نشریه فرآیند و کارکرد گیاهی، جلد ۱۵، شماره ۷۱، فروردین و اردیبهشت ۱۴۰۵ صفحه: ۸۸-۶۷
https://doi.org/10.22034/15.71.67

مقاله پژوهشی

مقایسه تأثیر جداگانه یا توأم تیامین و اپی‌براسینولید بر تغییر برخی شاخص‌های اکسیداتیو در گیاه دانه روغنی کلزا رقم Hyola 401 تحت تنش کادمیوم

شیما سنجری[۱]، حسین مظفری[۲*]، بتول کرامت[۱] و نازی نادرنژاد[۱]

[۱] بخش زیست‌شناسی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

[۲] گروه اکولوژی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران

چکیده

تنش کادمیوم، موجب القاء تنش اکسیداتیو در گیاهان مانند کلزا می‌شوند. استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد (PGR) یا ویتامین‌ها (مانند تیامین) می‌تواند به افزایش مقاومت به تنش‌هایی کادمیوم کمک کند. در این پژوهش سعی شد تأثیر مقایسه‌ای و متقابل تیامین و ۲۴-اپی براسینولید (EBL) بر بهبود پارامترهای رشد و مقاومت آنتی‌اکسیدانی کلزا رقم Hyola 401 تحت مقادیر سمی ۲۵۰ و ۵۰۰ میکرومولار کلرید کادمیوم در قالب ۲۷ کد تیماری در محیط گلخانه مورد مطالعه قرار گیرد. نتایج کلی نشان داد که کاربرد جداگانه تیامین یا ۲۴-اپی براسینولید توانست تأثیر چشمگیری نسبت به سایر الیسیتورهای جداگانه مورد کاربرد در بیشتر پارامترهای سنجش‌شده داشته و مقاومت آنتی‌اکسیدانی گیاه تحت تنش کادمیوم را با توجه به شاخص‌های سنجش‌شده به خوبی بهبود بخشید و حتی میزان تجمع کادمیوم در اندام هوایی را نیز کاهش داد. نتایج بدست آمده حاصل از سنجش پارامترهای مختلف رشد، بیوشیمیایی، آنزیمی و عناصر نشان داد که کاربرد جداگانه تیامین و ۲۴-اپی براسینولید، موجب بهبود رشد و مقاومت آنتی‌اکسیدانی گیاهان تحت تیمار سمیت به ویژه ۲۵۰ میکرومولار کادمیوم گردید و توانست آثار سمی تنش کادمیوم را بر گیاه کلزا تخفیف دهد. مثلا میزان پراکسیداسیون غشا (MDA و آلدئیدها) به خوبی تحت تیمار ۲۵۰ میکرومولار کادمیوم تا میزان تقریبی ۵۰ درصد کاهش پیدا کرد. هر چند در برخی پارامترها مانند تغذیه منیزیمی، تیمار توأم تیامین و ۲۴-اپی براسینولید تأثیر بهتر داشت اما در برخی پارامترهای دیگر مانند محتوای آب و سطح برگ، کاربرد تیمارها موجب بهبود رشد گیاه تحت تنش کادمیوم شد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم کاتالاز، پراکسیداسیون لیپیدها، تغذیه منیزیمی، تنظیم‌کننده‌های رشد، مقاومت آنتی‌اکسیدانی

مقدمه

گیاهان دانه روغنی مانند کلزا پس از غلات و حبوبات، سومین منبع غذایی بزرگ در جهان هستند (Amiri *et al.*, 2020). کلزا دومین محصول مهم جهت تولید روغن نباتی در جهان است.

دریافت مقاله: ۱۴۰۴/۰۴/۲۶، بازنگری: ۱۴۰۴/۰۸/۰۱، پذیرش: ۱۴۰۴/۰۸/۰۷، اولین انتشار: ۱۴۰۵/۰۲/۱۲

* نویسنده مسئول، رایانامه: Mozafari.hossein@gmail.com

حق انتشار این مستند، متعلق به انجمن فیزیولوژی گیاهی ایران است. ۱۴۰۳ ©

این مقاله تحت گواهی زیر منتشر شده و هر نوع استفاده غیرتجاری از آن مشروط بر استناد صحیح به مقاله و با رعایت شرایط مندرج در آدرس زیر مجاز است:
Creative Commons Attribution-Noncommercial 4.0 International license https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]

[DOI: DOI: 10.22034/15.71.67]

به دلیل محتوای بالای اسیدهای چرب غیراشباع و پروتئین، دارای ارزش اقتصادی و تغذیه‌ای قابل توجهی است. این گیاه منبع غنی از ترکیبات شیمیایی مفید مانند فنول‌ها، فلاونوئیدها، ویتامین‌ها، چربی‌ها و کاروتنوئیدها است (Atif *et al.*, 2022; Zhu *et al.*, 2006) و در صنایع شیمیایی و دارویی نیز کاربرد دارد (Zhao *et al.*, 2021). این گیاه به دلیل عملکرد بهتر نسبت به سایر گیاهان دانه روغنی، سازگاری با آب و هوای ایران و کیفیت غذایی بالا، در مناطق مختلف کشور کشت می‌شود (Gharib *et al.*, 2023; Siddiqi *et al.*, 2021). با این حال، در طول رشد، معمولاً با بسیاری از تنش‌های محیطی، از جمله فلزات سنگین روبرو می‌شود (Amiri *et al.*, 2020; Alam *et al.*, 2020).

کادمیوم (Cd) یک فلز سنگین سمی است که رشد گیاهان و کیفیت محصول را کاهش می‌دهد و تجمع آن در زنجیره غذایی می‌تواند سلامت انسان و اکوسیستم را تهدید کند (Gharib *et al.*, 2023). سازمان بهداشت جهانی کادمیوم را به عنوان یک منبع آلودگی غذایی نگران‌کننده و ماده‌ای سرطان‌زا معرفی کرده است (Heath and Packer, 1968). حضور این فلز در خاک به طور طبیعی یا به دلیل منابع انسانی رخ می‌دهد (Ali *et al.*, 2020). کادمیوم به دلیل سمیت بالا، می‌تواند فرآیندهای مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی گیاهان را مختل کند (Jabeen *et al.*, 2021; Alam *et al.*, 2021)، از جمله اثرات مخرب کادمیوم، می‌توان به کلروزگی، نکروزگی، پژمردگی (Mostafa *et al.*, 2020)، ممانعت از جوانه‌زنی بذر (Haider *et al.*, 2021; Liao *et al.*, 2023)، مهارکننده فعالیت فتوسنتزی (Jafarhaddadian *et al.*, 2021)، تنفس و تعرق (Hafeez *et al.*, 2021)، اختلال در جذب مواد مغذی و تعادل یونی (Shah *et al.*, 2020)، تغییر در فعالیت آنزیم‌ها (Ings *et al.*, 2013) و تجزیه غشاهای سلولی (Akram *et al.*, 2021) اشاره نمود. تحت تنش کادمیوم، دیواره‌های سلولی ریشه کلزا آسیب می‌بینند (Gharib *et al.*, 2023). محتوای کلروفیل و ظرفیت فتوسنتزی کاهش یافته و سیستم آنتی‌اکسیدانی تخریب می‌شود که نهایتاً منجر به کاهش رشد و عملکرد کلزا می‌گردد (Zhou *et al.*, 2023; Elahi *et al.*, 2023).

