

برهم‌کنش نیترات کادمیوم و سالیسیلیک اسید بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان، پروتئین محلول و مالون‌دی‌آلدهید برگ گلنگ (*Carthamus tinctorius L.*) رقم صفحه

خدیجه بادپا، محسن موحدی دهنوی* و علیرضا یدوی

گروه زراعت و اصلاح بیاتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج

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

چکیده:

کادمیوم یکی از فلزات سنگین می‌باشد که در گیاهان تنفس اکسیداتیو ایجاد می‌کند. در این راستا استفاده از تنظیم کننده‌های رشد گیاهی از جمله سالیسیلیک اسید جهت تخفیف اثرات سمی کادمیوم به عنوان گرینهای مناسب مطرح می‌باشد. بدین منظور این مطالعه با هدف بررسی برهم‌کنش نیترات کادمیوم و سالیسیلیک اسید بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان، پروتئین محلول برگ و مالون‌دی‌آلدهید گلنگ (رقم صفحه) اجرا گردید. این آزمایش گلستانی 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، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولا) بود. نتایج نشان داد که با بالا رفتن سطح تنفس اکسیداتیو میزان پروتئین محلول برگ کاهش ولی فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، پلی‌فنول‌اکسیداز، سوپراکسیدیسموتاز و همچنین میزان مالون‌دی‌آلدهید به طور معنی‌دار افزایش یافتد. 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 تنفس را کاهش داد و سبب بهبود خصوصیات اندازه‌گیری شده در گلنگ در شرایط تنفس کادمیوم شد.

واژه‌های کلیدی: گلنگ، 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 تنفس اکسیداتیو ایجاد می‌کند و سمتی آن ۲۰ تا ۲۰ برابر بیشتر از سایر فلزات سنگین است (Sanita-di Toppi and Gabbrilli, 1999).

غلاط نظریه این است که کادمیوم از طریق فعالیت‌های انسانی، مثل استخراج معدن، ذوب فلزات، ترکیبات سوختی، فاضلاب‌های صنعتی و

Dat *et al.*, 2002), سوپراکسیددیسموتاز (Slaymaker *et al.*, 2002) و پلیفلن اکسیداز (Scandalias, 1993; Dat *et al.*, 1998) پر اکسیدازها (El-Tayeb, 2005) اثرات سمی ناشی از فلزات سنگین را کاهش می‌دهد (Popova *et al.*, 2007).

گیاهان روغنی بعد از غلات، به عنوان دومین منبع تأمین کننده کالری برای جوامع بشری محسوب می‌شوند. گلنگ یکی از گیاهان زراعی با اهمیت در تأمین روغن خوراکی با کیفیت عالی است (Kaffka and Kearney, 1998). با توجه به توان خوب گیاه گلنگ در توسعه سیستم ریشه‌ای مستقیم خود در اعمق خاک، به شرایط خشکی و شوری تا حد زیادی مقاومتر از گیاهان دیگر مانند گندم، چغندر قند و پنبه می‌باشد (Bassil and Kaffka, 2002).

در حال حاضر در شرایط آب و هوایی خشک بعضی از مناطق کشور، به خصوص در خاک‌های 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 ویژگی‌های فیزیولوژیک ناشی از تنفس 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 گلنگ (رقم صفحه) و یافتن پاسخ به این سوال است که آیا محلول پاشی با سالیسیلیک اسید می‌تواند اثرات مثبتی در رفع آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از سمیت نیترات کادمیوم برای گیاه داشته باشد؟

مواد و روش‌ها:

به منظور بررسی برهمکنش نیترات کادمیوم و محلول پاشی سالیسیلیک اسید بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و مالون‌دی‌آلدهید در گلنگ (رقم صفحه) 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 نیترات کادمیوم (۰، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک و عامل دوم محلول پاشی سالیسیلیک اسید در ۳ سطح (۰، ۰/۵ و ۱) میلی‌مolar بود. واحدهای آزمایش شامل گلدان‌هایی به نسبت

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

مواد آنتی‌اکسیدان موجود در گیاهان سبب خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد می‌گردند که از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان آسکوربیک اسید، توكوفرول و گلوتاتیون را نام برد. سالیسیلیک اسید یا ارتو‌هیدروکسی بنزوئیک اسید و ترکیبات مربوط، به گروه ترکیبات فنلی تعلق دارد (El-Tayeb, 2006). سالیسیلیک اسید به وسیله‌ی سلول‌های ریشه تولید می‌شود و در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف مثل رشد و نمو گیاه، جذب یون، فتوستتر و جوانه‌زنی نقش ایفا می‌کند (Raskin, 1992). سالیسیلیک اسید نقش کلیدی در تنظیم رشد گیاهان، نمو و برهmeknesh با دیگر ارگانیسم‌ها و در پاسخ به تنش‌های محیطی را ایفا می‌کند. علاوه بر این نقش آن در جوانه‌زنی بذر، عملکرد میوه، گلیکولیز، گلدهی، جذب یون و انتقال آن، سرعت فتوستتر، هدایت روزنده‌ای و تعرق، آشکار است (Arfan *et al.*, 2007).

