تأثیر سرب و اسپرمیدین بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis* L.)

مهرنوش محمدی، منیره رنجبر* و لیلا امجد

گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، اصفهان، ایران

(تاریخ دریافت: ١٣٩٤/٠٩/٠٣، تاریخ پذیرش نهایی: ١٣٩٥/٠٤/٣٠)

چکیده:

ورود فلزات سنگین از طریق فعالیت‌های انسانی باعث آلودگی خاک‌ها می‌شود. جهت کاهش اثرات فلزات سنگین از پلی آمین‌ها استفاده می‌شود. در این پژوهش اثرات سرب و اسپرمیدین بر گیاه *Salvia officinalis.* L مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار انجام شد. از نیترات سرب با غلظت‌های صفر، ١٢٥،٢٥٠، ٥٠٠ و ١٠٠٠ میکرومولار و اسپرمیدین با غلظتهای صفر و یک میلی مولار استفاده شد. طول، وزن‌تر و خشک گیاه، فعالیت آنزیم کاتالاز و پلی فنل اکسیداز، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و مقدار ترکیبات فنلی اندازه گیری شد. استفاده از نیترات سرب منجر به افزایش طول، وزن خشک گیاه، فعالیت آنزیم کاتالاز به جز در غلظت ١٢٥ میکرو مولار و پلی فنل اکسیداز شد. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به جز در غلظت ١٠٠٠ میکرو مولار، در سایر غلظت‌ها تغییری نکرده است. میزان فنل کل در غلظت ٢٥٠ میکرو مولار افزایش و در سایر غلظت‌ها تفاوت چندانی نداشته است. استفاده توأم اسپرمیدین با سرب طول گیاه را در غلظت‌های ٥٠٠ و ١٠٠٠ میکرومولار افزایش داد. افزایش وزن خشک گیاه در همه تیمارها نسبت به شاهد مشاهده شد. حداکثر فعالیت آنزیم کاتالاز در غلظت ٥٠٠ میکرومولار و حداقل فعالیت در غلظت ٢٥٠ میکرومولار سرب همراه با اسپرمیدین مشاهده شد. فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز فقط در ٢٥٠ میکرو مولار سرب همراه با اسپرمیدین افزایش یافت. ظرفیت آنتی اکسیدانی و میزان فنل کل گیاه تحت تیمار ٥٠٠ میکرو مولار سرب و اسپرمیدین نسبت به شاهد کاهش یافت. افزودن اسپرمیدین هنگام تنش سرب از کاهش طول و وزن گیاه جلوگیری کرد و افزایش فنل کل در غلظت‌های پایین سرب را باعث شد.

واژه‌های کلیدی :آنزیم آنتی‌اکسیدانی، اسپرمیدین، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، سرب، فنل کل، مریم گلی

مقدمه:

در طول چند دهه گذشته آلودگی محیط زیست با فلزات سنگین به‌شدت افزایش یافته است. آلودگی خاک با فلزات سنگین منجر به ضرر و زیان‌هایی بر روی محصولات کشاورزی شده و یا با ورود به زنجیره غذایی، تأثیراتی بر روی سلامتی انسان می‌گذارند (Hajar *et al*., 2014). سرب یکی از فراوان‌ترین عناصر سمی است (Qiao, *et al*., 2015) که از منابع مختلفی از جمله سوختن زغال سنگ و پساب صنایع باتری سازی سر چشمه می‌گیرد (Verma and Dubey, 2003). از اثرات فیزیولوژیکی سرب بر روی گیاهان می‌توان به اثر بر جوانه زنی، رشد گیاه، فتوسنتز، وضعیت آب و مواد معدنی اشاره کرد (Pourrut, *et al*., 2012). فلزات سنگین در تولید تنش

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی:ranjbar@iaufala.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2023-10-02]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.21.7.9]

اکسیداتیو و ایجاد گونه‌های اکسیژن فعال در گیاه نقش دارند (Beladi *et al*., 2011). برای پاک‌سازی گونه‌های اکسیژن فعال و جلوگیری از آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از آن‌ها گیاهان دارای سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدان هستند (Dutta Gupta., 2011). سیستم آنتی‌اکسیدانی در گیاهان به دو گروه تقسیم می‌شود: گروه اول آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی شامل کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیدازمی باشند. گروه دوم آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی شامل فنولیک اسیدها و دیگر فنل ها، فلاونوئیدها، ویتامین C، کارتنوئیدها می‌باشد (Flora, 2009). تغییر در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و آسیب به ساختارهای آلی (پروتئین، کربوهیدرات‌ها) با تیمار سرب القا می‌شود (Hu *et al*., 2007). بر اساس مشاهدات Malecka و همکاران (۲۰۱۲) با بررسی سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی ریشه‌های گیاه نخودفرنگی که در معرض فلزات سنگین مانند سرب، مس، کادمیوم و رُوی بودند دریافتند که این فلزات باعث ایجاد تنش اکسیداتیو شده و به دنبال آن فعالیت آنزیم‌هایی چون گلوتاتیون ردوکتاز، کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز افزایش می‌یابد. Ghelich و همکاران (۲۰۱۲)، اثر سمیت سرب را بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز و محتوای فنل و فلاونوئید کل گیاه یونجه مطالعه کردند. نتایج نشان داد که محتوای فنل و فلاونوئید و همچنین فعالیت آنزیم پراکسیداز نسبت به گیاه شاهد افزایش داشته است. پلی‌آمین پلی‌کاتیون‌های با وزن مولکولی پایینی هستند که در تمام موجودات زنده یافت می‌شوند. این ترکیبات به‌عنوان عوامل ضروری برای رشد و نمو در یوکاریوتها و پروکاریوتها شناخته شده‌اند (Sawhneg, *et al*., 2003). پلی‌آمین‌ها در بسیاری از عملکردهای فیزیولوژیکی گیاهان از جمله رشد و نمو، جنین زایی، شکل گیری ریشه و ساقه، گل دهی و نمو میوه مشارکت دارند (Hunter and Burritt, 2012). علاوه بر آن، این ترکیبات می‌توانند به‌عنوان جاروب کنندگان رادیکال‌های آزاد عمل کنند و غشا سلولی را از اکسیداسیون محافظت کنند (Tellez *et al*., 2002). نتایج مطالعات نیاکان و همکاران (۱۳۹۰) نشان داد که با افزایش غلظت نمک، درصد جوانه زنی، طول ریشه چه و اندام‌های هوایی و وزن‌تر و خشک، میزان تنظیم کننده‌های اسمزی و محتوای کلرید روند نزولی داشته و با افزودن اسپرمیدین به شکل اگزوژنی اثرات بازدارنده تنش شوری به‌طور چشمگیری در دانه رست گندم کاسته شده است. همچنین تجمع یون سدیم دردانه گندم در اثر تیمار با اسپرمیدین کاهش یافته است. با توجه به مطالعاتی که Gill و Tuteja انجام دادند، دریافتند که پلی آمین‌ها نقش مهمی در تنظیم و تعدیل پاسخ دفاعی گیاهان در تنش‌های محیطی شامل سمیت فلزات، تنش اکسیداتیو، خشک سالی، شوری و سرما بازی می‌کنند. پلی‌آمین‌ها به‌ویژه اسپرمیدین و اسپرمین در بهبود تحمل گیاه *Potamogeton crispus* L. به تنش سرب نقش دارند (Qiao *et al*., 2015). مریم گلی بانام علمی *Salvia officinalis* L. متعلق به تیره Lamiaceae است (احمدی و میرزا،۱۳۸۷). ۷۰۰ گونه از این گیاه در سراسر دنیا شناسایی شده است که ۵۸ گونه آن در ایران یافت شده است. این گیاه دارای اسانس فراوان است (عربی و همکاران، ۱۳۹۱). از این گیاه در صنایع غذایی به‌عنوان چاشنی و طعم دهنده استفاده می‌گردد (قاسمی، ۱۳۸۹). در اسانس مریم گلی به‌خصوص برخی ترکیباتی مثل ۱ و ۸ سینئول توژان، کامفور دارای خاصیت ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدان و ضد سرطان هستند (رحیم ملک و همکاران، ۱۳۹۱). این گیاه با ارزشمندترین گیاه داروئی تیره نعناع بوده و دارای ویژگی‌های درمانی مهم است. برگ آن به علت دارا بودن اسانس اثرنیرودهنده داشته، بعلاوه دارای خاصیت مدر، ضد تشنج، تب بر، کم کننده مقدار قند خون و قاعد آور می‌باشد (زرگری، ۱۳۷٦). در پژوهش حاضر اثر متقابل اسپرمیدین و سرب بر روی گیاه مریم گلی بررسی گردید. بررسی میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پلی فنل اکسیداز به‌عنوان آنتی‌اکسیدان آنزیمی و میزان فنل کل از اهداف این تحقیق به شمار می‌رود.

