تاثیر SNP بر مریم‌گلی ترکه‌ای تحت تنش کادمیوم در شرایط درون شیشه

فائزه بهشتی قله‌زو[1]، محمد مقدم[2]، لیلا سمیعی

[1] دانشجوی کارشناسی ارشد: گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، آدرس پست الکترونیکی: faeze.beheshti@um.ac.ir

[2] دانشیار: گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، آدرس پست الکترونیکی: m.moghadam@um.ac.ir

[3] استادیار: گروه پژوهشی گیاهان زینتی، پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، آدرس پست الکترونیکی: samiei@um.ac.ir

چکیده

به‌منظور برر سی اثرات سدیم نیتروپرو ساید به‌عنوان یک تولیدکننده نیتریک اکسید بر روی برخی از ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه مریم‌گلی ترکه‌ای (*Salvia vitgata*) تحت تنش کادمیوم آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در ۴ تکرار در شرایط درون شیشه‌ای اجرا گردید. فاکتورهای مورد مطالعه در این تحقیق شامل کادمیوم در ۴ سطح صفر (شاهد)، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار و سدیم نیتروپرو ساید در ۳ سطح صفر (شاهد)، ۱۵ و ۳۰ میکرومولار بود. نتایج حا صل از مقای سه میانگین داده‌ها ن شان داد که تنش کادمیوم سبب افزایش میزان فلاونوئید کل، فنول کل، کربوهیدرات محلول، مالون دی آلدئید و پروتئین در مریم‌گلی ترکه‌ای شد و کاربرد سدیم نیتروپرساید اثرات تنش را کم نمود. به‌طوری‌که کاربرد ۳۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید سبب افزایش میزان فلاونوئید کل، فنول کل، کربوهیدرات محلول، مالون دی آ لدئید و پروتئین در شرایط تنش کادمیوم با غلظت ۲۵ میکرومولار شد که نسبت به شاهد به ترتیب باعث افزایش ۲۳/۷۳، ۴۲/۶۰، ۵۳/۹۱ ، ۴۰/۶۲ و ۱۵۵/۴۲درصدی آنها گردید. کاربرد ۳۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید تحت تنش کادمیوم با غلظت ۵۰ میکرومولار باعث افزایش میزان پرولین مریم‌گلی ترکه‌ای گردید؛ به‌نحوی‌که نسبت به شاهد ۱۱۹/۰۹ درصد افزایش دا شت. نتایج پژوهش حا ضر نشان داد کاربرد سدیم نیتروپرو ساید تا حد زیادی آثار منفی حا صل از تنش فلز سنگین کادمیوم را در مریم‌گلی ترکه‌ای از طریق بهبود ترکیبات بیوشیمیایی گیاه و حذف رادیکال‌های آزاد برطرف شد و سبب بهبود فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاهچه‌های آن در شرایط تنش کادمیوم گردید.

واژه‌های کلیدی: پرولین، فنل کل، فلاونوئید، کربوهیدرات، مالون‌دی‌آلدئید.

The effect of SNP on *Salvia vitgata* under cadmium stress in vitro conditions

Abstract

In order to investigate the effects of sodium nitroprusside as a producer of nitric oxide on some physiological and biochemical characteristics of salvia vitgata under cadmium stress, a factorial experiment was carried out based on a completely randomized design in 4 repetitions in vitro conditions. The factors studied in this research included cadmium at 4 levels zero (control), 25, 50 and 100 micromolar and sodium nitroprusside at 3 levels zero (control), 15 and 30 micromolar. The results of comparing the average data showed that the use of 30 micromolar sodium nitroprusside increased the amount of flavonoid, phenolic, carbohydrate, malondialdehyde and protein under the conditions of cadmium stress with a concentration of 25 micromolar, so that compared to Shahid increased their values by 23.73, 42.60, 53.91, 40.62 and 155.42% respectively. The application of 30 micromolar sodium nitroprusside under cadmium stress with a concentration of 50 micromolar increased the amount of proline in sage; So that it increased by 119.09% compared to the control. The results of the present study showed that the application of sodium nitroprusside to a large extent removed the negative effects of heavy metal cadmium stress in *s. virgata* by improving the biochemical compounds of the plant and removing free radicals and improved the physiological processes of its seedlings under cadmium stress conditions.