سالیسیلیک اسید نقش مهمی در خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد دارد (Raskin, 1992). سالیسیلیک اسید با عمل کلات کردن فلزات مقدار مالون‌دی‌آلدهید را در گیاهان تحت تنفس فلز سنگین کاهش می‌دهد (Horvath *et al.*, 2007). سالیسیلیک اسید باعث بالا رفتن توان سیستم آنتی‌اکسیدانت بافت‌های گیاهی از طریق فعال کردن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز می‌شود و در نهایت میزان مالون‌دی‌آلدهید را در گیاهان تحت تنفس کادمیوم کاهش می‌دهد (Popova *et al.*, 2007). در بررسی بر روی گیاه برنج فعالیت لیپوکسیژنаз و مقدار مالون‌دی‌آلدهید تحت تنفس کادمیوم کاهش یافت (Mishra *et al.*, 2009). گزارشات متعددی مبنی بر اثر سالیسیلیک اسید بر کاهش اثرهای سمیت ناشی از تنفس‌های فلزات سنگین وجود دارد، از جمله سالیسیلیک اسید با اثر گذاشتن روی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند کاتالاز

۰/۲ وزن تر نمونه بر حسب گرم اندازه‌گیری آنزیم‌های آنتی اکسیدان و پروئین محلول برگ: به منظور سنجش فعالیت آنزیم‌های پلی‌فنل‌اکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CTA)، پراکسیداز (POD) و پروئین محلول برگ از نمونه‌های منجمد عصاره آنزیمی تهیه گردید و جذب کلیه واکنش‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتری 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 ۱/۰ مولار با اسیدیته در ۶/۸ (Dean, 1985) هموزن شد و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۳۰۰۰ 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 پروئین 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 میلی‌مولا، ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم ۲۵ میلی‌مولا با $pH=6/8$ 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 اسپکتروفوتومتر قرائت شد.

فعالیت سوپراکسید دیسموتاز بر طبق روش Giannopolitis و Ries (۱۹۹۷) اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل، ۲ میلی‌لیتر بافر HEPES-KOH ۵۰ میلی‌مولا با $pH=7/8$ حاوی EDTA ۰/۱ میلی‌مولا، کربنات سدیم ۵۰ میلی‌مولا با $pH=10/2$ L-methionine ۱۲ میلی‌مولا، نیتروپلوبوترازوکلیوم ۷۵ میکرومولا، ریبوفلاوین ۱ میکرومولا و ۲۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی می‌باشد. نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در شدت نور تقریباً ۸۰۰ لوکس قرار گرفت و پس از این مدت جذب آنها در طول موج ۵۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر قرائت شد.

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 همه 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 مالونوندی‌آلدهید: نمونه‌های منجمد به میزان ۰/۲ گرم در ۳ میلی‌لیتر TCA (تری‌کلرواستیک‌اسید)٪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 مالونوندی‌آلدهید با اندازه‌گیری جذب در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر و با استفاده از ضریب خاموشی ($155 \mu M^{-1} cm^{-1}$) محاسبه شد (Heath and Pacher, 1968).

مالونوندی‌آلدهید میکرومول بر گرم وزن تر برگ می‌باشد.