مواد و روش‌ها:

کشت و تیماردهی: در این راستا بذر گیاه مریم گلی از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد و در گلدان‌های حاوی کوپیت و

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2023-10-02]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.21.7.9]

پرلیت به نسبت مساوی در شرایط کنترل شده در سه تکرار کشت داده شدند. با رشد گیاه و رسیدن به مرحله دو برگچه‌ای تیمار دهی به صورت یک روز در میان با نیترات سرب با غلظت‌های (۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار) و به همراه اسپرمیدین با غلظتهای صفر و یک میلی مولار آغاز شد. در روزهایی که تیمار صورت نمی‌گرفت، شستشو با آب مقطر و آبیاری با محلول غذایی انجام می‌شد. شستشوی کامل بستر کشت توسط آب مقطر روزانه در سه نوبت انجام شد (استفاده همزمان تیمار و محلول غذایی باعث تداخل عناصر خواهد شد). بعد از گذشت ۳۰ روز گیاهان به منظور اندازه‌گیری فاکتورهای رشدی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنل کل جمع آوری و مورد بررسی قرار گرفتند.

برای جلوگیری از تداخل و رسوب عناصر، تیمار بصورت متناوب با محلول غذایی صورت گرفت. شستشو با آب مقطر نیز از تجمع عناصر جلوگیری می‌کند. گلدان‌ها در زیز دارای سوراخهایی بودند که پس از شستشوی کامل بستر با آب مقطر و استفاده از محلول غذایی و محلولهای تیمار، مایعات اضافی و شسته شده از زیر گلدان دفع می‌شد. از طرفی شرایط برای کلیه تیمارها یکسان بوده و نتایج بدست آمده با توجه به شرایط موجود برای همه گیاهان ذکر شده است.

اندازه گیری طول و وزن‌تر و خشک گیاه: پس از اتمام آزمایش از هر گلدان به‌طور تصادفی ۲۵ نمونه گیاه خارج شده و میانگین طول آنها محاسبه گردید. سپس وزن‌تر با استفاده از ترازو اندازه گیری شد و نمونه‌ها را به مدت ٤٨ ساعت در آون ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده و وزن خشک آنها نیز تعیین شد.

سنجش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی: عصاره گیری به روش Cakmak و Horst (۱۹۹۱) صورت گرفت. ۰/۱ گرم بافت منجمد که ٤٨ ساعت در فریزر قرار داشت، به همراه ۱/۵ میلی لیتر بافر پتاسیم فسفات ۲۵ مبلی مولار با pH ٦/٨ سائیده شد. محلول همگن حاصل در ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه، به مدت ۱۵ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ و محلول رویی برای سنجش آنزیم‌ها استفاده گردید.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز: سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز به روش Chance (۱۹۵۵) صورت گرفت. برای هر نمونه ۲/۸ میلی لیتر بافر پتاسیم فسفات ۲۵ میلی مولار با pH ۷، ۲۰۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی تهیه شده از گیاهان هر نیمار، با ۳۰۰ میکرو لیتر آب اکسیژنه ۳٪ بعنوان سوبسترا مخلوط شده و جذب نوری محلول حاصل در طول موج ۵۳۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. فعالیت آنزیم برحسب واحد جذب در دقیقه بر گرم وزن‌تر تعیین شد. محلول بلانک حاوی ۲/۸ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۲۵ میلی مولار با pH ۷ به همراه ۲۰۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی و ۳۰۰ میکرولیتر آب مقطر می‌باشد.

سنجش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز: بر اساس روش Kar و Mishra (۱۹۷٦) انجام شد. برای تهیه هر نمونه ۲/۸ میلی لیتر بافر پتاسیم فسفات ۲۵ میلی مولار با pH ٦/٨، ۱۰۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی تهیه شده، ۱۰۰ میکرو لیتر پیروگالول ۱۰ میلی مولار بعنوان سوبسترا مخلوط و جذب نوری محلول حاصل در طول موج ٤٢٠ با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. فعالیت آنزیم برحسب واحد جذب در دقیقه بر گرم وزن‌تر تعیین گردید. محلول بلانک حاوی ۲/۹ میلی‌تر بافر پتاسیم فسفات ۲۵ میلی مولار با pH ٦/٨ به همراه ۱۰۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی و ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر بود.

سنجش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی: یک گرم از پودر گیاهان هر تیمار با ۱۰۰ میلی لیتر متانول ٪۸۰ مخلوط و به روش خیساندن در مدت ۷۲ ساعت عصاره تهیه و پس از خشک کردن برای سنجش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مورد استفاده قرار گرفت. ۰/۰۱ گرم عصاره متانولی حاصل پس از حل شدن در ۱۰۰ میکرولیتر آب با معرف ۱، ۱ دی فنیل ۲- پیکریل هیدرازیل (DPPH) مخلوط و بعد از ۳۰ دقیقه تکان دادن در محیط تاریک، میزان جذب در ۵۱۷ نانومتر با اسپکتروفوتومتر uv اندازه گیری شد. برای محاسبه ظرفیت آنتی اکسیدان از رابطه زیر استفاده و نتیجه بر حسب درصد مهار کنندگی گزارش گردید (Shimada *et al.*, 1992).

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2023-10-02]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.21.7.9]

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (٪) = [(AC-AS) /AC] ×۱۰۰
جذب کنترل= AC و جذب نمونه= AS

منظور از کنترل، نمونه بدون عصاره آنزیمی است که معرف. ۱ دی فنیل ۲- پیکریل هیدرازیل اکسید نشده است.

سنجش فنل کل: از گالیک اسید (استاندارد) محلول‌هایی با غلظت‌های مختلف توسط آب مقطر تهیه و منحنی استاندارد رسم شد. از عصاره تهیه شده جهت سنجش ظرفیت آنتی اکسیدانی محاولهایی تهیه و به آنها، کربنات سدیم ۷٪ و معرف فولین ۱۰٪ اضافه و ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه نگهداری شد. میزان جذب نوری آنها در ۷٦۵ نانومتر تعیین شد. از رابطه Y=0.05X + 0.0912 که حاصل رسم منحنی استاندارد است جهت تعیین میزان فنل کل استفاده شد (singh et al, 2002).

آنالیز آماری: آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوکهای کامل تصادفی در سه تکرار طراحی گردید. نتایج حاصله با استفاده از نرم افزار آماری SPSS19 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام شد.