برای مقابله با تنش اکسیداتیو ناشی از کادمیوم، گیاهان استراتژی‌های بیولوژیکی مختلفی مانند اتصال و شلاته‌کردن کادمیوم، تجمع در واکوئل‌ها، تنظیم اسمزی، فعالسازی سیستم آنتی‌اکسیدانی و سنتز پروتئین‌های تنشی و فیتوهورمون‌ها را تکامل داده‌اند (Okla *et al.*, 2023; Soares *et al.*, 2020). استفاده از هورمون‌های رشد گیاهی مثل براسینوستروئیدها، یک روش مؤثر برای مقابله با تنش فلزات سنگین مانند کادمیوم در گیاهان است (Fu *et al.*, 2023). براسینواستروئیدها (BRs) گروهی از هورمون‌های استروئیدی پلی‌هیدروکسیله در گیاهان هستند که فرآیندهای مختلف رشد و توسعه گیاه را تنظیم می‌کنند (Nolan *et al.*, 2020). علاوه‌براین، براسینواستروئیدها می‌توانند تحمل گیاه را در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی مانند بیماری‌ها، آفت‌کش‌ها، شوری، خشکی، فلزات سنگین و غیره افزایش دهند (Zhang *et al.*, 2022; El Rasafi *et al.*, 2022). براسینواستروئیدها همچنین سرعت فتوسنتز را به طور قابل توجهی افزایش می‌دهند (Farhat *et al.*, 2022; Zhao *et al.*, 2021). به رحال، براسینوستروئیدها تجمع فلزات سنگین را با کاهش جذب از ریشه‌ها و فعالسازی لیگاندهای خاصی مانند فیتوکلاتین‌ها کاهش می‌دهند (Ma *et al.*, 2022). همچنین، توانایی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را افزایش می‌دهند که تولید گونه‌های اکسیژن فعال را خنثی می‌کنند (Yang *et al.*, 2022; Heath and Packer, 1968). این ویژگی‌ها نشان می‌دهد که براسینوستروئیدها می‌توانند نقش مهمی در کاهش اثرات منفی فلزات سنگین بر گیاهان ایفا کنند.

۲٤- اپی‌براسینولید (EBR)، یک ترکیب زیست‌فعال از براسینواستروئیدها است که اثر تحریک‌کننده BRs را در گیاهان تقلید می‌کند (Ali *et al.*, 2020; Verma *et al.*, 2023). کاربرد خارجی آن می‌تواند تحمل گیاه به سمیت کادمیوم را با بهبود فتوسنتز، تحریک سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی برای مقابله با گونه‌های اکسیژن فعال (ROS)، افزایش بیوماس و عملکرد گیاهان را بهبود بخشد (Amiri *et al.*, 2020). برای کاهش

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]

[DOI: DOI: 10.22034/15.71.67]

اثرات مضر تنش‌های مختلف، از جمله سمیت کادمیوم، استفاده از تنظیم‌کننده‌های زیستی مانند تیامین می‌تواند به بهبود تحمل گیاهان کمک کند.

تیامین یا همان ویتامین B1 یک ویتامین محلول در آب بوده و نقش حیاتی در متابولیسم کربن در موجودات زنده ایفا می‌کند (Ghasemi-Omran *et al.*, 2021; Viana *et al.*, 2022). تیامین برای بیوسنتز کوآنزیم تیامین پیروفسفات ضروری است و در این شکل، نقش مهمی در متابولیسم کربوهیدرات‌ها دارد. این ماده مغذی برای گیاهان و حیوانات ضروری است. در گیاهان، تیامین در برگ‌ها سنتز شده و به ریشه‌ها منتقل می‌شود، جایی که رشد را کنترل می‌کند (Fitzpatrick and Chapman, 2020; Wu *et al.*, 2024). تیامین پیروفسفات (TPP) به عنوان یک کوفاکتور در چندین مرحله آنزیمی مهم در متابولیسم کربن، از جمله آنزیم‌های پیرووات دهیدروژناز، آلفا-کتوگلوتارات دهیدروژناز و ترانسکتولاز، عمل می‌کند (Wu *et al.*, 2019; Jan *et al.*, 2020). بنابراین، TPP در فرآیندهای گلیکولیز، چرخه اسید تری‌کربوکسیلیک، متابولیسم نوکلئوتیدها و سنتز اسیدهای آمینه شاخه‌دار ضروری است (Atif *et al.*, 2022).

تیامین با تحمل تنش‌های زیستی و غیرزیستی از جمله فلزات سنگین مرتبط است (Liao *et al.*, 2023; Mostafa *et al.*, 2020). این ویتامین به طور مستقیم به عنوان یک آنتی‌اکسیدان عمل می‌کند، گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) را از بین می‌برد، همچنین به طور غیرمستقیم با تأمین انرژی سلول، انعطاف‌پذیری متابولیکی لازم را برای تطبیق سلول با شرایط جدید فراهم می‌کند (Rosado-Souza *et al.*, 2020; Sun *et al.*, 2024).

با توجه به اهمیت زراعی و اقتصادی گیاه دانه روغنی کلزا در تأمین غذایی و استخراج روغن، و نظر به اینکه تنش و آلودگی کادمیوم به دلایل مختلف وجود فعالیت‌های انسانی یا صنعتی، یکی از عوامل محدودکننده رشد و تولید کشاورزی کلزا به شمار می‌رود، نیاز به تحقیقات بنیادی و کاربردی در زمینه کاهش اثرات منفی این تنش بر رشد و مقاومت اکسیدانی گیاه کلزا بسیار ضروری به نظر می‌رسد. گزارش‌های متعددی در خصوص اثر بهبوددهنده براسینواستروئیدها یا تیامین در گیاهان مختلف در شرایط تنش‌های مختلف وجود دارد، اما اطلاعات جامعی در خصوص تأثیر جداگانه یا متقابل هر دو ترکیب بهبوددهنده رشد و مقاوم‌زا بر گیاه کلزا تحت تنش کادمیوم موجود نیست. لذا هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر عوامل تعدیل‌کننده یا تشدیدکننده تنش اکسیداتیو کادمیوم در کلزا رقم Hyola 401 تحت تیمار با استفاده از تیامین و ۲۴-اپی‌براسینولید به عنوان الیسیتور و تنظیم‌کننده رشد است تا مطلوب‌ترین شرایط از لحاظ مقاومت اکسیدانی و رشد بهتر کلزا تحت تنش فلز سنگین کادمیوم به دست آید و حتی میزان تأثیر متقابل یا جداگانه این دو الیسیتور و تنظیم‌کننده رشد مهم آنتی‌اکسیدانی و این عوامل تنظیم رشد گیاهی (PGR) مورد بررسی، مقایسه و ارزیابی علمی و آماری قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در آزمایشگاه تحقیقاتی فیزیولوژی گیاهی، بخش زیست‌شناسی دانشگاه شهید باهنر کرمان در سال ۱۳۹۵ انجام شد. بذرهای کلزا (*Brassica napus* L.) رقم Hyola 401 از مرکز تحقیقات کشاورزی کرمان، بخش نهال و بذر تهیه شد. برای این منظور ابتدا بذرهای یکسان کلزا با سدیم هیپوکلریت ۰/۵ درصد به مدت یک دقیقه ضدعفونی شده، سپس با آب مقطر شسته شده و در گلدان‌های پلاستیکی ۱۲ سانتی‌متر پر شده با پرلیت، کاشته شدند. در هفته اول کاشت بذرها، نهال‌ها با آب‌مقطر آبیاری شدند و سپس از محلول غذایی هوگلند ۱/۲ رقت اصلی برای آبیاری گیاهان استفاده شد. گیاهان در یک اتاق رشد با چرخه نوری ۱۶ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی رشد کردند. دما در طول روز ۲ ± ۲۳ درجه سانتی‌گراد و در شب ۲ ± ۱۶ درجه سانتی‌گراد بود. شدت نور بالای سطح گیاهان ۱۴۰۰۰ لوکس (Lux) معادل تقریبی ۲۵۷/۶ میکرومول بر مترمربع ($\mu mol/m^2/s$) برای ۳۰ روز بود. پس از این دوره، اثر تیمار با کادمیوم و سایر ترکیبات (EBL و تیامین) بر رشد و پارامترهای اکسیداتیو با جایگزینی محلول غذایی با محلول تازه