$$MDA = ((A_{532\text{nm}}/155) - (A_{600\text{nm}}/155)) / (0/۲)$$

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

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

طبق نتایج بدست آمده از این آزمایش تنش کادمیوم فعالیت این آنزیم را افزایش داد و محلولپاشی با سالیسیلیک اسید سبب کاهش آن گردید (شکل ۱). سالیسیلیک اسید، فعالیت آنزیم کاتالاز که یک آنزیم پاکسازی کننده پراکسیدهیدروژن بوده را کم کرده و در نتیجه با کاهش فعالیت این آنزیم سبب افزایش پراکسیدهیدروژن در گیاه می‌شود (*Horvaht et al., 2007*). اگرچه پراکسیدهیدروژن در غلظت‌های بالا سمی است و به وسیله آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز از بین می‌رود، اما در غلظت‌های پایین می‌تواند نقش پیام رسان را در فرایندهای انتقال بازی کند و ژن‌های واپسنه به مقاومت را در گیاه فعال کند (*Foyer et al., 1997*). همچنین گزارش‌هایی مبنی بر تغییر در الگوی فعالیتی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در شرایط تنش عناصر سنگین و دیگر تنش‌های غیرزنده، تحت تیمارهای سالیسیلیک اسید و بدون آن داده شده است (*Metwally et al., 2003*) که نشان می‌دهد که سالیسیلیک اسید با باندشدن به آنزیم کاتالاز، سبب کاهش فعالیت آن در توتون (Chen *et al., 1993*) و چندین گونه‌ی دیگر گیاهی می‌شود (*Sanchez-Casas and Klessing, 1994*). در مطالعه حاضر تنش کادمیوم سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز شد. اسید سالیسیلیک با دارا بودن خواص آنتی‌اکسیدانی احتمالاً موجب پاکسازی یون سوپراکسید شده و از ایجاد آنزیم پراکسیداز: با توجه به شکل ۲ بیشترین فعالیت

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

سنجدش فعالیت پلی‌فلن اکسیداز از روش Hegar و همکاران (۱۹۹۶) اندازه‌گیری شد. محلول واکنش شامل ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی، ۵۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنهای ۵ میلی‌مolar و ۵۰۰ میکرولیتر متیل‌کاتکول ۰/۰۲ میلی‌مolar در $\text{pH}=6/1$ میکرولیتر بافر پتاسیم فسفات ۶۰ میلی‌مolar با می‌باشد. افزایش فعالیت آنزیم بر اساس شدت رنگ نارنجی متیل‌کاتکول تولید شده و در طول موج ۴۱۰ نانومتر و توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد و فعالیت آنزیمی به ازای تغییرات جذب به میکروگرم پروتئین در دقیقه بیان شد.

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

محاسبات آماری: تجزیه آماری با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین‌های 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 کردید.

نتایج و بحث:

آنزیم کاتالاز: نتایج تجزیه واریانس بیانگر معنی دار بودن برهمکنش 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 محلولپاشی بر فعالیت آنزیم کاتالاز در همه سطوح نیترات کادمیوم در سطح آماری

جدول ۱- میانگین مربعت حاصل از تجزیه واریانس فعالیت آنزیم‌های آتنی اکسیدان، پروتئین محلول برگ و مالوندی‌آلدهید اندازه‌گیری شده در گلنگ (رقم صفحه)

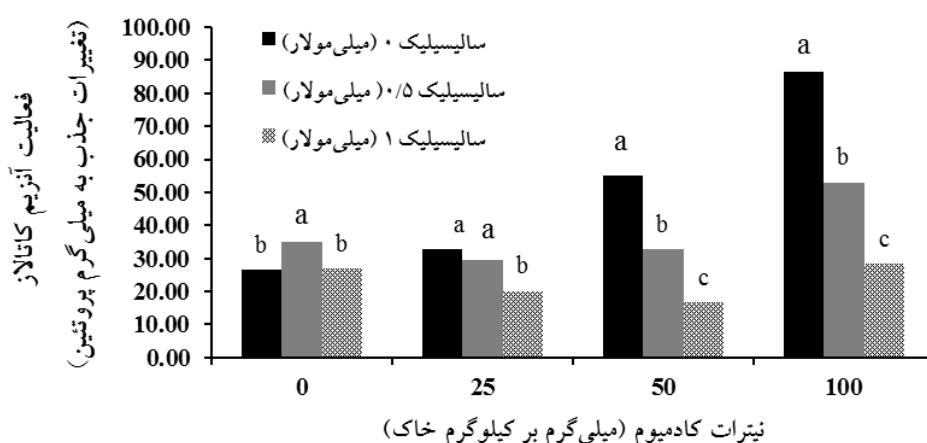
منابع تغییر	آزادی	درجه	کاتالاز	پراکسیداز	پلی‌فنول اکسیداز	سوپراکسید دیسموتاز	مالوندی‌آلدهید	پروتئین محلول برگ
کادمیوم								
محلول‌پاشی								
کادمیوم×محلول‌پاشی								
خطا								
ضریب تغییرات								
ns								

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

جدول ۲- میانگین مربعت حاصل از تجزیه واریانس برش دهی اثر سالیسیلیک اسید در سطوح مختلف تنفس کادمیوم در گلنگ رقم صفحه بر فعالیت آنزیم‌های آتنی اکسیدان و مالوندی‌آلدهید

