57.

Chien, H.F., Wang, J.W., Lin, C.C. and Kao C.H. (2001). Cadmium toxicity of rice leaves is mediated through lipid peroxidation. Journal of Plant Growth Regulation. 33: 205-213.

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.

Comparot, S.M., Graham, C.M. and Reid, D.M. (2002). Methyl jasmonate elicits a differential antioxidant response in light and dark grown canola (*Brassica napus*) roots and shoots. Journal Plant Growth Regulation. 38: 21-30.

Creelman, R. A. and Mullet, J. E. (1997). Oligosacchrins, brassinolides and jasmonates: non traditional regulators of plant growth, development, and gene expression. American Society of Plant Biology. 9: 1211- 1223.

Divya, P., Puthusseri, B. and Neelwarne, B. (2013). The effect of plant regulators on the concentration of caretonoids and phenolic compound in foliage o coriander. LWT-Food Science and Technology. 56(1):101-110.

Dong, J., Wan, G. and Liang, Z. (2010). Accumulation of salicylic acid induced phenolic compounds and raised activities of secondary metabolic and antioxidant enzymes in *Salvia miltorrhiza* cell culture. Journal of Biotechnology. 148: 99-104.

Garcia-Mata, C. and Lamattina, L. (2001). Nitric oxide induces stomatal closure and enhances the adaptive plant responses against drought stress. Plant Physiology. 126(3): 1196-1204.

Ghelich, S., Zarin Kamar, F. and Niknam, V. (2015). Investigating the

amount of lead accumulation and its effect on peroxidase activity, phenolic and flavonoids content in germination stage in alfalfa (*Medicago sativa* L.). Journal of Plant Researches. 28(1): 164-174. (In Persian).

Gonzalez-Aguilar, G., Tiznado-Hernandez, M.E. and Zavaleta-Gaticar Martinez-Tellez, M.A. (2004). Methyl jasmonat treatment reduce chilling injury and activate the defense of guava fruits. Biochemical and Biophysical Research Communications. 313: 694-701.

Hashemi, Sh., Asrar, Z. and Pourseyidi, Sh. (2010). Effect of seed premixing by salicylic acid on growth and some physiological and biochemical indices in cress. Journal of Plant Researches. 2(2):1-10. (In Persian).

Heredia, J.B. and Cisneros-Zevallos, L. (2009). The effect of exogenous ethylene and methyl jasmonate on PAL activity, phenolic profiles and antioxidant capacity of carrots (*Daucus carota*) under different wounding intensities. Postharvest Biology and Technology, 51(2): 242-249.

Horton, R.F. (1991). Methyl Jasmonate and transpiration in barley. Plant Physiology. 96:1376-1378.

Islam, E., Yang, X., Li T., Liu D., Jin, X. and Meng, F. (2007). Effect of Pb toxicity on root morphology, physiology and ultrastructure in the two ecotypes of *Elsholtzia argyi*. Journal of Hazardous Materials. 147(3): 806–16.

John, R., Ahmad, P., Gadgil, K. and Sharma, S. (2009). Heavy metal toxicity: Effect on plant growth, biochemical parameters and metal accumulation by *Brassica juncea* L. International Journal of Plant Diseases and Protection. 3(3): 1735-8043.

Jung, S. (2004). Effect of chlorophyll reduction in *Arabidopsis thaliana* by methyl jasmonate or norflurazon on antioxidant systems. Journal of Plant Physiology and Biochemistry. 42: 231-255.

Kang, H.M. and Saltveit, M.E. (2002). Antioxidant enzymes and DPPH-radical scavenging activity in chilled and heat-shocked rice (*Oryza sativa* L.) seedlings radicles. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 50(3): 513-518.

Kim, Y. Y., Yang, Y., and Lee, Y. (2002). Pb andCd uptake in rice roots. Plant Physiology. 116: 368-372.

Kovacik, J., Klejdus, B., Hedbavny, J., Covska, S. and Zon, J. (2010). Significance of phenols in cadmium and nickel uptake. Journal of Plant Physiology. 168: 576-584.

Kumar, A. and Elston, J. (1992). Genotypic differences in leaf water relations between *Brassica juncea* and *B. napus*. Annals of Botany. 70(1): 3-9.

Kumari, G.J., Reddy, A.M., Naik, S.T., Kumar, S.G., Prasanthi, J., Sriranganayakulu, G., Reddy, P.C. and Sudhakar, C. (2006). Jasmonic acid induced changes in protein pattern, antioxidative enzyme activities and peroxidase isozymes in peanut seedlings. Biologia Plantarum. 50: 119-226.

Liamas, A., Ullrich, C.I. and Sanz, A. (2000). Cadmium effects on transmembrane electrical potential difference, respiration and membrane permeability of rice (*Oryza sativa*) roots. Plant and Soil. 219: 21-8.

Lutts, S., Kinet, J.M. and Bouharmont, J. (1995). Changes in plant response to NaCl during development of rice (*Oryza sativa* L.) varieties differing in salinity resistance. Journal of Experimental Botany. 46(12): 1843-1852.