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]

[DOI: DOI: 10.22034/15.71.67]

حاوی ترکیبات تیماری اضافه شده مربوطه به مدت ۱۰ روز به صورت یک روز در میان بررسی شد. غلظت‌های کل تیمارها به صورت کلرید کادمیوم (از شرکت مرک آلمان) (صفر، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکرومولار)، تیامین (شرکت سیگما) (صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار) و ۲٤- اپی براسینولید (شرکت سیگما) (صفر، ۰/۰۲ و ۰/۵ میکرومولار) در آب دیونیزه حل شده و اسیدیته محلول‌ها به صورت pH= ۵/۸ بامحلول‌های ۰/۱ مولار KOH یا ۰/۱ مولار HCl تنظیم شدند تا خطای تغییرات و اختلاف اسیدیته محلول غذایی و تیمارها بر تیمارها تأثیرگذار نباشد (جدول ۱). ترکیب تیمارها ابتدا با آزمایش فاکتوریل مشخص شدند و سپس بهینه‌سازی لازم و سنجش پارامترهای مربوطه صورت گرفته و ترکیب نهایی کدهای تیماری در جدول ذیل به صورت ۲۷ کد تیماری در پژوهش نهایی استفاده گردید. تیمار (B1×E1×C1)، شاهد (Control) بوده و همان محلول هوگلند پایه بدون افزودن تیامین، اپی‌براسینولید و کادمیوم است. در سایر تیمارها حداقل یکی از این مواد به محلول پایه اضافه شده است.

تیمارهای فوق در قالب طرح کاملاً تصادفی به گیاهان کلزا ۱٤ روزه با حداقل سه تکرار تیمار شدند. پس از اتمام زمان تیمارها در این آزمایش، ساقه و برگ سوم گیاهان برداشت شده و در نیتروژن مایع منجمد و در دمای ۸۰ – درجه سانتی‌گراد برای انجام تحلیل‌های بیوشیمیایی ذخیره شدند. در برخی پارامترها هم از نمونه‌های تازه گیاهی (fresh) استفاده شد (جدول ۱ و شکل ۲ و ۱).

اندازه‌گیری شاخص‌های رشد، بیوشیمیایی و اکسیدانی گیاهان کلزا تحت تیمار، محتوای نسبی آب برگ: محتوای نسبی آب برگ‌ها با استفاده از روش Ings و همکاران (۲۰۱۳) اندازه‌گیری شد. برگ‌ها بلافاصله پس از تیمار و برداشت، وزن شدند و به عنوان وزن تر برگ (FW) ثبت گردید. سپس نمونه‌های برگ در آب دوبار تقطیر استریل غوطه‌ور شده و به مدت ۲٤ ساعت در تاریکی و در دمای ٤°C نگهداری شدند. پس از این مدت، وزن تر برگ‌ها مجدداً اندازه‌گیری شد که به عنوان وزن تورژسانس (TW) شناخته می‌شود. نمونه‌های وزن شده (برگ‌های اشباع از آب) به مدت ۷۲ ساعت یا بیشتر (تا رسیدن به وزن ثابت) در آون با دمای ۷۰°C خشک شدند. سپس وزن خشک (DW) نمونه‌ها با ترازو اندازه‌گیری و محتوای نسبی آب برگ (RWC) با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (Ghasemi-Omaran *et al.*, 2021).

$$RWC\ (\%) = [(FW- DW) / (TW- DW)] \times 100$$

سنجش مقدار کربوهیدرات‌های محلول: برای سنجش کربوهیدرات‌های محلول از روش Fales (۱۹۵۱) استفاده گردید. مقدار ۰/۱ گرم اندام هوایی با استفاده از ۲/۵ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ٦۰ دقیقه (دو مرحله ۳۰ دقیقه‌ای) کربوهیدرات‌های محلول استخراج شدند و عصاره‌ها با کاغذ صافی صاف شده و سپس الکل آنها تبخیر گردید. رسوب حاصل در ۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد. از هر نمونه ۲۰۰ میکرولیتر در یک لوله آزمایش ریخته و به آن ۵ میلی‌لیتر معرف آنترون اضافه شد. پس از مخلوط‌شدن، به مدت ۱۷ دقیقه در بن‌ماری ۹۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و پس از سردشدن جذب آنها در ٦۲۵ نانومتر خوانده شد. غلظت هر نمونه با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید (Jia *et al.*, 2023).

میزان نشت یونی برگ گیاهان تیمارشده:جهت سنجش میزان آسیب غشایی بافت برگی گیاهان تحت تیمار آزمایش، میزان نشت یونی به روش Ben Hamed و همکاران (۲۰۰۷) با استفاده از معادله ذیل، بر حسب درصد محاسبه گردید. (Basit *et al.*, 2021).

$$\text{درصد نشت یونی} = \frac{Ec_1}{Ec_2} \times 100$$

استخراج و سنجش میزان پراکسید هیدروژن (H_2O_2): نمونه‌های منجمدشده اندام هوایی به میزان ۰/۱ گرم در ۲ میلی‌لیتر TCA (اسید تری‌کلرو استیک) ۰/۱٪ عصاره‌گیری شدند. سوسپانسیون حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ٤

جدول ۱- ترکیب و غلظت تیمارهای نهایی مورد استفاده در تحقیق پس از بهینه‌سازی که حاوی تیامین، ۲٤-اپی براسینولید و مقادیر سمی

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]

[DOI: DOI: 10.22034/15.71.67]

کادمیوم در پایه‌ای از محلول هوگلند با رقت ۱/۲ است.

