جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

اثر اسید سالیسیک روی فراسنجه‌های بیوشیمیایی در فلفل سبز (*Capsicum annum*) تحت تنش کادمیوم

طرفه اخوان هزاوه[۱] و کمال الدین دیلمقانی[۲]

چکیده

در این مطالعه بعضی از نشانگرهای بیوشیمیایی گیاه فلفل (***Capsicum annuum***) به روش کشت گلدانی در قالب طرح بلوک‌های کاملا تصادفی با پیش تیمار اسید سالیسیلیک در سه سطح (**0**، 10^{-5} و 10^{-4}) مول و سپس کادمیوم در سه سطح (۰، ۶ و ۱۲) میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک در کل ۹ تیمار و سه تکرار برای هر تیمار مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان دادند که تیمار صرفا کادمیومی باعث کاهش مقدار کلروفیل کل و افزایش مقدار کلروفیل **b** و کارتنوئیدها شد. در تیمار اسید سالیسیلیک به تنهایی؛ اسید سالیسیلیک باعث افزایش در مقدار کلروفیل **a** و کاروتنوئید در حالی‌که روی محتوای کلروفیل کل تاثیر نداشت. در تیمارهای با هم، در هر دو سطح از اسید سالیسیلیک افزایش کادمیوم مقادیر این پارامترها را کاهش داد. در تیمارهای اسید سالیسیلیک یا کادمیوم به تنهایی؛ با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک یا مقدار کادمیوم پرولین ریشه؛ ساقه و برگ افزایش نشان داد. در تیمارهای توام؛ در هر دو غلظت از اسید سالیسیلیک با افزایش غلظت کادمیوم پرولین ریشه؛ ساقه و برگ کاهش یافت. در تیمارهای کادمیوم به تنهایی، مقدار پروتئین ریشه با افزایش غلظت کادمیوم نخست افزایش و سپس کاهش یافت در حالی‌که در همان تیمارها در ساقه کاهش دیده شد در برگ در ۶ میلی‌گرم افزایش وجود داشت. در تیمار صرفا اسید سالیسیلیک مقدار پروتئین ریشه، ساقه، برگ با افزایش اسید سالیسیلیک، افزایش نشان داد. در تیمارهای با هم در 10^{-5} مول از اسید سالیسیلیک با افزایش غلظت کادمیوم مقدار پروتئین ریشه و در 10^{-4} مول در ساقه و برگ افزایش یافت. نتایج نشان دادند که در تیمارهای بدون اسید سالیسیلیک با افزایش غلظت کادمیوم از صفر به ۶ و ۱۲ میلی‌گرم مقدار **MDA** (مالون دی آلدئید) افزایش یافت. در تیمارهای اسید سالیسیلیک به تنهایی؛ اسید سالیسیلیک در غلظت 10^{-5} مول تاثیر روی **MDA** نسبت به شاهد نداشت؛ اما در 10^{-4} مول مقدار آن را افزایش داد. در تیمارهای توام؛ در گیاهان تیمار شده با 10^{-5} مول از اسید سالیسیلیک؛ افزایش غلظت کادمیوم باعث کاهش مقدار آن شد. در گیاهان تیمار شده با 10^{-5} مول از اسید سالیسیلیک؛ افزایش غلظت کادمیوم باعث کاهش مقدار آن شد.

کلمات کلیدی: *اسید سالیسیلیک، پروتئین، پرولین , فلفل، کادمیوم، کلروفیل, مالون دی آلدئید (MDA)*

تاریخ دریافت: ۹۱/۷/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۱/۹/۲۵

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مرند، دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم گیاهی، مرند، ایران (نویسنده مسئول).

E- mail:torfeha@yahoo.com

۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مرند، گروه زیست شناسی علوم گیاهی، مرند، ایران.

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه و بررسی منابع علمی

فلفل (*Capssicum annuum*) گیاهی گلدار از تیره سیب زمینی Solanaceae است این گیاه امروزه در سراسر جهان کشت می‌شود و علاوه بر استفاده در سبزیجات خوراکی در پزشکی نیز استفاده می‌شود (Bosland and Votava, 2002).

خاک‌های کشاورزی در سرتاسر جهان کمی تا متوسط با فلزات سنگین سمی آلوده هستند که تولید گیاهان زراعی را محدود می‌کنند. در میان فلزات سنگین کادمیوم یک آلاینده فلز سنگین غیر ضروری و بسیار زیان‌آور است و معمولا از اعمال صنعتی مختلف، استخراج معدن آزاد می‌شود (Benavides et al,. 2005).

گیاهان روش‌های مختلفی برای مقابله با اثرات سمی کادمیوم به کار می‌گیرند (Hall, 2002). خلاصه‌ای از مکانیسم‌های سلولی بالقوه موجود برای سمیت زدایی فلز در گیاهان عالی عبارتند از:

۱- ممانعت از حرکت فلزات در ریشه‌ها به وسیله میکوریزها

۲- اتصال به دیواره سلولی و ترشحات ریشه

۳- درون شارش کاهش یافته به وسیله غشاء پلاسمایی

۴- برون شارش فعال به طرف آپوپلاست

۵- کلاته شدن در سیتوسل به وسیله لیگاندهای گوناگون

۶- تعمیر و حفاظت غشاء پلاسمایی تحت شرایط تنش

۷- انتقال و انباشتگی فلزات در واکوئل

اسید سالیسیلیک، یک ترکیب فنلی طبیعی در گیاهان در مقادیر بسیار کم می‌باشد. فنل‌ها در چند روش در متابولیسم با تنظیم تجزیه اکسین یا با کنترل تشکیل ایندول استیک اسید (اکسین) پیوسته دخیلند (Vlot et al., 2009).

اسید سالیسیلیک یک مولکول تولید شده توسط گیاه؛ مسئول القاء مقاومت در برابر تعدادی از تنش‌های زیستی وغیرزیستی است.

رویدادهای مولکولی دخیل در علامت رسانی اسید سالیسیلیک هنوز کاملا درک نشده هر چند تعداد فزاینده‌ای از اجزاء بالقوه دخیل مانند پروتیئن فسفاتاز، MPA کینازها، عوامل رونوسی bzip و پروتئین‌های حاوی تکرار آنکرین (NRP1) با رویکردهای مولکولی شناسایی می‌شوند (Chen et al., 1993).