Keywords: carbohydrate, flavonoid, malondialdehyde, proline, total phenol.

نویسنده مسئول: دانشیار، گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

نویسنده اول: دانشجوی کارشناسی ارشد،گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

نویسنده سوم: استادیار، گروه پژوهشی گیاهان زینتی، پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد

۱- مقدمه

مریم گلی ترکه‌ای (*S. virgata*) گیاهی چند ساله و علفی متعلق به تیـــره نعنـــاعیان (Lamiaceae) است. در طـب سنتی از این گیاه به منظور درمان سرماخوردگی، برونشیت، ناراحتی‌هـای گوارشی و سل استفاده می‌شود. مریم‌گلی ترکه‌ای دارای چندین فعالیت بیولوژیکی (ضدمیکروبی، ضدقارچی، آنتی‌اکسیدانتی، ضددرد، ضدالتهاب، ضدتوموری و ...) می‌باشد (سلیم‌پور و همکاران، ۱۳۹۲؛ شنکال بی سی و همکاران، ۲۰۱۹).

عناصـــر ســـمی مانند ســـرب، کادمیوم، آلومینیوم و جیوه اثرات نامطلوبی بر عملکردهای مختلف فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه دارند که منجر به کاهش رشد و کیفیت گیاه می‌شود و مشکلات جدی برای سلامتی ایجاد کنند (شنکال بی سی و همکاران، ۲۰۱۹؛ عماری و همکاران، ۲۰۱۷). در بین فلزات سنگین، کادمیوم به‌عنوان یکی از سمی‌ترین فلزات می‌باشـد که با قابلیت تحرک بالای آن در خاک و جذب توسـط گیاه، حتی در غلظت‌های پایین می‌تواند باعث مرگ گیاه شـود. از اثرات نامطلوب تجمع کادمیوم می‌توان به کاهش جوانه‌زنی، مهار رشـد ریشـه، سـاقه، کاهش سـطح برگ، کلروزه شـدن برگ‌ها، اختلال در جذب آب و اختلال در جذب مواد غذایی اشـاره کرد. واکنش‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاهان و همچنین جذب و انتقال مواد غذایی و آب، تحت تنش کادمیوم، متفاوت هسـتند که بر توانایی آنها برای تجمع و سـم‌زدایی یون‌های کادمیوم تأثیر می‌گذارد و باعث تغییرات نامطلوبی در خصـوصـیات فیزیولوژیکی و بیوشـیمیایی گیاه می شود که در نهایت منجر به کاهش شدید تولید محصولات می شود (دوبریکوا و همکاران، ۲۰۲۱؛ محمدی فر و مقدم، ۲۰۲۰). گیاهان روش‌های متنوعی را برای مهار کردن سـمیت کادمیوم به کار می‌گیرند؛ گزارش شـده اسـت که برخی از محرک‌های زیستی نیز می‌توانند با تقویت مکانیسم‌هایی باعث افزایش زیست توده گیاه و سیستم جذب و انتقال عناصر سنگین در گیاهان شوند. بنابراین پیدا کردن تنظیم کننده‌ای که توانایی پالایش گیاه را بهبود ببخشد، بسیار مهم است. بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند نیتریک اسید یک مولکول گازی است که می‌تواند در فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف گیاهان نقش داشته و باعث افزایش پاسخ دفاعی گیاهان در زمان تنش شود. سدیم نیتروپروساید (SNP) بسته به غلظت و مکان عمل آن در سـلول گیاه می‌تواند هم نقش حافظتی و هم سـمیتی ایفا کند؛ بنابراین کاربرد غلظت بهینه آن در انجام آزمایش از اهمیت بالایی برخوردار اسـت. این مولکول می‌تواند در فرآیندهای متنوعی در برابر واکنش‌های سـازگاری گیاه تحت تنش کادمیوم دخالت داشته باشد (بنی اسد و همکاران،۲۰۲۱). در بسـیاری از مطالعـات نشـان داده شده است که سدیم نیتروپروسـاید در انتقـال پیـام و پاسخ به تنش‌های زیسـتی و غیرزیسـتی نیـز دخالـت دارد و به‌عنوان یک عامل آنتی‌اکســیدان، رادیکالهای‌های آزاد را جمع‌آوری و از بین ببرد (نریمانی و همکاران، ۲۰۱۷؛ اصـغری و همکاران، ۲۰۲۰). محققان گزارش کردند که کاربرد خارجی نیتریک اکسید موجب جارو کردن رادیکالهای آزاد، توسعه توانایی غشای سلولی، بهبود فتوسـنتز و وضـعیت آب برگ می‌شـود (اصـغری و همکاران، ۲۰۲۰). لذا با عنایت به مزایای ذکر شـده برای سـدیم نیتروپروساید هدف از این مطالعه بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف سدیم نیتروپروساید به‌عنوان یک ماده تخفیف‌دهنده‌ی تنش فلزات سـنگین بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشـیمیایی گیاه مریم‌گلی‌ترکه‌ای با مقادیر مختلف فلز سـنگین کادمیوم است.

