Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 4:47 IRST on Sunday September 24th 2017

تأثیر پیش‌تیمار با گلایسین‌بتائین بر کاهش اثر تنش کادمیوم در مرحله جوانه‌زنی و رشد گیاهچه سیاه‌دانه (*Nigella sativa*)

حوریه توکلی حسنکلو، علی عبادی*، نصیبه توکلی حسنکلو، قاسم پرمون

گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی

(تاریخ دریافت: ١٣٩٢/١٠/١٤ ، تاریخ پذیرش نهایی: ١٣٩٣/٠٤/٠٤)

چکیده:

کادمیوم از جمله فلزات سنگین آلاینده محیط زیست بوده و آلودگی به آن باعث بروز اثرات سمی در گیاه و انسان می‌شود. گلایسین‌بتائین نیز از تنظیم‌کننده‌های اسمزی است که کاربرد آن موجب کاهش اثرات مضر تنش‌ها از جمله کادمیوم در گیاه می‌گردد. به‌منظور بررسی اثر پیش‌تیمار بذر با گلایسین‌بتائین در کاهش آسیب‌های ناشی از تنش کادمیوم بر گیاهچه سیاه‌دانه، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در آزمایشگاه دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی در سال ١٣٩١ انجام شد. برای پیش‌تیمار بذر از محلول گلایسین‌بتائین (در غلظت‌های ٠، ٥٠ ، ١٠٠ و ١٥٠ میلی‌مولار) و برای ایجاد تنش کادمیوم از محلول‌های ٠، ٠/٢٥ و ٠/٥ میلی‌مولار کلرید کادمیوم استفاده شد. در این بررسی شاخص‌های جوانه‌زنی، محتوای پروتئین کل، میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، شاخص بنیه بذر، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، پروتئین کل و میزان فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش و نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه افزایش یافت. پیش‌تیمار با گلایسین‌بتائین اثرات نامطلوب کادمیوم را تخفیف داد. با افزایش غلظت کادمیوم میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز نیز بیشتر شد. همچنین استفاده از غلظت‌های بالای گلایسین‌بتائین فعالیت آنزیم را تشدید نمود. کادمیوم بر جوانه‌زنی و سیستم دفاعی گیاه تأثیر بازدارنده داشت و توانایی لازم از سیاه‌دانه در مقابله با این تغییرات مشاهده نگردی، با این وجود، پیش‌تیمار گلایسین-بتائین با افزایش فعالیت آنزیم های آنتی‌اکسیدان از مضرات کادمیوم کاسته، پروتئین کل را افزایش داده و فرآیند جوانه‌زنی را در برابر سمیت این فلز سنگین محافظت نمود.

واژه‌های کلیدی:سیاه‌دانه، شاخص‌های جوانه‌زنی، کاتالاز، پراکسیداز، پروتئین کل

مقدمه:

سیاه‌دانه با نام علمی *Nigella sativa* یکی از گونه‌های گیاهی از خانواده آلاله (*Ranunculaceae*) بوده که به طور طبیعی در نقاط مختلف ایران رشد می‌کند (Omidbaigi, 2000). از ویژگی‌های این گیاه می‌توان به اثرات ضد التهابی، ضد میکروبی و ضد تومور و دافع حشرات اشاره کرد (Siddiqui and Sharma, 1996). کادمیوم از مهمترین آلوده کننده‌های محیطی است که می‌تواند در بسیاری از فرآیندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژی مانند فتوسنتز، تنفس، متابولیسم نیتروژن و پروتئین‌ها و جذب مواد غذایی درگیر شود (Zhang *et al.,* 2009). کادمیوم باعث بروز اثرات سمی در گیاه می‌شود (Zhang *et al.,* 2010) که از آن‌جمله می‌توان به کاهش رشد (Islam *et al.,* 2009)، کاهش درصد جوانه‌زنی، شاخص قدرت، وزن خشک (Aziz- Khan *et al,.* 2012)، کاهش

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: ebadi@uma.ac.ir

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 4:47 IRST on Sunday September 24th 2017

سرعت جوانه‌زنی (Munzuroglu and Geckil, 2002)، کاهش طول ساقه (Zhang *et al.,* 2010)، افزایش نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه (Khatamipour *et al.,* 2011)، کندی رشد گیاهچه و کاهش طول ریشه (Dinakar *et al.,* 2009) اشاره کرد. همچنین این عنصر سمی می‌تواند منجر به ایجاد تنش اکسیداتیو و تولید انواع اکسیژن فعال (Reactive Oxygen Species) در گیاهان شود (Islam *et al.,* 2009; Zhang *et al.,* 2009). انواع اکسیژن فعال از احیاء ناقص اکسیژن در فرآیندهای زیستی سلول، مانند فتوسنتز، تنفس و تنفس نوری به وجود می‌آید (Mittler, 2002). پراکسید هیدروژن از انواع اکسیژن فعال می‌باشد که در طی تنش کادمیوم به دلیل عدم تعادل بین H_2O_2 تولیدی و القاء شده، تجمع می‌یابد. از عوامل مهارکننده میزان H_2O_2 فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند کاتالاز و پراکسیداز می‌باشد که به‌عنوان سیستم دفاعی قوی قادر است سازگاری گیاه را در مقابل تنش کادمیوم افزایش دهد (Zhang *et al.,* 2009).

از پاسخ‌های گیاهان در برابر فلزات سنگین می‌توان تغییر فرآیندهای متابولیک گیاه، افزایش تولید تنظیم کننده‌های اسمزی، آنتی‌اکسیدان‌ها و مواد محافظت‌کننده را نام برد (Seregin and Ivanov, 2001). گلایسین‌بتائین [(CH3)3N+CH2COO-] معمول‌ترین محلول آلی سازگار می‌باشد که در اکثر میکروارگانیسم‌ها، گیاهان و حیوانات وجود دارد و در میان ترکیبات آمونیوم شناخته شده جزء فراوان‌ترین ترکیب در گیاهان می‌باشد که به تنش پاسخ می‌دهد (Yang *et al.,* 2003) همچنین گلایسین‌بتائین به عنوان یک تنظیم‌کننده اسمزی در سیتوپلاسم عمل کرده و موجب ثبات آنزیم‌ها و پروتئین‌ها تحت شرایط تنش شده و پتانسیل توروژسانس را حفظ می‌کند (Wyn Jones and Storey, 1981) و از جمله اسموپروتکتانت‌هایی است که فاقد اثرات سمی بوده و قادر به محافظت گیاه در برابر انواع تنش‌ها مانند فلزات سنگین بوده و از طریق تنظیم اسمزی سلول، خنثی‌سازی سمیت انواع اکسیژن فعال، پایداری غشا، کاهش آسیب سلولی و محافظت از آنزیم‌های مختلف، تحمل گیاه را به تنش افزایش داده و در شرایط تنش نقش تنظیم‌کننده اسمزی را ایفا می‌کند (Ashraf and Foolad, 2007). این ترکیب آمینی جزء فراوان ترین مواد داخل کلروپلاست سلول محسوب می‌شود. همچنین نقش حیاتی در تنظیم و حفاظت از غشاء تیلاکوئید ایفا کرده و در نتیجه موجب حفظ کارایی فتوسنتز می‌گردد (Genard *et al.,* 1991). با این وجود به دلیل اثرات نامطلوب تنش‌های محیطی، گیاهان نمی‌توانند به مقدار مورد نیاز اسموپروتکتانت‌ها را تولید کنند. بنابراین کاربرد گلایسین‌بتائین در شرایط تنش‌های مختلف محیطی موثر واقع می‌شود، به طوری‌که بعد از جذب، غلظت درون سلولی آن افزایش یافته (Ashraf and Foolad, 2007) و به سایر اندام‌های گیاهی منتقل می‌شود (Makela *et al.,* 1998). کاربرد گلایسین‌بتائین باعث کاهش انباشت فلزات سنگین درون گیاه می‌شود. همچنین این ماده نقش بازدارنده در تنش کادمیوم دارد و منجر به القا سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی شده، که آسیب‌های ناشی از تنش اکسیداتیو در گیاهان را کاهش می‌دهد (Islam *et al.,* 2009). کاتالاز آنزیمی است که فعالیت آن پراکسید هیدروژن تولید شده در مسیرهای تنفس نوری داخل پراکسیزوم‌ها را مهار می کند (Mittler, 2002). پراکسیداز نیز در گیاهان دارای نقش‌های چندگانه فیزیولوژیک و بیوشیمیایی بوده و در ایجاد پیوند با مولکول‌های دیواره سلولی، اکسایش اکسین، تولید لیگنین و پاسخ به تنش‌های زنده و غیر زنده دخالت دارد (Quiroga *et al.,* 2000). پراکسیداز در دامنه گسترده‌ای از واکنش‌ها دارای نقش بوده و به‌عنوان پذیرنده الکترون عمل می‌کند و از این طریق سبب مهار گونه‌های فعال اکسیژن می شود (زند و همکاران، ۱۳۸۸).

