

برهم کنش نیترات کادمیوم و سالیسیلیک اسید بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان، پروتئین محلول و مالون‌دی‌آلدهید برگ گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) رقم صفه

خدیدجه بادپا، محسن موحدی دهنوی* و علیرضا یدوی

گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۷/۰۷؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۳/۲۱)

چکیده:

کادمیوم یکی از فلزات سنگین می‌باشد که در گیاهان تنش اکسیداتیو ایجاد می‌کند. در این راستا استفاده از تنظیم کننده‌های رشد گیاهی از جمله سالیسیلیک اسید جهت تخفیف اثرات سمی کادمیوم به عنوان گزینه‌ای مناسب مطرح می‌باشد. بدین منظور این مطالعه با هدف بررسی برهم کنش نیترات کادمیوم و سالیسیلیک اسید بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان، پروتئین محلول برگ و مالون‌دی‌آلدهید گلرنگ (رقم صفه) اجرا گردید. این آزمایش گلدانی در سال ۱۳۹۱ با آرایش فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی و چهار تکرار در دانشگاه یاسوج اجرا شد. عامل‌های آزمایش شامل چهار سطح نیترات کادمیوم (۰، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) و عامل دوم محلول‌پاشی با سالیسیلیک اسید در سه سطح (۰، ۵/۵ و ۱ میلی‌مولار) بود. نتایج نشان داد که با بالا رفتن سطح تنش میزان پروتئین محلول برگ کاهش ولی فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، پلی‌فنول‌اکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و همچنین میزان مالون‌دی‌آلدهید به طور معنی‌دار افزایش یافتند. همچنین با محلول‌پاشی روند افزایش فعالیت آنزیم‌ها معکوس گردید. بنابراین می‌توان گفت که محلول‌پاشی با سالیسیلیک اسید به عنوان یک مولکول پیام‌رسان اثرهای مضر حاصل از تنش را کاهش داد و سبب بهبود خصوصیات اندازه‌گیری شده در گلرنگ در شرایط تنش کادمیوم شد.

واژه‌های کلیدی: گلرنگ، نیترات کادمیوم، سالیسیلیک اسید، آنزیم‌های آنتی اکسیدان، مالون‌دی‌آلدهید

مقدمه:

استعمال کودهای فسفاته در محیط آزاد می‌شود. با وجود آن که کادمیوم ماده‌ای غیرضروری است، سریعاً به وسیله گیاهان جذب می‌شود و می‌تواند در محصولات آن‌ها تجمع یابد (پور اکبر و اشرفی، ۱۳۹۰). کادمیوم برای گیاه ضروری نیست، اما این فلز به راحتی از طریق پوست ریشه جذب و سپس از راه سیمپلاستی یا آپوپلاستی وارد آوند چوبی می‌شود و در گیاه تنش اکسیداتیو ایجاد می‌کند و سمیت آن ۲ تا ۲۰ برابر بیشتر از سایر فلزات سنگین است (Sanita- di Toppi and Gabbrielli, 1999). غلظت

در جهان سالانه مقادیر زیادی لجن فاضلاب تولید می‌شود که میزان قابل توجهی از آن به عنوان کود در زمین‌های کشاورزی استفاده می‌شود. حضور عناصر غذایی کم‌مصرف و نیز عناصر سمی مانند سرب، کادمیوم، جیوه و نیکل، استفاده زیاد از لجن در زمین‌های کشاورزی را محدود می‌کند (Adamu et al., 1989). کادمیوم از طریق فعالیت‌های انسانی، مثل استخراج معدن، ذوب فلزات، ترکیبات سوختی، فاضلاب‌های صنعتی و

*نویسنده مسئول، نشانی پست الکترونیکی: Movahhedi1354@yu.ac.ir

(Slaymarker *et al.*, 2002)، سوپراکسیددیسموتاز (Dat *et al.*, 1998؛ Scandalias, 1993)، پلی فنل اکسیداز (Dat *et al.*, 1998) و پراکسیدازها (El-Tayeb, 2005) اثرات سمی ناشی از فلزات سنگین را کاهش می دهد (Popova *et al.*, 2007).

گیاهان روغنی بعد از غلات، به عنوان دومین منبع تأمین کننده کالری برای جوامع بشری محسوب می شوند. گلرنگ یکی از گیاهان زراعی با اهمیت در تأمین روغن خوراکی با کیفیت عالی است (Kaffka and Kearney, 1998). با توجه به توان خوب گیاه گلرنگ در توسعه سیستم ریشه ای مستقیم خود در اعماق خاک، به شرایط خشکی و شوری تا حد زیادی مقاوم تر از گیاهان دیگر مانند گندم، چغندرقد و پنبه می باشد (Bassil and Kaffka, 2002). در حال حاضر در شرایط آب و هوایی خشک بعضی از مناطق کشور، به خصوص در خاک های شور و کم آب و آلوده، کشت این گیاه به وسیله کشاورزان مورد استقبال قرار گرفته است. با توجه به افزایش سطح زیر کشت این گیاه و استفاده بیش از اندازه از فاضلاب جهت حاصلخیز نمودن و به دنبال آن آلودگی خاک، بررسی ویژگی های فیزیولوژیک ناشی از تنش فلزات سنگین در این خصوص حائز اهمیت است. با توجه به موارد ذکر شده هدف از پژوهش حاضر بررسی اثرات فیزیولوژیک سمیت کادمیوم در گیاه گلرنگ (رقم صغه) و یافتن پاسخ به این سوال است که آیا محلول پاشی با سالیسیلیک اسید می تواند اثرات مثبتی در رفع آسیب های اکسیداتیو ناشی از سمیت نترات کادمیوم برای گیاه داشته باشد؟

مواد و روش ها:

به منظور بررسی برهم کنش نترات کادمیوم و محلول پاشی سالیسیلیک اسید بر میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان و مالون دی آلدئید در گلرنگ (رقم صغه) آزمایشی در تابستان ۱۳۹۱ در گلخانه زراعت دانشکده کشاورزی یاسوج انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار انجام شد. عامل اول شامل چهار سطح نترات کادمیوم (۰، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰) میلی گرم در کیلوگرم خاک و عامل دوم محلول پاشی سالیسیلیک اسید در ۳ سطح (۰، ۵/۵ و ۱) میلی مولار بود. واحدهای آزمایش شامل گلدان هایی به نسبت

بحرانی کادمیوم در خاک ۳ تا ۸ ppm گزارش شده است (پوراکبر و اشرفی، ۱۳۹۰). بررسی آلودگی اراضی زراعی کشور نشان می دهد که مقدار کادمیوم در بخشی از اراضی آلوده استان های گیلان، زنجان، اصفهان و چهارمحال و بختیاری به ترتیب معادل ۱/۹، ۱۸۰/۵، ۸۹/۴ و ۲۶۱۰/۴ میلی گرم بر کیلوگرم خاک است (ترابیان و بغوری ۱۳۷۳؛ شریعت و فرش، ۱۳۸۱؛ جعفرزاده حقیقی، ۱۳۷۵).