نتایج و بحث:

بر اساس جدول ۱ کلیه شاخصهای اندازه گیری شده به جز اثر متقابل اسپرمیدین و سرب بر وزن‌تر، اثر اسپرمیدین بر طول، وزن‌تر، وزن خشک، ظرفیت آنتی اکسیدانی و میزان فنل کل گیاهان معنی دار بوده است.

تفاوت داده‌های مربوط به طول گیاه تحت تیمار غلظت‌های مختلف سرب در سطح پنج درصد معنی دار بوده است (P<0.05). همان طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، نیترات سرب منجر به افزایش طول گیاه در مقایسه با شاهد شده است و در مقایسه بین غلظت‌های مختلف نیترات سرب از غلظت ۱۲۵ تا ۵۰۰ میکرومولار نیترات سرب روند کاهشی داشته ولی در غلظت ۱۰۰۰ میکرمولار نیترات سرب افزایش یافته است. در تیمار توام تفاوت داده‌های مربوط به طول گیاه در سطح ۱٪ معنی دار بود (P<0.01). نتایج به دست آمده از این پژوهش نشان داد که با افزایش غلظت نیترات سرب همراه با اسپرمیدین طول گیاه در مقایسه با شاهد روند افزایش داشته است (شکل ۱). مقایسه تیمارهای توام با سرب در همان غلظت نشان می‌دهد که استفاده از اسپرمیدین تأثیر چندانی بر طول گیاه نداشته است و حتی در غلظت ۱۰۰۰ میکرو مولار، استفاده از اسپرمیدین باعث کاهش طول گیاه شده است.

داده‌های مربوط به وزن‌تر گیاه، تحت تیمار غلظت‌های مختلف سرب در سطح ۱ درصد معنی دار بوده است (P<0.01). همان طور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود وزن‌تر گیاه مریم گلی تحت تیمارسرب در مقایسه با شاهد افزایش یافته است و بیشترین افزایش در غلظت‌های ۱۲۵ و ۱۰۰۰ میکرومولار نیترات سرب مشاهده گردید.

تفاوت داده‌های وزن‌تر گیاه مریم گلی پس از ۳۰ روز تیمار نشان داد که اثرات متقابل سرب و اسپرمیدین از نظر آماری معنی دارنبوده است.

بر اساس جدول آنالیز واریانس داده‌های مربوط به وزن خشک گیاه تحت تیمار غلظت‌های مختلف سرب در سطح ۱ درصد معنی دار بوده است (P<0.01). همان طور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود سرب منجر به افزایش وزن خشک گیاه مریم گلی نسبت به شاهد شده است. بررسی تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات سرب همراه با اسپرمیدین بر روی وزن خشک گیاه در سطح ۱ درصد معنی دار بوده است (P<0.01). آنالیز نتایج به دست آمده از این پژوهش نشان داد که با افزایش غلظت نیترات سرب همراه با اسپرمیدین میزان وزن خشک گیاه به‌طور معنی داری نسبت به شاهد افزایش یافته است.

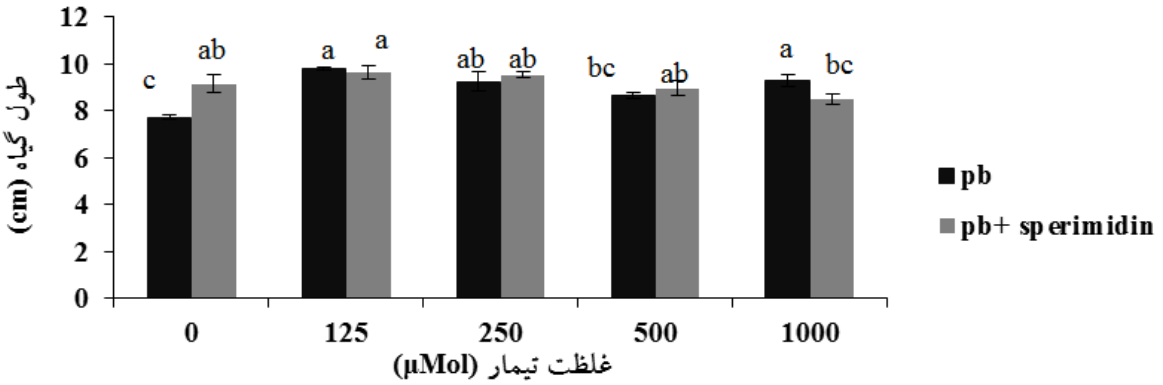
پلی‌آمین‌ها ترکیبات ضروری موجودات زنده هستند و نقش آنها در فرایندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی بسیار مورد مطالعه قرار گرفته است (Bouchereau *et al*., 1999). تنش باعث تحریک تولید و تجمع پلی‌آمین ها در گیاه می‌گردد. بکارگیری پلی‌آمینهای خارجی نیز اثرات مشابهی نشان می‌دهد. تجمع پلی‌آمینهای آزاد یا پیوندی در گیاهان جهت حفاظت در برابر تنش اکسیداتیو بسیار حائز اهمیت است. مقادیر بالای پلی‌آمینهای درونی گیاه و سایر مکانیسم‌های مقاومت در برابر

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2023-10-02]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.21.7.9]

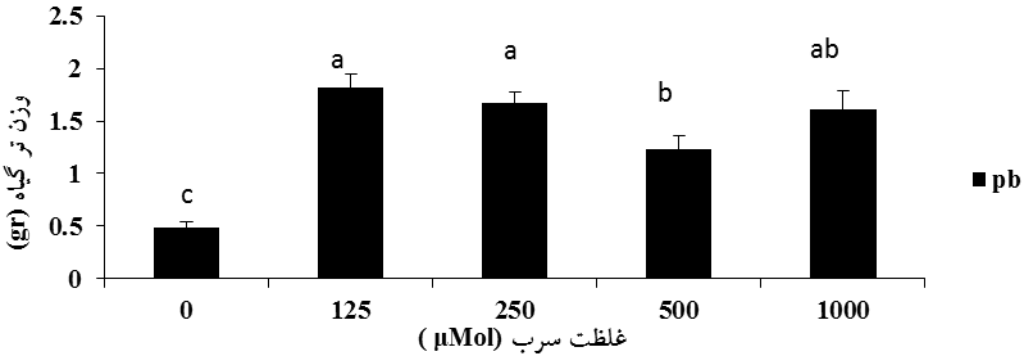
جدول ۱- جدول آنالیز واریانس مربوط به طول، وزن‌تر، وزن خشک، فعالیت آنزیمهای کاتالاز و پلی فنل اکسیداز، ظرفیت آنتی اکسیدانی و میزان فنل کل گیاه مریم گلی *Salvia officinalis* L.

منابع تغییرات	درجه آزادی	طول گیاه	وزن‌تر	وزن خشک	فعالیت کاتالاز	فعالیت پلی فنل اکسیداز	ظرفیت آنتی اکسیدان	فنل کل
سرب	٤	١/٥٤*	١١/٤٧١**	٣١/٢٣٢**	٠/٠٠٢*	٠/٠٣٠*	٨/٧٧*	١٦/٨٦٢**
اسپرمیدین	١	٠/٣٥٤ns	٠/٣٨٣ ns	٠/١٥٦ ns	٠/٠٠١*	٠/٠٩*	٤/٩٥٦ns	٥/٣٤٠ns
اسپرمیدین*سرب	٤	٠/٩٨٤**	٣/٩٩٩ ns	٥/١٧٨**	٠/٠٠٢*	٠/٠٦٣*	١٥/٢٠*	٦/٦٦٧*
ضریب تغییرات		٢/٢٤١	٦/٣٣٩	٣/٢٥٤	١/٣٦٨	٤/٨٩٤	٢/١٤٦	٥/١٠٥