پژوهش‌های انجام شده نشان دادند که جوانه‌زنی و رشد گیاهچه عدس به شدت تحت تأثیر فلز کادمیوم قرار گرفت و تعداد گیاهچه‌های غیرطبیعی در این شرایط افزایش یافت (Kiran and Sahin, 2006). در مطالعه‌ای که توسط Egharevba و Omoregie (۲۰۱۰) در مورد اثر کادمیوم بر روی قوه زیست لوبیا چشم بلبلی انجام گردید، مشخص شد که درصد جوانه‌زنی و میزان افزایش در ارتفاع ساقه کاهش یافت. همچنین غلظت ٤۰ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم می‌تواند درصد بذور زنده را تا حدود ۵۰ درصد کاهش دهد. Thamayanthi و همکاران (۲۰۱۱) با بررسی اثر کادمیوم بر

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 4:47 IRST on Sunday September 24th 2017

جوانه‌زنی، رشد و میزان رنگدانه‌های گیاه آهار به این نتیجه رسیدند که در کلیه سطوح تنش کادمیوم کاهش جوانه‌زنی، پارامترهای رشد مثل طول ریشه و اندام هوایی، تعداد برگ‌ها، کل سطح برگ و اجزای بیوشیمیایی مثل کلروفیل a، کلروفیل b، کل کلروفیل و میزان کاروتنوئید اتفاق می‌افتد. نتایج حاصل از بررسی اثر کادمیوم را بر جوانه‌زنی گندم توسط صارمی‌راد و همکاران (۱۳۹۰) نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم درصد جوانه‌زنی کاهش یافت. این نتایج حاکی از تجمع کادمیوم در گیاهچه گندم حتی در غلظت‌های کم بود. با توجه به افزایش آلودگی خاک‌های زراعی به عناصر سنگین، هدف از این آزمایش بررسی تأثیر پیش‌تیمار بذر گیاه سیاه‌دانه با گلایسین-بتائین به‌منظور کاهش اثرات نامطلوب آلودگی به کادمیوم، به‌ویژه در مرحله جوانه‌زنی بود.

مواد و روش‌ها:

به‌منظور بررسی اثر پیش‌تیمار بذر سیاه‌دانه با گلایسین‌بتائین، جهت کاهش آسیب‌های ناشی از آلودگی به کادمیوم بر شاخص‌های جوانه‌زنی، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در آزمایشگاه دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۳۹۱ انجام شد. بذور سیاه‌دانه پس از ضدعفونی با هیپوکلریت سدیم ۱٪ به مدت ۵ دقیقه و اتانول ۷۰٪ به مدت یک دقیقه، درون محلول‌هایی با غلظت های ۰، ۵۰ ، ۱۰۰و ۱۵۰ میلی مولار گلایسین‌بتائین به مدت ٤٨ ساعت خیسانده شد و سپس بذور به مدت یک روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند تا خشک شوند. برای ایجاد تنش کادمیوم بذور به درون پتری‌دیش‌ها منتقل و از محلول‌های (۰، ۰/۲۵ و ۰/۵) میلی‌مولار کلرید کادمیوم استفاده شد. بذور تیمار شده در داخل پتری‌دیش‌ها به ژرمیناتور انتقال یافت. شمارش تعداد بذرهای جوانه‌زده بر اساس خروج جوانه دو میلی‌متری به‌صورت روزانه و به طور مرتب تا ١٤ روز ادامه یافت. سرعت جوانه‌زنی با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (Scott *et al.,* 1984).

$$\bar{D} = \sum_{t=2}^{t=14} \frac{n}{t}$$

$\bar{D}$ سرعت جوانه‌زنی، n تعداد بذرهای جوانه‌زده در هر روز و t تعداد روزها پس از قرار دادن بذرها در پتری‌دیش می‌باشد.

درصد جوانه‌زنی با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$G_P=100\ (N_G/N_T)$$

G_P درصد جوانه‌زنی، N_G تعداد بذرهای جوانه زده و N_T تعداد کل بذرها می‌باشد.

محاسبه شاخص قدرت نیز با استفاده از رابطه زیر انجام شد (Abdul-Baki, and Anderson 1973).

میانگین طول گیاهچه × درصد جوانه‌زنی= شاخص قدرت

در پایان دوره جوانه‌زنی (١٤ روز) طول و وزن ریشه‌چه و ساقه‌چه گیاهچه‌ها اندازه‌گیری شد. برای تعیین وزن خشک گیاهچه، نمونه‌ها به مدت ٤٨ ساعت در آون با دمای ٦٥ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و با استفاده از ترازوی دقیق (۰/۰۰۰۱ گرم) وزن خشک گیاهچه‌ها به‌دست آمد.

تغییرات بیوشیمیایی گیاهچه‌ها بعد از ١٤ روز اندازه‌گیری شد. برای سنجش پروتئین کل ابتدا ۰/۲ گرم نمونه‌تر برگی در هاون چینی در مجاورت نیتروژن مایع پودر شد و با ۰/٦ میلی لیتر بافر استخراج همگن گردید. مخلوط حاصل درون لوله پلاستیکی (Micro tube) داخل یخ قرار گرفت. سپس نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۱۵۰۰ دور در دقیقه و دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شده و روشناور درون لوله‌های جدید به مدت ۲۰ دقیقه در٤۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. پس از انجام سانتریفیوژ لوله‌ها در داخل یخ قرار داده شد. برای اندازه‌گیری میزان پروتئین ۱۰ میکرولیتر از عصاره حاصل را به ۵ میلی‌لیتر محلول برادفورد و ۲۹۰ میکرولیتر بافر استخراج افزوده و میزان جذب در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد (Bradford, 1976). جهت تهیه استاندارد پروتئین۱۰ میلی‌گرم از پروتئین استاندارد آلبومین گاوی در یک میلی‌لیتر از بافر استخراج حل و ۱۰ میکرو لیتر از این محلول توسط بافر استخراج به حجم ۱۰۰ میکرو لیتر رسانده شد. این ترکیب جهت تهیه محلول‌های استاندارد به‌کار می‌رود. در لوله های آزمایش ۵ میلی‌لیتر معرف برادفورد افزوده و سپس به ترتیب در لوله اول بدون افزودن سرم آلبومین گاوی، ۳۰۰

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 4:47 IRST on Sunday September 24th 2017

میکرو لیتر بافر استخراج، در لوله دوم ۵ میکرو لیتر سرم آلبومین و ۲۹۵ میکرو لیتر از محلول بافر استخراج، در لوله سوم ۱۰ میکرو لیتر سرم آلبومین و ۲۹۰ میکرو لیتر بافر استخراج، در لوله چهارم ۲۰ میکرو لیتر سرم آلبومین و ۲۸۰ میکرو لیتر بافر استخراج، در لوله پنجم ٤۰ میکرو لیتر سرم آلبومین، در لوله ششم ۲٦۰ میکرو لیتر بافر استخراج، در لوله هفتم ٦۰ میکرو لیتر سرم آلبومین و۲٤۰ میکرو لیتر بافر استخراج و در نهایت به لوله هشتم ۸۰ میکرو لیتر سرم آلبومن و ۲۲۰ میکرو لیتر بافر استخراج افزوده شد سپس قرائت در طول موج ۵۹۵ صورت گرفته و اعداد قرائت شده توسط دستگاه اسپکتروفتومتر جهت رسم نمودار و تهیه فرمول مورد استفاده قرار گرفت.