Lutts, S., Kinet, J.M. and Bouharmont, J. (1996). NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. Annals of Botany. 78(3): 389-398.

Maciejewska, W. and Krupa, Z. (2002). Jasmonic acid and heavy metals in *Arabidopsis* plant a similar physiological response to both stressors. Plant Physiology. 159: 509-515.

Maksymiec, W. and Krupa, Z. (2006). The effects of shortterm exposition to Cd, excess Cu ions and jasmonate on oxidative stress appearing in *Arabidopsis thaliana*. Environmental and Experimental Botany. 57: 187-194.

Mazaheri Tirani, M., Kalantari, Kh. and Hasibi, N. (2008). Study of the interaction of ethylene and salicylic acid on oxidative stress and its mechanisms of resistance to rapeseed. Journal of Plant Researches. 21(3): 421-432. (In Persian).

Mishra, S. and Dubey, R.S. (2006). Heavy metal uptake and detoxification mechanisms in plants. International Journal of Agricultural Research. 1(2): 122-141.

Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M. and Breusegem, F.V. (2004). The reactive oxygen gene network of plants. Trends Plant Science. 9: 490-498.

Moon, J.H. and Terao, J. (1998). Antioxidant activity of caffeic acid and dihydrocaffeic acid in lard and human low-density lipoprotein. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 46(12): 5062-5065.

Morgan, J.M. (1988). The use of coleoptile responses to osmoregulation; growth and yield. Annals of Botany. 62: 193-8.

Naderi, N., Mirzamasoumzadeh, B. and Aghaei, A. (2013). Effects of different levels of Lead (Pb) on physiological characteristics of sugar beet. International Journal of Agriculture and Crop Sciences. 5(10): 1154-1157.

Neill, S., Boini, M.K., Lodagala, S.D. and Behara, R.B.(2007). The fresh leaves of Catharantus roseus Linn Reduces blood glucose in normal and alloxan diabetric rabbites. BMC Complement Altern Med, 3(4):433-440.

Omidbaigi, R. (2004). Production and processing of medicinal plants. Astan Qods Razavi Publisher. [In Persian].

Pallavi, Sh. and Rama, Sh.D. (2005). Lead toxicity in plant. Brazilian Journal of Plant Physiology. 17: 1-6.

Patra, M., Bhowmik, N., Bandopadhyay, B. and Sharma, A. (2004). Comparison of mercury, lead and arsenic with respect to genotoxic effects on plant systems and the development of genetic tolerance. Environmental and Experimental Botany. 52(3):199-223.

Pichtel, J. and Carol, A.S. (1998). Vegetative growth and trace metal accumulation on metalliferous wastes. Journal of Environmental Quality. 27: 618-24.

Popova, L., Ananieva, V., Hristova, V., Christov K., Georgieva, K., Alexieva, V. and Stoinova Zh. (2003). Salicylic acid and methyl jasmonate induced protection on photosynthesis to paraquat oxidative stress. Bulgarian Journal of Plant Physiology. 2003: 133-152.

Pourrut, B., Shahid, M., Dumat, C., Winterton, P. and Pinelli E. (2012). Lead uptake, toxicity, and detoxification in plants. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology. 213:113-36.

Prakash, V. (1990). Leafy Spices. CRC Press, 114 p.

Rajabi, A., Abaspour, H. and Sinaki, J.M. (2016). The effect of chemical stimulants of methyl jasmonate and salicylic acid on stimulating the production of Hypersin in *Hypericum perforatum*. New Cellular and Molecular Biotechnology Journal. 6(22):41-49. (In Persian).

Ranjbar, M., Lari Yazdi, H. and Bromandjazi, Sh. (2011). Effect of salicylic acid on photosynthetic pigments, sugar content and antioxidant enzymes in rapeseed under lead stress. Journal of Plant Researches. 3(9):39-52. (In Persian).

Rao, M.S.S. and Mendham, N.J. (1991). Soil–plant–water relations of oilseed rape (*Brassica napus* and *B. campestris*). The Journal of Agricultural Science. 117(02): 197-205.

Resh, H.M. (2001). Hydroponic food production. Woodbridge press publishing. Company, Santa Barbara.

Rudell, D.R. and Matteis, J.P. (2002). Methyl Jasmonate enhances antocyanin accumulation and modifies production of phenolics and pigments in Fuji apples. Horticultural Science. 127: 435-41.

Sadasivam, S. and Manickam, A. (1992). Biochemical methods for agricultural sciences. Wiley Eastern Limited.

Samadi, S., Ghasemnezhad, A. and Alizadeh, M. (2014). Investigation on phenylalanine ammonia-lyase activity of

artichoke (*Cynara scolymus* L.) affected by methyl jasmonate and salicylic acid in in-vitro conditions. Plant Products Research Journal. 21(4): 135-48.

Samardakiew, S. and Wozny, A. (2000). Thedistribution of lead in dunckweed root tip. Plant and Soil. 226: 107-111.