مواد آنتی اکسیدان موجود در گیاهان سبب خنثی سازی رادیکال های آزاد می گردند که از مهم ترین آن ها می توان آسکوربیک اسید، توکوفرول و گلوتاتیون را نام برد. سالیسیلیک اسید یا ارتو هیدروکسی بنزوئیک اسید و ترکیبات مربوطه، به گروه ترکیبات فنلی تعلق دارد (El-Tayeb, 2006). سالیسیلیک اسید به وسیله سلول های ریشه تولید می شود و در تنظیم فرایندهای فیزیولوژیکی مختلف مثل رشد و نمو گیاه، جذب یون، فتوسنتز و جوانه زنی نقش ایفا می کند (Raskin, 1992). سالیسیلیک اسید نقش کلیدی در تنظیم رشد گیاهان، نمو و برهم کنش با دیگر ارگانیسم ها و در پاسخ به تنش های محیطی را ایفا می کند. علاوه بر این نقش آن در جوانه زنی بذر، عملکرد میوه، گلیکولیز، گلدی، جذب یون و انتقال آن، سرعت فتوسنتز، هدایت روزه ای و تعرق، آشکار است (Arfan *et al.*, 2007). سالیسیلیک اسید نقش مهمی در خنثی سازی رادیکال های آزاد دارد (Raskin, 1992). سالیسیلیک اسید با عمل کلات کردن فلزات مقدار مالون دی آلدئید را در گیاهان تحت تنش فلز سنگین کاهش می دهد (Horvath *et al.*, 2007). سالیسیلیک اسید باعث بالا رفتن توان سیستم آنتی اکسیدانت بافت های گیاهی از طریق فعال کردن آنزیم های آنتی اکسیدانت سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز می شود و در نهایت میزان مالون دی آلدئید را در گیاهان تحت تنش کادمیوم کاهش می دهد (Popova *et al.*, 2007). در بررسی بر روی گیاه برنج فعالیت لیپوکسیژناز و مقدار مالون دی آلدئید تحت تنش کادمیوم کاهش یافت (Mishra *et al.*, 2009). گزارشات متعددی مبنی بر اثر سالیسیلیک اسید بر کاهش اثرهای سمیت ناشی از تنش های فلزات سنگین وجود دارد، از جمله سالیسیلیک اسید با اثر گذاشتن روی آنزیم های آنتی اکسیدان مانند کاتالاز

چهار به یک از خاک مزرعه و ماسه الک شده به اضافه نیم گرم کود سوپر فسفات تریپل به ازای هر گلدان بود (Shuhe *et al.*, 2010). تیمارهای نیترات کادمیوم به صورت اسپری به خاک اضافه و سپس خاک درون هر گلدان تا دهانه که ۵ سانتی‌متر فاصله داشته پر شد، و به مدت یک ماه رطوبت گلدان‌ها در حد ظرفیت مزرعه برای رسیدن به حالت تعادل حفظ شد (Shuhe *et al.*, 2010). درون هر گلدان تعداد ۶ عدد بذر گلرنگ در عمق ۳ سانتی‌متر قرار گرفت. قبل از کاشت بذرها با قارچ‌کش بنومیل مخلوط و ضد عفونی شدند. بعد از سبز شدن به چهار بوته در هر گلدان تنک شدند. گلدان‌ها از مرحله کاشت تا مرحله جوانه‌زنی با آب، به مقدار یکسان برای همه‌ی گلدان‌ها، آبیاری شدند و پس از ثبت تاریخ دقیق جوانه‌زنی (زمانی که ۵۰ درصد جوانه‌زنی انجام شد)، گلدان‌ها با نیم گرم کود اوره به ازای هر گلدان تغذیه شدند. در مرحله ۴ برگ‌ی اعمال سالیسیلیک اسید به صورت محلول‌پاشی شروع و سپس ۲ هفته بعد تکرار شد. در مرحله شروع گلدهی (Tanaka *et al.*, 1997) از یکی از واحدها نمونه‌گیری انجام شد. نمونه‌ها در طی انتقال به آزمایشگاه، پس از قرارگرفتن در ظرف حامل یخ برای اندازه‌گیری‌های مورد نظر به آزمایشگاه منتقل شد و تا زمان استفاده در دمای ۴۰- درجه‌سانتی‌گراد نگهداری شدند.

اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدهید: نمونه‌های منجمد به میزان ۰/۲ گرم در ۳ میلی‌لیتر TCA (تری‌کلرواستیک اسید) ۱۰٪ عصاره‌گیری شدند. سپس به یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون صاف شده ۱ میلی‌لیتر TBA (تیوباربی‌توریک اسید) ۰/۵٪ اضافه شد و در حمام آب گرم ۱۰۰ درجه‌سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفت. بعد از گذشت ۳۰ دقیقه، لوله‌ها از حمام آب گرم خارج شده و پس از سرد شدن میزان مالون‌دی‌آلدهید با اندازه‌گیری جذب در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر و با استفاده از ضریب خاموشی ($155 \mu\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$) محاسبه شد (Heath and Pacher, 1968). واحد اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدهید میکرومول بر گرم وزن تر برگ می‌باشد.

$$\text{MDA} = ((A_{532\text{nm}/155}) / (0.2)) - ((A_{600\text{nm}/155}) / (0.2))$$

۵۳۲ A: جذب در ۵۳۲ نانومتر، ۶۰۰ A: جذب در ۶۰۰ نانومتر،

۰/۲: وزن تر نمونه بر حسب گرم

اندازه‌گیری آنزیم‌های آنتی اکسیدان و پروتئین محلول برگ: به منظور سنجش فعالیت آنزیم‌های پلی‌فنل‌اکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CTA)، پراکسیداز (POD) و پروتئین محلول برگ از نمونه‌های منجمد عصاره آنزیمی تهیه گردید و جذب کلیه واکنش‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتری اندازه‌گیری شد. برای تهیه عصاره آنزیمی مقدار ۰/۵ گرم از بافت تازه برگ در هاون چینی سرد و در ظرف یخ با ۲ میلی‌لیتر از بافر فسفات ۰/۱ مولار با اسیدیته ۶/۸ (Dean, 1985) هم‌وزن شد و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۳۰۰ دور در دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. فاز بالایی عصاره (سوپرناتانت) بدست آمده برای اندازه‌گیری فعالیت ۳ آنزیم کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز و همچنین مقدار پروتئین محلول مورد استفاده قرار گرفت.

فعالیت کاتالاز از روش Horest و Cakmak (۱۹۹۱) اندازه‌گیری شد. طبق تعریف یک واحد کاتالاز مقدار آنزیمی است که موجب تجزیه یک میکرومول H_2O_2 در مدت یک دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد شود. بنابراین محلول واکنش حاوی ۰/۵ میلی‌لیتر H_2O_2 ۱۰ میلی‌مولار، ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم ۲۵ میلی‌مولار با $\text{pH} = 6.8$ و ۱۰۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی می‌باشد. با شروع تجزیه H_2O_2 در محیط، واکنش آغاز شد و میزان کاهش جذب در طول زمان در طول موج ۲۴۰ نانومتر و توسط اسپکتروفتومتر قرائت شد.

فعالیت سوپراکسید دیسموتاز برطبق روش Giannopolitis و Ries (۱۹۹۷) اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل، ۲ میلی‌لیتر بافر HEPES-KOH ۵۰ میلی‌مولار با $\text{pH} = 7.8$ حاوی EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، کربنات سدیم ۵۰ میلی‌مولار با L-methionine ۱۲ میلی‌مولار، $\text{pH} = 10.2$ ۷۵ میکرومولار، ریبولاون ۱ میکرومولار و ۲۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی می‌باشد. نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در شدت نور تقریباً ۸۰۰۰ لوکس قرار گرفت و پس از این مدت جذب آنها در طول موج ۵۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد.