مواد و روش‌ها

آزمایش در اتاق کشت آزمایشگاه زیست‌شناسی دانشگاه آزاد مرند انجام شد. دانه‌های گیاه فلفل از مرکز تحقیقات کشاورزی ارومیه تهیه شدند. این دانه‌ها از روستای گیجلر جمع آوری شده است. خاک کشت با الک شماره (۲) و سپس (۰/۵) غربال و پس از غربال کردن با آب مقطر شستشو داده شد. سپس در داخل اسید کلریدریک و آب مقطر به ترتیب به نسبت ۴:۱ به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفت پس از آن ماسه با آب مقطر به دفعات زیادی شستشو داده شد تا pH = ۷ پس از خشک شدن در هر گلدان به اندازه ۲ kg ماسه به

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

عنوان بستر کشت ریخته شده به این ترتیب ۲۷ عدد گلدان آماده کشت گردیدند. گلدان‌ها به صورت کاملا تصادفی در روی میز در اتاقک کشت قرار داده شدند. در هر گلدان ۱۰ دانه کشت داده شد و گیاهان در اتاق کشت تحت شدت نور ۱۳۹۰۰ لوکس در سطح تاج قرار گرفتند. پس از پدیدار شدن دانه رست‌ها ۶ دانه رست هم اندازه در هر گلدان نگهداری گردید. ۱۸ روز پس از کشت دانه‌ها در مرحله دو برگی دانه رست‌ها پیش تیمار اسید سالیسیلیک را با غلظت‌های 10^{-4} و 10^{-5} مول دریافت کردند. چون اسید سالیسیلیک مستقیما در آب حل نمی‌شود نخست در اتانول حل گردید. از این رو به همان مقدار اتانول به گیاهانی که اسید سالیسیلیک دریافت نکردند داده شد. یک هفته پس از دریافت اسید سالیسیلیک تیمار کادمیوم به صورت کلرید کادمیوم در دو غلظت ۶ و ۱۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک به گلدان‌ها اضافه گردید. در طی مدت آزمایش گلدان‌ها با آب مقطر و هم‌چنین سه روز یکبار با محلول هوگلند (El-Beltagi et al., 2010) آبیاری شدند آبیاری با محلول غذایی هوگلند پس از کشت دانه‌ها آغاز شد. این پژوهش با دو فاکتور اسید سالیسیلیک و کادمیوم در ۳ گروه؛ هر گروه با۳ تیمار و هر تیمار با ۳ تکرار در ۲۷ واحدآزمایشی انجام گرفت.

سنجش مقدار کلروفیل و کاروتنوئید: برای اندازه‌گیری کاروتنوئید از (Lichtenthaler) کلروفیل از روش آرنون (Arnon) استفاده شد. جوان‌ترین برگ (برگ سبز کاملا باز شده) وزن و داخل شیشه‌های محتوی ۵ میلی‌لیتر استون قرار داده و به مدت ۴۸ ساعت در یخچال نگه‌داری شد تا رنگیزه‌های فتوسنتزی در استون استخراج و برگ‌ها کاملا بی‌رنگ شوند. سپس جذب نوری کلروفیل موجود در عصاره رنگیزه‌ای در دو طول موج ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر و کاروتنوئید در ۴۷۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل ۲۰۴۱ اندازه‌گیری شد. با استفاده از وزن تر نمونه‌ها مقادیر chla و chlb و کلروفیل کل و کاروتنوئید هر نمونه بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ محاسبه گردید.

سنجش پروتئین محلول: برای اندازه‌گیری مقدار پروتئین موجود در نمونه‌های گیاهی از روش Folin-lowry استفاده شد. نخست ۰/۲ گرم از نمونه تر گیاهی در ۵ میلی‌لیتر بافر تریس- گلیسین و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در هاون چینی درون یخ سائیده شد. عصاره حاصل پس از یک ساعت به مدت ۵۴ دقیقه و سرعت ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه در سانتریفیوژ یخچال‌دار nure مدل NF800R قرار گرفت. ۴۰۰ میکرو لیتر از محلول رویی جدا و به درون لوله‌های آزمایش ریخته شد. میزان جذب نوری نمونه‌ها به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر Cecil مدل ۲۰۴۱ در طول موج ۶۶۰ نانومتر اندازه‌گیری و سپس مقدار پروتئین بر اساس میلی‌گرم بر گرم وزن تر با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید. برای رسم منحنی استاندارد پروتئین از محلول سرم آلبومن گاوی به غلظت‌های ۰؛ ۵۰۰؛ ۱۵۰۰؛ ۲۰۰۰؛ ۲۵۰۰ میکروگرم در لیتر استفاده شد.

سنجش پرولین: برای سنجش پرولین از روش Bates استفاده شد. ۰/۲ گرم از نمونه تر گیاهی با ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳٪ درون هاون چینی به مدت ۵ دقیقه ساییده شد. سپس عصاره تهیه شده درون لوله‌های آزمایش ریخته و به مدت ۱۵ دقیقه با ۱۰۰۰ rpm سانتریفوز شد. در مرحله بعد از رونشین ۲ میلی‌لیتر برداشته و ۲ میلی‌لیتر نین هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال به آن اضافه گردید و به مدت ۱ ساعت درون بن ماری حرارت داده شد. پس از ۱ ساعت لوله‌های آزمایش حاوی محلول بلافاصله درون یخ (برای متوقف شدن واکنش‌ها) به مدت ۱ تا ۲ دقیقه قرار داده شدند. سپس ۴ میلی‌لیتر تولوئن به هر یک از این لوله‌ها اضافه و با ورتکس تکان داده شدند. در این حالت دو فاز از هم جدا شد؛ فاز بالایی (معمولا صورتی رنگ) جدا و میزان جذبی نوری آن در طول موج ۵۲۰ nm توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. مقدار پرولین نمونه‌های گیاهی با استفاده از منحنی استاندارد پرولین و با در دست داشتن وزن تر نمونه‌ها بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید. برای رسم منحنی استاندارد پرولین از اندازه‌گیری جذب محلول‌های پرولین تهیه شده به غلظت‌های ۰؛ ۱۰؛ ۲۰؛ ۳۰؛ ۴۰؛۵۰؛ ۶۰؛ ۷۰ استفاده شد.

سنجش پراکسیداسیون لیپیدها: برای سنجش مقدار پراکسیداسیون لیپیدهای غشا غلظت مالون دی آلدئید که محصول پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع می‌باشند اندازه‌گیری گردید. برای سنجش پراکسیداسیون لیپید از روش Heath و Packer استفاده شد. در این روش نخست ۰/۲ گرم از بافت برگی تر در ۳ میلی‌لیتر تری کلرو استیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد ساییده شد و محلول همگن در ۳۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوز گردید. به ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی؛ ۴ میلی‌لیتر محلول TCA؛ ۲۰٪ که دارای ۰/۵ درصد اسید تیوباربیوتیک (TBA) بود اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد در حمام آب گرم حرارت داده شد و سپس بلافاصله در یخ سرد گردید و دوباره مخلوط به مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰۰ rpm سانتریفوز شد. میزان جذب نوری این محلول در طول موج nm ۵۳۲ تعیین و برای حذف جذب عوامل غیراختصاصی، میزان جذب در طول موج nm ۶۰۰ از میزان جذب در طول موج nm ۵۳۲ کسر گردید. برای محاسبه MDA از فرمول $A= \varepsilon bc$ استفاده گردید که در آن ε یا ضریب خاموشی معادل $M^{-1}.cm^{-1}$ ۱۵۵×10^{-3}؛ A مقدار جذب نور؛ b عرض سل cm ۱ و c مقدار ماده بر حسب مول بر گرم وزن تر می‌باشد. سپس با استفاده از وزن تر نمونه مقدار آن بر حسب میلی‌مول بر گرم وزن تر محاسبه شد.