Sánchez, F.J., Manzanares, M., de Andres, E.F., Tenorio, J.L. and Ayerbe, L. (1998). Turgor maintenance, osmotic adjustment and soluble sugar and proline accumulation in 49 pea cultivars in response to water stress. Field Crops Research. 59(3): 225-235.

Sebastiani, L., Scebba, F. and Tognetti, R. (2004). Heavy metal accumulation and growth responses in poplar clones Eridano (*Populus deltoides* × *maximowiczii*) and I 214 (*P.* × *euramericana*) exposed to industrial waste. Environmental and Experimental Botany. 52:79–88.

Senaranta, T., Touchell, D., Bum M.E. and Dixon, K. (2002). Acetylsalicylic (aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. Plant Growth Regulation. 30:157-161.

Sengar, R., Gautam, M., Sengar, R., Sengar, R., Garg, S., Sengar, K. and Chaudhary, R. (2008). Lead stress effects on physiobiochemical activities of higher plants. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Vol. 196. D.M. Whitacre, Springer US. 196:73-93 .

Shakirova, F.M., Sakhabutdinova, A.R., Bozrutkova, M.V., Fatkhutdinova, R.A. and Fatkhutdinova, D.R. (2003). Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. Plant Science. 164: 317-322.

Sharma, P. and Dubey, R. S. (2004). Ascorbateperoxides from rice seedling. Plant Science. 167: 541-550.

Sharma, A., Jha, A.M., Dubey, R.S. and Pessarakli, M. (2012). Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plant under stressful conditions. Journal of Botany. 26: 1–26.

Singh, G.R.K.A., Reshma, R.K. and Ahmad, M. (2012). Effect of lead and nickel toxicity on chlorophyll and proline content of Urd (*Vigna mungo* L.) seedlings. International Plant Physiology and Biochemistry. 4(6): 136-41.

Singleton, V.L. and Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture. 16(3):144-158.

Szabados, L. and Savouré, A. (2010). Proline: a multifunctional amino acid. Trends in Plant Science. 15:89-97.

Sonar, B.A., Nivas, M.D., Gaikwad, D.K., and Chavan, P.D.(2011). Assessment of salinity-induced antioxidative defense system in *Colubrina asiatica* brong. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry,* 7: 193–200.

Tan, J., Zhao, H., Hoang, J., Han, Y., Li, H. and Zhao, W. (2008). Effects of exogenous nitric oxide on photosynthesis, antioxidant capacity and proline accumulation in wheat Seedlings subjected to osmotic stress. World Journal of Agricultural Science. 4:307-13.

Tsuchiya, T., Ohta, H., Okawa, K., Iwamatsu, A., Shimada, H., Masuda, T. and Takamiya, K. (1999). Cloning of chlorophyllase, the key enzyme in chlorophyll degradation: finding of a lipase motif and the induction by methyl jasmonate. Proceeding of The National Academy of Sciences of the United States of America. 96: 15362–15367.

Vatan Khah, A., Kalantari, B. and Andalibi, B. (2015). Methyl-jasmonate effect on some physiological and biochemical responses of peppermint (*Mentha piperita* L.) under salinity stress. Journal of Plant Process and Function. 5(17): 157-170. (In Persian).

Verma, S. and Dubey, R.S. (2003). Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant in growing rice plants. Plant Science, 164: 1489– 1498.

Walia, H., Wilson, C., Condamine, P., Liu, X., Ismoil, A.M. and Close, T.J. (2007). Large–scale expression profiling and physiological characterization of jasmonic acid– mediated adaptation of

barley to salinity stress. Plant Cell and Environment. 30:410-421.

Wang, K., Jin, P., Cao, S., Shang, H., Yang, Z. and Zheng, Y. (2009). Methyl jasmonate reduces decay and enhances antioxidant capacity in chines bay berries. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 57: 5809-5850.

Wang, S.Y. (1999). Methyl Jasmonate reduces water stress in strawberry. Plant Growth Regulation. 18:127-134.

Wasternack, C. and Kombrink, E. (2009). Jasmonates structural requirements for lipid-derived signals active in plant stress responses and development. ACS Chemical Biology. 5:63-77.

Wasternack, C. and Parthier, B. (1997). Jasmonate signalled plant gene expression. Trends in Plant Science. 2: 302–307.

Weidhase, R.A., Kramell, H., Lehmann, J., Liebisch, H., Lerbs, W. and Parthier, B. (1987). Methyljasmonate-induced changes in the polypeptide pattern of senescing barley leaf segments. Plant Science. 51:177-186.

Yaron, B., Calvet, R. and Prost, R. (1996). Soil pollution: processes and dynamics. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 312 p.

Zawoznik, M.S., Gropp, M.D., Tomaro, M.L. and Benavides, M.P. (2007). Endogenoussalicylic acid potentiates cadmium- inducedoxidative stress in Arabidopsis thaliana. Plant Science. 173:190-19.

Zhang, W., Curtin, C., Kikuchi, M. and Franco, C. (2002). Integration of jasmonic acid and lightirradiation for enhancement of anthocyanin biosynthesis in *Vitis vinifera* suspension cultures. Plant Science. 162: 459–468.