برای سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان ابتدا ۰/۵ گرم نمونه‌تر برگی در هاون چینی در مجاورت نیتروژن مایع پودر شد و با ۳ میلی‌لیتر بافر تریس- کلریدریک ۰/۰۵ مولار با pH=۷/۵ هموژن گردید. همگنای حاصل را به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ کرده و روشناور برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز مورد استفاده قرار گرفت (Sudhakar *et al.,* 2001). برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز محلول واکنش شامل ۲/۵ میلی‌لیتر بافر تریس (۵۰ میلی‌مولار، pH=۷) و ۰/۳ میلی‌لیتر آب اکسیژنه (۵ میلی‌مولار) تهیه شده و ٦۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی در حمام یخ به آن اضافه نموده و میزان جذب در طول موج ۲٤۰ نانومتر قرائت شد (Kar and Mishra, 1976). برای مقایسه فعالیت آنزیم نیز یک نمونه به‌عنوان شاهد (blank) استفاده شده که در این نمونه به‌جای ٦۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی از بافر تریس- کلریدریک ۰/۰۵ مولار استفاده شد. سنجش فعالیت آنزیم بر اساس میزان تغییرات جذب در میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه محاسبه گردید.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز نیز به روش Kar و Mishra (۱۹۷٦) انجام گرفت. به‌طوریکه ۵۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی به ۲/۵ میلی‌لیتر محلول واکنش شامل تریس- کلریدریک ۱۰۰میلی‌مولار، آب اکسیژنه ۵ میلی‌مولار و پیروگالل ۱۰ میلی‌مولار در حمام یخ اضافه شد و منحنی جذب تغییرات در طول موج ٤۲۵ نانومتر قرائت شد. برای مقایسه فعالیت آنزیم نیز یک نمونه به عنوان شاهد (blank) استفاده شده که در این نمونه به جای ۵۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی از بافر تریس-کلریدریک ۰/۰۵ مولار استفاده شد. سنجش فعالیت آنزیم بر اساس میزان تغییرات جذب در میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه محاسبه گردید.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ و رسم نمودارها با استفاده از Excel انجام شد.

نتایج و بحث:

درصد جوانه‌زنی: نتایج پژوهش نشان داد که اثر اصلی کادمیوم و گلایسین‌بتائین و اثر متقابل آنها بر آزمون جوانه‌زنی استاندارد در سطح ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین اثرات متقابل کادمیوم در گلایسین‌بتائین بر درصد جوانه‌زنی نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم درصد جوانه‌زنی کاهش یافت و استفاده از گلایسین‌بتائین تا غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار موجب افزایش درصد جوانه‌زنی شد ولی گلایسین‌بتائین در مقادیر بیشتر موجب کاهش جوانه‌زنی گردید. بیشترین درصد جوانه-زنی (۹۵/۳۳٪) در پیش‌تیمار۱۰۰ میلی‌مولار گلایسین‌بتائین و۰/۲۵ میلی‌مولار کادمیوم مشاهده شد. کمترین درصد جوانه-زنی (٦۳/۳۳٪) نیز مربوط به اثر تنش ۰/۵ میلی‌مولار کادمیوم و ۱۵۰میلی‌مولار گلایسین‌بتائین بود (شکل۱).

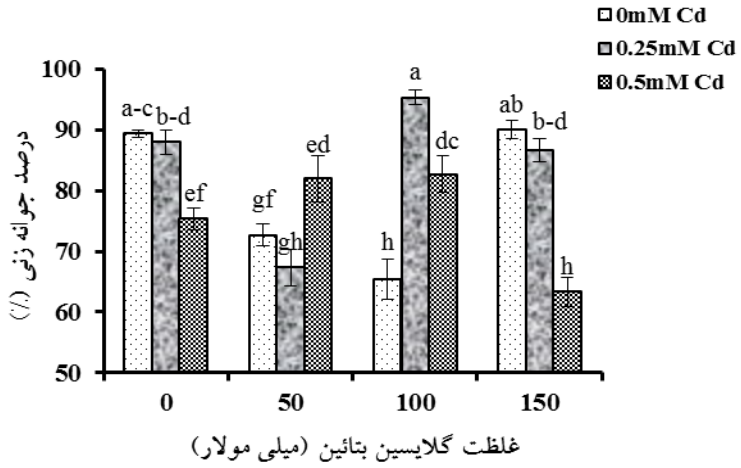
یافته‌های این پژوهش نشان داد که پرایمینگ بذر با گلایسین‌بتائین می‌تواند منجر به افزایش درصد جوانه‌زنی شود، در حالی‌که پیش‌تیمار با غلظت‌های بالاتر این اسمولیت نه‌تنها مفید نبوده بلکه ممکن است منجر به کاهش جوانه‌زنی در حضور کادمیوم شود. جوانه‌زنی سریع، یکنواخت و کامل بذرها، موجب سبز شدن مطلوب و رشد اولیه سریع گیاهان می‌شود. رشد اولیه مطلوب نیز منجر به دریافت بیشتر نور خورشید و افزایش عملکرد می‌گردد (ربیعی و بیات، ۱۳۸۸). در این پژوهش کادمیوم منجر به کاهش درصد جوانه‌زنی شد. کاهش جوانه‌زنی می‌تواند به علت تجمع کادمیوم در سلول و

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 4:47 IRST on Sunday September 24th 2017

جدول-۱ نتایج تجزیه واریانس اثر پیش‌تیمار بذر با گلایسین‌بتائین و آلودگی به کادمیوم بر صفات اندازه‌گیری شده

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات								
		درصد جوانه زنی	سرعت جوانه‌زنی	طول ساقه چه	شاخص قدرت	طول ریشه چه	نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه	وزن خشک گیاهچه	کاتالاز	پراکسیداز	پروتئین کل
کادمیوم	۲	۲۱۹**	۰/۰۱۱۱**	۰/۳۳*	۱۸/۷۹**	۳/۴۱**	۰/۰۸**	۲/۰۲ ns	۸۹۳ns	۳۶۶ns	۳۴۹**
گلایسین‌بتائین	۳	۱۶۴**	۰/۰۱۷۱**	۰/۸۲**	۶/۷۸**	۱/۶۷**	۰/۰۱۱ns	۲۳/۷**	۴۷۱۱**	۲۵۶۲**	۴۰۲**
کادمیوم×گلایسین‌بتائین	۶	۴۷۹**	۰/۰۰۱۸**	۰/۱۷ ns	۰/۸۵**	۰/۱۷ ns	۰/۰۰۵ ns	۷/۲۸**	۳۴۳۸**	۱۷۰۲**	۶۶**
خطا	۲۴	۱۶/۵۸	۰/۰۰۰۲	۰/۰۸	۰/۲۲	۰/۲۱	۰/۰۱	۱/۲۵	۵۱۰	۳۳۱	۱۵/۸۷
ضریب تغییرات(٪)	-	۵/۱	۳/۷۳	۹/۷۶	۸/۸۶	۱۲/۶۷	۱۴/۷۷	۱۰/۳۴	۱۴/۷۶	۸/۲۹	۱۸/۳

ns، * و به ترتیب نشان‌دهنده غیر معنی‌داری و معنی‌داری در سطح ۵٪ و ۱٪ می‌باشد.**

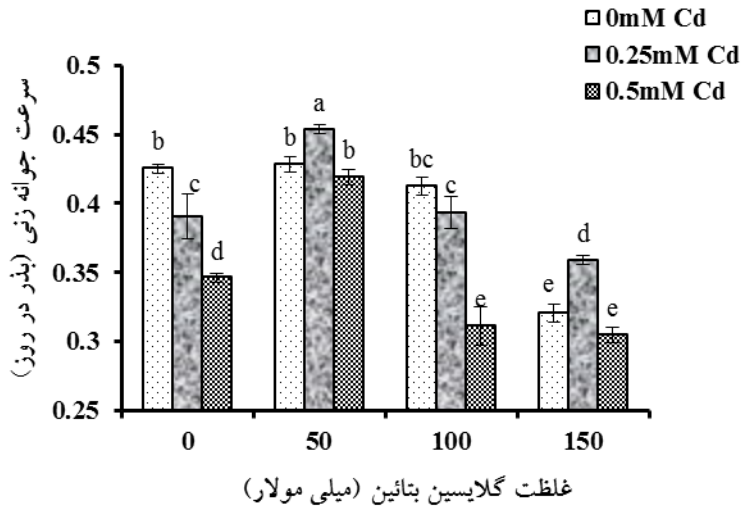


شکل-۱ تأثیر گلایسین‌بتائین و آلودگی کادمیوم بر درصد جوانه‌زنی.
حروف نامشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ آزمون LSD می‌باشد.