****و * به ترتیب وجود تفاوت معنی دار در سطح ٠/٠١ و ٠/٠٥ و ns عدم وجود تفاوت معنی دار را نشان می‌دهد.**



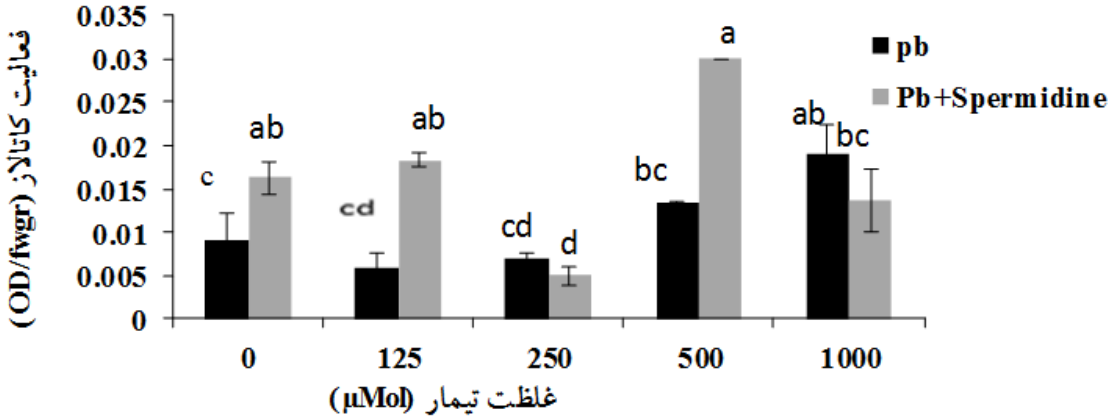
شکل ١- مقایسه میانگین برهمکنش سطوح سرب و اسپرمیدین بر طول گیاه (*Salvia officinalis* L.) تحت تیمار غلظت‌های ٠، ١٢٥، ٢٥٠، ٥٠٠ و ١٠٠٠ میکرومولار سرب همراه با غلظت ١ میلی مولار اسپرمیدین در مقایسه با شاهد. داده‌ها حاصل میانگین سه تکرار± انحراف معیار است. حروف نامشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار است.



شکل ٢- مقایسه میانگین سطوح سرب تحت تیمار غلظت‌های ٠، ١٢٥، ٢٥٠، ٥٠٠ و ١٠٠٠ میکرومولار بر وزن‌تر گیاه (*Salvia officinalis* L.) در مقایسه با شاهد. داده‌ها حاصل میانگین سه تکرار± انحراف معیار است. حروف نامشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار است.

تنش‌های اکسیداتیو، هنگام بروز تنش فعال شده و از طرفی پلی آمینهای جدیدی سنتز می‌گردد (Muller *et al.*, 1997). با توجه به مشاهدات Saleh، وزن‌تر و خشک دو گیاه *Raphanus sativus* و *Eruca sativa* تحت تیمار کادمیوم و سرب، به طور قابل توجهی با اضافه شدن کادمیوم و سرب در محلول آبیاری افزایش یافته است که احتمالاً به دلیل افزایش سنتز مواد جهت

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2023-10-02]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.21.7.9]



شکل ۳- مقایسه میانگین سطوح سرب تحت تیمار غلظت‌های ۰، ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار بر وزن خشک گیاه (*Salvia officinalis* L.) در مقایسه با شاهد. داده‌ها حاصل میانگین سه تکرار± انحراف معیار است. حروف نامشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار است..

مقابله با تنش است (Saleh, 2001). مقیم و همکاران (۱۳۸۹) دریافتند که تیمار اسپرمیدین قبل از شوک گرمایی، موجب افزایش تحمل گرمایی و بازیابی رشد دانه رست‌های سویا گردیده است. کاربرد پلی‌آمین‌ها می‌تواند موجب بازگشت رشد یا کاهش مهار رشد طی تنش گردد که نشان دهنده تأثیر پلی آمین‌ها در کاهش آسیب سلولی ناشی از تنش می‌باشد.

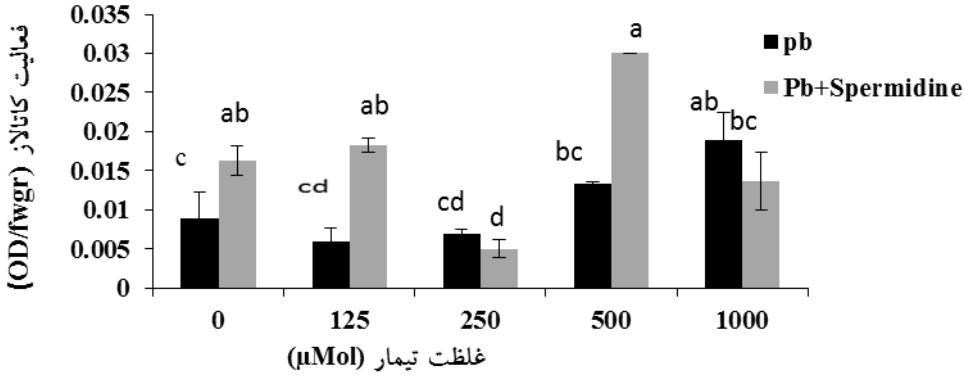
بر اساس نتایج بدست آمده می‌توان گفت که تنش اکسیداتیو احتمالاً سنتز پلی‌آمین ها در گیاه مریم گلی را تحریک کرده است (Sharma and Dietz, 2006). بر اساس نتایج Martin-Tanguy (۲۰۰۱) افزایش سطح پلی‌آمین ها نه تنها به شرایط محیطی گیاه بستگی دارد بلکه وابسته به گونه گیاهی نیز هست. به طوری که در غلات تجمع پوترسین در اثر فعالیت آرژنین دکربوکسیلاز هنگام تنش دیده می‌شود (Martin-Tanguy, 2001). لذا بکارگیری اسپرمیدین خارجی با توجه به احتمال سنتز درونی پلی‌آمین ها تأثیر چندانی بر طول گیاه مریم گلی نسبت به تیمار سرب در همان غلظت نداشته است.

بسیاری از مطالعات نشان می‌دهد که تجمع پلی‌آمینها تحت تنش‌های غیرزیستی از جمله خشکی، شوری، دماهای پایین و فلزات سنگین اتفاق می‌افتد (Pang *et al.*, 2007). پلی‌آمینهای پیوندی در گیر در مکانیسم‌های دفاعی در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی بوده و بدین ترتیب باعث تنظیم وقایع رشد و نمو گیاهان می‌گردند (Bagni and Tassoni, 2001).

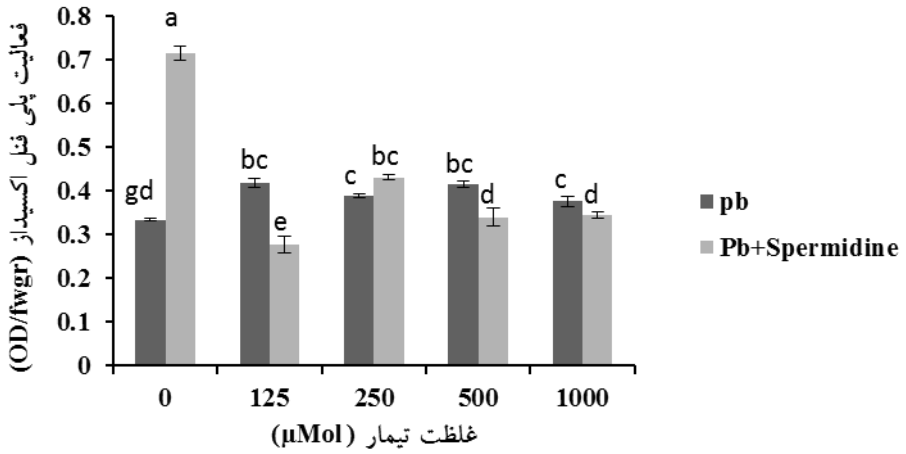
بر اساس مطالعات Gropp و همکاران (۲۰۰۳) مشخص شد که تجمع پلی‌آمینها در برگهای گندم تیمار شده با کادمیوم به واسطه تحریک افزایش فعالیت آرژنین دکربوکسیلاز و اورنتین دکربوکسیلاز صورت می‌گیرد اما فقط اورنتین دکربوکسیلاز مسئول افزایش سطح پلی‌آمینها در دیسکهای برگی تیمار شده با کادمیوم است. در برگهای گندم افزایش میزان پلی‌آمینها در اثر تیمار با فلزات ناشی از اثرات بازدارندگی دیامین اکسیداز بوده که در نتیجه میزان پلی آمین‌ها تقریباً ثابت باقی می‌ماند (Groppa *et al.*, 2003).