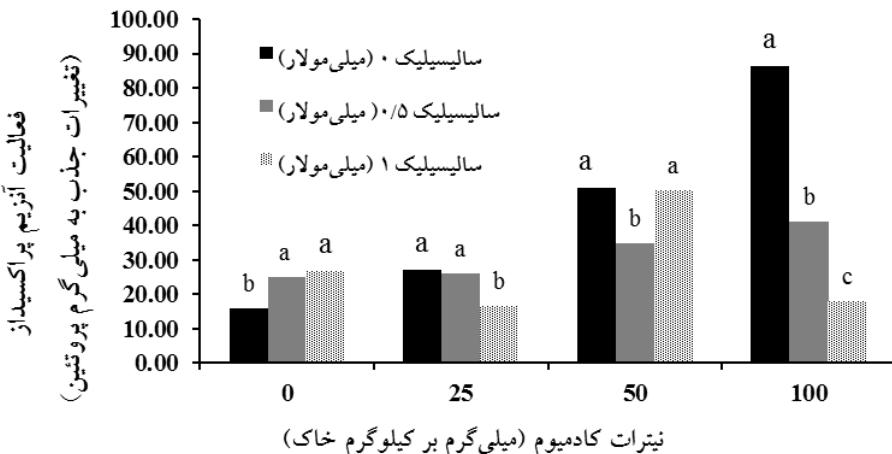
کادمیوم	درجه آزادی	کاتالاز	پراکسیداز	پلی‌فنول اکسیداز	سوپراکسید دیسموتاز	مالوندی‌آلدهید	پروتئین محلول برگ
۰	۲	۹۲/۸۶**	۱۳۸/۳۲**	۲۳۳۰/۱۷**	۱۴۹۲/۹۶**	۱۷۸/۵۵**	۳۵۱/۱۰۰**
۲۵	۲	۱۷۶/۰۸**	۱۳۳/۳۶**	۳۵۸/۰۷**	۴۷۰/۲/۲۶**	۳۳/۳۷**	۱۴۲۶/۰۸**
۵۰	۲	۱۴۹۴/۳۲**	۹۴۳/۵۲**	۱۰۵/۴۴*	۶۷۷/۵۲**	۹۳/۹۵**	۱۲۷/۸۵**
۱۰۰	۲	۳۴۳۷/۸۵**	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- بر هم 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).

آنژیم پراکسیداز مربوط به سطح سوم محلول‌پاشی و کمترین میزان آن مربوط به سطح اول محلول‌پاشی بود. در سطح ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیترات بیشترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز مربوط به سطح اول محلول‌پاشی و کمترین آن مربوط به سطح سوم محلول‌پاشی بود. در سطح ۵۰ میلی‌گرم پراکسیداز مربوط به سطح اول محلول‌پاشی و کمترین آن پراکسیداز مربوط به سطح اول محلول‌پاشی بود. در سطح ۱۰۰ میلی‌گرم



شکل ۲- برهم‌کش نیترات کادمیوم و سالیسیلیک اسید برای فعالیت آنزیم پراکسیداز (در هر سطح نیترات کادمیوم حروف مشابه روی ستون‌ها نشان‌دهنده عدم معنی دار 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 (جباری و همکاران، ۱۳۸۴). پراکسیدازها آیزوژایم‌های مختلفی دارند که هر کدام از آن‌ها وظایف مختلفی، مانند مقاومت به خشکی، گرمایش، 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.

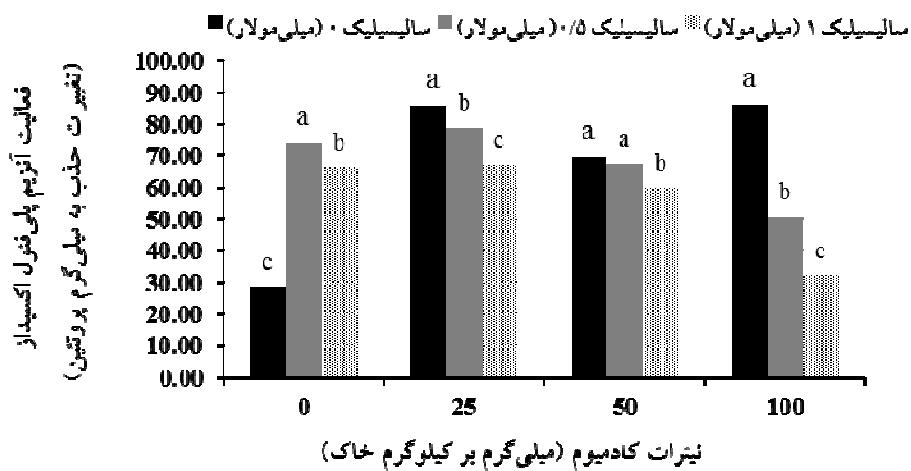
پلی‌فنول اکسیداز: جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد برهم‌کش نیترات کادمیوم و محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید بر فعالیت آنزیم پلی‌فنول اکسیداز در سطح یک درصد معنی دار بود. جدول برش دهی (جدول ۲) نشان داد که اثر محلول‌پاشی در همه‌ی سطوح نیترات کادمیوم در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود به جزء در سطح سوم نیترات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