در نتیجه تمایل ترکیبی آن با گروه سولفیدریل پروتئین‌ها باشد که سبب کاهش در سنتز و تولید پروتئین های ساختمانی و مورد نیاز در فرآیندهای رشد و تقسیم سلولی و جوانه‌زنی شود (Siddhu and Ali Khan., 2012). پیش‌تیمار بذر با گلایسین-بتائین می‌تواند آسیب‌های ناشی از اثرات بازدارنده کادمیوم را کاهش دهد و موجب افزایش درصد جوانه‌زنی شود (Arafa *et al.,* 2009; Duman *et al.,* 2011; Islam *et al.,* 2009).چنین نتایجی در پژوهش‌های دیگر نیز گزارش شده است (Islam *et al.,* 2009). پیش‌تیمار با گلایسین‌بتائین با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند کاتالاز و پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز موجب کاهش تأثیرات تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن تولیدی توسط غلظت‌های بالا کادمیوم شده و در نهایت موجب بهبود جوانه‌زنی می‌گردد (Islam *et al.,* 2009). آغاز جوانه‌زنی سبب شروع فرآیند تنفس سلولی می‌شود که افزایش تنفس باعث افزایش میزان تولید پراکسید هیدروژن و آسیب به سلول می‌شود. سلول‌ها نیز با تولید سیگنال، مسیر دفاعی و پاسخ به تنش را فعال می‌کنند که از این مسیرهای دفاعی می‌توان به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان اشاره کرد(Mittler, 2002; Desikan *et al.,* 2001).

سرعت جوانه‌زنی: اثرات اصلی کادمیوم و پیش‌تیمار با گلایسین‌بتائین و اثرات متقابل آن بر سرعت جوانه‌زنی در سطح ۱٪ معنی‌دار شد (جدول۱). تنش کادمیوم موجب کاهش

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 4:47 IRST on Sunday September 24th 2017



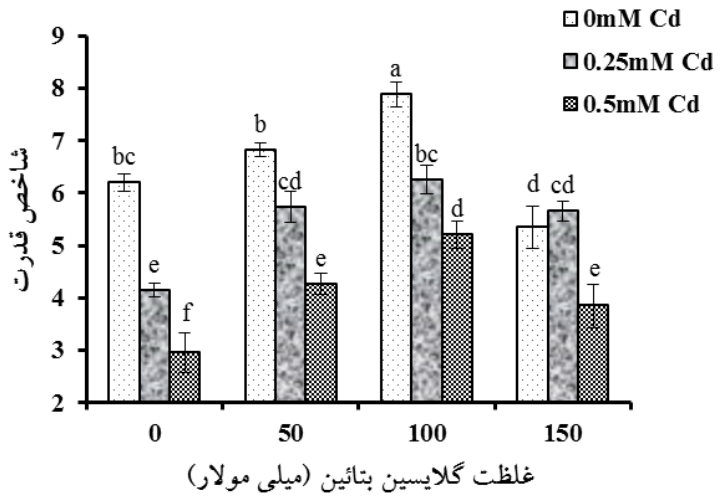
شکل-۲ تأثیر گلایسین‌بتائین و آلودگی کادمیوم بر سرعت جوانه‌زنی. حروف نامشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ آزمون LSD می-باشد.

و پیش‌تیمار با گلایسین‌بتائین موجب افزایش سرعت جوانه‌زنی شد. با توجه به مقایسه میانگین اثرات متقابل بیشترین سرعت جوانه‌زنی (۰/٤۵ بذر در روز) مربوط به پیش تیمار ۵۰ میلی-مولار گلایسین و ۰/۲۵ میلی‌مولار کادمیوم بود. کمترین سرعت جوانه‌زنی (۰/۳۰٤ بذر در روز) نیز تحت تنش کادمیوم در غلظت ۰/۵ میلی‌مولار و با پیش‌تیمار ۱۵۰ میلی‌مولار گلایسین بتائین مشاهده شد (شکل۲).

سرعت جوانه‌زنی به‌عنوان یکی دیگر از شاخص‌های کیفیت بذر می‌باشد که تحت تاثیر تیمارهای استفاده شده قرار گرفت. آزمایش‌های Geckil و Munzuroglu (۲۰۰۲) کاهش سرعت جوانه‌زنی در اثر کادمیوم را در گندم نشان داد. هرچه بذر در زمان کمتری، درصد جوانه‌زنی بالاتری داشته باشد، دارای کیفیت مطلوب و بنیه بالاتری است (ربیعی و بیات، ۱۳۸۸). از آنجایی‌که کادمیوم منجر به کاهش بنیه بذر شده بنابراین ممکن است روی کیفیت آن نیز تأثیر گذاشته و منجر به کاهش سرعت جوانه‌زنی شده باشد. این درحالی‌است که پیش‌تیمار با گلایسین‌بتائین منجر به افزایش سرعت جوانه‌زنی شد (Zhang and Rue, 2012) که ممکن است دلیل آن تأثیر مثبتی باشد که این ماده روی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گذاشته و یا متأثر از نقش تنظیم‌کنندگی آن باشد.

شاخص قدرت: اثر اصلی و اثر متقابل پیش‌تیمار و کادمیوم بر شاخص قدرت در سطح ۱٪ دارای تفاوت آماری معنی‌دار بود (جدول ۱). پیش‌تیمار بذر با گلایسین‌بتائین تا غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار قدرت بذر را افزایش داد اما غلظت‌های بیشتر از این مقدار موجب کاهش شاخص قدرت شد. افزایش غلظت کادمیوم، موجب کاهش شاخص قدرت بذر گردید، به‌طوری که بیشترین قدرت بذر (۷/۸۷) مربوط به عدم آلودگی به کادمیوم و سطح گلایسین‌بتائین ۱۰۰ میلی‌مولار و کم‌ترین مقدار آن (۲/۹٤) مربوط به سطح ۰/۲۵ میلی‌مولار کادمیوم بدون پیش‌تیمار بذر با گلایسین‌بتائین بود (شکل۳). شاخص قدرت یکی از ویژگی‌های تعیین کننده کیفیت بذر می‌باشد که آلودگی به کادمیوم آنرا کاهش داد. شاخص بنیه روی کیفیت بذرها از طریق جوانه‌زنی نهایی و طول گیاهچه تأثیر می‌گذارد. بذرهایی که دارای شاخص قدرت بالاتری هستند، تنش‌های محیطی را بهتر تحمل می‌کنند. همچنین علاوه بر داشتن درصد جوانه‌زنی بالا، گیاهچه‌های قوی و عادی تولید می‌کنند (ربیعی و بیات.، ۱۳۸۸). افزایش شاخص قدرت و طول ساقه در اثر اعمال پلی‌آمین که همانند گلایسین‌بتائین یکی از اسموپروتکتانت‌های مؤثر در تحمل به تنش‌هاست، در فلفل قرمز توسط Aziz Khan و همکاران (۲۰۱۲) گزارش شده است. آنها عنوان کردند که پیش‌تیمار بذر با پلی‌آمین به جذب این اسمولیت منجر می‌شود و باعث افزایش فعالیت‌های

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 4:47 IRST on Sunday September 24th 2017



شکل -۳ تأثیر گلایسین‌بتائین و کادمیوم بر شاخص قدرت بذر. حروف نامشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ آزمون LSD می‌باشد.