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز از روش Hegar و همکاران (۱۹۹۶) انجام شد. معرف مورد نیاز گایاکول (Guaiacol) است. به ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، ۲ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم ۶۰ میلی مولار با $\text{pH}=6/1$ ، ۰/۵ میلی لیتر گایاکول ۲۸ میلی مولار و ۰/۵ میلی لیتر H_2O_2 ۵ میلی مولار اضافه کرده و جذب محلول در طول موج ۴۷۰ نانومتر قرائت گردید. واکنش در کووت آغاز و جذب بلافاصله در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد و به مدت یک دقیقه (با فواصل ۲۰ ثانیه) انجام شد.

سنجش فعالیت پلی فنل اکسیداز از روش Hegar و همکاران (۱۹۹۶) اندازه گیری شد. مخلوط واکنش شامل ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی، ۵۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه ی ۵ میلی مولار و ۵۰۰ میکرولیتر متیل کاتکول ۰/۰۲ میلی مولار در $\text{pH}=6/1$ میکرولیتر بافر پتاسیم فسفات ۶۰ میلی مولار با $\text{pH}=6/1$ می باشد. افزایش فعالیت آنزیم بر اساس شدت رنگ نارنجی متیل کاتکول تولید شده و در طول موج ۴۱۰ نانومتر و توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد و فعالیت آنزیمی به ازای تغییرات جذب به میکروگرم پروتئین در دقیقه بیان شد.

اندازه گیری پروتئین محلول برگ از روش Kar و Mishra (۱۹۷۶) و Liu و Huang (۲۰۰۴) استفاده شد. جهت اندازه گیری کمی پروتئین از روش Bradford (۱۹۷۶) استفاده شد. قرائت جذب نمونه ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر و رسم منحنی رگرسیون انجام شد.

محاسبات آماری: تجزیه آماری با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین های اثرات اصلی با آزمون حداقل میانگین مربعات (LSD) در سطح ۵٪ و برای صفاتی که اثر متقابل معنی دار داشتند از روش برش دهی و مقایسه میانگین به روش LSMeans استفاده گردید.

نتایج و بحث:

آنزیم کاتالاز: نتایج تجزیه واریانس بیانگر معنی دار بودن بروهمکش نیترات کادمیوم و سالیسیلیک اسید بر فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح یک درصد بود (جدول ۱). همچنین برش دهی (جدول ۲) نیز نشان داد که اثر محلول پاشی بر فعالیت آنزیم کاتالاز در همه سطوح نیترات کادمیوم در سطح آماری

یک درصد معنی دار بود. شکل ۱ نشان داد که بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز مربوط به سطح دوم محلول پاشی و کمترین میزان فعالیت آنزیم مربوط به سطح اول محلول پاشی بود. در سطح ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم نیترات کادمیوم بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز مربوط به سطح اول محلول پاشی و کمترین میزان فعالیت آنزیم مربوط به سطح سوم محلول پاشی بود. در سطح ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم نیترات کادمیوم بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز مربوط به سطح اول محلول پاشی و کمترین میزان فعالیت آنزیم مربوط به سطح سوم محلول پاشی بود. در سطح ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز مربوط به سطح اول محلول پاشی و کمترین میزان آن مربوط به سطح سوم محلول پاشی بود.

طبق نتایج بدست آمده از این آزمایش تنش کادمیوم فعالیت این آنزیم را افزایش داد و محلول پاشی با سالیسیلیک اسید سبب کاهش آن گردید (شکل ۱). سالیسیلیک اسید، فعالیت آنزیم کاتالاز که یک آنزیم پاکسازی کننده پراکسید هیدروژن بوده را کم کرده و در نتیجه با کاهش فعالیت این آنزیم سبب افزایش پراکسید هیدروژن در گیاه می شود (Horvath et al., 2007). اگرچه پراکسید هیدروژن در غلظت های بالا سمی است و به وسیله آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز از بین می رود، اما در غلظت های پایین می تواند نقش پیام رسان را در فرایندهای انتقال بازی کند و ژن های وابسته به مقاومت را در گیاه فعال کند (Foyer et al., 1997). همچنین گزارش هایی مبنی بر تغییر در الگوی فعالیتی آنزیم های آنتی اکسیدان در شرایط تنش عناصر سنگین و دیگر تنش های غیرزنده، تحت تیمارهای سالیسیلیک اسید و بدون آن داده شده است (Metwally et al., 2003) که نشان می دهد که سالیسیلیک اسید با باندشدن به آنزیم کاتالاز، سبب کاهش فعالیت آن در توتون (Chen et al., 1993) و چندین گونه ی دیگر گیاهی می شود (Sanchez-Casas and Klessing, 1994). در مطالعه حاضر تنش کادمیوم سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز شد. اسید سالیسیلیک با دارا بودن خواص آنتی اکسیدانی احتمالاً موجب پاکسازی یون سوپراکسید شده و از ایجاد

آنزیم پراکسیداز: با توجه به شکل ۲ بیشترین فعالیت

جدول ۱- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان، پروتئین محلول برگ و مالون‌دی آلدئید اندازه‌گیری شده در گلرنگ (رقم صفه)

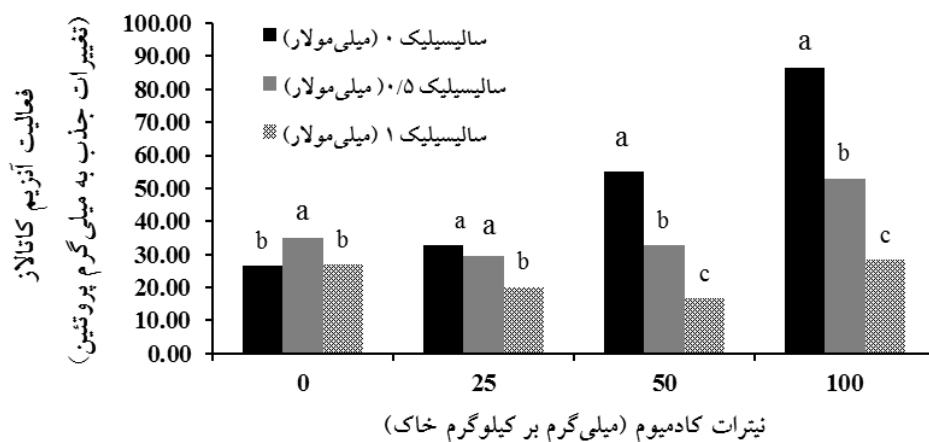
منابع تغییر	درجه آزادی	کاتالاز	پراکسیداز	پلی فنول اکسیداز	سوپراکسید دیسموتاز	مالون‌دی آلدئید	پروتئین محلول برگ
کادمیوم	۳	۲۰۴۵/۷۲**	۱۷۹۹/۳۶**	۱۷۰۵/۷۸**	۳۶۴/۸۷**	۳۸۵/۹۷**	۲۷۲۵/۴۰**
محلول پاشی	۲	۲۱۹/۲۰**	۷۱/۶۹**	۱۶۳/۲۲**	۳۴۸۱/۵۱**	۱۵۰/۷۴**	۱۲۸/۱۹**
کادمیوم×محلول پاشی	۶	۱۷۲۷/۳۰**	۲۰۰/۵۷**	۸۸۷/۷۱**	۱۱۴۲/۷۸**	۵۳/۷۰**	۸۱۲/۶۹**
خطا	۳۶	۸/۰۲۳	۱۰/۱۲۷	۲۲/۰۱۰	۲۵/۶۱۳	۸/۴۷۱	۷/۴۸۸
ضریب تغییرات		۷/۶۷	۹/۸۵۴	۶/۶۶	۶/۴۶۳	۱۳/۵۱	۴/۰۶

ns، * و ** به ترتیب عدم وجود اختلاف معنی‌دار، معنی‌دار در سطوح احتمال ۵٪ و ۱٪ را نشان می‌دهد.