مربوط به سطح سوم محلول‌پاشی 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 پراکسیدهیدروژن با استفاده از اسید سالیسیلیک بازی می‌کند، چرا که سالیسیلات‌های دهنده‌ی الکترون بوده و سبب احیاء پراکسیدهیدروژن 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 پراکسیدهیدروژن 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 مقداری اضافی پراکسیدهیدروژن می‌باشند که اسید سالیسیلیک می‌تواند به عنوان یک سوبسترای دهنده‌ی الکترون برای پراکسیداز عمل نماید (جباری و



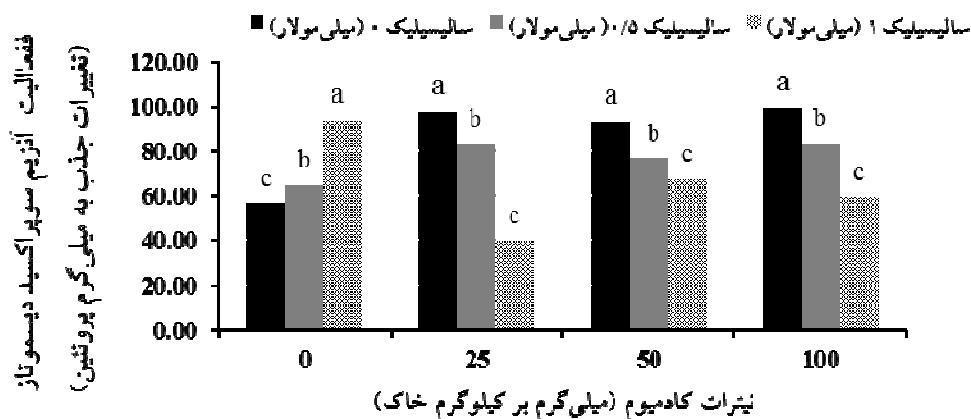
شکل ۳- برهم کنش نیترات کادمیوم و محلول پاشی سالیسیلیک اسید برای فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز (در هر سطح نیترات کادمیوم حروف مشابه روی ستون ها نشان دهنده عدم معنی دار بودن تفاوت بین میانگین های سطوح سالیسیلیک اسید می باشد).

پلی فنول اکسیداز در تنش کادمیوم در رابطه با رها کردن پراکسیداز از دیواره های سلولی می باشد که تیمار با سالیسیلیک اسید اثرات مخرب ناشی از کادمیوم را کاهش داد (Zhang, 2007). و همچنین بیان شده که فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز تحت تأثیر افزایش غلاظت کادمیوم افزایش یافت و بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در تیماری مشاهده شد که بیشترین غلاظت کادمیوم را داشت و تحت تأثیر پیش تیمار اسید سالیسیلیک قرار گرفته (Popova *et al.*, 2008) و Metwally و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند پیش تیمار بذر جو با اسید سالیسیلیک ۰/۵ میلی مولار سبب کاهش در میزان فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز در تنش کادمیوم شد.

آنژیم سوپراکسید دیسموتاز: جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) بیانگر معنی دار بودن برهم کنش نیترات کادمیوم و محلول پاشی سالیسیلیک اسید برای فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در سطح احتمال یک درصد بود. جدول برش دهی (جدول ۲) نیز نشان داد که اثر محلول پاشی بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در همهی سطوح کادمیوم در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود. مقایسه میانگین نیترات کادمیوم و محلول پاشی سالیسیلیک اسید (شکل ۴) نشان داد در کمترین آن مربوط به سطح اول محلول پاشی بود. در سطح ۲۵ میلی گرم بر کیلو گرم نیترات کادمیوم بیشترین میزان فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز مربوط به سطح اول محلول پاشی و کمترین میزان آن مربوط به سطح سوم محلول پاشی بود. در سطح ۵۰ میلی گرم بر کیلو گرم نیترات کادمیوم بیشترین میزان فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز مربوط به سطح اول محلول پاشی و کمترین میزان آن مربوط به سطح سوم محلول پاشی بود. در سطح ۱۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم نیترات کادمیوم بیشترین میزان آنزیم پلی فنول اکسیداز مربوط به سطح اول محلول پاشی و کمترین آن مربوط به سطح سوم محلول پاشی بود.