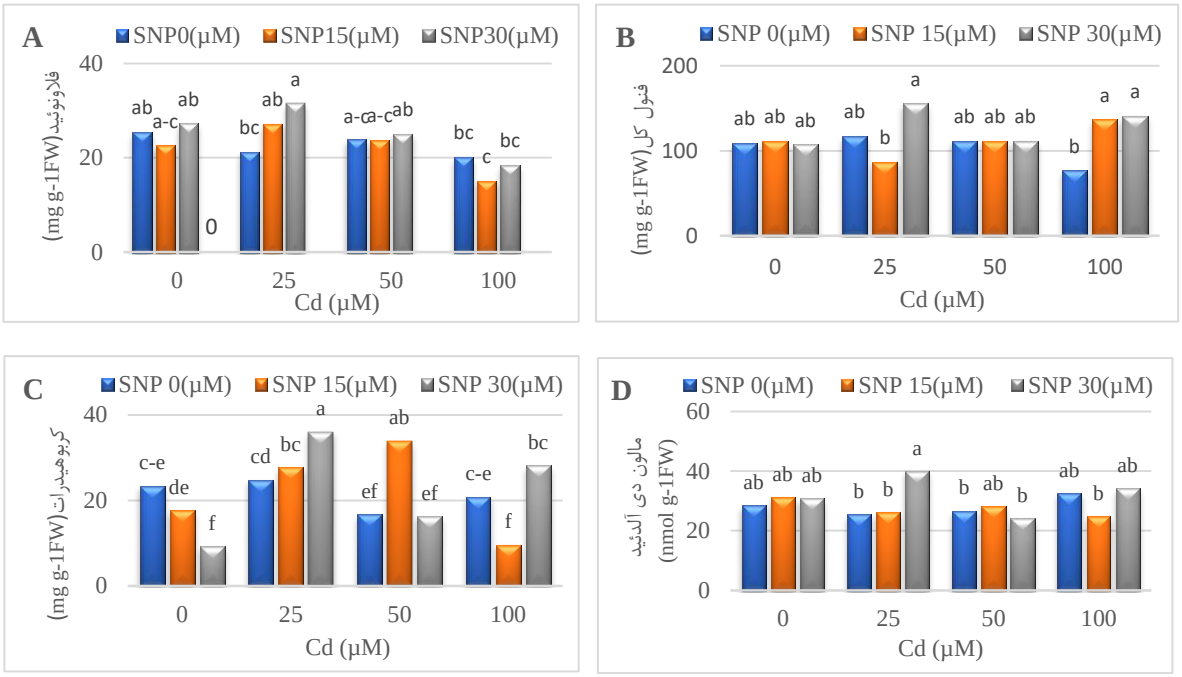
۲- مواد و روش‌ها

این تحقیق به منظور بررسـی اثر سـطوح مختلف سـدیم نیتروپروسـاید بر خصـوصـیات فیزیولوژیکی و بیوشـیمیایی مریم‌گلی ترکه‌ای تحت تنش کادمیوم به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۴ تکرار در شرایط درون شیشه اجرا گردید. تیمارهای مورد مطالعه در این تحقیق شامل کادمیوم در ۴ سطح صفر (شاهد)، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار از