جدول ۲- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس اثر سالیسیلیک اسید در سطوح مختلف تنش کادمیوم در گلرنگ رقم صفه بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان و مالون‌دی آلدئید

کادمیوم	درجه آزادی	کاتالاز	پراکسیداز	پلی فنول اکسیداز	سوپراکسید دیسموتاز	مالون‌دی آلدئید	پروتئین محلول برگ
۰	۲	۹۲/۸۶**	۱۳۸/۳۲**	۲۳۳۰/۱۷**	۱۴۹۲/۹۶**	۱۷۸/۵۵**	۳۵۱/۰۰**
۲۵	۲	۱۷۶/۰۸**	۱۳۳/۳۶**	۳۵۸/۰۷**	۴۷۰۲/۲۶**	۳۳/۳۷**	۱۴۲۶/۰۸**
۵۰	۲	۱۴۹۴/۳۲**	۹۴۳/۵۲**	۱۰۵/۴۴*	۶۷۷/۵۲**	۹۳/۹۵**	۱۲۷/۸۵**
۱۰۰	۲	۳۴۳۷/۸۵**	۴۸۵۸/۱۷**	۳۲۰/۶۶**	۳۷۰/۱۰**	۳۵/۹۵**	۶۶۱/۳۴**

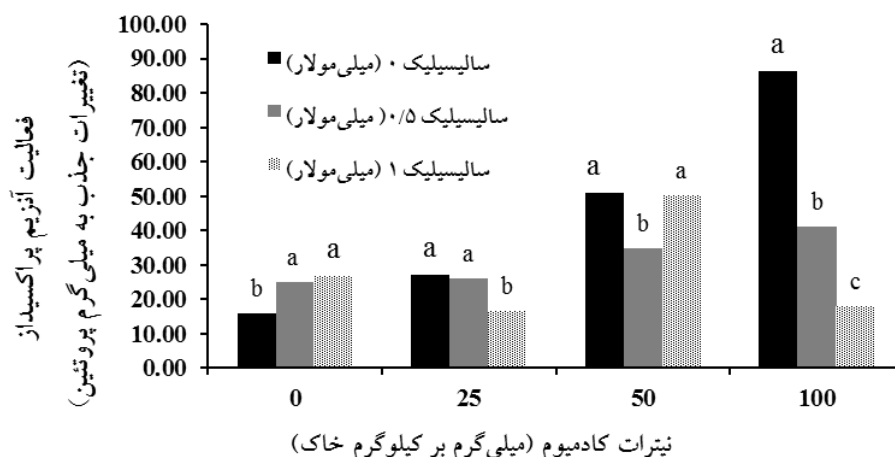
ns، * و ** به ترتیب عدم وجود اختلاف معنی‌دار، معنی‌دار در سطوح احتمال ۵٪ و ۱٪ را نشان می‌دهد.



شکل ۱- برهم کنش نیترات کادمیوم و سالیسیلیک اسید برای فعالیت آنزیم کاتالاز (در هر سطح نیترات کادمیوم حروف مشابه روی ستون‌ها نشان‌دهنده عدم معنی‌دار بودن تفاوت بین میانگین‌های سطوح سالیسیلیک اسید می‌باشد).

بر کیلوگرم نیترات کادمیوم بیشترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز مربوط به سطح اول محلول پاشی و کمترین میزان آن مربوط به سطح سوم محلول پاشی بود. در سطح ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیترات کادمیوم نیز بیشترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز مربوط به سطح اول محلول پاشی و کمترین میزان آن

آنزیم پراکسیداز مربوط به سطح سوم محلول پاشی و کمترین میزان آن مربوط به سطح اول محلول پاشی بود. در سطح ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیترات بیشترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز مربوط به سطح اول محلول پاشی و کمترین آن مربوط به سطح سوم محلول پاشی بود. در سطح ۵۰ میلی‌گرم



شکل ۲- برهم کنش نیترات کادمیوم و سالیسیلیک اسید برای فعالیت آنزیم پراکسیداز (در هر سطح نیترات کادمیوم حروف مشابه روی ستون‌ها نشان‌دهنده عدم معنی‌دار بودن تفاوت بین میانگین‌های سطوح سالیسیلیک اسید می‌باشد).

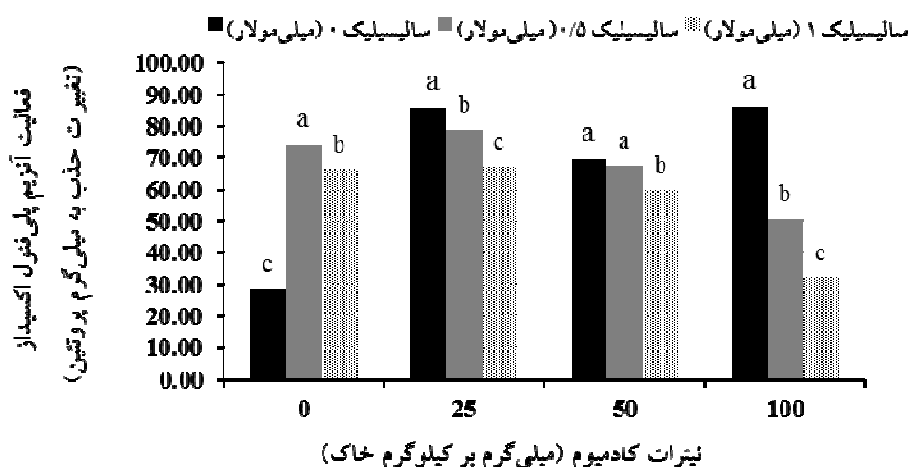
همکاران، ۱۳۸۴). از جمله بیشترین مطالعاتی که روی این آنزیم‌ها صورت گرفته است مربوط به آنزیم استخراجی از ریشه‌های *Armoracia rusticana* است. در شرایط تنش افزایش میزان گونه‌های فعال اکسیژن موجب خسارت به اساسی‌ترین ماکرومولکول‌های سلول نظیر پروتئین، چربی، اسید نوکلئیک و رنگدانه‌ها می‌گردد (جبّاری و همکاران، ۱۳۸۴). پراکسیدازها آیزوایزیم‌های مختلفی دارند که هر کدام از آن‌ها وظایف مختلفی، مانند مقاومت به خشکی، گرما، شوری و عوامل بیماری‌زا (Upadhyaya, 2004) دارند. بنابر این نتایج نشان می‌دهد که کاربرد اسید سالیسیلیک تا حدی موجب برطرف شدن برخی اثرهای سمی و مخرب تنش ناشی از کادمیوم در گیاه می‌گردد.