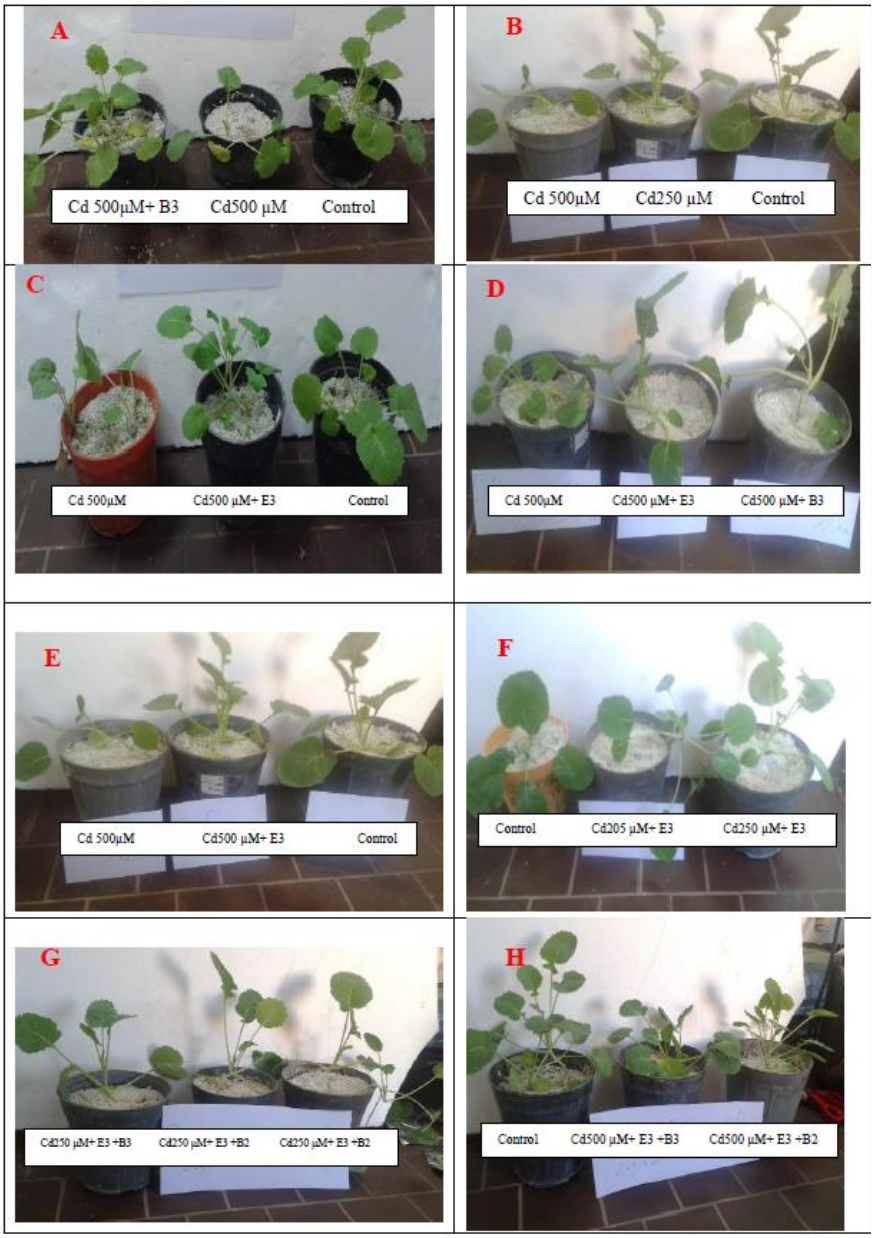
کدهای تیماری	تیامین (µM)	اپی براسینولید (µM)	کلرید کادمیوم (µM)
Control (B1×E1×C1)	۰	۰	۰
C2	۰	۰	۲۵۰
C3	۰	۰	۵۰۰
E2	۰	۰/۰۲	۰
E2×C2	۰	۰/۰۲	۲۵۰
E2×C3	۰	۰/۰۲	۵۰۰
E3	۰	۰/۵	۰
E3×C2	۰	۰/۵	۲۵۰
E3× C3	۰	۰/۵	۵۰۰
B2	۱۰۰	۰	۰
B2×C2	۱۰۰	۰	۲۵۰
B2×C3	۱۰۰	۰	۵۰۰
B2×E2	۱۰۰	۰/۰۲	۰
B2×C2×C2	۱۰۰	۰/۰۲	۲۵۰
B2×E2×C3	۱۰۰	۰/۰۲	۵۰۰
B2×E3	۱۰۰	۰/۵	۰
B2×E3×C2	۱۰۰	۰/۵	۲۵۰
B2×E3×C3	۱۰۰	۰/۵	۵۰۰
B3	۲۰۰	۰	۰
B3×C2	۲۰۰	۰	۲۵۰
B3×C3	۲۰۰	۰	۵۰۰
B3×E2	۲۰۰	۰/۰۲	۰
B3×E2×C2	۲۰۰	۰/۰۲	۲۵۰
B3×E2×C3	۲۰۰	۰/۰۲	۵۰۰
B3×E3	۲۰۰	۰/۵	۰
B3×E3×C2	۲۰۰	۰/۵	۲۵۰
B3×E3×C3	۲۰۰	۰/۵	۵۰۰

درجه سانتی‌گراد و با سرعت ۱۲۰۰۰g سانتریفیوژ شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی با ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی‌مولار با pH=۷ و ۱ میلی‌لیتر محلول KI یک مولار مخلوط شد. مخلوط واکنش به مدت یک ساعت در تاریکی و در دمای اتاق قرار گرفت و سپس جذب آنها در طول‌موج ۳۹۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. میزان پراکسید هیدروژن با توجه به منحنی استاندارد غلظت‌های مختلف پراکسید هیدروژن محاسبه گردید

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]

[DOI: DOI: 10.22034/15.71.67]

شکل ۱- گیاهان کشت‌شده ۱٤ روزه کلزا (*Brassica napus* L.) رقم Hyola، کشت‌شده و در حال رشد در گلدان‌های پلاستیکی ۱۲ سانتی‌متری پرشده با بستر کشت پرلیت



شکل ۲- تأثیر برخی تیمارهای آزمایش حاوی تیامین و براسینولید بر رشد ظاهری و مورفولوژیک گیاهان کلزا رقم Hyola401 تحت تنش کادمیوم. کدهای تیماری روی هر تصویر طبق جدول تیمار در بخش مواد و روش‌ها بیان شده‌اند. Cd; Cadmium, E; Epibrassinolide, B; Thiamine

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]

[DOI: DOI: 10.22034/15.71.67]

(Hajbagheri *et al.*, 2017).

سنجش مقدار پراکسیداسیون لیپیدها: اندازه‌گیری مالون دآلدئید (MDA) به روش Packer و Heath (۱۹۶۹) انجام شد. طبق این روش ۰/۲ گرم از بافت فریزشده گیاه(ریشه و برگ) با ۵ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد سائیده شد. عصاره حاصل با استفاده از سانتریفوژ به مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰g سانتریفوژ شد. به ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی حاصل از سانتریفوژ، ٤ میلی‌لیتر محلول تری کلرواستیک اسید (TCA) ۲۰ درصد که حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیتوریک اسید (TBA) بود، اضافه گردید. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد در حمام آب‌گرم حرارت داده شده سپس بلافاصله در یخ سرد شد و دوباره مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰g سانتریفوژ شد. شدت جذب این محلول با استفاده از اسپکتروفتومتر مدل Varian Cary50 (ساخت استرالیا) در طول‌موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. ماده مورد نظر برای جذب در این طول‌موج، کمپلکس قرمز MDA-TBA است. جذب بقیه رنگیزه‌های غیراختصاصی و مزاحم در ٦۰۰ نانومتر تعیین گردید و از این مقدار کسر شد. برای محاسبه غلظت MDA از ضریب خاموشی معادل $mM^{-1}cm^{-1}$ ۱۵۵ استفاده و نتایج حاصل از اندازه‌گیری بر حسب نانومول بر گرم وزن تر محاسبه شد (Heath and Packer, 1968; Ings *et al.*, 2013)

سنجش سایر آلدئیدها (پروپانال، بوتانال، هگزانال، هپتانال و پروپانال دی‌متیل استال): برای محاسبه غلظت سایر آلدئیدها از طول‌موج ٤۵۵ نانومتر و ضریب خاموشی $mM^{-1}cm^{-1}$ ۰/٤۵۸ × ۱۰^{۵} استفاده شد. نتایج به صورت میکرومول بر گرم وزن تر گیاه گزارش شد (Ings *et al.*, 2013).

سنجش تجمع پرولین اندام هوایی: برای اندازه‌گیری پرولین از روش Bates (۱۹۷۳) استفاده شد. ۰/۰۲ گرم از بافت فریزشده گیاه (ساقه و برگ) در ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۳ درصد سولفوسالیسیلیک اسید سائیده و عصاره حاصل به مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰g سانتریفوژ شد. سپس ۲ میلی‌لیتر از مایع رویی را با ۲ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر استیک اسید خالص مخلوط کرده و یک ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد در حمام آب‌گرم قرار گرفت سپس بلافاصله لوله‌های محتوی مخلوط در حمام یخ سرد شد. بعد ٤ میلی‌لیتر تولوئن به مخلوط اضافه گردید و لوله‌ها به خوبی تکان داده شد. با ثابت نگه داشتن لوله‌ها به مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه دو لایه مجزا تشکیل شد. میزان جذب لایه رنگی فوقانی که حاوی تولوئن و پرولین بود در ۵۱۸ نانومتر تعیین شد و برای محاسبه مقدار پرولین از منحنی استاندارد پرولین استفاده گردید ونتایج بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد (Khadem moghadam *et al.*, 2020).