داده‌های حاصل از اندازه‌گیری و سنجش مواد با استفاده از نرم‌افزار (SPSS; VER19) با متد دانکن مورد بررسی قرار گرفتند.

نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی

کلروفیل a: نتایج مربوط به مقدار کلروفیل a در برگ‌های جوان نشان می‌دهند که با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک از ۰ به 10^{-5} مول و 10^{-4} مول در تیمارهای بدون کادمیوم، مقدار کلروفیل a افزایش یافت. بالاترین مقدار در تیمار 10^{-4} مول دیده شد. در تیمارهای بدون اسید سالیسیلیک، با افزایش کادمیوم کلروفیل a کاهش یافت بیش‌ترین این کاهش مربوط به تیمار ۱۲ میلی‌گرم بود (جدول ۱).

در تیمارهای با هم کادمیوم و اسید سالیسیلیک، در گیاهان تیمار شده با 10^{-5} مول با افزایش کادمیوم کلروفیل a به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش یافت. با این حال بین دو سطح از کادمیوم تفاوت دیده شده معنی‌دار نبود. در گیاهان دریافت کننده 10^{-4} مول از اسید سالیسیلیک افزایش کادمیوم اثر کاهنده روی مقدار کلروفیل a داشت.

بیش‌ترین کاهش در ۱۲ میلی‌گرم دیده شد (جدول ۱).

کلروفیل b: مقدار کلروفیل b در برگ‌های گیاهان تیمار شده تنها با کادمیوم در هر دو سطح از کادمیوم نسبت به شاهد تفاوت معنی‌دار نشان نداد. با این حال، در ۱۲ میلی‌گرم نسبت به ۶ میلی‌گرم کاهش دیده شد. اسید سالیسیلیک به تنهایی در هر سه سطح سبب تفاوت معنی‌دار در مقدار کلروفیل b برگ‌های جوان نشد (جدول ۱).

در تیمارهای با هم، گیاهان دریافت کننده تیمار 10^{-5} مول از اسید سالیسیلیک، مقدار کلروفیل b برگ‌های‌شان با افزایش غلظت، کادمیوم از صفر به ۶ میلی‌گرم تغییر نشان نداد، اما در ۱۲ میلی‌گرم کاهش یافت. در 10^{-4} مول نتیجه مشابهی به دست آمد (جدول ۱).

کلروفیل کل: مقایسه میانگین‌های داده‌های مربوط به مقادیر کلروفیل کل در سه سطح از کادمیوم بدون اسید سالیسیلیک نشان می‌دهد که کادمیوم باعث کاهش مقدار کلروفیل کل گردید. این کاهش در ۱۲ میلی‌گرم بسیار بالاتر بود. در تیمارهای اسید سالیسیلیک به تنهایی، روند معکوس دیده شد (جدول ۱).

در تیمارهای با هم، در هر دو سطح از اسید سالیسیلیک با افزایش غلظت کادمیوم کاهش دیده شد (جدول ۱).

کاروتنوئید: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم در نبود اسید سالیسیلیک مقدار کاروتنوئید برگ‌ها افزایش یافت. این افزایش در سطح ۱۲ میلی‌گرم بالاتر بود. با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک در تیمارهای بدون کادمیوم کاروتنوئید برگ‌ها افزایش یافت، اما در دو سطح از اسید سالیسیلیک تفاوت معنی‌دار نبود (جدول ۱).

در تیمارهای توام، در غلظت 10^{-5} مول از اسید سالیسیلیک افزایش غلظت کادمیوم مقدار کاروتنوئید را کاهش داد. کاهش در سطح ۱۲ میلی‌گرم بیش تر بود. در غلظت 10^{-4} مول با

افزایش کادمیوم مقدار کاروتنوئید افزایش یافت اما تفاوت غلظت کاروتنوئید بین دو سطح معنی‌دار نبود (جدول ۱).

نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار پروتئین

پروتئین ریشه: با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک در تیمارهای بدون کادمیوم، مقدار پروتئین ریشه کاهش قابل ملاحظه‌ای نشان داد. مقدار پروتئین در 10^{-4} مول نسبت به 10^{-5} مول بیش تر بود. در نبود اسید سالیسیلیک با افزایش کادمیوم، مقدار پروتئین ریشه در ۶ میلی‌گرم افزایش و در ۱۲ میلی‌گرم کاهش یافت (جدول ۲).

در تیمارهای توام کادمیوم و اسید سالیسیلیک؛ در غلظت 10^{-5} مول از اسید سالیسیلیک افزایش کادمیوم موجب افزایش محتوای پروتئین ریشه شد. افزایش در ۶ میلی‌گرم نسبت به ۱۲ میلی‌گرم بالاتر بود. در گیاهان تیمار شده با 10^{-4} مول از اسید سالیسیلیک نتیجه مشابهی دیده شد (جدول ۲).

پروتئین ساقه: در تیمارهای بدون کادمیوم افزایش غلظت SA مقدار پروتئین ساقه را کاهش داد. این کاهش در تیمار 10^{-4} مول از اسید سالیسیلیک بیش تر بود. در نبود اسید سالیسیلیک با افزایش کادمیوم نتیجه مشابهی به دست آمد (جدول ۲).

در تیمارهای با هم کادمیوم و اسید سالیسیلیک، در غلظت 10^{-5} مول از اسید سالیسیلیک با افزایش غلظت کادمیوم از ۰ به ۶ میلی‌گرم پروتئین ساقه افزایش قابل ملاحظه‌ای پیدا کرد. با این حال، تفاوت مقدار آن در دو تیمار ۰ و 10^{-5} مول معنی‌دار نبود. در گیاهان تیمار شده با 10^{-4} مول از اسید سالیسیلیک افزایش غلظت کادمیوم محتوای پروتئین ساقه را افزایش داد. اگر چه، **تاثیر** تفاوت دو تیمار ۶ و ۱۲ میلی‌گرم روی این پارامتر معنی‌دار نبود (جدول ۲).

پروتئین برگ: در تیمارهای صرفاً سالیسیلیکی، با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک باعث کاهش مقدار پروتئین برگ شد.

تفاوت بین مقدار پروتئین در دو تیمار اسید سالیسیلیک، ۰ و 10^{-4} مول، معنی‌دار نبود. در گیاهان تیمار شده با کادمیوم به تنهایی با افزایش غلظت کادمیوم مقدار پروتئین برگ افزایش یافت. ۱۲ میلی‌گرم از کادمیوم باعث ایجاد تفاوت بین مقدار پروتئین نسبت به تیمار شاهد نشد (جدول ۲). در تیمارهای با هم، در غلظت 10^{-5} مول از اسید سالیسیلیک، با افزایش غلظت کادمیوم پروتئین برگ کاهش و در 10^{-4} مول افزایش یافت.

در غلظت 10^{-4} مول از اسید سالیسیلیک، کاربرد کادمیوم اثر افزاینده روی مقدار پروتئین برگ، به ویژه در ۱۲ میلی‌گرم، داشت (جدول ۲).

نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان پرولین

پرولین ریشه: در تیمارهای اسید سالیسیلیک یا کادمیم به تنهایی، با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک یا مقدارکادمیوم پرولین ریشه افزایش نشان داد. این افزایش در ۱۲ میلی‌گرم از کادمیوم و 10^{-4} مول از اسید سالیسیلیک بالاتر بود (جدول ۳).

در تیمارهای توام، در غلظت 10^{-5} مول از اسید سالیسیلیک با افزایش غلظت کادمیوم پرولین ریشه کاهش یافت. کاهش در ۶ میلی‌گرم بیش تر بود. در غلظت 10^{-4} مول با افزایش غلظت کادمیوم مقدار پرولین ریشه کاهش نشان داد اما تفاوت بین دو سطح ۶ و ۱۲ میلی‌گرم از کادمیوم معنی‌دار نبود (جدول ۳).

پرولین ساقه: افزایش غلظت کادمیوم در گیاهان تیمار نشده با اسید سالیسیلیک، مقدار پرولین ساقه افزایش یافت. افزایش در تیمار ۱۲ میلی‌گرم بیش تر بود. در نبود کادمیوم، با افزایش اسید سالیسیلیک محتوای پرولین ساقه افزایش یافت با این حال تفاوت بین دو سطح 10^{-5} و 10^{-4} مول معنی‌دار نبود (جدول ۳).

در تیمارهای با هم، در گیاهان تیمار شده با 10^{-5} مول از اسید سالیسیلیک، پرولین ساقه را کاهش داد. دو سطح کادمیوم اعمال شده تاثیر معنی‌داری روی مقدار پرولین ساقه نداشتند. در 10^{-4} مول از اسید سالیسیلیک، با افزایش غلظت کادمیوم مقدار پرولین ساقه کاهش پیدا کرد اما تفاوت بین دو سطح از کادمیوم معنی‌دار نبود (جدول ۳).

پرولین برگ: در نبود کادمیوم، با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک مقدار پرولین برگ افزایش یافت.

جدول(۱) مقادیرمیانگین و انحراف معیار بر روی کلروفیل a و b و کل و کاروتنوئیدبرگ گیاهان فلفل تیمارشده با غلظت مختلف اسید سالیسیلیک وکادمیوم

Average amounts and deviations criteria on chl a,chl b,total chl and carotenoid of plant of peppers with deferent concentration of salicylic acid and cadmium

پارامتر رشد / SA(M) , Cd (mg/Kg) تیمار	کلروفیل a mg/gf.W	کلروفیل b mg/gf.W	کلروفیل کل mg/gf.W	کاروتنوئید mg/gf.W
SA 0 , Cd 0	0.826772 ± 0.1095 c	0.598410 ± 0.0753 bc	1.411333 ± 0.0697 c	0.100467 ± 0.0028 d
SA 0 , Cd 6	0.045940 ± 0.0555 d	0.560333 ± 0.0115 ab	1.016667 ± 0.0695 d	0.120000 ± 0.0085 d
SA 0 , Cd 12	0.126667 ± 0.0105 e	0.494000 ± 0.0180 cd	0.587667 ± 0.0837 f	0.128000 ± 0.0017 a
SA 10^{-5} , Cd 0	1.246333 ± 0.1229 b	0.602667 ± 0.0287 ab	1.797000 ± 0.0701 b	0.115667 ± 0.0035 b
SA 10^{-5} , Cd 6	0.422133 ± 0.0203 d	0.652667 ± 0.0132 a	1.078667 ± 0.0126 d	0.104000 ± 0.0010 c
SA 10^{-5} , Cd 12	0.361000 ± 0.0306 d	0.526333 ± 0.0301 c	0.834333 ± 0.0695 e	0.092400 ± 0.0005 d
SA 10^{-4} , Cd 0	1.560000 ± 0.0485 a	0.609400 ± 0.0173 ab	2.148000 ± 0.0537 a	0.122600 ± 0.0102 b
SA 10^{-4} , Cd 6	0.820667 ± 0.0050 c	0.62333 ± 0.0595 ab	1.145000 ± 0.0817 c	0.101667 ± 0.0020 c
SA 10^{-4} , Cd 12	0.462633 ± 0.0487 d	0.444833 ± 0.0431 d	0.871133 ± 0.0388 e	0.113667 ± 0.0020 b

حروف مشترک در هر ستون نشانگر غیرمعنی‌دار بودن و حروف غیرمشترک نشانگر معنی‌دار بودن داده ها در سطح احتمال ۵٪ می‌باشند

Similar letters word in each column indicates no meaning while non-similar letters in each column are significantly different at p=5%

جدول (۲) مقادیر میانگین و انحراف معیار پروتئین برگ، ساقه و ریشه گیاهان فلفل تیمار شده با غلظت‌های مختلف از اسید سالیسیلیک و کادمیوم

Average amounts and deviations criteria of protein in the leaf, stem and root of plant of peppers with deferent concentration of salicylic acid and cadmium

SA(M) و Cd (mg/Kg تیمار)	پروتئین ریشه mg/g F.W	پروتئین ساقه mg/g F.W	پروتئین برگ mg/g F.W
$SA0$ و $Cd0$	6.083333 ± 0.0115 *b*	3.548667 ± 0.0475 *b*	7.512667 ± 0.1253 *e*
$SA0$ و $Cd6$	6.513333 ± 0.2709 *a*	3.252000 ± 0.0870 *c*	11.635667 ± 0.4348 *b*
$SA0$ و $Cd12$	3.189333 ± 0.1306 *g*	1.189000 ± 0.0615 *f*	7.486000 ± 0.0510 *e*
$SA10^{-5}$ و $Cd0$	3.092667 ± 0.0087 *g*	2.740000 ± 0.1734 *d*	6.856667 ± 0.0832 *f*
$SA10^{-5}$ و $Cd6$	4.027333 ± 0.0460 *d*	4.950000 ± 0.0264 *a*	5.573333 ± 0.0404 *g*
$SA10^{-5}$ و $Cd12$	3.549667 ± 0.1037 *ef*	2.856667 ± 0.0650 *d*	9.893333 ± 0.0750 *c*
$SA10^{-4}$ و $Cd0$	3.451667 ± 0.0125 *f*	2.409333 ± 0.1510 *e*	7.573333 ± 0.0862 *e*
$SA10^{-4}$ و $Cd6$	4.2888333 ± 0.0891 *c*	4.979667 ± 0.0305 *ab*	8.27667 ± 0.0152 *d*
$SA10^{-4}$ و $Cd12$	3.7283333 ± 0.0265 *e*	3.460000 ± 0.0608 *bc*	10.503333 ± 0.0208 *b*

حروف مشترک در هر ستون نشانگر غیرمعنی‌دار بودن و حروف غیرمشترک نشان‌گر معنی‌دار بودن داده ها در سطح احتمال ۵٪ می‌باشند

Similar letters word in each column indicates no meaning while non-similar letters in each column are significantly different at p=5%

جدول (۳) مقادیر میانگین و انحراف معیار پرولین برگ، ساقه و ریشه در گیاهان فلفل تیمار شده با غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک و کادمیوم

Average amounts and deviations criteria of prolin in the leaf, stem and root of plant of peppers with deferent concentration of salicylic acid and cadmium