متابولیک سلولی شده و در نتیجه جوانه‌زنی و شاخص قدرت افزایش می‌یابد.

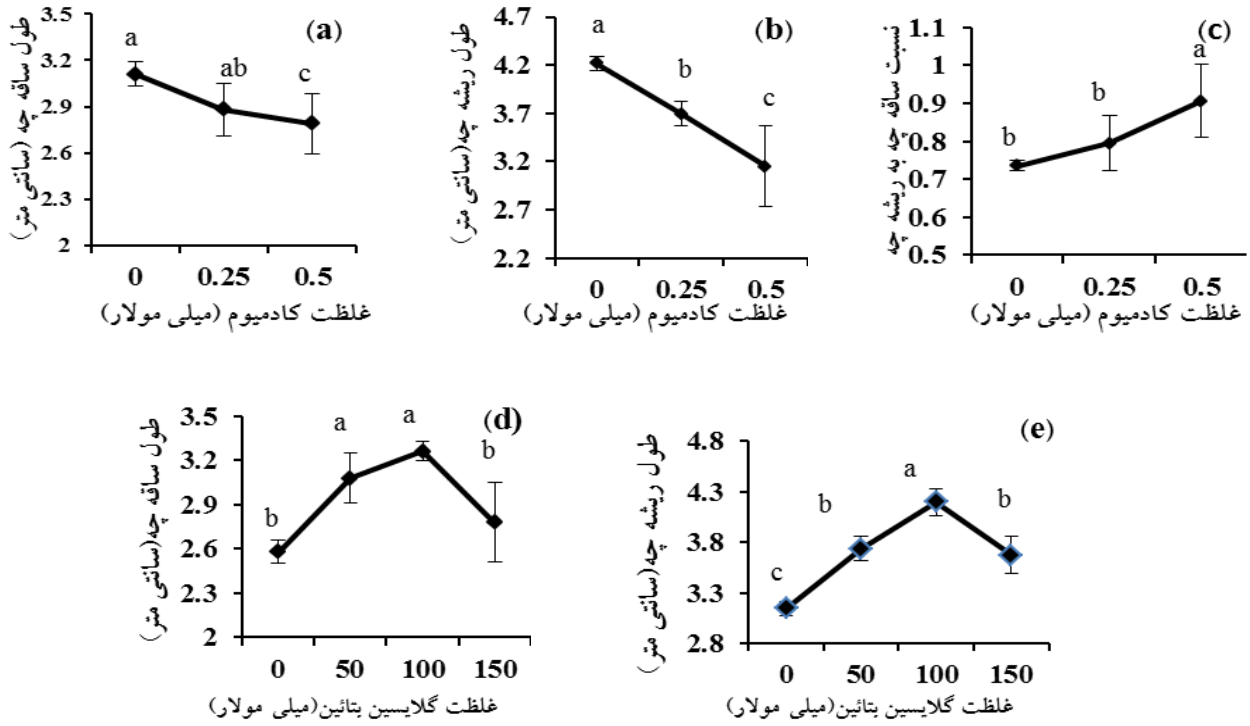
طول ساقه‌چه ،طول ریشه‌چه و نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه: طول ساقه‌چه تحت تأثیر اثرات اصلی غلظت‌های مختلف کادمیوم در سطح احتمال ۵٪ و سطوح مختلف گلایسین‌بتائین در سطح احتمال ۱٪ قرار گرفت و اثرات متقابل کادمیوم در گلایسین‌بتائین معنی‌دار نشد (جدول۱). مقایسه میانگین اثرات اصلی نشان داد که با افزایش غلظت پیش تیمار با گلایسین‌بتائین، طول ساقه‌چه افزایش یافت به‌طوری که بیشترین طول ساقه‌چه (۳/۲۶سانتی‌متر) با پیش تیمار۱۰۰میلی-مولار گلایسین‌بتائین بدست آمد. افزایش میزان کادمیوم، سبب کاهش طول ساقه‌چه شد و کمترین طول ساقه چه (۲/۷۸سانتی‌متر) در ۰/۵ میلی‌مولار کادمیوم مشاهده شد (شکل٤). اثرات اصلی غلظت‌های مختلف کادمیوم و سطوح مختلف پیش‌تیمار با گلایسین‌بتائین در سطح احتمال ۱٪ بر طول ریشه‌چه معنی‌دار شد، اما اثر متقابل معنی‌دار بین آنها بدست نیامد (جدول۱). پیش‌تیمار بذر با گلایسین‌بتائین منجر به افزایش طول ریشه‌چه شد و بیشترین طول ریشه‌چه (٤/۱۹ سانتی‌متر) مربوط به پیش‌تیمار ۱۰۰ میلی‌مولار گلایسین بود. کادمیوم باعث کاهش طول ریشه چه شد، به‌طوری که کمترین میزان طول ریشه‌چه (۳/۱۵ سانتی‌متر) مربوط به غلظت ۰/۵ میلی‌مولار کادمیوم بود.

اثر اصلی کادمیوم بر نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه نیز معنی‌دار شد در حالی‌که اثر پیش‌تیمار و اثرات متقابل معنی‌دار نبود (جدول۱). نتایج نشان داد کادمیوم منجر به کاهش این نسبت در تیمار ۰/۵ میلی‌مولار کادمیوم شد. بیشترین میزان نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه (۰/۹) مربوط به غلظت ۰/۵ میلی مولار کادمیوم بود و کمترین مقدار آن (۰/۷۳) در حالت عدم آلودگی به کادمیوم اتفاق افتاد (شکل٤).

مشاهدات Siddhu و Ali khan (۲۰۱۲) نشان داد که غلظت-های کم کادمیوم منجر به افزایش طول گیاه شده در حالی‌که با افزایش میزان کادمیوم طول گیاه کاهش می‌یابد. همچنین غلظت بالای کادمیوم، کاهش طول ساقه را به دلیل کاهش وزن خشک گیاهچه در پی دارد (Melis *et al.,* 2006). با وجود این رشد ریشه بیشتر از ساقه تحت تأثیر سطوح بالای کادمیوم کاهش می-یابد (Zhang *et al.,* 2010; Seregin and Ivanov, 2001)، کاهش رشد ریشه ممکن است به علت جذب اولیه کادمیوم توسط ریشه‌های موئین و انتقال آن به اندام‌های هوایی و یا انباشته شدن فلزات سنگین در ریشه باشد (Seregin and Ivanov, 2001). همچنین افزایش طول ریشه در اثر گلایسین‌بتائین توسط Aldesuquy و همکاران (۲۰۱۲) گزارش شده است.

وزن خشک گیاهچه: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر اصلی تیمارهای کادمیوم و گلایسین‌بتائین و اثر متقابل آنها بر

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 4:47 IRST on Sunday September 24th 2017

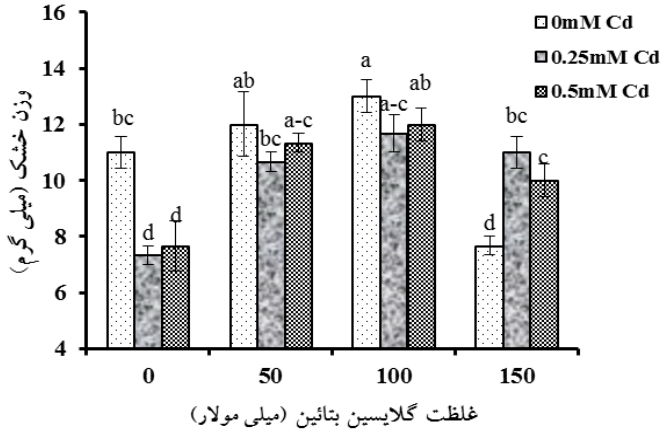


شکل-٤ تأثیر تنش کادمیوم بر طول ساقه‌چه (a)، طول ریشه چه(b) و نسبت طول ساقه‌چه و ریشه‌چه(c) همچنین تأثیر پیش‌تیمار با گلایسین-بتائین طول ساقه‌چه(d) ریشه‌چه(e). حروف نامشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ آزمون LSD می‌باشد.