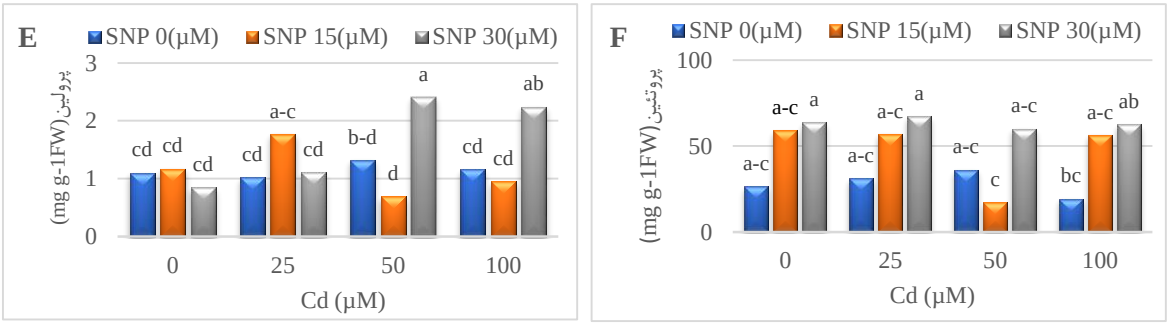
منبع نیترات کادمیوم و سدیم نیتروپروساید در ۳ سطح صفر (شاهد)، ۱۵ و ۳۰ میکرومولار بود. بذرهای مریم گلی ترکه‌ای از مزرعه دانشگاه فردوسی تهیه شد. جهت ضدعفونی بذرها ابتدا با استفاده از اتانول ۷۰٪ به مدت ۳۰ ثانیه و سپس غوطه‌وری در هیپوکلریت سدیم ۲ درصد به مدت ۱۵ دقیقه استریل گردید، سپس سه بار با آب مقطر استریل، شستشو داده شد (اورمزدی و چلیبان، ۲۰۰۶؛ سمیعی و همکاران،۲۰۲۰). از محیط کشت موراشیگ و اسکوگ جهت کشت بذور استفاده شد. در این آزمایش مقادیر مختلف نیترات کادمیوم براساس حجم محاسبه و قبل از تنظیم pH به محیط کشت اضافه گردید. سدیم نیتروپروساید به دلیل حساسیت به دمای بالا بعد از اتوکلاو و با فیلتر زیر لامینار به محیط اضافه گردید. بذور کاشته شده در اتاقک رشد با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی، ۸ ساعت تاریکی و شدت نور ۵۵ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه و رطوبت بین ۶۰ تا ۷۰ درصد نگهداری گردید (جعفری و همکاران، ۲۰۱۷). گیاهچه‌ها پس از سه ماه رشد از محیط کشت خارج شد و صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی آن شامل فلاونوئید کل (چانگ و همکاران، ۲۰۰۲)، فنول کل (گاو و همکاران، ۲۰۰۰)، کربوهیدرات محلول (پاکوین و لچاسر، ۱۹۷۹)، مالون دی آلدئید (پاکر، ۱۹۶۸)، پرولین (بیتس و همکاران، ۱۹۷۳) و پروتئین (برادفورد، ۱۹۷۶) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (OPTIMA SP-3000 Plus) اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل داده‌های به دست آمده از این پژوهش با استفاده از نرم افزارMinitab انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون Bonnferroni در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

۳- نتایج و بحث

نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که کاربرد ۳۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید سبب افزایش میزان فلاونوئید کل، فنول‌کل، کربوهیدرات محلول، مالون دی آلدئید و پروتئین در شرایط تنش کادمیوم با غلظت ۲۵ میکرومولار شد، به‌طوری‌که نسبت به شاهد همان سطح به ترتیب باعث افزایش ۲۳/۷۳، ۴۲/۶۰، ۵۳/۹۱ ، ۴۰/۶۲ و ۱۵۵/۴۲ درصدی آنها گردید (شکل۱). کاربرد ۳۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید تحت تنش کادمیوم با غلظت ۵۰ میکرومولار باعث افزایش میزان پرولین مریم‌گلی ترکه‌ای گردید؛ به‌طوری‌که نسبت به شاهد ۱۱۹/۰۹ درصد افزایش داشت که به لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری با شاهد داشت. همچنین مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که کمترین میزان فلاونوئید کل، کربوهیدرات محلول و مالون دی آلدئید در تیمار با غلظت‌های ۱۵میکرومولار سدیم نیتروپروساید و غلظت ۱۰۰میکرومولار کادمیوم مشاهده شد که نسبت به گیاه شاهد به ترتیب ۴۰/۶۹، ۵۸/۹۶ و ۱۲/۷۰ درصد کاهش داشت (شکل۱). کمترین میزان پرولین و پروتئین در سطح ۱۵ میکرومولار سدیم نیتروپروساید و سطح ۵۰ میکرومولار کادمیوم می‌باشد که نسبت به شاهد به‌ترتیب ۳۶/۳۶ و ۳۴/۳۷ درصد کاهش داشت (شکل۲). همچنین کمترین میزان فنل‌کل در غلظت ۱۵ میکرومولار سدیم نیتروپروساید و کادمیوم با غلظت ۲۵ میکرومولار مشاهده شد که نسبت به شاهد ۲۰/۲۰ درصد کاهش داشت (شکل ۱).