SA(M) و Cd (mg/Kg تیمار)	پرولین ریشه mg/g F.W	پرولین ساقه mg/g F.W	پرولین برگ mg/g F.W
$SA0$ و $Cd0$	0.168200 ± 0.0120 *g*	0.022333 ± 0.0020 *f*	0.141333 ± 0.0080 *f*
$SA0$ و $Cd6$	0.298667 ± 0.0115 *b*	0.142667 ± 0.0025 *e*	0.265667 ± 0.0098 *b*
$SA0$ و $Cd12$	0.378000 ± 0.0072 *d*	0.242757 ± 0.0112 *b*	0.295667 ± 0.0051 *a*
$SA10^{-5}$ و $Cd0$	0.240000 ± 0.0100 *d*	0.323333 ± 0.0152 *a*	0.219333 ± 0.0098 *d*
$SA10^{-5}$ و $Cd6$	0.193333 ± 0.0057 *f*	0.176333 ± 0.0158 *d*	0.169667 ± 0.0105 *e*
$SA10^{-5}$ و $Cd12$	0.219667 ± 0.0090 *e*	0.178333 ± 0.0120 *d*	0.179000 ± 0.0140 *e*
$SA10^{-4}$ و $Cd0$	0.276000 ± 0.0151 *c*	0.331667 ± 0.007 *a*	0.238667 ± 0.0092 *c*
$SA10^{-4}$ و $Cd6$	0.151000 ± 0.0173 *g*	0.166667 ± 0.0057 *d*	0.099033 ± 0.0044 *g*
$SA10^{-4}$ و $Cd12$	0.163333 ± 0.0058 *g*	0.205000 ± 0.0132 *c*	0.112000 ± 0.0034 *g*

حروف مشترک در هر ستون نشانگر غیرمعنی‌دار بودن و حروف غیرمشترک نشان‌گر معنی‌دار بودن داده ها در سطح احتمال ۵٪ می‌باشند

Similar letters word in each column indicates no meaning while non-similar letters in each column are significantly different at p=5%

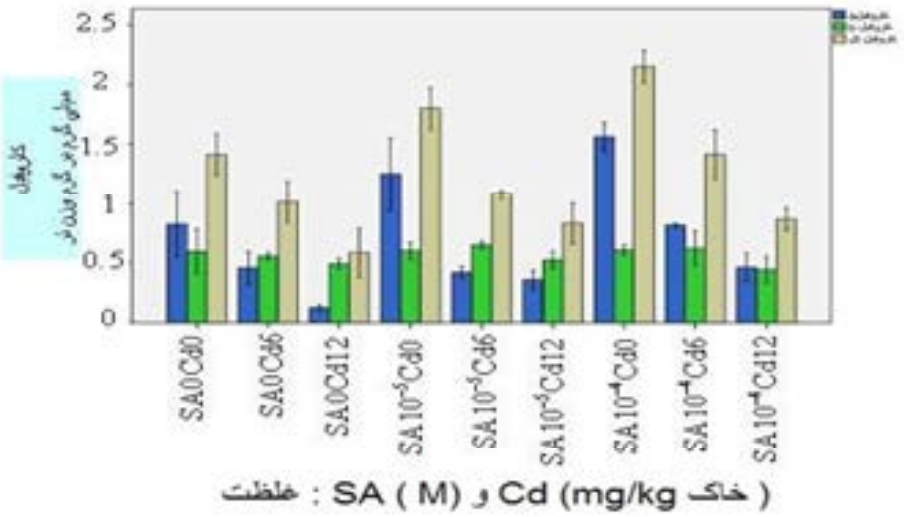
جدول (۱) مقادیر میانگین و انحراف معیار مالون دی آلدهید (MDA) برگ، در گیاهان فلفل تیمار شده با غلظت‌های مختلف اسیدسالیسیلیک و کادمیوم

Average amounts and deviations criteria of MDA in the leaf of plant of peppers with deferent concentration of salicylic acid and cadmium

SA(M) و Cd (mg/Kg خاک)	MDA مول بر گرم وزن تر
$SA0$ و $Cd0$	0.1010 ± 0.0074 *e*
$SA0$ و $Cd6$	0.1933 ± 0.012 *d*
$SA0$ و $Cd12$	0.3061 ± 0.110 *c*
$SA10^{-5}$ و $Cd0$	0.1144 ± 0.009 *e*
$SA10^{-5}$ و $Cd6$	0.3731 ± 0.001 *b*
$SA10^{-5}$ و $Cd12$	0.5182 ± 0.009 *a*
$SA10^{-4}$ و $Cd0$	0.3724 ± 0.016 *b*
$SA10^{-4}$ و $Cd6$	0.1923 ± 0.012 *d*
$SA10^{-4}$ و $Cd12$	0.0731 ± 0.009 *f*

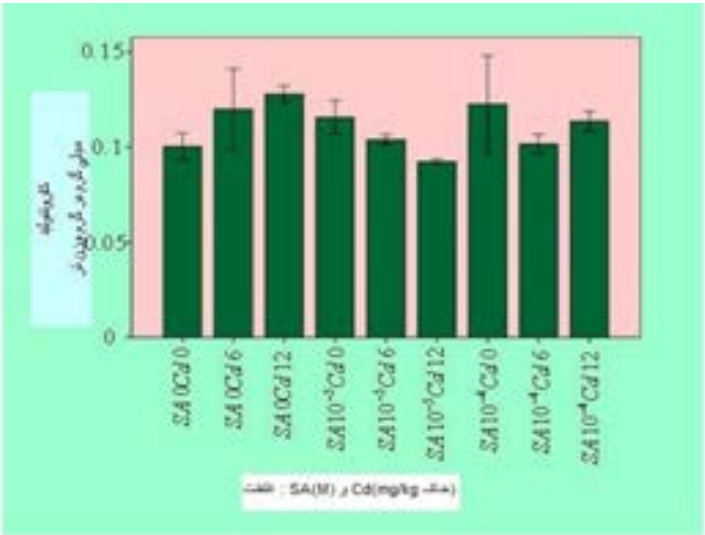
حروف مشترک در هر ستون نشانگر غیرمعنی‌دار بودن و حروف غیرمشترک نشان‌گر معنی‌دار بودن داده ها در سطح احتمال ۵٪ می‌باشند.