اندازه‌گیری میزان ترکیبات فنلی: محتوای ترکیبات فنلی کل با استفاده از روش Sonald و Laima (۱۹۹۹) انجام گرفت. ۰/۱ گرم از اندام هوایی گیاه را در ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد سائیده و به مدت ۷۲-۲٤ ساعت در تاریکی نگهداری شد. سپس به ۱ میلی‌لیتر محلول رویی ۱ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد اضافه و با آب‌مقطر دوباره تقطیر حجم محلول به ۵ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر معرف فولین ۵۰ درصد و ۱ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۵ درصد به آن اضافه گردید. مخلوط حاصل به مدت یک ساعت در تاریکی نگهداری شد و سپس جذب هر نمونه در طول‌موج ۷۲۵ نانومتر خوانده شد و با استفاده از منحنی استاندارد غلظت ترکیبات فنلی کل بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد (Izadi *et al.*, 2021).

سنجش میزان فلاوونوئیدها: اندازه‌گیری فلاوونوئیدهای کل با استفاده از روش کالریمتری آلومینیوم کلراید که توسط Zhishen و همکاران (۱۹۹۹) توصیف‌شده، انجام شد. مقدار کل ترکیبات فلاوونوئیدی موجود در عصاره با استفاده از معادله به دست آمده از منحنی استاندارد کوئرستین محاسبه و نتایج بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر بیان شد (Noctor *et al.*, 2018).

میزان آنتوسیانین: اندازه‌گیری میزان آنتوسیانین‌ها براساس روش Wagner (۱۹۷۹) انجام شد. برای محاسبه غلظت آنتوسیانین‌ها از ضریب خاموشی $mmol^{-1}\ cm^{-1}$ ۳۳۰۰۰ استفاده شد. غلظت با استفاده از فرمول $A= \varepsilon bc$ محاسبه گردید. نتایج

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]

[DOI: DOI: 10.22034/15.71.67]

به صورت میکرومول بر گرم وزن تر گزارش شدند. در این فرمول، A میزان جذب در طول‌موج ۵۵۰ نانومتر، ε ضریب خاموشی ۳۳۰۰۰ $mmol^{-1}\ cm^{-1}$، b عرض کووت ۱ cm و C غلظت محلول مورد نظر بر حسب میلی‌مولار است (Ren *et al.*, 2023).

استخراج و ارزیابی فعالیت مهار رادیکال DPPH: استخراج و ارزیابی فعالیت مهار رادیکال DPPH (دیفنیل- پیکریل هیدرازیل) طبق روش Zhu و همکاران (۲۰۰٦) اندازه‌گیری شد. درصد مهار DPPH طبق معادله زیر محاسبه شد (Maghsoudi *et al.*, 2021):

$$\text{درصد مهار} = \frac{\text{جذب نمونه} - \text{جذب کنترل}}{\text{جذب کنترل}} \times ۱۰۰$$

سنجش مقدار اسید آسکوربیک و اسید دی‌هیدرو آسکوربیک: برای سنجش آسکوربات، عصاره گیاه از مخلوط نمونه گیاهی ساییده شده در محلول حاوی اسید متافسفریک و EDTA بدست آمد. ۳۰۰ میکرولیتر از عصاره سانتریفوژ شده فوق درون لوله آزمایش ریخته شد و محلول‌های زیر به‌ترتیب به آن اضافه شد. ابتدا ۷۵۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۵۰ میلی‌مولار و سپس ۳۰۰ میکرولیتر آب‌مقطر اضافه و مخلوط حاصل ورتکس گردید و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. سپس به ترتیب ٦۰۰ میکرولیتر تری کلرواستیک اسید ۱۰ درصد، ٦۰۰ میکرولیتر ارتوفسفریک اسید ٤٤ درصد و ٦۰۰ میکرولیتر آلفا آلفادی پیریدیل ٤ درصد و ۱۰ میکرولیتر $FeCl_3$ ۰/۳ درصد اضافه و مخلوط حاصل بلافاصله ورتکس گردید و به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب‌گرم با دمای ٤۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. سپس لوله آزمایش از حمام خارج و مجدداً ورتکس شد و برای بار دوم به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب‌گرم با دمای ٤۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس شدت جذب در طول‌موج ۵۲۵ نانومتر خوانده شد. برای محاسبه مقدار آسکوربات از منحنی استاندارد آسکوربات استفاده شد و نتایج بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر گزارش شد (Loi *et al.*, 2020).

سنجش پروتئین کل: جهت سنجش مقدار پروتئین کل از روش Bradford (۱۹۷٦) استفاده شد. به این منظور به لوله‌های آزمایش مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره پروتئینی، ۵ میلی‌لیتر معرف بیوره افزوده و سریعاً ورتکس شد. پس از دو دقیقه و قبل از یک ساعت جذب محلول‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد و غلظت پروتئین با استفاده از منحنی استاندارد آلبومین محاسبه و بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید (Kamal *et al.*, 2023).

این پژوهش به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار برای هر کد تیمار تعیین‌شده انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۸ و آزمون آنالیز واریانس دو طرفه صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطوح آماری با احتمالات آماری ۱٪ و ۵٪ انجام شد. جدول‌های آماری شامل آنالیز واریانس، مقایسه میانگین‌ها و بررسی آماری تأثیر کلی و جزئی تیمارها (فاکتورهای آزمایش) بر متغیرهای آزمایش در بخش نتایج ارائه شده است.

نتایج و بحث

تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری در بیشتر پارامترها تحت اثر متقابل (تیامین× کادمیوم) و (اپی‌براسینولید× کادمیوم) مشاهده شد. فقط اثر متقابل تیامین و کادمیوم بر میزان پروتئین کل تحت شرایط تنش کادمیوم معنی‌دار نبود (جدول ۲). بطورکلی نتایج این پژوهش نشان داد که اثر متقابل سه فاکتور تیامین، براسینولید و کادمیوم بر پارامترها معنی‌دار در دو سطح احتمالی ۱ و ۵ درصد نبوده و جداول آنالیز واریانس و آزمون دانکن حاصل این موضوع را نشان می‌دهد. اما همان طور ذکر اثر توأم تیامین و کادمیوم یا براسینولید و کادمیوم بر تغییر میزان پارامترهای سنجش‌شده به ویژه شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی معنی‌دار بوده است. به رحال این تأثیر جداگانه تیمار تیامین و براسینولید بر میزان و درصد تغییر شاخص‌ها متفاوت بوده که بخش‌های ذیل نتایج آورده شده است. به عبارت دیگر تأثیر کلی تیمارها بر پارامترها معنی‌داری بوده اما در بررسی جزئی‌تر آماری با جدول آنالیز واریانس و آزمون

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]
[DOI: DOI: 10.22034/15.71.67]

دانکن اثر متقابل ۳ فاکتور مهم پژوهش معنی‌دار نبود اما تیمارهای حاوی تیامین و براسینولید دارای اثرات بهبود بخشی در گیاهان تحت تنش کادمیوم بودند (جدول ۳ و ٤). که البته بستگی به نوع غلظت تیمار و نوع پارامتر سنجش‌شده، تغییرات متفاوت بود. هر چند در برخی پارامترها مانند تغذیه منیزیمی، تیمار توأم تیامین و ٢٤- اپی براسینولید تأثیر بهتر داشت اما در برخی پارامترهای دیگر مانند محتوای آب و سطح برگ، کاربرد تیمارها موجب بهبود رشد گیاه تحت تنش کادمیوم شد.