میزان وزن خشک گیاهچه‌ها معنی‌دار بود (جدول ۱، α =٪۱). نتایج نشان داد در سطوح پایین پیش‌تیمار بین سطوح مختلف تنش کادمیوم تفاوت زیادی مشاهده شد ولی با افزایش غلظت پیش‌تیمار اختلاف بین سطوح کاهش یافت به‌طوری که در غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار بین سطوح مختلف کادمیوم اختلاف معنی‌داری وجود نداشت و افزایش غلظت گلایسین‌بتائین تا ۱۵۰ میلی‌مولار موجب افزایش وزن خشک گیاهچه در طی تنش کادمیوم شد. بیشترین وزن خشک گیاهچه (۱۳میلی‌گرم) از پیش‌تیمار با ۱۰۰ میلی‌مولار گلایسین‌بتائین و عدم تنش کادمیوم و کمترین وزن خشک (۷/۳ میلی‌گرم) نیز در عدم پیش‌تیمار و تنش ۰/۵ میلی‌مولار کادمیوم بدست آمد (شکل ۵).

به عقیده Ekis و Yilmaz (۲۰۰۳) عواملی که رشد محور جنینی را تحت تأثیر قرار می‌دهد بر انتقال مواد غذایی از لپه به محور جنینی مؤثر بوده و ممکن است علت کاهش وزن خشک تحت تأثیر کادمیوم به دلیل کاهش انتقال مواد غذایی از لپه به محور جنینی باشد. تأثیر گلایسین‌بتائین در افزایش وزن خشک قبلاً نیز گزارش شده است (Aldesuquy *et al.*, 2012). از آنجایی‌که اسمولیت‌ها می‌توانند موجب ایجاد شبکه پیچیده‌ی پروتئینی در دیواره گردند و مشخص شده است که گلایسین-بتائین در مهار اکسیژن فعال در مجموعه‌ی فتوسیستم II نقش دارد، بنابراین گلایسین‌بتائین از تجزیه مولکولی پروتئین‌های تنظیم‌کننده در مرکز مجموعه جلوگیری می‌کند (Papageorgiou and Murata, 1995). ممکن است علت افزایش وزن خشک به دلیل کاهش خسارت به فتوسیستم II و در نتیجه افزایش فتوسنتز و فراورده‌های فتوسنتزی باشد. مصرف کادمیوم منجر به کاهش شاخص‌های جوانه‌زنی گردید اما استفاده از گلایسین‌بتائین موجب تخفیف اثرات سوء کادمیوم شد. در تیمار عدم کاربرد گلایسین‌بتائین (صفر) همان‌طور که در شکل‌های مربوط به شاخص‌های جوانه‌زنی قابل مشاهده است با افزایش غلظت کادمیوم شاخص‌های جوانه‌زنی کاهش یافت. کاهش درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، وزن خشک و قدرت بذر در اثر عدم استفاده از گلایسین‌بتائین قابل مشاهده است و با کاربرد گلاسیسن بتائین این شاخص‌ها افزایش یافته و حتی تأثیر غلظت‌های ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی‌مولار کادمیوم را نیز

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 4:47 IRST on Sunday September 24th 2017



شکل-۵ تأثیر گلایسین‌بتائین و آلودگی کادمیوم بر وزن خشک گیاهچه. حروف نامشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ آزمون LSD می‌باشد.

بر طرف کرد که نشان‌دهنده نقش این ترکیب در تخفیف آثار سوء کادمیوم می‌باشد.

میزان فعالیت کاتالاز، پراکسیداز و میزان پروتئین کل: طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) اثر متقابل کادمیوم و گلایسین‌بتائین بر روی میزان فعالیت آنزیم کاتالاز تفاوت معنی‌داری نشان داد(α=٪۱). معنی‌دار بودن اثر متقابل تیمارهای آزمایشی را می‌توان به متفاوت بودن واکنش گلایسین‌بتائین بر سطوح مختلف تنش کادمیوم نسبت داد. همان‌گونه که در شکل ٦ نشان داده شده است کادمیوم موجب کاهش فعالیت کاتالاز در شرایط عدم پیش‌تیمار شد. اما با پیش‌تیمار بذر در طی تنش کادمیوم فعالیت کاتالاز افزایش پیدا کرد، به‌طوری که بیشترین فعالیت کاتالاز (۱۹۹/۵۵ تغییرات جذب بر پروتئین) از تیمار کادمیوم ۰/۵ میلی‌مولار و پیش‌تیمار با غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار گلایسین‌بتائین بدست آمد.

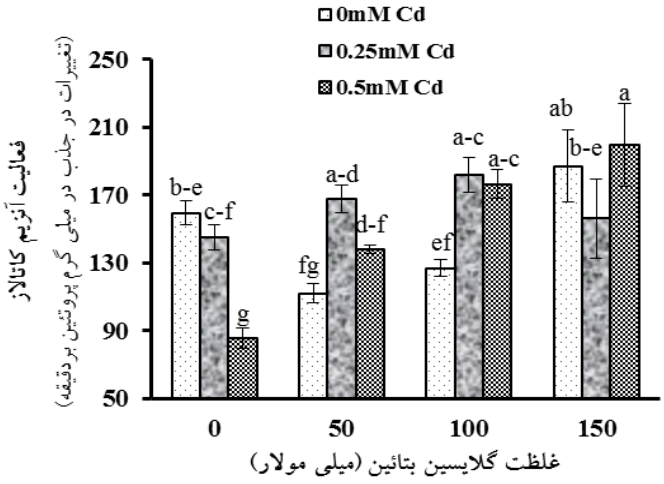
افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز منجر به مهار انواع اکسیژن فعال از جمله H_2O_2 می‌شود که در طی تنش کادمیوم تجمع می‌یابد (Zhang *et al.*, 2009). کادمیوم فعالیت آنزیم کاتالاز را کاهش داد که ممکن است به دلیل کاهش فعالیت آنزیم پروتئاز در پراکسیزوم باشد (Cakmak, 2000). اما تجمع گلایسین‌بتائین علاوه بر کاهش مستقیم آسیب‌های ناشی از تنش اکسیداتیو می‌تواند با حفاظت از آنزیم‌های درگیر در سیستم آنتی‌اکسیدان به مهار ROS کمک کند Ashraf and Foolad, 2007). فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و ترکیبات با وزن مولکولی پایین این توانایی را دارد که بدون آنکه خود مورد تغییر قرار گرفته و به مواد مخرب رادیکال تبدیل شود، ROS را مهار کنند (Mittler *et al.*, 2004).

بنابراین افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در این پژوهش ممکن است به علت ویژگی محافظتی گلایسین‌بتائین باشد.

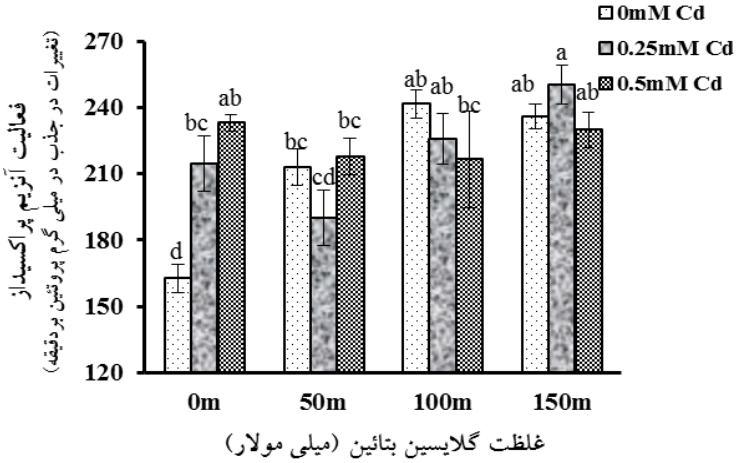
نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل تنش کادمیوم و گلایسین‌بتائین بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در سطح ۱٪ معنی دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین‌های مربوط به اثر متقابل تیمارهای آزمایشی نشان داد کادمیوم در غلظت‌های پایین پیش‌تیمار با گلایسین‌بتائین سبب افزایش فعالیت پراکسیداز شد و با رسیدن غلظت به ۱۰۰ میلی مولار گلایسین‌بتائین، کادمیوم موجب کاهش فعالیت پراکسیداز گردید. افزایش پیش‌تیمار گلایسین‌بتائین به ۱۵۰ میلی‌مولار سبب خنثی کردن تأثیر غلظت‌های مختلف کادمیوم شده به طوری که بین آنها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. حداکثر فعالیت پراکسیداز به ۱۵۰ میلی‌مولار گلایسین‌بتائین و ۰/۵ میلی‌مولار کادمیوم اختصاص یافت. حداقل فعالیت پراکسیداز در پایین‌ترین غلظت گلایسین‌بتائین (صفر میلی‌مولار) و صفر میلی‌مولار کادمیوم مشاهده شد (شکل ۷).