پلی‌فنول اکسیداز: جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد برهم کنش نیترات کادمیوم و محلول پاشی سالیسیلیک اسید بر فعالیت آنزیم پلی‌فنول اکسیداز در سطح یک درصد معنی‌دار بود. جدول برش دهی (جدول ۲) نشان داد که اثر محلول پاشی در همه‌ی سطوح نیترات کادمیوم در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود به جزء در سطح سوم نیترات کادمیوم که در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین نیترات کادمیوم و محلول پاشی سالیسیلیک اسید (شکل ۳) نشان داد که در سطح اول نیترات کادمیوم (شاهد) بیشترین میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنول اکسیداز مربوط به سطح دوم محلول پاشی و کمترین

مربوط به سطح سوم محلول پاشی بود.

در این مطالعه میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز با افزایش غلظت کادمیوم افزایش یافت که تیمار با سالیسیلیک اسید سبب کاهش فعالیت این آنزیم شد (شکل ۲). پراکسیداز نقش مهمی را در پاکسازی پراکسید هیدروژن با استفاده از اسید سالیسیلیک بازی می‌کند، چرا که سالیسیلات دهنده‌ی الکترون بوده و سبب احیاء پراکسید هیدروژن به آب می‌شود (Singh et al., 1999). تیمارهای بدون تنش کمترین میزان فعالیت این آنزیم را نشان دادند. چنین به نظر می‌رسد که کاهش یون سوپراکسید توسط اسید سالیسیلیک تولید این ماده را کاهش داده و در نتیجه فعالیت آنزیم پراکسیداز برای تجزیه پراکسید هیدروژن کاهش می‌یابد. به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، ناشی از مصرف اسید سالیسیلیک، به اثر غیر مستقیم اسید سالیسیلیک بر آنزیم‌ها بر می‌گردد.

تنش کادمیوم فعالیت آنزیم پراکسیداز را افزایش می‌دهد و پیش تیمار با اسید سالیسیلیک سبب کاهش میزان آن گردید که با نتایج Shalini و Duey (2003) بر روی برنج مطابقت دارد. پراکسیدازها از جمله آنزیم‌هایی به شمار می‌روند که نقش بسیار مهمی را در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی دارند، پراکسیدازها مسئول حذف مقادیر اضافی پراکسید هیدروژن می‌باشند که اسید سالیسیلیک می‌تواند به عنوان یک سوپراترای دهنده‌ی الکترون برای پراکسیداز عمل نماید (جبّاری و



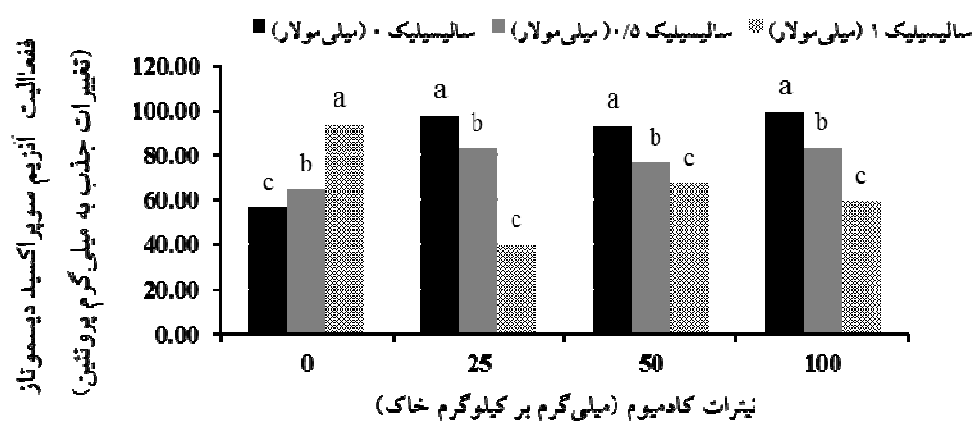
شکل ۳- برهم‌کنش نیترات کادمیوم و محلول پاشی سالیسیلیک اسید برای فعالیت آنزیم پلی‌فنول اکسیداز (در هر سطح نیترات کادمیوم حروف مشابه روی ستون‌ها نشان‌دهنده عدم معنی‌دار بودن تفاوت بین میانگین‌های سطوح سالیسیلیک اسید می‌باشد).

پلی‌فنل اکسیداز در تنش کادمیوم در رابطه با رها کردن پراکسیداز از دیواره‌های سلولی می‌باشد که تیمار با سالیسیلیک اسید اثرات مخرب ناشی از کادمیوم را کاهش داد (Zhang, 2007). و همچنین بیان شده که فعالیت آنزیم پلی‌فنول اکسیداز تحت تأثیر افزایش غلظت کادمیوم افزایش یافت و بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در تیماری مشاهده شد که بیشترین غلظت کادمیوم را داشت و تحت تأثیر پیش‌تیمار اسید سالیسیلیک قرار گرفته (Popova et al., 2008). Metwally و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند پیش‌تیمار بذر جو با اسید سالیسیلیک ۰/۵ میلی‌مولار سبب کاهش در میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنول اکسیداز در تنش کادمیوم شد.

آنزیم سوپراکسید دیسموتاز: جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) بیانگر معنی‌دار بودن برهم‌کنش نیترات کادمیوم و محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید برای فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در سطح احتمال یک درصد بود. جدول برش دهی (جدول ۲) نیز نشان داد که اثر محلول‌پاشی بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در تمامی سطوح کادمیوم در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین نیترات کادمیوم و محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید (شکل ۴) نشان داد در کمترین آن مربوط به سطح اول محلول‌پاشی بود. در سطح ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیترات کادمیوم بیشترین میزان فعالیت

میزان آن مربوط به سطح اول محلول‌پاشی بود. در سطح ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیترات کادمیوم بیشترین میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز مربوط به سطح اول محلول‌پاشی و کمترین میزان آن مربوط به سطح سوم محلول‌پاشی بود. در سطح ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیترات کادمیوم بیشترین میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز مربوط به سطح اول محلول‌پاشی و کمترین میزان آن مربوط به سطح سوم محلول‌پاشی بود. در سطح ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیترات کادمیوم بیشترین میزان آنزیم پلی‌فنول اکسیداز مربوط به سطح اول محلول‌پاشی و کمترین آن مربوط به سطح سوم محلول‌پاشی بود.