فعالیت آنزیم کاتالاز و پلی فنل‌اکسیداز گیاه: تفاوت داده‌های مربوط به فعالیت آنزیم کاتالاز گیاه تحت تیمار غلظت‌های مختلف سرب در سطح ۵ درصد معنی دار بوده است ($P<0.05$). همان طور که در شکل ٤ مشاهده می‌شود با افزایش غلظت سرب میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در مقایسه با شاهد در غلظتهای ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار سرب افزایش یافته است. احتمالاً این غلظتها باعث ایجاد تنش در این گیاه شده است. آنالیز واریانس داده‌های مربوط به فعالیت آنزیم کاتالاز تیمار توام در سطح ۵ درصد معنی دار بود ($P<0.05$). فعالیت آنزیم کاتالاز هنگام به‌کارگیری اسپرمیدین توأم با سرب نشان داد که فعالیت آنزیم کاتالاز به جز در غلظت ۲۵۰ میکرومولار سرب نسبت به شاهد افزایش داشته است (شکل ٤).

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2023-10-02]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.21.7.9]



شکل ٤- مقایسه میانگین برهمکنش سطوح سرب و اسپرمیدین بر فعالیت آنزیم کاتالاز گیاه (*Salvia officinalis* L.) تحت تیمار غلظت‌های ۰، ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار سرب همراه با غلظت ۱ میلی مولار اسپرمیدین در مقایسه با شاهد. داده‌ها حاصل میانگین سه تکرار± انحراف معیار است. حروف نامشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار است.



شکل ٥- مقایسه میانگین برهمکنش سطوح سرب و اسپرمیدین بر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز گیاه (*Salvia officinalis* L.) تحت تیمار غلظت‌های ۰، ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار سرب همراه با غلظت ۱ میلی مولار اسپرمیدین در مقایسه با شاهد. داده‌ها حاصل میانگین سه تکرار± انحراف معیار است. حروف نامشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار است.

تفاوت داده‌های مربوط به فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز گیاه تحت تیمار غلظت‌های مختلف سرب در سطح ۵ درصد معنی دار بوده است ($P<0.05$). همان طور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در مقایسه با شاهد افزایش نشان داده است. با استفاده از اسپرمیدین توأم با سرب تغییر معنی‌داری در سطح ۵ درصد در فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز مشاهده شد ($P<0.05$). تیمار اسپرمیدین باعث افزایش فعالیت آنزیم نسبت به شاهد در غلظت ۲۵۰ میکرو مولار سرب شده است. در تیمارهای توام، نسبت به تیمار اسپرمیدین فعالیت کمتری در آنزیم مورد نظر دیده می‌شود (به جز غلظت ۲۵۰ میکرو مولار سرب). استفاده توأم اسپرمیدین با سرب باعث کاهش فعالیت آنزیم به جز در مقایسه با سرب ۲۵۰ میکرومولار شده است (شکل ۵).

پلی‌آمین‌ها می‌توانند بطور مستقیم بعنوان جاروب کننده رادیکال آزاد عمل کرده، با آنزیمهای آنتی‌اکسیدانی باند شده یا با ترکیبات آنتی‌اکسیدانی پیوند برقرار کرده و باعث افزایش تأثیر این ترکیبات در تنشهای اکسیداتیو گردد(Drolet *et al.*, 1986).

Tang و همکاران (۲۰۰۵) بیان کردند که بکارگیری

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2023-10-02]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.21.7.9]

خارجی اسپرمیدین باعث کاهش اثرات اکسیژنهای فعال تحریک شده توسط کادمیوم می‌گردد. آن‌ها نتیجه‌گیری کردند که بکارگیری اسپرمیدین خارجی در گیاه *Typha latifolia* تحت تنش کادمیوم باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بخصوص پلی‌فنل‌اکسیداز گشته و مستقیم یا غیر مستقیم میزان تولید اکسیژنهای فعال را بازداشته و تولید مالون دی‌آلدئید را نیز کاهش می‌دهد(Tang *et al*., 2005) .

اسپرمیدین دارای دو عملکرد در رابطه با مقاومت گیاهان می‌باشد. اول بعنوان یک ترکیب حفاظتی مستقیم در برابر تنش بوده و دیگری سیگنال تنظیم کننده تنش بحساب می‌آید (Kasukabe *et al*., 2004). مکانیسم دفاع سلولی پلی‌آمینها در برابر تنش اکسیداتیو به بازدارندگی پراکسیداسیون لیپیدها، جاروب کردن رادیکالهای اکسیژن و فعال سازی بیان ژن آنزیمهای آنتی اکسیدانی از جمله کاتالاز نسبت داده می‌شود (Fornazier *et al*., 2002).

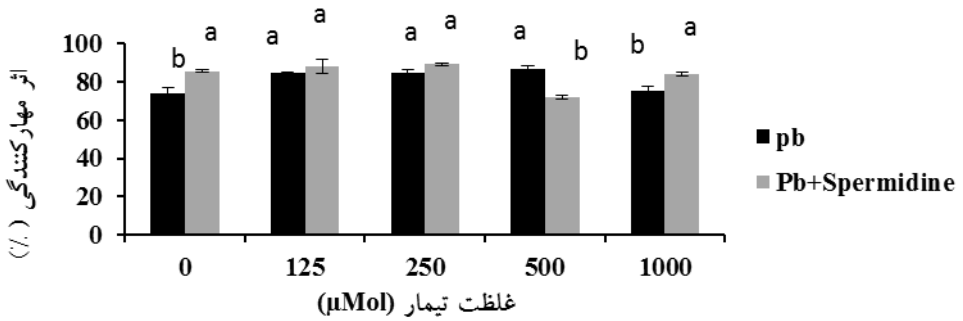
کاتابولیسم پلی‌آمینها باعث تولید پراکسید هیدروژن شده و در نتیجه بصورت یک مولکول علامتی عمل کرده و باعث راه اندازی زنجیره ترارسانی علامتی شده و در نهایت پاسخ دفاعی آنتی اکسیدانی از جمله آنزیم کاتالاز را فعال می‌سازد. اما از طرفی می‌تواند بعنوان یک عامل اکسیدان نیز عمل کند. اثرات آنتی اکسیدانی پلی‌آمینها ناشی از ویژگی باند شدن آنها با آنیونها و کاتیونها است که باعث خاصیت جاروب کننده‌گی رادیکال‌های آزاد در آنها می‌شود (Bors *et al*., 1989) و بدین‌ترتیب قادر به بازدارندگی پراکسیداسیون لیپیدها و واکنشهای اکسیداتیو وابسته به فلزات می‌گردد (Tadolini, 1988). در نتیجه دفاع آنتی‌اکسیدانی برای محافظت از سلولها در برابر اثرات خطرناک گونه‌های اکسیژن فعال وارد عمل می‌شوند. طی تنش اکسیداتیو، وقایعی درگیاهان صورت می‌گیرد که عبارت هستند از افزایش تولید ROS، افزایش میزان آنتی‌اکسیدان‌ها، افزایش پرولین و افزایش پراکسیداسیون لیپیدی که منجر به افزایش تحمل گیاه به تنش می‌شوند (Mobin *et al*.,2007). مطالعات انجام گرفته توسط Saleh (۲۰۰۱) بیان کردند که آسیب سلولی و آسیب اکسیداتیو ناشی از رادیکال آزاد ممکن است منجر به کاهش یا قطع فعالیت بعضی از آنزیم‌های آنتی اکسیدانی گردد. بنابراین کاهش فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز گیاه مریم گلی تحت تیمار توأم سرب و اسپرمیدین نسبت به تیمار سرب در همان غلظت را این گونه می‌توان توجیه کرد. پژوهش حاجی بلند و ابراهیمی در سال ۱۳۹۰ بر روی تأثیر پلی‌آمین‌های اگزوژن بر روی گیاه توتون تحت تنش شوری مشخص کرد که، شوری و پلی آمین‌ها هر دو موجب کاهش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در برگ‌ها و افزایش آن در ریشه شدند.