شکل ۱. مقایسه میانگین اثر متقابل سدیم نیتروپروساید و کادمیوم بر مقدار فنول کل (A)، فلاونوئید کل (B)، کربوهیدرات محلول (C) و مالون دی آلدئید (D) مریم‌گلی‌ترکه‌ای



شکل ۲. مقایسه میانگین اثر متقابل سدیم نیتروپروساید و کادمیوم بر مقدار پرولین (E) و پروتئین (F) مریم‌گلی‌ترکه‌ای

نتایج این تحقیق نشـان داد که کادمیوم به‌عنوان یک عامل تنش باعث افزایش ترکیبات بیوشـیمیایی مانند پرولین، فنول کل، فلاونوئید کل و کربوهیدرات محلول می‌شـــود و بر فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه تاثیر می‌گذارد. این یافته‌ها با نتایج بسـیاری از تحقیقات انجام‌شـده در رابطه با اثر کادمیوم بر ترکیبات بیوشـیمیایی و افزایش آنها در گونه‌های گیاهی مطابقت دارد (برقی و همکاران، ۲۰۲۱؛ بنی اسـد و همکاران، ۲۰۲۱؛ موسـوی و رضـوی‌زاده، ۲۰۲۱؛ کمالوند و همکاران، ۲۰۲۲). تاثیر کادمیومی بر مهار رشد توسط انباشته شدن فلزات سنگین در محیط ریشه به دلیل کاهش جذب آب و مواد غذایی، کاهش انتقال آب و برهم خوردن تعادل آب، مهار فعالیت آنزیم‌ها، کاهش متابولیســم ســلولی، کاهش فتوســنتز،