Similar letters word in each column indicates no meaning while non-similar letters in each column are significantly different at p=5%



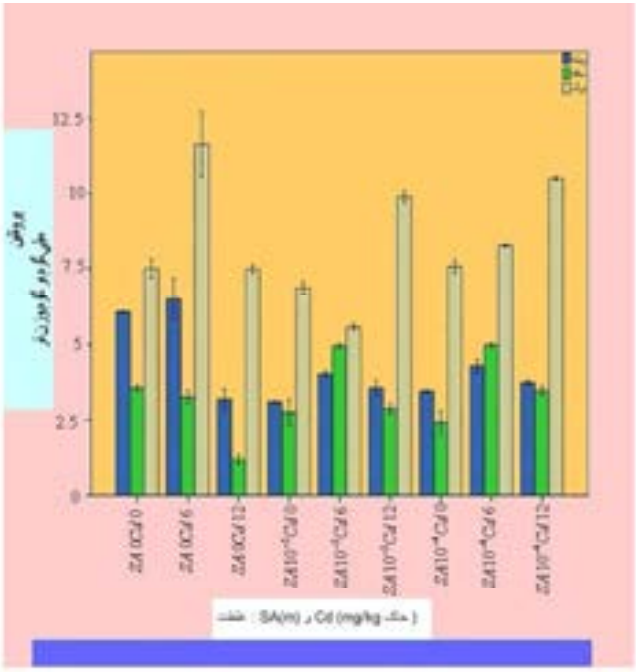
شکل ۱:مقادیرکلروفیل از a و b وکل در دانه رست های فلفل تیمار شده باغلظت های مختلف کادمیوم واسید سالیسیلیک در سطح احتمال ۵ درصد

Effect of different concentration of SA+Cd on chlorophyll a, chlorophyll b and total chlorophyll in seedling peppers at 5%



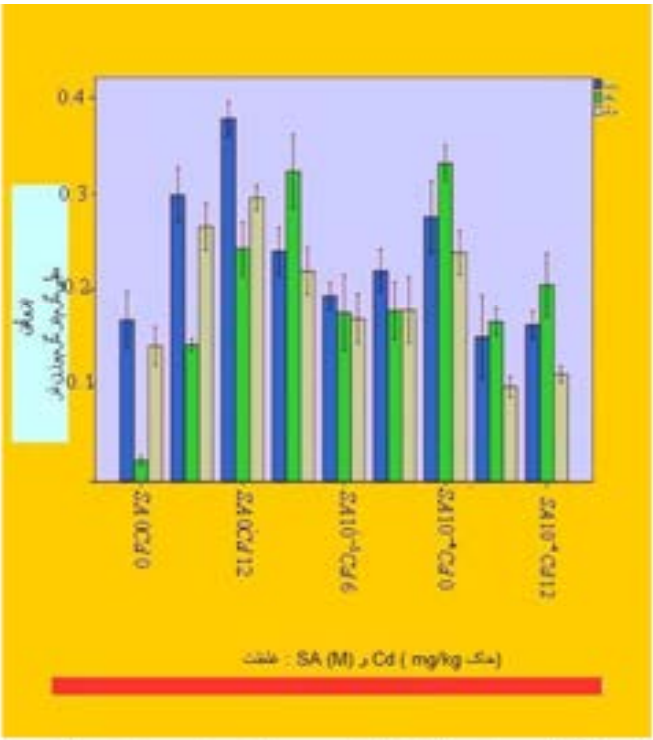
شکل ۲ :اثر سطوح مختلف از کادمیوم و اسید سالیسیلیک بر کاروتنوئید در سطح احتمال ۵ درصد

Effect of different concentration of SA+Cd on carotenoid in seedling peppers at 5%



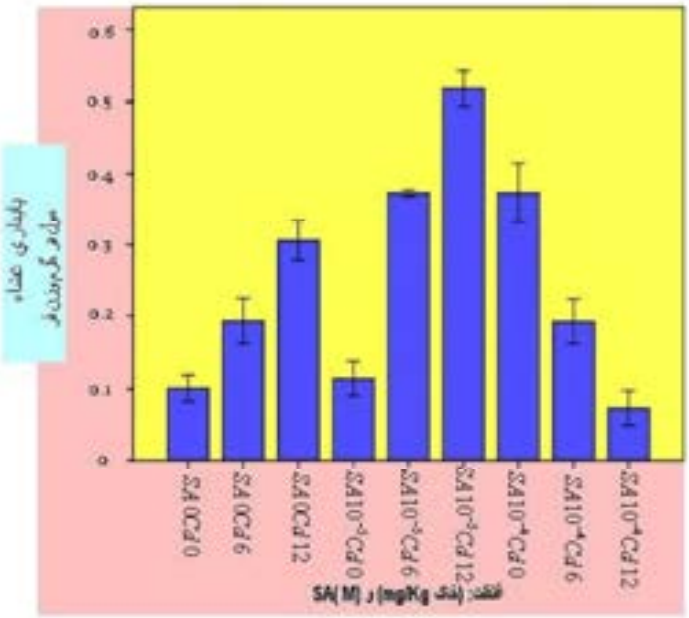
شکل۳: اثر سطوح مختلف از کادمیوم و اسید سالیسیلیک بر پروتئین ریشه وساقه وبرگ در دانه رست های فلفل تیمار شده در سطح احتمال ۵ در صد

Effect of different concentration of SA+Cd on protein in root ,stem and leaf in seedling peppers at 5%



شکل ٤ : اثر مقادیرمختلف از کادمیوم و اسید سالیسیلیک بر پرولین ریشه و ساقه وبرگ در دانه رست های فلفل تیمار شده در سطح ۵ درصد

Effect of different concentration of SA+Cd on prolin in root, leaf and stem in seedling peppers at 5%



شکل۵ : مالون دی آلدئید در دانه رست های فلفل تیمار شده با غلظت های مختلف از کادمیوم و اسید سالیسیلیک

Effect of different concentration of SA+Cd on MDAin seedling peppers at 5%

بحث

بر اساس نتایج یافته‌های سایر محققین مشخص شد که کادمیوم کلروفیل و کاروتنوئیدها را در ۵ رقم خردل هندی کاهش داد. رنگیزه‌های فتوسنتزی (a؛ b و کل) و کاروتنوئید در برگ‌های دانه رست‌ها به سمیت کادمیوم حساس بودند (Bauddh et al., 2011).

نتایج تحقیق در گیاه گندم توسط Moussua et al., 2010) نیز نشان داد که تیمار با اسید سالیسیلیک مقدار رنگیزه‌ها را افزایش داد. نتایج مشابه در کلزا (*Brassica napus*) دیده شد Arnon (et al., 1994).

از میان رنگیزه‌های مختلف کلروفیل a و کاروتنوئید حساسیت بیشتری به سمیت کادمیوم نسبت به کلروفیل b نشان دادند (Bauddb et al., 2011).

کاهش میزان کلروفیل a می‌تواند به دلیل تداخل در متابولیسم رنگیزه‌ها باشد چون فلزات سنگین باعث مهار بیوسنتز کلروفیل در سطح آنزیم پروتوکلروفیلید ردوکتاز می‌گردد (Nikolic et al., 2008). تصور می‌شود که کاهش در مقدار کلروفیل در گیاهان در معرض تنش Cd که به دلایل زیر باشد: ۱) بازدارندگی آنزیم‌های مهم مانند دلتا آمنیولولینیک اسید دهیداتاز وپروتوکلروفیلید ردوکتاز وابسته با بیو سنتز کلروفیل، ۲) اختلال در تامین Mg^{+2} و Fe^{+2} لازم برای سنتز کلروفیل، ۳) کمبود Zn^{+2} منجر به بازدارندگی آنزیم‌ها مانند کربنیک آنهیدراز و ۴) جایگزینی یون‌های Mg^{+2} در وابسته به حلقه تتراپیرول مولکول کلروفیل (John et al., 2008). گزارش شد که کاروتنوئید رنگیزه آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی است که کلروفیل غشاء و ترکیب زنتیکی سلول را در برابر *ROS* [1] تحت تنش فلزات سنگین محافظت می‌کند در حفاظت سلول گیاهی نقش این رنگیزه احتمال دارد به دلیل خاموش سازی کلروفیل سه گانه؛ جایگزینی پراکسیداسیون و تخریب غشای کلروپلاستی باشد. و نخست مقدار کاروتنوئید برای حفاظت سلول در برابر فلزات سنگین افزایش می‌یابد، اما در غلظت‌های بالا (۱۰۰ میکرو مول) فلزات سنگین تعدادی از مکانیسم‌ها را فعال و رنگیزه‌های کاروتنوئید را تجزیه می‌کنند وکلروپلاست را از پر اکسیداسیون لیپید و آسیب‌های اکسیداتیو محافظت کنند (Rastgoo et al., 2011).