محتوای آب نسبی برگ (RWC): نتایج محتوای آب نسبی برگ نشان داد که بیشترین محتوای آب نسبی برگ مربوط به تیمار با غلظت ۱۰۰ میکرومولار تیامین (٦٦/١٥ درصد) و ۰/۰۲ میکرومولار اپی براسینولید (٦٦/١٥ درصد) بود. در رابطه با اثر کادمیوم نیز بیشترین میزان این پارامتر مربوط به گیاه کنترل یعنی غلظت (صفر میکرومولار کادمیوم) مشاهده شد (۷۳/۰۷ درصد) و کمترین میزان آن در گیاهان تیمارشده با غلظت ۵۰۰ میکرومولار کادمیوم (۵۹/۲۹ درصد) به دست آمد (جدول ۲).

همچنین، اثرات متقابل تیامین و کادمیوم نشان داد که بیشترین محتوای آب نسبی برگ در تیمار با غلظت ۱۰۰ میکرومولار تیامین و صفر میکرومولار کادمیوم (۷۳/۰۷ درصد) در مقایسه با اثر کادمیوم به تنهایی مشاهده شد. در حالیکه بیشترین میزان این سنجش در تیمار با غلظت ۰/۰۲ میکرومولار اپی براسینولید و صفر میکرومولار کادمیوم (۷۳/۰۷ درصد) در مقایسه با اثر کادمیوم به تنهایی به دست آمد (جدول ۲). محتوای آب نسبی (RWC) در برگ‌ها نشان‌دهنده وضعیت آب و فعالیت متابولیکی گیاه است. تجمع فلزات سنگین مانند کادمیوم در ریشه باعث توقف انتقال آب و مواد محلول به اندام هوایی و ایجاد تنش خشکی می‌شود. فلزات سنگین با صدمه زدن به غشاء پلاسمایی و کاهش انتقال آب، روابط آبی گیاهان را مختل می‌کنند (Alam *et al.*, 2021). نتایج ما نیز نشان داد که تیمار EBL و تیامین به تنهایی باعث افزایش محتوای آب نسبی در گیاه کلزا شدند و تنش خشکی ناشی از کادمیوم را کاهش دادند (جدول ۲، ۳ و ٤).

محتوای کربوهیدرات‌های محلول: نتایج نشان داد که بیشترین مقدار کربوهیدرات‌ها در تیمار با غلظت ۱۰۰ میکرومولار تیامین (۰/۷۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و ۰/۰۲ میکرومولار اپی براسینولید (۰/۸۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد. در مورد اثر کادمیوم، بیشترین میزان این پارامتر در گیاهان کنترل (غلظت صفر میکرومولار کادمیوم) با مقدار ۰/۹٤ میلی‌گرم بر گرم وزن تر و کمترین میزان آن در گیاهان تیمارشده با غلظت ۵۰۰ میکرومولار کادمیوم (۰/۵۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) به دست آمد.

همچنین، اثرات متقابل تیامین و کادمیوم نشان داد که بیشترین مقدار کربوهیدرات‌ها در تیمار با غلظت ۱۰۰ میکرومولار تیامین و صفر میکرومولار کادمیوم (۰/۹٤ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در مقایسه با گیاهان تحت تنش کادمیوم مشاهده شد. در حالیکه بیشترین میزان این سنجش در تیمار با غلظت ۰/۰۲ میکرومولار اپی براسینولید و صفر میکرومولار کادمیوم (۱/۰۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در مقایسه با تنش کادمیوم به تنهایی به دست آمد (جدول ۲).

شاخص نشت یونی برگ: نتایج نشان داد که کمترین مقدار نشت یونی در تیمار با غلظت ۱۰۰ میکرومولار تیامین (٥٤/١٣ درصد) و ۰/۰۲ میکرومولار اپی براسینولید (٤٧/٣٠ درصد) مشاهده شد. در مورد کادمیوم، بیشترین و کمترین مقدار نشت یونی به ترتیب مربوط به تیمار با غلظت ۵۰۰ میکرومولار کادمیوم (٦٦/١٠ درصد) و صفر میکرومولار کادمیوم (٤٥/٥٤ درصد) بود. در رابطه با اثرات متقابل تیامین و کادمیوم، اگر چه بیشترین نشت یونی در تیمار با غلظت صفر میکرومولار تیامین و ۵۰۰ میکرومولار کادمیوم (۷۸/٦٥ درصد) مشاهده شد، اما هیچ کدام از غلظت‌های تیامین نتوانستند به طور معنی‌داری نشت یونی را کاهش دهند. همچنین، در مورد اپی براسینولید، کمترین میزان نشت یونی در تیمار با غلظت ۰/۰۲ میکرومولار اپی براسینولید و صفر میکرومولار کادمیوم (٤٠/٦٨ درصد) در مقایسه با تنش کادمیوم به تنهایی به دست آمد (جدول ۲).

پراکسیداسیون لیپید منجر به بر هم خوردن ساختار دو لایه‌ای، سیالیت و نفوذپذیری غشاء به مواد مختلف و همچنین

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]

[DOI: DOI: 10.22034/15.71.67]

جدول ۲- تجزیه واریانس داده‌های حاصل از سنجش پارامترهای DPPH، قند، پروتئین کل، پرولین، فنل، آنتوسیانین، آسکوربات، دی‌هیدرو آسکوربات، فلاونوئیدها، RWC، MDA، آلدئیدها، EL، H_2O_2 در پژوهش در سطح معنی‌دار ۹۹ درصد.

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		DPPH	قند	پروتئین	پرولین	فنل	آنتوسیانین	آسکوربات
تکرار	۲	۰/۵۹^{ns}	۰/۰۰ ^{ns}	۰/۰۰^{ns}	۰/۰۵^{ns}	۰/۰۰^{ns}	۰/۰۰^{ns}	۰/۰۱^{ns}
تیامین	۲	۲۰۹/۹۷**	۰/۰۱**	۰/۰۰**	٤/۷۰**	۱/۲۹**	۰/۰۳**	۰/۸۱**
EBL	۲	۳۳/۷۵**	۰/۰٦**	۰/۰۵**	۸/۸۷**	۰/۳۱**	۰/۰۵**	۳/۳۵**
کادمیوم	۲	۱۱۰۷/۹۷**	۰/۳۱**	٤/۵۷**	۲۸/٤۹**	۱/٤۰**	۰/۰۷**	٦/۷۱**
EBL × کادمیوم	٤	۵/۵۳**	۰/۰۱**	۰/۰۵**	۰/۷٦**	۰/۱٦**	۰/۰۲**	۰/۱۱**
تیامین × کادمیوم	٤	۵۵/۷٦**	۰/۰۱**	۰/۰۰^{ns}	۰/۸۲**	۰/۲۵**	۰/۰۲**	۰/۵۳**
EBL×تیامین×کادمیوم	۲٦	٦٦/۱۱^{ns}	۰/۰۱۵^{ns}	۰/۰۱^{ns}	۰/۳۵ ^{ns}	۵۵/۷^{ns}	۰/۰۱^{ns}	۰/۰۰^{ns}
خطا	۲۸	۰/۹۳	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۵	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۲
C.V (٪)		۳/٦۵	۲/٤۸	۱/۸۷	۳۱/۳۵	۲/۳۰	٤/٦۲	۳/۳۸