تنفس و تعرق، فقدان نیتروژن و فسفر می‌باشد. گیاه در شرایط تنش فلزات سنگین، بیشتر مواد فتوسنتزی خود را صرف تولید ترکیبات تنظیم ا سمزی از جمله پرولین، گلی سین بتائین و ترکیبات قندی می‌کند تا بتواند شرایط لازم برای ادامه حیات را در این شـرایط فراهم کند (اصـغری و همکاران، ۲۰۲۰). تنش فلزات سـنگین سـبب تجمع پرولین در گیاهان می‌شـود. مقدار افزایش پرولین در شـرایط تنش برای بسـیاری از گونه‌های گیاهی، بسـتگی به میزان مقاومت آنها در برابر تنش دارد و در گیاهان مقاوم، غلظت پرولین بیشتر از گیاهان حساس است (اشرف و فولاد، ۲۰۰۷). تیمار کادمیوم باعث افزایش معنی‌دار پرولین در گیاه مریم‌گلی ترکه‌ای شـد که با نتایج گزارش شـده توسـط سـایر محققین همخوانی دارد (حیدری و همکاران، ۲۰۲۱؛ کمالوند و همکاران، ۲۰۲۲). تیمار سدیم نیتروپرو ساید باعث افزایش بیشتر پرولین در تمام سطوح کادمیوم در مریم‌گلی ترکه‌ای شد، که به نوعی باعث تحریک سیستم دفاعی این گیاه در برابر این تنش و افزایش مقاومت آن گردید (بنی اسد و همکاران، ۲۰۲۱). در اغلب شرایط تنش‌زا، افزایش قندهای محلول به‌عنوان یک مکانیسم مقاومت در برابر تنش می‌باشـد و تنش کادمیوم مقدار قندهای محلول مریم‌گلی ترکه‌ای را نسـبت به شـاهد به طور معنی‌داری افزایش داد و در واقع باعث تنظیم پتانسیل آب سلول در بخش سیتوزول برای مقابله با غلظت بالای یون‌های جذب و انباشـته شـده در واکوئل گردید. تجمع اسـمولیت‌هایی مثل قندها می‌تواند تا حدودی گیاهان را از اثرات تنش محافظت کند. به‌نظر می‌رسد که سدیم نیتروپرو ساید نقش مستقیمی در بیوسنتز قندها در شرایط تنش ندارد. قندهای محلول فقط در شرایط تنش با کاربرد تیمار سدیم نیتروپرو ساید نسبت به شاهد باعث افزایش مقاومت گیاه در شرایط تنش گردید (برقی و همکاران، ۲۰۲۱؛ حمیدی و همکاران، ۲۰۱۷). نتایج بررسـی اصـغری و همکاران (۲۰۲۰) در گیاه ریحان نشان داد که تجمع یون کادمیوم موجب تخریب غشا سلولی می شود و در نتیجه سبب افزایش میزان مالون دی آلدئید می‌گردد. واکنش نیتریک اکسـید با رادیکالهای آزاد موجب جلوگیری از آسـیب غشـا می‌شـود. کاربرد سـدیم نیتروپرو ساید به‌عنوان ترکیب رهاکننده نیتریک اکسید منجر به کاهش مقدار مالون دی آلدئید تحت تنش کادمیوم شده است که این به دلیل کاهش گونه‌های فعال اکسیژن مثل پراکسید هیدروژن در اندام‌های گیاه تحت تنش فلزات سنگین می‌باشـد که با نتایج این آزمایش همخوانی داشـت. نتایج داده‌های حاصـل از اندازه‌گیری فنل‌کل و فلاونوئید حاکی از آن اسـت که محتوای فنل‌کل و فلاونوئید برگ مریم گلی ترکه‌ای با افزایش غلظت کادمیوم افزایش یافته و تیمار سـدیم نیتروپروساید منجر به افزایش بیشتر فنل و فلاونوئید کل در تمام سطوح کادمیوم شد که با نتایج سایر محقیقن همخوانی دارد (گرامی و همکاران، ۲۰۱۸؛ موسـوی و رضـوی‌زاده،۲۰۲۱). تنش کادمیوم باعث افزایش میزان پروتئین محلول مریم‌گلی‌ترکه‌ای نسبت به شاهد گردید. تیمار سدیم نیتروپرو ساید باعث افزایش بیشتر پروتئین‌های محلول در سطوح مختلف کادمیوم شد که این نتایج با پژوهش گرامی و همکاران (۲۰۱۸) مطابقت داشت.

۴- نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد سدیم نیتروپروساید سمیت کادمیوم را در گیاه مریم‌گلی‌ترکه‌ای از طریق تنظیم ترکیبات بیوشیمیایی و حذف رادیکال‌های آزاد کاهش می‌دهد و سبب بهبود فرآیندهای گیاه در شرایط تنش کادمیوم می‌شود.

منابع

۱. اورمزدی, چلیبان, & فیروزه. (۲۰۰۶). مطالعه کشت بافت و اندام‌زایی در گیاه دارویی *Salvia nemorosa*. تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران, ۱۴(۲), ۶۹-۷۹.

۲. برقی, قلی پوری, عبدالقیوم, قویدل, صدقی, & محمد. (۲۰۲۱). اثر باکتری های محرک رشد، اسید سالیسیلیک و برا سینوا ستروئید بر ویژگی های فیزیولوژیک خردل سیاه تحت تنش کادمیوم. مجله پژوهش‌های تولید گیاهی, ۲۸(۱), ۱۵۳-۱۶۸.

۳. بنی اسدی, ارغوانی, صفاری, وحیدرضا, & منصوری. (۲۰۲۱). تأثیر نیتریک اکسید بر سمیت کادمیم با مطالعه برخی از صفات مرفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی تاج خروس (*Celosia argentea var. plumosa*). علوم باغبانی ایران, ۵۲(۳), ۷۴۳-۷۵۴.

۴. سلیم پور فهیمه, مازوجی علی, مظهر سیده فلور, & برزین گیتی. (۱۳۹۲). مقایسه خواص ضد باکتریایی اسانس چهار گونه گیاه دارویی مریم گلی. *Salvia L*. مجله پژوهشی دانشکده پزشکی، دوره ۳۷، شماره ۴، ۲۰۵-۲۱۰.