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و فنل کل گیاه: تفاوت داده‌های مربوط به سنجش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه تحت تیمار غلظت‌های مختلف سرب در سطح ۵ درصد معنی دار بوده است ($P<0.05$). با توجه به شکل ٦ تیمار غلظت‌های مخنلف سرب منجر به افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه شده و در بین غلظت‌های مختلف سرب در غلظت ۱۰۰۰ میکرومولار تفاوتی با شاهد مشاهده نشد. اثرات سرب و اسپرمیدین بر درصد مهارکنندگی در سطح ۵ درصد معنی دار بود ($P<0.05$). همان‌طور که در شکل ٦ مشاهده می‌شود در غلظت ۵۰۰ میکرومولار سرب و اسپرمیدین درصد مهارکنندگی تفاوتی با شاهد نداشته است. استفاده توأم اسپرمیدین با سرب باعث افزایش درصد مهارکنندگی در سایر غلظتها نسبت به شاهد شده است (شکل ٦).

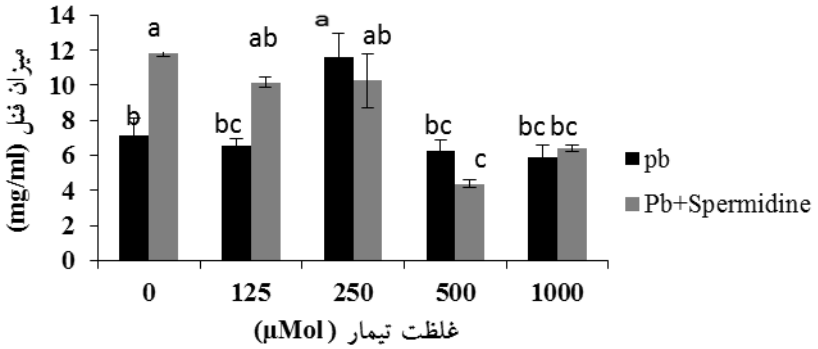
تفاوت داده‌های مربوط به سنجش فنل کل گیاه تحت تیمار غلظت‌های مختلف سرب در سطح ۱ درصد معنی دار بوده است ($P<0.01$). با توجه به شکل ۷ سرب منجر به افزایش میزان فنل کل گیاه در غلظت ۲۵۰ میکرومولار شده است. تیمار توأم غلظت‌های مختلف سرب با اسپرمیدین باعث افزایش فنل کل در غلظت ۱۲۵ میکرومولار سرب با اسپرمیدین در مقایسه با سرب در همان غلظت گشته است ($P<0.05$). در مقایسه اثر اسپرمیدین همراه سرب با تیمارهای سرب در همان غلظت مشخص شده است که روند خاصی در تغییرات میزان فنل کل مشاهده نمی‌گردد. در غلظت پایین سرب (۱۲۵ میکرومولار) استفاده از اسپرمیدین باعث افزایش فنل کل

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2023-10-02]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.21.7.9]



شکل ٦- مقایسه میانگین برهمکنش سطوح سرب و اسپرمیدین بر ظرفیت آنتی اکسیدانی گیاه (*Salvia officinalis* L.) تحت تیمار غلظت‌های ۰، ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار سرب همراه با غلظت ۱ میلی مولار اسپرمیدین در مقایسه با شاهد. داده‌ها حاصل میانگین سه تکرار± انحراف معیار است. حروف نامشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار است.



شکل ۷- مقایسه میانگین برهمکنش سطوح سرب و اسپرمیدین بر فنل کل گیاه (*Salvia officinalis* L.) تحت تیمار غلظت‌های ۰، ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار سرب همراه با غلظت ۱ میلی مولار اسپرمیدین در مقایسه با شاهد. داده‌ها حاصل میانگین سه تکرار± انحراف معیار است. حروف نامشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار است.

گیاهان تحت تیمار شده است. استفاده از اسپرمیدین نسبت به گیاهان شاهد افزایش فنل کل را به دنبال داشته است (شکل ۷) که احتمالاً باعث تحریک سنتز این ترکیبات شده است.

آسیب‌های وارده هنگام تنش، زمانی اتفاق می‌افتد که فرایندهای مربوط به ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و مکانیسم‌های سم‌زدایی پایین‌تر از تولید رادیکالهای آزاد در سلول‌ها باشد. گیاهان هنگام مواجه شدن با تنش، مکانیسم‌های دفاعی مختلف از جمله آنزیم‌های جاروب کننده و آنتی‌اکسیدانهای غیرآنزیمی را فعال می‌نمایند. این مکانیسم‌ها باعث توقف یا کند شدن اکسیداسیون ترکیبات بیوشیمیایی شده همچنین زنجیره واکنشهای اکسیداسیونی را بلوکه می‌کنند (Sgherri *et al.*, 2003). Lovaas و همکاران بیان کردند اثر آنتی‌اکسیدانی پلی‌آمین‌ها ناشی از اتصال آنها به آنیونها و کاتیونها است. باند شدن پلی‌آمینها به آنیونها (فسفولیپیدها و اسیدهای نوکلئیک) باعث تجمع آنتی‌اکسیدانها در یک مکان خاص شده، این در حالی است که باند شدن به کاتیونها از تغییرات مربوط به اکسیژنهای فعال جلوگیری می‌کند (Lovaas, 1997). Groppa و همکاران (۲۰۰۷) پلی‌آمینها را بعنوان آنتی‌اکسیدان در برگهای گندم تحت تنش کادمیوم و مس مورد بررسی قرار دادند. آسیب‌های اکسیداتیو ایجاد شده توسط این دو فلز مربوط به افزایش مواد فعال تیوباربی تیوریک اسید و کاهش میزان گلوتاتیون و اسپرمیدین است. تیمار با اسپرمیدین از افزایش تیوباربی تیوریک اسید تحریک شده با فلزات جلوگیری می‌کند. تشکیل پراکسید هیدروژن وابسته به فلزات در تیمار قطعات برگی با اسپرمیدین کاهش می‌یابد. این نتایج بیان می‌کند اسپرمیدین با عملکرد آنتی‌اکسیدانی از آسیب

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2023-10-02]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.21.7.9]

تحریک شده توسط فلزات جلوگیری می‌کند (Groppa *et al.*, 2007). اسپرمیدین با کاهش تشکیل تیوباربی تیوریک اسید و مشتقات آن بعنوان یک آنتی اکسیدان عمل می‌کند (Benavides *et al.*, 2000).