افزایش میزان فعالیت پراکسیداز در اثر تنش کادمیوم را می‌توان به اثرات سازگاری آن در شرایط تنش نسبت داد. فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تأثیر غلظت‌های مختلف گلایسین‌بتائین و سطوح تنش کادمیوم از روند متفاوتی برخوردار بود (شکل ۷).

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 4:47 IRST on Sunday September 24th 2017



شکل ٦- تأثیر گلایسین‌بتائین و کادمیوم بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز حروف نامشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ آزمون LSD می‌باشد.

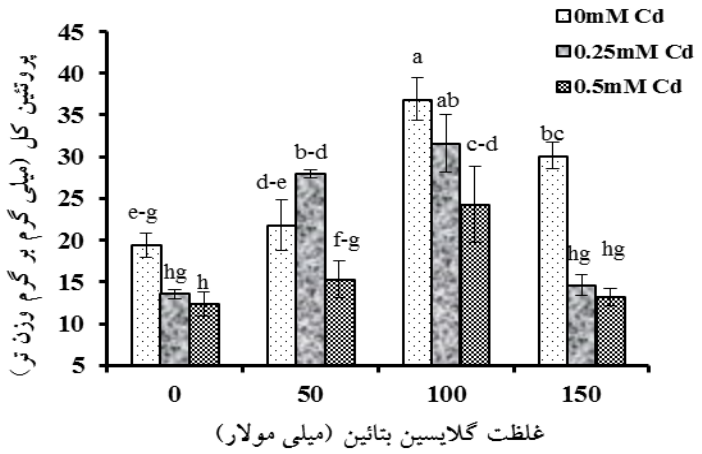


شکل -۷ تأثیر گلایسین‌بتائین و کادمیوم بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز. حروف نامشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ آزمون LSD می‌باشد.

Islam و همکاران (۲۰۰۹) افزایش میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز را در اثر تنش کادمیوم گزارش کردند. اگرچه میزان ROS در سلول‌ها، متأثر از فعالیت پراکسیدازی است که کاملاً در اندام‌های زنده گسترش یافته است (Quiroga *et al.,* 2000) . با وجود نقش محافظتی گلایسین‌بتائین نسبت به آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (Ashraf &Foolad., 2007)، می‌توان بیان کرد که افزایش فعالیت این آنزیم موجب تحمل به تنش می‌شود زیرا آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز به‌عنوان اصلی‌ترین آنزیم‌های مهارکننده H_2O_2 شناخته شده‌اند. میزان خسارت ناشی از ROS با افزایش سطوح فعالیت آنزیم پراکسیداز گیاه می‌تواند تقلیل یابد (زند و همکاران.، ۱۳۸۸).

اثر متقابل کادمیوم و گلایسین‌بتائین تأثیر معنی‌داری بر میزان پروتئین کل داشت (جدول ۱). به‌طوری که افزایش میزان پروتئین کل در اثر اعمال گلایسین‌بتائین قابل مشاهده بود، اگرچه کادمیوم تأثیر کاهنده بر میزان پروتئین کل داشت. مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل نشان داد، بیشترین میزان پروتئین کل در اثر پیش‌تیمار ۱۰۰ میلی‌مولار گلایسین‌بتائین، بدون حضور کادمیوم مشاهده شد. با توجه به این نتایج مشاهده می‌شود که در غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار که بیشترین فعالیت آنزیم در آن مشاهده شده بین سطوح مختلف کادمیوم اختلاف بیشتر گشته‌است، این در حالی است که بین پایین‌ترین غلظت پیش‌تیمار و بالاترین غلظت آن تفاوت اختلاف کادمیوم

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 4:47 IRST on Sunday September 24th 2017



شکل-۸ تأثیر تنش کادمیوم و پیش‌تیمار بذر با گلایسین‌بتائین بر میزان پروتئین محلول کل. حروف نامشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ آزمون LSD می‌باشد.

کمتر نشان داده می‌شود (شکل ۸). از آثار تجمع انواع اکسیژن فعال در اثر وقوع تنش اکسیداتیو، آسیب به پروتئین‌ها و سایر ترکیبات سلولی می‌باشد، اما این ترکیبات ممکن است توسط سیستم آنتی‌اکسیدانی محافظت شود (Mittler *et al.,* 2004). کاهش میزان پروتئین کل با افزایش غلظت کادمیوم با مشاهدات Aziz- Khan و Siddhu (۲۰۱۲) مطابقت دارد. Anjum و همکاران(۲۰۱۲) نیز افزایش پروتئین کل در ذرت را با کاربرد گلایسین‌بتائین تحت تنش خشکی گزارش کردند. سنتز پروتئین‌ها مکانیسمی در پاسخ به تنش‌های مختلف می‌باشد که منجر به تحمل گیاه در برابر آسیب‌های ناشی از انواع تنش‌ها می‌شود (Maestri *et al.* 2002). در مجموع می‌توان گفت که نقش اسمولیت‌هایی مانند گلایسین‌بتائین محافظت از پروتئین‌ها، غشا و آنزیم‌ها از خسارت‌های ناشی از تنش‌های محیطی است (Ashraf and Foolad, 2007). همچنین مطالعات Duman و همکاران (۲۰۱۱) نشان داد که با افزایش غلظت گلایسین-بتائین، از میزان انباشت درون سلولی آن کاسته می‌شود که ممکن است کاهش اثرات مثبت گلایسین‌بتائین در غلظت‌های بالا به همین دلیل باشد.

نتیجه‌گیری:

نتایج این پژوهش نشان داد که تنش کادمیوم منجر به کاهش شاخص‌های جوانه‌زنی شده و سیستم دفاعی گیاه را تضعیف می‌کند. گیاه برای مقابله با این تغییرات میزان فعالیت آنزیم-هایی از قبیل کاتالاز و پراکسیداز را افزایش داد، اما اثرات نامطلوب کادمیوم تاثیری بازدارنده بر این تغییرات داشت. با این‌حال کاربرد بیرونی گلایسین‌بتائین به شکل پرایمینگ از اثرات مضر کادمیوم جلوگیری کرد و منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و پروتئین کل شده و فرآیند جوانه‌زنی را در برابر سمیت این فلز سنگین محافظت کرد. اگرچه کاربرد گلایسین‌بتائین تا ۱۰۰ میلی‌مولار بهبود دهنده این مکانیزم‌ها بود ولی با افزایش غلظت این اسمولیت از اثرات سودمند آن کاسته شد.

منابع:

ربیعی، بابک و بیات. م. (۱۳۸۸) بررسی شاخص‌های جوانه زنی بذر و رشد گیاهچه ارقام کلزا *(Brassica napus L.)* با استفاده از آزمون‌های بنیه بذر. مجله علوم گیاهان زراعی ایران. ۴۰: ۱۰۴-۹۳.

زند، ب.، سروش زاده، ع.، قناتی، ف. و مرادی، ف. (۱۳۸۸) اثر محلول‌پاشی روی(Zn) و اکسین(IBA)بر فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در ذرت دانه‌ای. مجله زیست شناسی گیاهی ایران. ۲: ۴۸-۳۵.

صارمی راد، ب.، شکرپور، م.، سفالیان، ا.، اسفندیاری، ع.،

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 4:47 IRST on Sunday September 24th 2017

آوانس، آ.، نادری، ح. (۱۳۹۰). تأثیرکادمیوم بر جوانه‌زنی ژنوتیپ‌های مختلف گندم. دومین همایش ملی علوم و تکنولوژی بذر. مشهد.