میزان آن مربوط به سطح اول محلول پاشی بود. در سطح ۲۵ میلی گرم بر کیلو گرم نیترات کادمیوم بیشترین میزان فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز مربوط به سطح اول محلول پاشی و کمترین میزان آن مربوط به سطح سوم محلول پاشی بود. در سطح ۵۰ میلی گرم بر کیلو گرم نیترات کادمیوم بیشترین میزان فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز مربوط به سطح اول محلول پاشی و کمترین میزان آن مربوط به سطح سوم محلول پاشی بود. در سطح ۱۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم نیترات کادمیوم بیشترین میزان آنزیم پلی فنول اکسیداز مربوط به سطح اول محلول پاشی و کمترین آن مربوط به سطح سوم محلول پاشی بود.

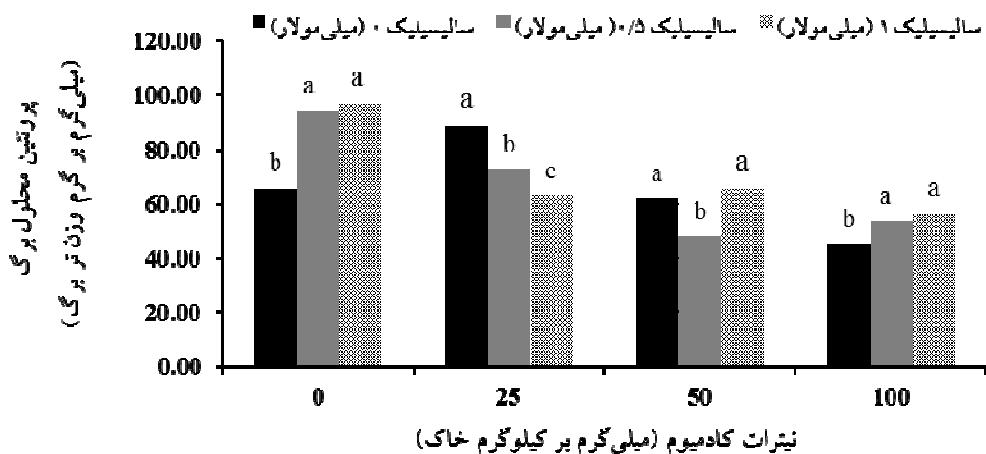
در این مطالعه با افزایش غلاظت کادمیوم میزان فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز افزایش یافت که تیمار با سالیسیلیک اسید با غلاظت بالا اثرات مخرب ناشی از کادمیوم را کاهش داد (شکل ۳)، که با آزمایش Metwally و همکاران (2003) بر روی جو هم خوانی دارد، آنها بیان کردند که فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز در بافت های برگ و ریشه با افزایش غلاظت کادمیوم افزایش می یابد و همچنین بیان داشتند که تحمل به تنش کادمیوم توسط آنزیم های آنتی اکسیدان حفظ شده، بنابراین چنین استدلال کردند که افزایش سطوح آنزیم های آنتی اکسیدان تحت تنش یک تأثیر استراتژیک برای تحمل به تنش در گیاهان حساس می باشد. گزارش شده که افزایش در فعالیت آنزیم



شکل ۴- برهم‌کنش نیترات کادمیوم و سالیسیلیک اسید برای فعالیت آنزیم سوپراکسیدیسموتاز (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 کادمیوم بیشترین میزان پروتئین محلول مربوط به سطح اول محلول‌پاشی و کمترین میزان پروتئین محلول مربوط به سطح سوم محلول‌پاشی بود. در سطح ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیترات کادمیوم بیشترین میزان پروتئین محلول 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 سوپراکسیدیسموتاز 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 سیگناال با تغییر فعالیت آنزیم‌های متابولیز کننده پراکسیدهیدروژن (H_2O_2) در تنظیم پراکسیدهیدروژن (H_2O_2) شرکت می‌کند (Chen *et al.*, 1993). چنین به نظر مرسد 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.