بر اساس مطالعات انجام گرفته توسط Beladi و همکاران (۲۰۱۱) بیان شد که گیاهان با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی منجر به تحمل بیشتر به تنش اکسیداتیو می‌شوند. با توجه به مشاهدات Candan و همکاران (۲۰۰۷) و Muret و همکاران (۲۰۰۷) بالا بودن ترکیبات فنلی دلیل عمده بالا بودن فعالیت آنتی اکسیدانی بعضی از عصاره می‌باشد. شواهد موجود ارتباط مثبتی بین میزان ترکیبات فنلی و قدرت آنتی‌اکسیدانی بسیاری از گیاهان را نشان می‌دهد. در طول تنش فلزات سنگین ترکیبات فنولیک به عنوان شلاتورهای فلزات عمل می‌کنند و از سوی دیگر فنولیک ها می‌توانند به طور مستقیم گونه‌های اکسیژن فعال را پاکسازی کنند (Michalak, 2006).

تأثیر آنتی‌اکسیدانی پلی‌آمین‌ها در حقیقت به دلیل ترکیب شدن با دیگر آنیون‌ها و کاتیون‌های که خاصیت پاکسازی رادیکال، مهارکنندگی پراکسیداسیون لیپیدها، واکنش فلزات کاتالیزی اکسیداتیو و تولید هیدروژن پراکسید توسط دی آمین اکسیداز و پلی‌آمین‌ها دارد (Wimalasekera *et al.*, 2011). پژوهش حاجی بلند و ابراهیمی در سال ۱۳۹۰ با بررسی تأثیر پلی‌آمین‌های اگزوژن بر روی متابولیسم فنل در گیاه توتون تحت تنش شوری به این نتیجه رسیدند که افزایش مقدار فنل‌های برگ تحت تأثیر اسپرمیدین، احتمالاً یکی از دلایل کاهش رشد گیاهان تحت تأثیر این پلی‌آمین بوده است. اصولاً انباشتگی ترکیبات فنلی نوعی پاسخ دفاعی در برابر تنش‌های زیستی و غیر زیستی است که موجب کاهش رشد می‌گردد (حاجی بلند و ابراهیمی، ۱۳۹۰). گونه‌های مختلف گیاهی دارای انواع پلی‌آمین‌های آزاد و پیوندی هستند (Bagni and Tassoni, 2001). اکثر پلی‌آمین‌ها با اسیدهای سینامیک مانند اسیدهای کوماریک، فرولیک و کافئیک پیوند تشکیل داده در نتیجه ترکیباتی مانند هیدروکسی سینامیک آمیدها را تشکیل می‌دهند (Walters, 2003). مهم‌ترین ویژگی پلی‌آمین اتصال به اسیدهای فنولیک، است که باعث ویژگی آنتی اکسیدانی آنها می‌گردد که برای سازش گیاهان در شرایط تنش ضروری است. پیوند پلی‌آمین‌ها با کافئیک، سینامیک و فرولیک اسید باعث افزایش تمایل اتصال این ترکیبات با اکسیژن‌های فعال موجود می‌گردد به صورتی که پلی‌آمین‌های آزاد نسبت به فرم‌های پیوندی نمایل کمتری به اکسیژن‌های فعال نشان می‌دهند (Serafini-Fracassini *et al*, 1995).

نتیجه‌گیری کلی:

نیترات سرب منجر به تغییراتی در طول، وزن‌تر و خشک گیاه، فعالیت آنزیم کاتالاز و پلی فنل اکسیداز، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میزان فنل کل شده است. استفاده توأم اسپرمیدین با سرب طول گیاه را کاهش و بر وزن‌تر گیاه معنی نداشت؛ افزایش وزن خشک گیاه مشاهده شد. فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار توام افزایش ولی فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز کاهش یافته است. همچنین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و میزان فنل کل گیاه تحت تیمار سرب و پلی آمین کاهش یافته است. بدین ترتیب می‌توان پلی آمینها را ترکیبات شبه هورمونی دانست که باعث افزایش تحمل گیاه در شرایط نامساعد می‌شود.

منابع:

احمدی، ل. و میرزا، م. (۱۳۷۸) بررسی تأثیر مراحل مختلف رشد و زمان برداشت روی ترکیبات شیمیایی اسانس گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis L.*) علوم فنون کشاورزی و منابع طبیعی ۳: ۹۹-۹۳.

حاجی بلند، ر.و ابراهیمی، ن.(۱۳۹۰) تأثیر پلی آمین‌های اگزوژن بر رشد، فتوسنتز و متابولیسم فنل ها در گیاه توتون تحت تنش شوری. زیست شناسی گیاهی ۳:۲٦-۱۳.

رحیم ملک، م.، آزاد، ش.، یادگاری، م. و قاسمی پیربلوطی، ع .ا.(۱۳۹۱) اثرات جاسمونیک و سالیسیلیک اسید بر خاصیت فیتوشیمیایی برگ مریم گلی(*Salvia officinalis* L.) . فصل نامه داروهای گیاهی ۳: ۹٤-۸۹.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2023-10-02]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.21.7.9]

زرگری، ع. (۱۳۷٦) گیاهان داروئی، جلد چهارم، چاپ پنجم، انتشارات دانشگاه تهران ٦٤-٥٩.

عربی، س.، آرشامه، ج.، حق پرست، ع. ر. و وکیلی، ع. ل. (۱۳۹۱) بررسی تأثیر سطوح مختلف عصاره مریم گلی (*Salvia officinalis L.*) بر برخی پارامترهای بیوشیمیایی خون در موش‌های صحرایی. پنجمین کنگره علوم دامی ایران، دانشگاه صنعتی اصفهان شهریور ۹۱.

قاسمی، ع. (۱۳۸۹) گیاهان دارویی و معطر (شناخت و بررسی اثرات آن‌ها). انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد.

مقیم، س.، عمو آقایی، ر. و شارقی، ب.(۱۳۸۹) نقش حفاظتی پلی آمین‌ها در برابر شوک گرمایی در رشد دانه رست‌های سویا. زیست شناسی گیاهی ایران ۲: ٤٠-۳۱.

نیاکان، م.، صادقی، س. و قربانلی، م. ل.(۱۳۹۰) اثر اسپرمیدین، تنش شوری بر درصد جوانه زنی، پارامترهای رشد، تنظیم کننده‌های اسمزی، میزان سدیم و کلر دانه رست گندم. فصلنامه پژوهش‌های علوم گیاهی ٦: ۸۹-۷۸.

Bagni, N. and Tassoni, A. (2001) Biosynthesis, oxidation and conjugation of aliphatic polyamines in higher plants. Amino Acids 20: 301-17.

Beladi, M., Habibi, D., Kashani, A., Paknejad, F. and Nooralvandi, T. (2011) Phytoremediation of Lead and Copper by Sainfoin (*Onobrychis vicifolia*): Role of Antioxidant Enzymes and Biochemical Biomarkers. American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences 10: 440-449.

Benavides, M. P., Gallego, S. M., Comba, M. E. and Tomaro, M. L. (2000) Relationship between polyamines and paraquat toxicity in sunflower leaf discs. Plant Growth Regulation 31: 215-24.

Bors, W., Langebartels, C., Michel, C. and Sandermann, H. (1989) Polyamines as radical scavengers and protectants against ozone damage. Phytochemistry 28: 1589-95.

Bouchereau, A., Aziz A., Larher, F. and Martin-Tanguy, J. (1999) Polyamines and environmental challenges: recent development, Plant Sciences 140: 103-125.

Cakmak, I. and Horst, W. (1991) Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tip of soybean (*Glysin max*). Plant Phisiolgy 83: 463-468.

Candan, F., Unlu, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., Sokmen, A. H. and Akpulat, A. (2007) Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* sub sp. Millefolium Afa. (Asteraceae) Ethnophama 87: 215-220.