** نشانگر معنی‌ار بودن در سطح احتمال ۱ درصد و ns غیر معنی‌دار

ادامه جدول ۲-

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		دی هیدروآسکوربات	فلاونوئید	RWC	MDA	آلدئیدها	EL	H_2O_2
تکرار	۲	۰/۰٤^{ns}	۰/۰۰^{ns}	۰/۰۰^{ns}	۰/۰۰^{ns}	۰/۰۰^{ns}	۰/۰۲^{ns}	۰/۰۰^{ns}
تیامین	۲	۱/۰۲**	۱/۲۷**	۰/۰۰**	۰/۰۰**	۰/۰۰**	۱۲۷/۹۳**	۰/۰۳**
EBL	۲	۰/۲۰**	۱/۰۲**	۱۱/٤۵**	۰/۰۱**	۰/۰۳**	۵۷۲/۰۱**	۰/۵۲**
کادمیوم	۲	۱۱/۷۸**	۰/۲٦**	۲۷۲/۵۹**	۰/۰۳**	۰/۰۱**	۲٤٤/٦۳**	۰/۱۷**
EBL × کادمیوم	٤	۰/٦۷**	۰/۱۵**	۳/۲۰**	۰/۰۱**	۰/۰۰٦**	۹٦/۱۰**	۰/۰۱**
تیامین × کادمیوم	٤	۰/۵۷**	۰/۱۲**	۰/۰۰**	۰/۰۰**	۰/۰۰**	۱۲۷/۹۲**	۰/۰۱**
EBL×تیامین×کادمیوم	۲٦	۰/۹۲ ^{ns}	۰/۳۲ ^{ns}	۰/۰۱^{ns}	۰/۰۲^{ns}	۰/۰۳^{ns}	۲۱۳/٦٤^{ns}	۰/۰٤^{ns}
خطا	۲۸	۰/۰۳	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۳	۰/۰۰
C.V(٪)		۹/۳٦	۸/٦٤	۸/۸۳	۲/۸۵	۱/۰۱	۹/٦۲	۳/۹۹

** نشانگر معنی‌ار بودن در سطح احتمال ۱ درصد و ns غیر معنی‌دار

ضخامت غشاء می‌شود (Wagner *et al.*, 1979). این تغییرات به دلیل اکسیداسیون چربی‌ها و پروتئین‌های غشاء است که باعث اختلال شیب یون‌ها، در نتیجه تغییر فرآیندهای متابولیکی می‌شود (Zhang *et al.*, 2022). حفظ یکپارچگی غشاء سلولی تحت تنش فلز به عنوان مکانیسم تحمل در برابر فلز در نظر گرفته شده است (Kour *et al.*, 2021).

عملکرد دوگانه H_2O_2 در ایجاد آسیب اکسیداتیو و سیگنالینگ در تحریک واکنش دفاع تا حدودی وابسته به تجمع H_2O_2 در بافت‌ها است (Khan *et al.*, 2024). غلظت‌های بالای H_2O_2 به عنوان عامل ایجادکننده تنش اکسیداتیو به

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]

[DOI: DOI: 10.22034/15.71.67]

جدول ۳- مقایسه تأثیر ساده، دوگانه و سه‌گانه فاکتورهای آزمایش بر میانگین برخی پارامترهای رشد، آنتی‌اکسیدانی و بیوشیمیایی در گیاه کلزا تحت تیمارهای حاوی تیامین (B)، اپی براسینولید (E) و تنش کادمیوم (C)

تیمارهای آزمایش	RWC	MDA	آلدهیدها	EL	H_2O_2	پرولین	فلاونوئیدها
				اثر ساده			
Control	٦٥/١٥^{ab}	٠/٤١^{g}	٤/٧٢^{d}	٥٦/٥٨^{e}	٥/١٠^{d}	٧/٤٧^{d}	٤/٣٩^{b}
C2	٥٦/١٥^{b}	٠/٥٩^{b}	٦/٧٠^{c}	٦٤/١٣^{b}	٧/١١^{b}	١٠/٤٥^{b}	٥/٧٦^{a}
C3	٤٦/١٥^{c}	٠/٦٩^{a}	٦/٧٠^{b}	٨٤/١٣^{b}	٨/٢٠^{a}	١٣/٧١^{a}	٦/٥٠^{b}
E2	٦٦/١٤^{b}	٠/٤٠^{b}	٤/٧٠^{b}	٥٦/٣٠^{b}	٥/١٨^{b}	٧/١٧^{c}	٤/٤٣^{c}
E3	٧٣/٠٧^{a}	٠/٣١^{c}	٤/٦٧^{c}	٤٥/٥٤^{c}	٤/٩٧^{c}	٤/٤٣^{c}	٤/١٥^{c}
B2	٧٣/٠٧^{b}	٠/٣٠^{d}	٤/٦٦^{e}	٤٦/٧٥^{d}	٥/١٠^{d}	٢/٥٨^{g}	٣/٤٥^{f}
B3	٧٣/٠٧^{b}	٠/٣٠^{h}	٤/٦٦^{g}	٤٦/٧٥^{g}	٤٦/٧٥^{c}	٢/٥٨^{g}	٣/٤٥^{f}
				اثر دوگانه			
Control	٦٥/١٥^{ab}	٠/٤١^{g}	٤/٧٢^{d}	٥٦/٥٨^{e}	٥/١٠^{d}	٧/٤٧^{d}	٤/٣٩^{b}
E2×C2	٦٦/١٥^{a}	٠/٣٧^{c}	٤/٧٠^{c}	٤٧/٣٠^{c}	٤/٨٢^{c}	٨/٢٣^{a}	٤/٦٨^{a}
E2×C3	٦٤/١٩^{c}	٠/٤٤^{a}	٤/٧٦^{a}	٦١/٧٠^{a}	٥/٢٦^{a}	٧/٨٣^{b}	٤/٤٦^{b}
E3×C2	٦٤/٩١^{b}	٠/٤٠^{b}	٤/٧١^{b}	٥٥/١٦^{b}	٥/١٣^{b}	٨/٦٢^{b}	٤/٥٥^{b}
E3× C3	٥٩/٢٩^{C}	٠/٥٠^{a}	٤/٧٥^{a}	٦٦/١٠^{a}	٥/٢٧^{a}	٩/٤٩^{a}	٤/٧٥^{a}
B2×C2	٦٥/٦١^{d}	٠/٤٠^{c}	٤/٧١^{c}	٥٦/٥٧^{c}	٥/٢٤^{b}	٧/٥٨^{d}	٤/٢٩^{e}
B2×C3	٥٩/٧٥^{f}	٠/٥٦^{a}	٤/٧٢^{a}	٧٨/٦٥^{a}	٥/٣٠^{a}	٨/٨٨^{b}	٤/٣٢^{e}
B2×E2	٧٣/٠٧^{a}	٠/٣١^{d}	٤/٦٦^{f}	٤٦/٧٥^{d}	٤/٩٢^{e}	٤/٣٦^{f}	٤/٣٣^{e}
B2×E3	٧٣/٠٧^{a}	٠/٣٢^{d}	٤/٦٦^{e}	٤٦/٧٥^{d}	٥/٠٩^{d}	٥/١٣^{e}	٤/٣٠^{e}
B3×C2	٦٥/٦١^{d}	٠/٤٠^{d}	٤/٧١^{d}	٥٦/٥٧^{d}	٥٦/٥٧^{c}	٧/٥٨^{d}	٤/٢٩^{e}
B3×C3	٥٩/٧٥^{g}	٠/٥٦^{b}	٤/٧٢^{b}	٧٨/٦٥^{b}	٧٨/٦٥^{a}	٨/٨٨^{c}	٤/٣٢^{e}
B3×E2	٧٣/٠٧^{a}	٠/٣١^{g}	٤/٦٦^{g}	٤٠/٦٨^{h}	٤٠/٦٨^{h}	٥/٤٤^{e}	٤/٣١^{e}
B3×E3	٧٣/٠٧^{b}	٠/٣٢^{f}	٤/٧١^{f}	٤٦/٧٥^{g}	٤٦/٧٥^{c}	٤/٦٢^{f}	٤/٣٨^{d}
				اثر سه‌گانه			
Control	٦٥/١٥^{ab}	٠/٤١^{g}	٤/٧٢^{d}	٥٦/٥٨^{e}	٥/١٠^{d}	٧/٤٧^{d}	٤/٣٩^{b}
B2×C2×C2	٦٥/٦٢^{c}	٠/٤٠^{c}	٤/٧١^{d}	٥٦/٥٧^{c}	٥/١٢^{d}	٨/٤٧^{c}	٤/٩٥^{b}
B2×E2×C3	٥٩/٧٦^{e}	٠/٤٦^{b}	٤/٧٢^{b}	٥٩/٠٦^{b}	٥/٣٠^{a}	٩/٥١^{a}	٥/٠١^{a}
B2×E3×C2	٦٥/٦١^{c}	٠/٣٩^{c}	٤/٧١^{d}	٥٦/٥٧^{c}	٥/٢٠^{c}	٨/٤٧^{c}	٤/٣٧^{d}
B2×E3×C3	٥٩/٧٦^{e}	٠/٤٧^{b}	٤/٧٢^{b}	٥٩/٠٦^{b}	٥/٣٠^{a}	٩/٥١^{a}	٤/٨٢^{c}
B3×E2×C2	٦٥/٦١^{c}	٠/٣٩^{e}	٤/٧١^{e}	٤٧/٢١^{f}	٤٧/٢١^{c}	٩/٢٥^{bc}	٤/٧٥^{b}
B3×E2×C3	٥٩/٧٥^{f}	٠/٤١^{c}	٤/٧٢^{c}	٥٤/٣١^{e}	٥٤/٣١^{b}	١٠/٠٠^{a}	٤/٩٨^{a}
B3×E3×C2	٦٢/١٠^{e}	٠/٤٠^{de}	٤/٧١^{d}	٥٨/٩١^{c}	٥٨/٩١^{b}	٩/٣٢^{bc}	٤/٣٨^{d}
B3×E3×C3	٥٧/٤١^{h}	٠/٦٠^{a}	٤/٨٦^{a}	٧٥/٤٣^{a}	٧٩/٤٣^{a}	٩/٥٣^{ab}	٤/٦٢^{c}