5. Amari, T., Ghnaya, T., Abdelly, C., 2017. Nickel, cadmium and lead phytotoxicity and potential of halophytic plants in heavy metal extraction. S. Afr. J. Bot. 111, 99–110.
6. Asghari, M., Masoumi Zavariyan, A., & Yousefi Rad, M. (2020). Investigating the effect of sodium nitroprusside in reducing cadmium toxicity in basil (Ocimum basilicum L.) plant. Environmental Stresses in Crop Sciences, 13(3), 1009-1018.
7. Ashraf, M. F. M. R., & Foolad, M. R. (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and experimental botany, 59(2), 206-216.
8. 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), pp.205-207.
9. 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(1-2), 248-254.
10. Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of food and drug analysis, 10(3).
11. Dobrikova, A. G., Apostolova, E. L., Hanć, A., Yotsova, E., Borisova, P., Sperdouli, I., ... & Moustakas, M. (2021). Cadmium toxicity in Salvia sclarea L.: An integrative response of element uptake, oxidative stress markers, leaf structure and photosynthesis. Ecotoxicology and Environmental Safety, 209, 111851.
12. Gao, X., Ohlander, M., Jeppsson, N., Björk, L. and Trajkovski, V., 2000. Changes in antioxidant effects and their relationship to phytonutrients in fruits of sea buckthorn (Hippophae rhamnoides L.) during maturation. J Agric Food Chem., 48(5), pp. 1485-1490.

13. Gerami, M., Ghorbani, A., & Karimi, S. (2018). Role of salicylic acid pretreatment in alleviating cadmium-induced toxicity in Salvia officinalis L. Iranian Journal of Plant Biology, 10(1), 81-96.
14. Hamidi, H., Masoudian, N., & Saeedisar, S. (2017). Nitric oxide effect on proline, soluble sugars and activity of antioxidant enzymes in Pb stress terms in Brassica napus L. Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology), 29(4), 775-782.
15. Heath, R. L., & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of biochemistry and biophysics, 125(1), 189-198.
16. Heidari, M., Esmaeilzadeh Bahabadi, S., & Sangtarash, M. (2021). Effect of Salicylic Acid on Physiological and Biochemical characteristics of Melissa officinalis L. under Cadmium Stress. Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology), 34(3), 694-707.
17. Jafari, S., Daneshvar, M. H., Salehi Salmi, M. R., & Lotfi Jalal-Abadi, A. (2017). Influence of putrescine and thidiazuron on in vitro organogenesis in Salvia officinalis L. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 25(2), 201-211.
18. Kamalvand, A. A., Hosseini Sarghein, S., & Karamian, R. (2022). Impact of cadmium stress on growth and physiological responses of fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.). Journal of Plant Physiology and Breeding, 12(1), 51-65.
19. Mohammadifard, F., & Moghaddam, M. (2020). The effect of cadmium toxicity on health and risk index, coexistence and activity of some coriander antioxidant enzymes inoculated with Mycorrhiza fungi. Journal of Cell & Tissue, 11(1), 55-72.
20. Mousavi, N., & Razavizadeh, R. (2021). Evaluation of changes in phenolic compounds and secondary metabolites of calluses and seedlings of Mellissa officinalis L. under cadmium heavy metal stress. Journal of Plant Process and Function, 10(41), 17-34.
21. Narimani, R., Moghaddam, M., & Shokouhi, D. (2017). The effect of different concentrations of sodium nitroprusside in alleviating oxidative damages caused by water stress of polyethylene glycol in medicinal plant of catmint hairless under in vitro condition. Journal of Plant Productions, 40(3), 77-88.
22. Paquin, R., & Lechasseur, P. (1979). Observations sur une méthode de dosage de la proline libre dans les extraits de plantes. Canadian Journal of Botany, 57(18), 1851-1854.
23. Samiei, L., Pahnehkolayi, M. D., Karimian, Z., & Nabati, J. (2020). Morpho-Physiological Responses of Halophyte Climacoptera crassa to Salinity and Heavy Metal Stresses in In Vitro Condition. South African Journal of Botany, 131, 468-474.
24. Şenkal, B. C., Uskutoğlu, T., Cesur, C., ÖZAVCI, V., & Doğan, H. (2019). Determination of essential oil components, mineral matter, and heavy metal content of Salvia virgata Jacq. grown in culture conditions. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 43(4), 395-404.