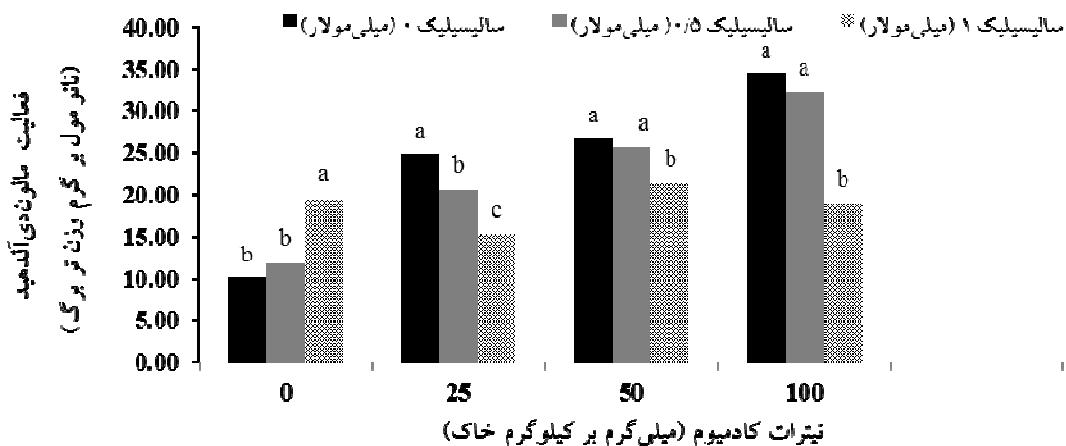
شکل ۵- برهم کنش نیترات کادمیوم و سالیسیلیک اسید برای پروتئین محلول برگ (در هر سطح نیترات کادمیوم حروف مشابه روی ستونها نشان دهنده عدم معنی دار بودن تفاوت بین میانگین های سطوح سالیسیلیک اسید می باشد).

اسید در سطح احتمال یک درصد بود. جدول برش دهی (جدول ۲) نیز نشان دهنده معنی دار بودن اثر محلول پاشی بر مالون دی آلدید در همه سطوح نیترات کادمیوم در سطح احتمال یک درصد ، به جزء در سطح ۲۵ میلی گرم بر کیلو گرم نیترات کادمیوم که در سطح پنج درصد معنی دار بود. مقایسه میانگین نیترات کادمیوم و محلول پاشی سالیسیلیک اسید (شکل ۶) نشان داد در سطح بدون تنش نیترات کادمیوم بیشترین میزان مالون دی آلدید در سطح سوم محلول پاشی و کمترین آن مربوط به سطح اول محلول پاشی سالیسیلیک اسید بود. در سطح ۲۵ میلی گرم بر کیلو گرم نیترات کادمیوم بیشترین میزان میزان مالون دی آلدید مربوط به سطح اول محلول پاشی و کمترین میزان آن مربوط به سطح سوم محلول پاشی بود. در سطح ۱۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم نیترات کادمیوم بیشترین میزان مالون دی آلدید مربوط به سطح اول محلول پاشی و کمترین میزان آن مربوط به سطح سوم محلول پاشی بود.

در این مطالعه با افزایش علاوه نیترات کادمیوم میزان مالون دی آلدید افزایش یافت که تیمار با اسید سالیسیلیک

بطور محسوس کاهش یافت که با محلول پاشی سالیسیلیک اسید این میزان افزایش یافت (شکل ۵). (Khudsar *et al.*, 2001) نیز کاهش میزان پروتئین کل را در گیاه لپه هندی با افزایش غلاظت کادمیوم گزارش کردند. تنش فلزات سنگین با تولید رادیکال های آزاد اکسیژن سبب تخریب ساختار پروتئین ها و اسید آمینه ها می شوند، همچنین رادیکال های آزاد اکسیژن میل ترکیبی بالایی با پروتئین داشته و سبب اکسید شدن آن ها می شوند (Khudsar *et al.*, 2001). اسید سالیسیلیک از اکسید شدن و تخریب ساختار پروتئین ها جلوگیری به میزان اختلاف بین سنتز و تجزیه آن بستگی دارد. پژوهشگران متعددی کاهش مقدار پروتئین و افزایش نیترات، آمونیوم و اسیدهای آمینه آزاد را تحت شرایط تنش کادمیوم گزارش کردند (Rane *et al.*, 1995). رادیکال های آزاد اکسیژن تولید شده طی تنش به علت میل ترکیبی زیادی که با پروتئین ها و لیپیدها دارند باعث تخریب غشای سلولی، اسید نوکلئیک و پروتئین های سلول می شوند. استفاده از اسید سالیسیلیک، سبب افزایش محتوا پروتئین اندام هوایی در جو شد (El-Tayeb *et al.*, 2006).