در مطالعات انجام شده کشف کردند اسید سالیسیلیک به طور قابل ملاحظه‌ای مقدار کاروتنوئید را در برگ‌های آفتاب‌گردان شاهد نیز تحت تنش مس افزایش داد به عقیده Enany و Tayeb افزایش به دلیل نقش مهم این رنگیزه در سمیت‌زدایی ROS می‌باشد (El-Tayeb and El-Enany, 2006).

افزایش محتوای پروتئین تحت اثر غلظت‌های بالای کادمیوم می‌تواند به دلیل افزایش سنتز بعضی آنزیم‌های آنتی اکسیدانت و سنتز پروتئین و پلی پپتیدهای دیگر در سیستم دفاعی باشد این مولکول‌های پروتئینی به فلز متصل و یا

1. Reactive oxygen species

تولید متالوتیونین‌ها (کمپلکس پروتئین- فلز) اثر سمی آن را خنثی می‌کند (Tuna et al., 2007).

افزایش پروتئین در غلظت‌های بالای نیکل در گیاه *Trebouxia erici* و منگنز در گیاه ماش *Vigna radiale* گزارش شد (Drazic and Mihailovic, 2009). این نتایج با نتایج به دست آمده از این تحقیق هم‌خوانی دارد. گزارش‌هایی نشان داده است که تنش فلزات سنگین پروتئین‌های گوناگونی را القا می‌کند که به افزایش کل در محتوای پروتئینی منتهی می‌شود (Ghani, 2010).

القا mRNA مربوط به پروتئین‌های شوک گرمایی یا سنتز پروتئین‌های شوک گرمایی تحت تنش فلزات سنگین در گیاهان یا کشت‌های سلولی گیاهی مختلف دیده شده است (Memon et al., 2001).

در تحقیق انجام شده توسط (Bavi et al., 2011) در گیاه نخودفرنگی توسط تیمار کادمیوم تحت تنش قرار گرفت تفاوت معنی‌داری در مقدار پروتئین گیاهان؛ بین گیاهان تیمار شده با کادمیوم و شاهد وجود داشت در حضور ۲۰؛ ۵۰ و ۱۰۰ میکرومول کلرید کادمیوم مقدار پروتئین ریشه ۳۱٪؛ ۳۰٪ و ۳۸٪ کاهش یافت. کاهش مقدار پروتئین به دلیل کاهش سنتز و افزایش میزان واسرشتگی پروتئین می‌باشد.

طبق آزمایش‌های انجام شده پرولین به طور معنی‌داری در برگ‌ها و در ریشه‌های بادام زمینی (*Arachis hypogeal*) در همه غلظت‌های استفاده شده افزایش یافت. سطوح پرولین در برگ‌ها نسبت به ریشه‌ها بیش‌تر بود (Dinakar et al., 2008).

افزایش در مقدار پرولین احتمال دارد به دلیل سنتز از نو یا کاهش تجزیه یا هر دو باشد. به نظر می‌رسد که انباشت پرولین آزاد شاخص مناسبی برای تنش فلزات سنگین است. پیشنهاد شده است که پرولین آزاد به عنوان حفاظت کننده اسمزی و کلاتور فلزی عمل می‌کند. هم‌چنین پرولین به طور مستقیم به عنوان آنتی‌اکسیدان سلول‌ها را از آسیب‌های رادیکال‌های آزاد محافظت می‌کند و محیط را احیا کننده تر نگه می‌دارد که به نفع سنتز فیتوکلاتین و به دام‌اندازی کادمیوم است (Metwally et al., 2003).

پرولین در بهبود استرس‌های محیطی از جمله استرس‌های فلزات سنگین در گیاهان و میکروارگانیسم‌ها نقش مهمی دارد (Sing et al., 2010).

افزایش در مقدار ترکیبات فنلی ممکن است به علت عمل حفاظتی این ترکیب در برابر تنش فلزات سنگین با کلاته کردن فلز و جاروب انواع اکسیژن واکنشی ROS باشد (Rastgoo et al., 2011).

مطالعه روی اثر اسید سالیسیلیک در ارتباط با تنش اکسیداتیو نشان می‌دهد که سطح مالون دی آلدئید برگ‌ها کاهش (Kaydan et al., 2006) و یا افزایش (Popova et al., 1997) در ارتباط با تنش سمی وابسته به غلظت‌های گوناگون اسید سالیسیلیک تغییر می‌یابد. اسید سالیسیلیک با کلات

کردن فلزات سنگین مقدار مالون دی آلدئید را در گیاهان تحت تنش فلزات سنگین کاهش می‌دهد (El-Beltagei et al., 2010). تنش اکسیداتیو پاسخی است که از افزایش سطوح ROS در سلول قرار گرفته در معرض فلزات سنگین نتیجه می‌شود. میزان تولید H_2O_2 در ریشه‌های اسید سالیسیلیک با تیمار کادمیوم در گیاهان برنج افزایش یافت. افزایش در تولید H_2O_2 در گیاهان تحت تیمارهای فلزات سنگین گوناگون گزارش شده است. به عنوان پیامد ROS؛ لیپید پراکسیدهای آسیب‌رسان به سلول‌ها تشکیل می‌شوند. در تیمار کادمیوم؛ افزایش مقدار مالون دی آلدئید؛ تنش اکسیداتیو در ریشه‌ها را نشان داد.

مقدار MDA؛ اگرچه در ریشه‌های پیش تیمار شده با اسید سالیسیلیک؛ پایین تر بود. به عنوان فرآورده‌های پراکسیداسیون آلدهیدها تولید شدند.

افزایش مقدار MDA؛ تنش اکسیداتیو در ریشه‌ها را نشان داد. برای ترمیم آسیب ایجاد شده توسط ROS؛ گیاهان مجموعه متابولیسمی آنتی اکسیدان را ایجاد کرده‌اند که شامل آنزیم‌هایی CAT [1]؛ SOD [2] و آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی مانند آسکوربات و گلوتاتیون هستند (Choudhury and Panda., 2004).