در این مطالعه با افزایش غلظت کادمیوم میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنول اکسیداز افزایش یافت که تیمار با سالیسیلیک اسید با غلظت بالا اثرات مخرب ناشی از کادمیوم را کاهش داد (شکل ۳)، که با آزمایش Metwally و همکاران (2003) بر روی جو همخوانی دارد، آن‌ها بیان کردند که فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در بافت‌های برگ و ریشه با افزایش غلظت کادمیوم افزایش می‌یابد و همچنین بیان داشتند که تحمل به تنش کادمیوم توسط آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان حفظ شده، بنابراین چنین استدلال کردند که افزایش سطوح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تحت تنش یک تأثیر استراتژیک برای تحمل به تنش در گیاهان حساس می‌باشد. گزارش شده که افزایش در فعالیت آنزیم

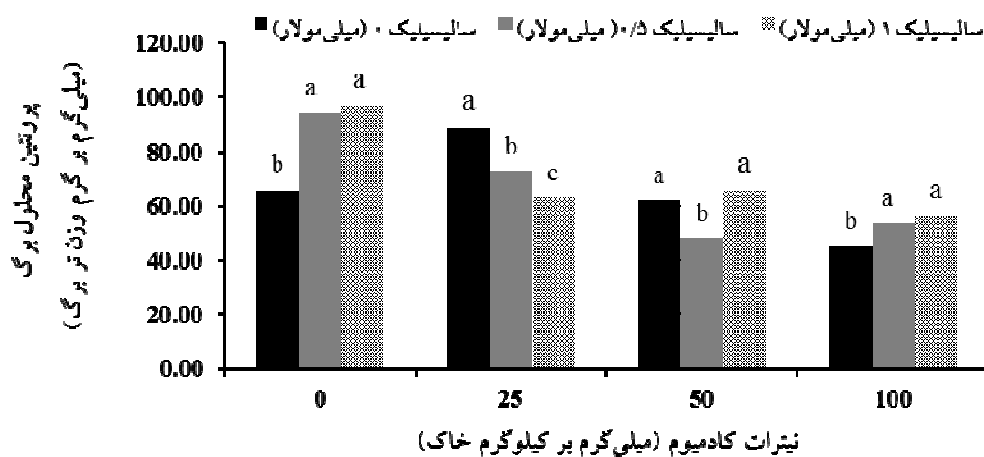


شکل ۴- برهم کنش نیترات کادمیوم و سالیسیلیک اسید برای فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (در هر سطح نیترات کادمیوم حروف مشابه روی ستون‌ها نشان‌دهنده عدم معنی‌دار بودن تفاوت بین میانگین‌های سطوح سالیسیلیک اسید می‌باشد).

پروتئین محلول برگ: نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که برهم‌کنش نیترات کادمیوم و محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید برای پروتئین محلول برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. همچنین جدول برش دهی (جدول ۲) نشان داد که اثر محلول‌پاشی بر مقدار پروتئین محلول برگ در همه‌ی سطوح کادمیوم در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. شکل ۵ نشان داد که در سطح بدون تنش نیترات کادمیوم بیشترین میزان پروتئین محلول مربوط به سطح سوم محلول‌پاشی و کمترین میزان پروتئین محلول مربوط به سطح اول محلول‌پاشی بود. در سطح ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیترات کادمیوم بیشترین میزان پروتئین محلول مربوط به سطح اول محلول‌پاشی و کمترین میزان پروتئین محلول مربوط به سطح سوم محلول‌پاشی بود. در سطح ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیترات بیشترین میزان پروتئین محلول مربوط به سطح سوم محلول‌پاشی و کمترین میزان پروتئین محلول مربوط به سطح دوم محلول‌پاشی بود. در سطح ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیشترین میزان پروتئین محلول سوم محلول‌پاشی و کمترین میزان پروتئین محلول دوم محلول‌پاشی بود. در این مطالعه با افزایش تنش کادمیوم، پروتئین محلول سطح بدون تنش نیترات کادمیوم بیشترین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز مربوط به سطح سوم محلول‌پاشی و برگ

آنزیم سوپراکسید دیسموتاز مربوط به سطح اول محلول‌پاشی و کمترین میزان مربوط به سطح سوم محلول‌پاشی بود. در سطح ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیترات کادمیوم بیشترین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز مربوط به سطح اول محلول‌پاشی و کمترین میزان آن مربوط به سطح سوم محلول‌پاشی بود. در سطح ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیترات کادمیوم نیز بیشترین میزان فعالیت آنزیم مربوط به سطح اول محلول‌پاشی و کمترین میزان آن مربوط به سطح سوم محلول‌پاشی بود.

در این مطالعه با افزایش غلظت کادمیوم میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز افزایش یافت که تیمار با سالیسیلیک اسید اثرات ناشی از تنش اکسیداتیو نیترات کادمیوم را کاهش داد (شکل ۴) که این با نتایج Guo و همکاران (۲۰۰۷) بر روی برنج همخوانی دارد. سالیسیلیک اسید به عنوان یک مولکول سیگنال با تغییر فعالیت آنزیم‌های متابولیز کننده پراکسید هیدروژن (H_2O_2) در تنظیم پراکسید هیدروژن (H_2O_2) شرکت می‌کند (Chen et al., 1993). چنین به نظر می‌رسد که در تیمار صفر میلی‌گرم بر کیلوگرم نیترات کادمیوم افزایش غلظت سالیسیلیک اسید خود به عنوان یک تنش در گیاه عمل نموده و با بالا رفتن فعالیت آنزیمی مشاهده شده را سبب می‌شود که این با نتایج (Metwally et al., 2003) بر روی جو همخوانی دارد.



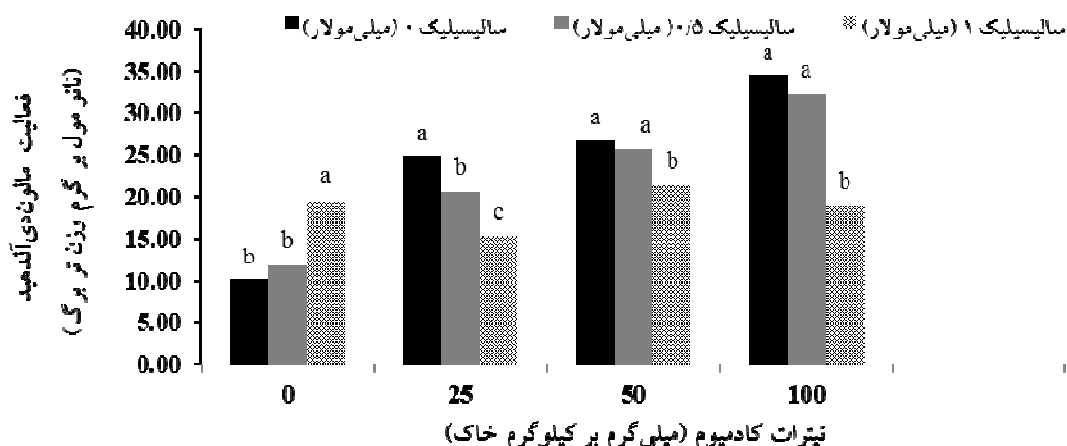
شکل ۵- برهم‌کنش نیترات کادمیوم و سالیسیلیک اسید برای پروتئین محلول برگ (در هر سطح نیترات کادمیوم حروف مشابه روی ستون‌ها نشان‌دهنده عدم معنی‌دار بودن تفاوت بین میانگین‌های سطوح سالیسیلیک اسید می‌باشد).

اسید در سطح احتمال یک درصد بود. جدول برش دهی (جدول ۲) نیز نشان دهنده معنی‌دار بودن اثر محلول‌پاشی بر مالون‌دی‌آلدهید در همه‌ی سطوح نیترات کادمیوم در سطح احتمال یک درصد، به جزء در سطح ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیترات کادمیوم که در سطح پنج درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین نیترات کادمیوم و محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید (شکل ۶) نشان داد در سطح بدون تنش نیترات کادمیوم بیشترین میزان مالون‌دی‌آلدهید در سطح سوم محلول‌پاشی و کمترین آن مربوط به سطح اول محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید بود. در سطح ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیترات کادمیوم بیشترین میزان مالون‌دی‌آلدهید در سطح اول محلول‌پاشی و کمترین میزان مالون‌دی‌آلدهید در سطح سوم محلول‌پاشی بود. در سطح ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیترات کادمیوم بیشترین میزان مالون‌دی‌آلدهید مربوط به سطح اول محلول‌پاشی و کمترین میزان آن مربوط به سطح سوم محلول‌پاشی بود. در سطح ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیترات کادمیوم بیشترین میزان مالون‌دی‌آلدهید مربوط به سطح اول محلول‌پاشی و کمترین میزان آن مربوط به سطح سوم محلول‌پاشی بود.