Chance, B. and Maehly, A. C. (1955) Assay of catalase and peroxidase. In: Methods in enzymology. (eds. Colowick, S. P. and Kaplan, N. O.) 764-775. Academic Press, New York.

Drolet, G., Dumbroffa, E. B., Leggea, R. L. and Thompsona, J. E. (1986) Radical scavenging properties of polyamines. Phytochemistry. 25: 367-71.

Dutta Gupta, S. (2011) Reactive Oxygen Species and Antioxidants in Higher Plants. pp 178,189, 277.

Flora, S. J. S. (2009) Structural, chemical and biological aspects of antioxidants for strategies against metal and metalloid exposure Oxidative. Medicine and Cellular Longevity 2: 191-206.

Fornazier, R. F., Ferreira, R. R., Pereira, G. J. G., Molina, S. M. G. and Smith, R. J. (2002) Cadmium stress in sugar cane callus cultures: effect on antioxidant enzymes. Plant Cell Tissue and Organ Culture 71: 125-131.

Ghelich, S., Zarinkamar, F. and Niknam, V. (2012) Determination of peroxidase activity, total phenolic and flavonoid compounds due to Lead toxicity in *Medicago sativa* L. Advances in Environmental Biology 6: 2357-2364.

Groppa, M. D., Benavides, M. P. and Tomaro, M. L. (2003) Polyamine metabolism in sunflower and wheat leaf discs under cadmium or copper stress. Plant Science 161: 481-488.

Groppa, M. D., Maria, L., Tomaro, M. L. and Benavides, M. P. (2007) Polyamines and heavy metal stress: the antioxidant behavior of spermine in cadmium- and copper-treated wheat leaves. BioMetals. 20: 185-195.

Hajara, E.W. I., Bin Sulaiman, A. Z. and Mimi Sakinah, A. M. (2014) Assessment of heavy metals tolerance in leaves, stems and flowers of *Stevia rebaudiana* Plant. Procedia Environmental Sciences 20: 386-393.

Hu, J. Z., Shi, G. X., Xu, Q. S., Wang, X., Yuan, Q. H. and Du, K. H. (2007) Effect of pb on the active oxygen scavenging enzyme activities and ultra structure in *Potamogenton crispus* leaves. Russian Journal of plant Physiology 54: 414-419.

Kar, M. and Mishra, D. (1976) Catalase, Peroxidase, and Polyphenoloxidase activities during Rice leaf senescence. Plant Physiology 57: 315-319.

Kasukabe, Y., He, L., Nada, K., Misawa, S., Ihara I. and Tachibana, S. (2004) Overexpression of spermidine synthase enhances tolerant to multiple environmental stresses and up regulates the expression of various stress-regulated genes in transgenic *Arabidopsis thaliana*. Plant Cell Physiology 45: 712-722.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2023-10-02]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.21.7.9]

Lovaas, E (1997) Antioxidant and metal-chelating effects of polyamines. In: Sies H, ed. Advances in Pharmacology, Vol. 38: Antioxidants in Disease Mechanisms and Therapy. Academic Press: 119-149.

Malecka, A., Piechalak, A., Mensinger, A., Hane, A., Baralkiewicz, D. and Tomaszewska, B. (2012) Antioxidative defense system in *Pisum sativum* roots exposed to heavy metals (Pb, Cu, Cd, Zn). Polish Journal of Environmental Studies 21:1721-1730.

Martin-Tanguy, J. (2001) Metabolism and function of polyamines in plants: recent development (new approaches). Plant Growth Regulation 34: 135-48.

Michalak, A. (2006) Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal Stress Polish Journal of Environmental Studies 15(4): 523-530.

Mobin, M. and Khan, N.A. (2007) Photosynthetic activity pigment composition and antioxidative response of two mustard cultivars differing in photosynthetic capacity subjected to cadmium stress. Journal of Plant Physiology 164: 601-610.

Muller, Y. B., Zhang, H., J. and Gressel, J. (1997). Constitutively elevated levels of putrescine and putrescine-generating enzymes correlated with oxidant stress resistance in *Conzya bonariensis* and wheat. Plant Physiology 115: 1443-51.

Muret, K., Sevgi, K., Sengul, K., Esra, U.,Cemalettin, B. and Fedra, V. (2007) Biological activities, chemical composition of three honeys of different types from Anatolia Food Chemistry 100: 526-534.

Pang, X. M., Zhang, Z. Y., Wen, X. P., Ban, Y. and Moriguchi, T. (2007) Polyamine, all-purpose players in response to environment stresses in plants. Plant Stress 1: 173-88.

Pourrut, B., Shahid, M., Dumat, C.,Winterton, P. and Pinelli, E. (2011) Lead uptake, toxicity, and detoxification in plant. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology 213: 113-136.

Qiao, X., Zheng, Z., Zhang, L., Wang, J., Shi, G. and Xu, X. (2015) Lead tolerance mechanism in sterilized seedlings of *Potamogeton crispus* L.: Subcellular distribution, polyamines and proline Chemosphere 120: 179-187.

Saleh, A. A. H. (2001) Effect of Cd and Pb on growth, certain antioxidant enzymes activity, protein profile and accumulation of Cd, Pb and Fe in *Raphanus sativus* and *Eruca sativa* seedlings Egyptian. Journal of Biology 3: 131-139.

Sawhney, R., Tiburcio, A. F., Altabella, T. and Galston, A. W. (2003) Polyamines in plants: An overview. Journal of Cell and Molecular Biology 2: 1-12.

Serafini-Fracassini D., Del Duca S. and Beninati, S. (1995) Plant transglutaminases Phytochemistry 40: 355_65.

Sgherri, C., Cosi, E. and Navari-izzo, F. (2003) Phenol and antioxidative of *Raphanus sativus* grown in copper excess. Physiol. Plant 21: 118-126.

Sharma, S. S. and Dietz, K. J. (2006) The significance of amino acids and amino acid-derived molecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress. Journal of Experimental of Botany 57: 711-26.

Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K. and Nakamura, T. (1992) Antioxidative properties of xanthin on autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. Agricultural and Food Chemistry 40: 945-948.

Singh, R. P., Murthy, K. N. and Jayaprakasha, G. K. (2002) Studies on the antioxidant activity of *Pomegranate* peel and seed extracts using in vitro models. Journal of Agricultural and Food Chemistry 50: 81-86.

Tadolini, B. (1988) Polyamine inhibition of lipidperoxidation: the influence of polyamines in iron oxidation in the presence of compound mimicking phospholipid polar head. Biochemistry Journal 249: 33-36.

Tang, C. F., Liu, Y. G., Zeng, G. M., Li, X., Xu, W. H., Li, C. F. and Yuan, X. Z. (2005) Effects of exogenous spermidine on antioxidant system responses of *Typha latifolia* L. under Cd2- stress. Journal Integ Plant Biology 47: 428-34.

Tellez, M. A., Ramos-Clamont, M. G.,Gardea, A.A., and Vargas-Arispuro, I. (2002) Effect of infiltrated polyamines on polygalacturonase activity and chilling injury responses in zucchini squash (*Cucurbita pepo* L.) Biochemical and Biophysical Research Communications 295: 98-101.

Verma, S. and Dubey, R.S. (2003) Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing *rice* plants. Plant Science 164: 645-655.

Walters, D. (2003) Resistance to plant pathogens: possible roles for free polyamines and polyamine catabolism. New Phytologiest 159: 109-15

Wimalasekera, R., Tebartz, F. and Scherer, G. F. E. (2011) Polyamines, polyamine oxidases and nitric oxide in development, abiotic and biotic stresses. Plant Science 181: 593-603.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2023-10-02]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.21.7.9]