مالون دی آلدید برگ: نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) بیانگر معنی دار بودن برهم کنش نیترات کادمیوم و سالیسیلیک



شکل ۶- برهم‌کنش نیترات کادمیوم و سالیسیلیک اسید برای مالوندی‌آلدهید (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 مالوندی‌آلدهید شود. همچنین رادیکال‌های آزاد می‌توانند به ساختار پروتئین‌ها آسیب بزنند و از بین رفتان پروتئین‌ها را در پی داشته باشند (Noctor and Foyer, 1998). میزان پراکسیداسیون لیپید همانند تجمع مالوندی‌آلدهید در بافت گیاهچه‌های برنج در تنفس کادمیوم افزایش یافت در حالی که در شرایط حضور اسید سالیسیلیک یک میلی‌مولا ر میزان مالوندی‌آلدهید به طور معنی‌داری کاهش یافت (Mishra and Chouhouri, 1999).

سبب کاهش در اکسیداسیون چربی‌های غشاء سلولی و کاهش محتوای مالوندی‌آلدهید در برگ‌ها گردید (شکل ۶). مصرف اسید سالیسیلیک باعث کاهش غلظت مالوندی‌آلدهید گردید و در بین غلظت آن‌ها نیز از این نظر اختلاف وجود داشت به طوری که غلظت یک میلی‌مولا از اسید سالیسیلیک باعث کاهش بیشتری در محتوای مالوندی‌آلدهید شد. اسیدهای چرب و لیپیدها حساسیت زیادی به اکسیژن دارند و به سرعت اکسید می‌شوند از آنجایی که غشاء سلولی یک غشاء فسفولیپیدی می‌باشد و اکسیژن اکسیژن با آن سبب تخریب غشاء سلولی و ترشح الکتروولیتها به بیرون سلول می‌شود. اسید سالیسیلیک با پاکسازی اکسیژن فعال سبب کاهش در اکسیداسیون چربی‌های غشاء سلولی و کاهش محتوای مالوندی‌آلدهید می‌گردد. افزایش مالوندی‌آلدهید در برگ‌هایی که تحت پیش‌تیماری قرار نگرفته‌اند بیشتر و با افزایش غلظت کادمیوم غلظت مالوندی‌آلدهید زیاد شد. کاهش آسیب غشاء سلولی در پاسخ به تیمار اسید سالیسیلیک می‌تواند نمایانگر مسئله القاء سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی به وسیله‌ی اسید سالیسیلیک، با از بین بردن رادیکال‌های آزاد به طور مستقیم و یا توسط آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان 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

نتیجه‌گیری:

نتایج این تحقیق نشان داد که تنفس نیترات کادمیوم اثرهای فیزیولوژیک خود را از طریق افزایش مالوندی‌آلدهید، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، پلی‌فنول‌اکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز بروز می‌دهد، که همگنی نتیجه بروز تنفس اکسیداتیو در سلول است. محلول‌پاشی با سالیسیلیک اسید یک میلی‌مولا اثر کاهنده بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، و مالوندی‌آلدهید برگ داشته و نشان می‌دهد که توانسته تا حدودی از اثرات سمیت کادمیوم در برگ گیاه گلنگ ممانعت نماید.

- 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 excess 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 stanchionometry 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 catalase 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) Cataloae, 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 lipoxigenases in rice. *Biological Planetarium* 42: 409-415.
- Mishra, R., Tripathi, D., Srivas, S. and Kumar, S. T. (2009) Thiol metabolism play significant role during cadmium detoxify, action by Cerate phylum
- منابع:**
- 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: ۴۸۴-۴۷۳.
- ترابیان، ع. و بغوری، ا. (۱۳۷۳). بررسی آلودگی‌های ناشی از کاربرد پساب‌های شهری و صنعتی در اراضی کشاورزی جنوب تهران، *مجله محیط شناسی* ۳۲: ۴۵-۴۳.
- جباری، ف.، ع. احمدی، ک. پوستینی و علیزاده، ح. (۱۳۸۴). ارتباط بین بعضی از انواع آنزیم‌های آنتی اکسیدان و غشاء سلولی و مقاومت کلروفیل به تحمل خشکی در ارقام گندم حساس، *مجله علوم کشاورزی ایران* ۳۱۶: ۳۰۷-۳۰۷.
- 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 ۳۱۰-۳۰۳.
- شريعت، م.، و فرشی، ص. (۱۳۸۱). مقدار عناصر سنگین محصولات در جنوب تهران، *مجموعه مقالات آب و خاک*، ۱۳-۲۵: ۵.
- 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) A rapid 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- banding 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 propyl gallate. 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 cataloae activity is present in a variety of plant species. Plant Physiology 106: 1675-1679.
- Sanita-di Toppi, L. and Gabbielli, 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