در این مطالعه با افزایش غلظت نیترات کادمیوم میزان مالون‌دی‌آلدهید افزایش یافت که تیمار با اسید سالیسیلیک

بطور محسوس کاهش یافت که با محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید این میزان افزایش یافت (شکل ۵). (Khudsar et al., 2001) نیز کاهش میزان پروتئین کل را در گیاه لپه هندی با افزایش غلظت کادمیوم گزارش کردند. تنش فلزات سنگین با تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن سبب تخریب ساختار پروتئین‌ها و اسید آمینه‌ها می‌شوند، همچنین رادیکال‌های آزاد اکسیژن میل ترکیبی بالایی با پروتئین داشته و سبب اکسید شدن آن‌ها می‌شوند (Khudsar et al., 2001). اسید سالیسیلیک از اکسید شدن و تخریب ساختار پروتئین‌ها جلوگیری به عمل می‌آورد (El-Tayeb et al., 2006). محتوای پروتئین به میزان اختلاف بین سنتز و تجزیه آن بستگی دارد. پژوهشگران متعددی کاهش مقدار پروتئین و افزایش نیترات، آمونیم و اسیدهای آمینه آزاد را تحت شرایط تنش کادمیوم گزارش کردند (Rane et al., 1995). رادیکال‌های آزاد اکسیژن تولید شده طی تنش به علت میل ترکیبی زیادی که با پروتئین‌ها و لیپیدها دارند باعث تخریب غشای سلولی، اسید نوکلئیک و پروتئین‌های سلول می‌شوند. استفاده از اسید سالیسیلیک، سبب افزایش محتوای پروتئین اندام هوایی در جو شد (El-Tayeb et al., 2006).

مالون‌دی‌آلدهید برگ: نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) بیانگر معنی‌دار بودن برهم‌کنش نیترات کادمیوم و سالیسیلیک



شکل ۶- برهم کنش نیترات کادمیوم و سالیسیلیک اسید برای مالون دی آلدئید (در هر سطح نیترات کادمیوم حروف مشابه روی ستون‌ها نشان‌دهنده عدم معنی‌دار بودن تفاوت بین میانگین‌های سطوح سالیسیلیک اسید می‌باشد).

اسید سالیسیلیک با پاکسازی رادیکال‌های آزاد، از اکسیداسیون چربی‌ها جلوگیری نموده و مانع افزایش مالون دی آلدئید شود. همچنین رادیکال‌های آزاد می‌توانند به ساختار پروتئین‌ها آسیب بزنند و از بین رفتن پروتئین‌ها را در پی داشته باشند (Noctor and Foyer, 1998). میزان پراکسیداسیون لیپید همانند تجمع مالون دی آلدئید در بافت گیاهچه‌های برنج در تنش کادمیوم افزایش یافت در حالی که در شرایط حضور اسید سالیسیلیک یک میلی مولار میزان مالون دی آلدئید به طور معنی‌داری کاهش یافت (Mishra and Chouhouri, 1999).

نتیجه‌گیری:

نتایج این تحقیق نشان داد که تنش نیترات کادمیوم اثرهای فیزیولوژیک خود را از طریق افزایش مالون دی آلدئید، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، پلی فنول اکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز بروز می‌دهد، که همگی نتیجه بروز تنش اکسیداتیو در سلول است. محلول پاشی با سالیسیلیک اسید یک میلی مولار اثر کاهنده بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان، و مالون دی آلدئید برگ داشته و نشان می‌دهد که توانسته تا حدودی از اثرات سمیت کادمیوم در برگ گیاه گلرنگ ممانعت نماید.

سبب کاهش در اکسیداسیون چربی‌های غشاء سلولی و کاهش محتوای مالون دی آلدئید در برگ‌ها گردید (شکل ۶). مصرف اسید سالیسیلیک باعث کاهش غلظت مالون دی آلدئید گردید و در بین غلظت آن‌ها نیز از این نظر اختلاف وجود داشت به طوری که غلظت یک میلی مولار از اسید سالیسیلیک باعث کاهش بیشتری در محتوای مالون دی آلدئید شد. اسیدهای چرب و لیپیدها حساسیت زیادی به اکسیژن دارند و به سرعت اکسید می‌شوند از آنجایی که غشای سلولی یک غشاء فسفولیپیدی می‌باشد واکنش اکسیژن با آن سبب تخریب غشاء سلولی و ترشح الکترولیت‌ها به بیرون سلول می‌شود. اسید سالیسیلیک با پاکسازی اکسیژن فعال سبب کاهش در اکسیداسیون چربی‌های غشاء سلولی و کاهش محتوای مالون دی آلدئید می‌گردد. افزایش مالون دی آلدئید در برگ‌هایی که تحت پیش تیماری قرار نگرفته‌اند بیشتر و با افزایش غلظت کادمیوم غلظت مالون دی آلدئید زیاد شد. کاهش آسیب غشاء سلولی در پاسخ به تیمار اسید سالیسیلیک می‌تواند نمایانگر مسئله القاء سیستم دفاع آنتی اکسیدانی به وسیله اسید سالیسیلیک، با از بین بردن رادیکال‌های آزاد به طور مستقیم و یا توسط آنزیم‌های آنتی اکسیدان باشد. که خسارت ناشی از این گونه‌های فعال را کاهش می‌دهد و در نتیجه پراکسیداسیون لیپیدی غشاء کاهش یافته است. این گونه به نظر می‌رسد که

منابع:

- Induced by Salicylic acid or Heat Acclimation in Mustard seedlings. *Plant Physiology* 116: 1351-1357.
- Dean, J. A. (1985) *Legends handbook of chemistry* CRC Press, pp: 5: 96-101.
- El-Tayeb, M. A. El-Enany and. Ahmed.N. L. (2006) Salicylic acid-induced adaptive response to copper stress in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Plant Growth Regulation* 50: 191-199.
- Foyer, C. H., Lopez-Delgado, H., Dat, J. F. and Scott, I. M. (1997) Hydrogen peroxide- and glutathione associated mechanisms of acclamatory stress tolerance and signaling. *Plant Physiology* 100: 241-254.
- Ghanati, F., Morita, A. and Yokota, H. (2002) Induction of sobering and increase of lignin content by execs Boron in Tobacco cell. *Soil Science* 48: 357-364.
- Giannopolitis, C. and Ries, S. (1997) Super oxide dismutase occurrence in higher plant. *Plant Physiology* 59: 304-314.
- Guo, B., Liang, Y., Zhu, C., and Zhao, Y. G. (2007) Role of salicylic acid in alleviating oxidative damage in rice roots (*Oryza sativa* L.) subjected to cadmium stress. *Environmental Pollution* 147:743-749.
- Heath, R. L. and Pacher, L. (1969) Photo per oxidation in isolated chloroplast I Kinetics and stanchion me try of fatty acid per oxidation. *Arch Biochemical Biophysics* 125: 189-198.
- Hegar, H., Ueda, N. and Shal, S. V. (1996) Role of reactive oxygen metabolites in DNA damage and cell death in chemical hypoxic injury LLC-PK1 cells. *American Journal of Plant Physiology* 271: 209-215.
- Horvath, E., Janda, T. S. and Paldi, G. (2007) In vitro salicylic acid inhibition of catalae activity in maize: differences between the isozymes and a possible role in the induction of chilling tolerance. *Plant Science* 163: 1129-1135.
- Kaffka, R. S. and Kearney, T. E. (1998) Safflower production in California. *Agricultural and Natural Resources* 50: 9-15.
- Kar, M. and Mishra, D. (1976) Cataloes, Peroxides and poly phenol oxides activities during rice leaf senescence. *Plant Physiology* 57: 315-319.
- Khudsar, T., Mahmooduzzafar, M. and Iqbal, M. (2001) Cadmium induced changes in leaf epidermis, photosynthetic rate and pigment concentrations in *Cajanus cajan*. *Journal Biology* 44: 59-64.
- Liu, X. and Huang, B. (2004) Heat stress injury in relation to membrane lipid per oxidation in creeping. *Crop Science* 40: 503-510.
- Mishra, A. and Choudhuri, .M. A. (1999) Effect of salicylic acid on heavy metal-induced membrane deterioration mediated by lipoxy genes in rice. *Biological Planetarium* 42: 409-415.
- Mishra, R., Tripahti, D., Srivas, S. and Kumar, S. T. (2009) Thiele metabolism play sign cant role during cadmium detoxify, action by Cerate phylum
- پوراکبر، ل. و اشرفی، ر. (۱۳۹۰). اثر کادمیوم بر میزان تولید هیدروژن پراکسید و فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در گیاه ذرت، نشریه علوم دانشگاه تربیت معلم ۴۷۳-۴۸۴.
- ترایان، ع. و بغوری، ا. (۱۳۷۳). بررسی آلودگی‌های ناشی از کاربرد پساب‌های شهری و صنعتی در اراضی کشاورزی جنوب تهران، *مجله محیط شناسی* ۳۲: ۴۵-۲۳.
- جباری، ف.، ع. احمدی، ک. پوستینی و علیزاده، ح. (۱۳۸۴). ارتباط بین بعضی از انواع آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و غشاء سلولی و مقاومت کلروفیل به تحمل خشکی در ارقام گندم حساس، *مجله علوم کشاورزی ایران* ۳۰۷-۳۱۶: ۳۷(۲).
- جعفرزاده حقیقی، ن. (۱۳۷۵). تأثیر فاضلاب شیراز در آبیاری محصولات کشاورزی بر افزایش غلظت فلزات سنگین در خاک و برخی محصولات کشاورزی، *دومین کنگره ملی مسائل آب و خاک کشور* ۳۰۳-۳۱۰.
- شریعت، م. و فرش، ص. (۱۳۸۱). مقدار عناصر سنگین محصولات در جنوب تهران، *مجموعه مقالات آب و خاک*، ۵: ۲۵-۱۳.
- Adamu, C. A., Bell, P. F., Mulchi, C. and Chaney, R. (1989) Residual metal concentration in tobacco decade following farm and application of municipal sludge. *Journal of Environmental Pollution* 56: 113 -126.
- Arfan, M., Athar, H. R. and Ashraf, M. (2007) Does exogenous application of salicylic acid through the rooting medium modulate growth and photosynthetic capacity in two differently adapted spring wheat cultivars under salt stress? *Journal Plant Physiology* 6: 685-694.
- Bassil, E. S. and KaffKa, R. (2002) Response of safflower to saline soils and irrigation, Consumptive water use. *Agriculture Water Management* 54: 67 - 80.
- Bradford, M. (1976) Arapid and sensitive method for the quantization of protein utilizing the principle of protein- day binding. *Annual Review of Biochemistry* 72: 248- 254.
- Chen, Z., Ricigliano, J. R. and Klessig, D. F. (1993) Purification and characterization of a soluble salicylic acid binding protein from tobacco. *Soil Science* 90: 9533-9537.
- Dat, J., Lopez Delgado, F., Foyer, H. and Scott, C. H. (1998) Parallel Changes in during Thermo tolerance

- newly discovered hyper accumulator *Selenium unigram* L. Journal of Hazardous Materials 176: 269-273.
- Singh, N., Singh, R., Kulwinder, K. and Singh, H. (1999) Studies of the physic-chemical properties and poly phenol oxides activity in seeds from hybrid sundowner (*Helianthus annuus*) varieties grown in India. Food Chemistry Plant Physiology 66: 241-247.
- Slaymarker, D. H., Navarre, D. A., Clark, O. D., Martin, G. B. and. Klessig, D. F. (2002) The tobacco salicylic acid- binding protein 3 (SABP3) is the chloroplast carbonic anhydrase, which exhibition antioxidant activity and plays a role in the hypersensitive defense response. Plant Physiology 99: 11640- 11645.
- Tanaka, D. L., Riveland, N. R., Bergman, J. W. and Schneiter, A. A. (1997) Safflower plant development stages. IVth International Safflower Conference, Bari 2-7 June.
- Upadhyaya, H. and Panda, S. K. (2004) Response of camellia sinuses to drought and dehydrations. Biological Planetarium 48: 597-600.
- Zawoznik, M. S., Gropp, M., Tomar, D. and Benavides, M. P. (2007) Endogenous salicylic acid potentiates cadmium induced oxidative stress in *Arabidopsis thaliana*. Plant Science 173: 190-19.
- Zhang, J. and Kirkham, M. B. (2007) Lipid per oxidation in sorghum and sunflower seedlings as affected by ascorbic acid, benzoic acid and propel gal late. Journal of Plant Physiology 149: 489- 493.
- dimerism L. Bore source Technology 100: 2155-2161.
- Noctor, G. and Foyer, C. H. (1998) Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control. Annual Review of Plant Physiology and Biology 49: 249-279.
- Popova, L., Maslenkova, L., Yordanova, R., Krantev, A., Szalai, G. and Janda, T. (2008) Salicylic acid protects photosynthesis against cadmium toxicity in pea plants. Plant Physiology 34: 133-148.
- Qinghua, S. H. and Zhujun, Z. (2008) Effect of exogenous salicylic acid on manganese's toxicity, element contents and ant oxidative system in cucumber. Environmental and Experimental Botany 63: 317-326.
- Raskin, I. (1992) Role of salicylic acid in plants. Annual Review Plant Physiology 43: 439- 463.
- Sanchez-Casas, P. and Klessig, D. F. (1994) A salicylic acid-binding activity and a salicylic acid inhabitable cataloes activity is present in a variety of plant species. Plant Physiology 106: 1675-1679.
- Sanita-di Toppi, L. and Gabbrielli, R. (1999) Response to cadmium in higher plants- review. Environmental and Experimental Botany 41:105-130.
- Shalini, V. R. and Duey, S. (2003) Lead toxicity induced lipid per oxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plant, Plant Science 164: 1645-1655.
- Shuhe, W., Yunmeng, L., Qixing, Z. and Siuwai, C. (2010) Effect of fertilizer amendments on phytoremediation of Cd-contaminated soil by a