Abdul-Baki, A. A. and Anderson, J. D. (1973) Vigour determination in soybean by multiple criteria. Crop Science 13: 630-633.

Aldesuquy, H. S., Abo-Hamed, S. A., Abbas, M. A. and Elhakem, A. H. (2012) Role of glycine betaine and salicylic acid in improving growth vigour and physiological aspects of droughted wheat cultivars. J Stress Physiology and Biochemistry 8: 149-171

Arafa, A. A., Khafagy M. A. and El-Banna M. F. (2009) The effect of glycinebetaine or ascorbic acid on grain germination and leaf structure of sorghum plants grown under salinity stress. Australian Journal Crop Science 3:294-304.

Ashraf, M. and Foolad, M.R. (2007) Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany 59: 206–216.

Aziz-Khan, H., Ziaf, Kh., Amjad, M. and Iqbal, Q. (2012) Exogenous application of polyamine improves germination and early seedling growth of hot pepper. Chilean Journal of Agricultural Research 72: 429-433.

Bradford, M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Annual Review of Biochemistry 72:248-254.

Cakmak, I. (2000) Possible roles of zinc in protecting plant cells from damage by reactive oxygen species. New Phytologist 146, 185–205.

Desikan, R., Mackerness, S.A.H., Hancock, J.T. and Neill, S.J. (2001) Regulation of the Arabidopsis transcriptome by oxidative stress. Plant Physiology 127: 159-172.

Dinakar, N., Nagajyothi, P.C. Suresh, S., Damodharam, T. and Suresh, C. (2009) Cadmium induced changes on proline, antioxidant enzymes, nitrate and nitrite reductase in *Arachis hypogaea* L. Journal of Environmental Biology 30: 289-294.

Duman, F., Aksoy, A., Aydin, Z. and Temizgul, R. (2011) Effects of Exogenous Glycinebetaine and Trehalose on Cadmium Accumulation and Biological Responses of an Aquatic Plant (*Lemna gibba* L.). Water Air and Soil Pollution 217:545-556.

Egharevba, M., Omoregie, H. (2010) Effect of Cadmium on Seed Viability of *Vigna unguiculata*. Ethnobotanical Leaflets 14: 413-19.

Ekis, H. and Yilmaz, A. (2003) Determination of the salt tolerance of some barely genotypes and the characteristics affecting tolerance. Turkish Journal of Agriculture and Forestry 27:257-260.

Genard, H., Le Saos, J., Hillard, J., Tremolieres, A. andBoucaud, J. (1991) Effect of salinity on lipid composition, glycine betaine content and photosynthetic activity in chloroplasts of *Suaeda maritime*. Plant Physiology and Biochemistry 29: 421- 427.

Islam, M. M., Hoque, M. A., Okuma, E., Banu, M. N. A., Shimoishi, Y., Nakamura, Y. and Murata, Y. (2009) Exogenous proline and glycinebetaine increase antioxidant enzyme activities and confer tolerance to cadmium stress in cultured tobacco cells. Journal Plant Physiology 166:1587-1597.

Kar, M. and Mishra, D. (1976) Catalase, peroxidase and polyphenol oxidase activities during rice leaf senescence. Plant Physiology 578:315-319.

Khatamipour, M., Piri, E., Esmaeilian, Y. and Tavassoli, A. (2011) Toxic effect of cadmium on germination, seedling growth and prolin content of Milk thstle (*Silybum marianum*). Annals of Biological Research 2:527-532

Kiran, Y., Sahin, A. (2006) The Effects of Cadmium on Seed Germination, Root DevelopmentandMiotic of Root Tip Cells of Lentil (*Len sculinaris* Medik). World Journal of Agricultural Sciences 2: 196-200

Maestri, E., Klueva, N., Perrotta, C., Gulli, M., Hguyen, H. T. and Marmiroli, N. (2002) Molecular genetics of heat tolerance and heat shock proteins in cereals. Plant Molecular Biology 48: 667-81.

Makela, P., Jokinen, K., Kontturi, M., Peltonen-Sainio, P., Pehu, E. and Somersalo, S. (1998) Foliar application of glycinebetaine a novel product from sugar beet as an approach to increase tomato yield. Industrial Crops and Products 7: 139-148.

Melis, T., Selim, E., Faruk, O., Soren H. and Ismail, C. (2006) Antioxidant defense system and cadmium uptake in barley genotypes differing in cadmium tolerance. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology 20:181-189

Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M., Van Breusegem, F. (2004) Reactive oxygen gene network of plants. Trends in Plant Sciences 9: 490-498.

Munzuroglu, O. and Geckil, H. (2002) Effects of metals on seed germination, root elongation, and coleoptile and hypocotyl growth in *Triticum aestivum* and *Cucumis sativus*. Archives of Environmental Contamination and Toxicology 43: 203-213

Omidbaigi, R., Hassani, A. and Sefidkon, F. (2003) Essential oil content and composition of sweet Basil (*Ocimumbasilicum*) at different irrigation regimes. Journal of essential oil-bearing plants 6: 104-108.

Papageorgiou, G.C. and Murata, N. (1995) The unusually strong stabilizing effects of glycine betaine on the structure and function of the oxygen-evolving Photosystem II complex. Photosynthesis Research 44, 243-252.

Quiroga, M., Guerrero, C., Botella, M. A., Barcelo, A., Amaya, I., Medina, M. I., Alonso, F. J., De Forchetti, S. M., Tigier, H. andValpuesta, V. (2000) A tomato peroxidase involved in the synthesis of lignin and suberin. Plant Physiology 122: 1119-1127.

Scott, S. J., Jones, R. A. and Williams, W. A. (1984) Review of data analysis methods for seed germination. Crop Science 24: 1192-1199.

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 4:47 IRST on Sunday September 24th 2017

Zhang, F. Q., Zhang, H. X., Wang, G. P., Xu, L. L. and Shen, Z. G. (2009) Cadmium induced accumulation of hydrogen peroxide in the leaf apoplast of *Phaseolus aureus*and *Vicia sativa*and the roles of different antioxidant enzymes. Journal of Hazardous Materials. doi:10.1016/j.jhazmat. 2009.02.002.

Zhang, Q.and Rue, K. (2012) Glycinebetaine seed priming improved osmotic and salinity tolerance in turf grasses. Horticultural Science 47:1171-1174.

Zhang, X., Fan, X., Li, Ch. and Nan, Zh. (2010) Effects of cadmium stress on seed germination, seedling growth and antioxidative enzymes in *Achnatherum inebrians* plants infected with a Neotyphodiumendophyte. Plant Growth Regulation 60:91-97.

Yang, W. J., Rich, P. J., Axtell, J. D., Wood, K. V., Bonham, C. C., Ejeta, G., Mickelbart M. V., Rhodes, D. (2003) Genotypic variation for glycine betaine in sorghum. Crop Science 43:162–169.

Wyn Jones, R.G., Storey, R. (1981) Betaines. In: The physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants. (Eds. Paleg, L. G. and Aspinall, D.).Pp. 171-204, Academic Press, NewYork.

.

Seregin, I. V. and Ivanov, V. B. (2001) Physiological aspects of cadmium and lead toxic effects on higher plants. Russian Journal of Plant Physiology 48: 523-544.

Siddhu, G. and Ali Khan, M. A. (2012) Effects of cadmium on growth and metabolism of *Phaseolus mungo.* Journal of Environmental Biology 33: 173-179.

Siddiqui, A. A., and Sharma, P. K. R. (1996) Clinical importance of *Nigella sativa* L. a review. Hamdard medicus 39: 38-42.

Singh Gill, S. and Tuteja, N. (2010) Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiology and Biochemistry 48: 909-930.

Sudhakar, C., Lakshmi, A. and Giridara -Kumar, S. (2001) Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*mours alba*L.) under NaCl salinity, Plant Science 167: 613-619.

Thamayanthi, D., Sharavanan, P. S., Vijayaragavan, M. (2011) Effectof cadmium on seed germination, growth and pigments content of *Zinnia plant.*Current Botony 2: 08-13