بحث کلی

تاثیر تنش ناشی از افزایش غلظت کادمیوم بر فرایندهای فیزیولوریک گیاه متفاوت می‌باشد.در نتایج تحقیق اخیر تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌های کلروفیل a و کل در ۳ سطح از کادمیوم بدون حضور اسید سالیسیلیک دیده شد به طوری‌که با افزایش کادمیوم محتوای کلروفیل a و کل نسبت به شاهد کاهش یافت. افزایش میزان پروتئین توجیه کننده مقاومت آن در تنش کادمیوم است. با افزایش غلظت کادمیوم در گیاهان تیمار شده با غلظت 10^{-4} از اسید سالیسیلیک مقدار پروتئین برگ افزایش اما در غلظت 10^{-5} از اسید سالیسیلیک با افزایش غلظت کادمیوم به جز در غلظت ۱۲ میلی‌گرم از کادمیوم مقدار پروتئین برگ کاهش یافت. سنتز پرولین در حضور کادمیوم به عنوان یک مکانیسم دفاعی بیوشیمیایی گیاه به تنش منطقی به نظر می‌رسد. نتایج این پژوهش در ارتباط با پرولین ساقه کاهش معنی‌داری را در تیمار کادمیوم بدون حضور اسید سالیسیلیک با افزایش غلظت کادمیوم نشان داد در تیمارهای اسید سالیسیلیک بدون وجود کادمیوم با افزایش اسید سالیسیلیک افزایش معنی‌داری در پرولین ریشه دیده شد. نتایج این تحقیق هم چنین نشان داد که مقدار مالون دی آلدئید در تیمارهای کادمیوم بدون حضور اسید سالیسیلیک با افزایش غلظت کادمیوم افزایش و پایداری غشا کاهش یافت در غلظت $10^{-۴}$ مول از اسید سالیسیلیک پایداری غشا را کاهش و مقدار MDA افزایش پیدا کرد.

---

۱. کاتالاز

۲ . سوپر اکسید دیسموتاز

References منابع مورد استفاده

✓ Arnon, D. 1984. Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenoloxidase in *Beta Vulgaris*. Plant Physiology. No. 1.

✓ Bauddh, K., and R. P. Singh. 2011. Different toxicity of cadmium to mustard (*Brassica juncia* L.) genotypes under higher metal levels. Journal of Environmental Biology. Pp: 355-362.

✓ Bavi, K., B. Kholdebarin, and A. Moradsahi. 2011. Effect of cadmium to mustard (*Brassica junciae* L.).

✓ Benavides, M. P., S. M. Gallego, and M. L. Tomaro. 2005. Cadmium toxicity in plants. Brazilian Journal of Plant Physiology. 17 (1): 1- 15.

✓ Bosland, P. W., and E. J. Votava. 2002. Peppers: Vegetables and spices *Capsicum*. CABI publishing. Pp: 15- 57.

✓ Chen, Z., W. Ricigliano, and D. F. Klessig. 1993. Purification and characterization of a soluble salicylic acid binding protein from tobacco. Proc Natl AcadSic USA. 90: 9533- 9537.

✓ Choudhury, S., and S. K. Panda. 2004. Role of salicylic acid in regulation cadmium induced oxidative stress in *Oryza sativa* L. roots. Bulg. J. Plant Physiol. 30 (3- 4): 95- 110.

✓ Dinakar, N., P. C. Nagajyothi., S. Suresh., Y. Udaykiran, and T. Domodharam. 2008. Phytotoxicity of cadmium on protein, prolin and antioxidant enzyme activities in growing *Arachis hypogaes* L. Journal of Environmental Sciences. 20: 199- 206.

✓ Drazic, G., and N. Mihailovic. 2009. Salicylic acid modulates accumulation of Cd in seedlings of Cd-tolerant and Cd-susceptible soybean genotypes. Archives of Biologycal Science, Belgrade. 61 (3): 431- 439.

✓ El-Beltagi, H. S., A. A. R. Mohamad, and M. M. Ashed. 2010. Response of antioxidative enzymes to cadmium stress in leaves and roots of radish (*Raphanus sativus* L.). Notulae Scientia Biologica. 2 (4): 76- 82.

✓ El-Tayeb, M. A., and N. L. El-Enany. 2006. salicylic acid-induced adaptive response to copper stress in sunflower (*Helianthus annuus* L.). Plant Growth Regal. 50: 191- 199.

✓ Ghani, A. 2010. Effect cadmium toxicity on the growth and yield components of mung been (*Vigna radiate* L.). World Applied Sciences Journal. 8: 26- 29.

✓ Hall, J. L. 2002. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. Journal of Experimental Botany. 53 (366): 1- 11.

✓ John, R., P. Ahmad., K. Gadgil, and S. Sharm. 2008. Effect of cadmium and lead on growth, biochemical parameters and uptake in *Lemna polyrrhiza* L. Plant Soil Environ.

✓ Kaydan, D., M. Yagmur, and N. Okut. 2006. Effect of salicylic acid on the growth and some physiological characters in salt stressed wheat (*Triticum aestivum* L.). Fac. of Agric. Dept. of Fileld Crops. 13 (2): 114- 119.

✓ Memon, A. R., D. Aktoprakligil., A. Ozdemir, and A. Vertii. 2001. Heavy metal accumulation and detoxification mechanisms in plants. Turk Journal of Botany. 25: 111- 121.

✓ Meetwally, A., I. Finkemeier., M. Georgi, and K. Dietz. 2003. Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in barley seedling. Plant Physiology. 132: 272- 281.

✓ Moussua, H. R., and S. M. El-Gamal. 2010. Effect of SA-pretreatment on cadmium toxicity in wheat. Biologyia Plantarum. 54 (2): 315- 320.

✓ Nikolic, N., D. Kojic., A. Pilopovic., S. Pajevic., B. Kristic., M. Borise, and S. Orlivic. 2008. Responce of hybrid poplar to cadmium stress: photosyntentic characteristic cadmium and prolin accumulation antioxidant enzyme activity. Acta Biological Cracoviensia Series Botanical. 50 (20): 95- 101.

✓ Popova, L., T. Pancheva, and A. Uzunova. 1997. Salicylic acid: properties, biosynthesis and physiogical role. Bulgarian Journal of Plant Physiology. 23 (1- 2): 85- 93.

✓ Rastgoo, L., and A. Alemzadeh. 2011. Biochemical responses of gouan (*Aeluropus littoralis*) to heavy metals stress. Australian Journal of Crop Science. 5 (4): 375- 383.

✓ Sing, P., K. V. Chaturvedi, and B. Bandan. 2010. Effect of salicylic acid on seedling growth and nitrogen metabolism in cucumber (*Cucumis sativus* L.). Journal of Stress Physiology. 6 (3): 102- 113.

✓ Tuna, L. A., C. Kaya., M. Dikiltas., I. Yokas., B. Burun, and H. Altunlu. 2007. Comparative effects of various salicylic acid derivatives on key growth parameters and some enzyme activites in salinity stressed maize (*Zea mays* L.) Plants. Pakistan Journal of Botany. 39 (3): 787- 798.

✓ Vlot, A. C., M. A. Dempsey, and D. F. Klessing. 2009. Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease. Annual Review of Phytopatholgy. 47: 177- 206.