حروف مختلف لاتین در یک ستون، بیانگر معنی‌دار بودن بین دو میانگین در همان پارامتر سنجش‌شده در سطح معنی‌دار ۵ درصد است. سطوح غلظتی C1, B1, E1 مربوط به شاهد بوده و دارای غلظت صفر هستند.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]

[DOI: DOI: 10.22034/15.71.67]

حساب می‌آیند که نشان می‌دهد نقش سیگنالینگ H_2O_2 در فعال‌سازی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ممکن است در گیاهان تحت تنش فلز محدود شده باشد (Fitzpatrick and Chapman, 2020).

نتایج این پژوهش نشان داد تنش کادمیوم در مقایسه با کنترل منجر به افزایش نشت یونی، H_2O_2 و MDA در گیاهان کلزا شد. همچنین با افزایش غلظت کادمیوم از ۲۵۰ میکرومولار به ۵۰۰ میکرومولار محتوای این ترکیبات نیز افزایش معنی‌دار یافت (جدول ۲ و ۳). به نظر می‌رسد افزایش پراکسیداسیون لیپید یا نشت یونی و مقدار H_2O_2 در شرایط تنش فلزی ناشی از افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن در شرایط تنش اکسیداتیو ناشی از کادمیوم است که حذف آنها خارج از توان گیاه بوده و نشان می‌دهد که مکانیسم‌های دفاعی ایجادشده در گیاه در مقابل تنش اکسیداتیو کافی نبوده است.

طی گزارش Wang و همکاران (۲۰۰۹) آمده است در گیاهان ذرت در معرض غلظت بالای منگنز که تحت تیمار با براسینواستروئید قرار گرفتند تولید ROS پایین‌تر و محتوای MDA کمتری را نشان می‌دهند. همچنین خشکی فیزیولوژیکی ایجادشده توسط غلظت بالای فلزات با کاربرد براسینواستروئیدها کاهش می‌یابد که نشان‌دهنده کاهش مسمومیت ناشی از فلزتوسط این هورمون است (Fu *et al.*, 2023; Lohani *et al.*, 2020).

کاربرد تیامین در کاهش اثرات نامطلوب تنش در گیاهان مفید است. Kaya و همکاران (۲۰۱۵) نشان داد که تیمار تیامین در برگ‌های گیاهان ذرت تحت تنش شوری باعث کاهش محتوای H_2O_2 و MDA می‌شود که با نتایج Tunc-Ozdemir و همکاران در گیاهان آرابیدوپسیس تحت تنش اکسیداتیو مطابقت دارد (Hafeez *et al.*, 2021; Jia *et al.*, 2023).

داده‌های به دست آمده در مطالعه حاضر نشان داد محتوای MDA، H_2O_2 و نشت یونی تحت اثر متقابل بین EBL و تیامین کاهش یافت. بهترین اثر هم زمان این تیمارها در غلظت تیامین ۲۰۰ میکرومولار و EBL ۰/۰۲ میکرومولار دیده شد که می‌توان این احتمال را داد که EBL و تیامین با تأثیر بر مکانیسم‌های دفاعی آنزیمی و غیرآنزیمی باعث کاهش تولید گونه‌های واکنشگر اکسیژن گردیده و موجب ممانعت از آسیب‌های غشایی ناشی از تنش کادمیوم به گیاهان کلزا شده است (جدول ۲ و ۳).

میزان پراکسید هیدروژن (H_2O_2): نتایج نشان داد که کمترین مقدار پراکسید هیدروژن در تیمار با غلظت صفر میکرومولار (۵/۱۰ میکرومول بر گرم وزن تر) و ۱۰۰ میکرومولار تیامین (۵/۱۱ میکرومول بر گرم وزن تر) مشاهده شد. در مورد اپی براسینولید، کمترین مقدار پراکسید هیدروژن مربوط به غلظت ۰/۰۲ میکرومولار (٤/۸۲ میکرومول بر گرم وزن تر) بود. بیشترین و کمترین مقدار پراکسید هیدروژن در تیمار با غلظت ۵۰۰ میکرومولار کادمیوم (۵/۲۷ میکرومول بر گرم وزن تر) و صفر میکرومولار کادمیوم (٤/۹۷ میکرومول بر گرم وزن تر) مشاهده شد. در رابطه با اثرات متقابل تیامین و کادمیوم، هیچ کدام از غلظت‌های تیامین نتوانستند به طور معنی‌داری پراکسید هیدروژن را کاهش دهند. کمترین مقدار پراکسید هیدروژن در تیمار با غلظت ۱۰۰ میکرومولار تیامین و صفر میکرومولار کادمیوم (٤/۹۲ میکرومول بر گرم وزن تر) مشاهده شد. همچنین، در مورد اپی براسینولید و کادمیوم، کمترین میزان پراکسید هیدروژن در تیمار با غلظت ۰/۰۲ میکرومولار اپی براسینولید و صفر میکرومولار کادمیوم (٤۰/٦۸ میکرومول بر گرم وزن تر) در مقایسه با تنش کادمیوم به تنهایی به دست آمد (جدول ۲).

غلظت مالون دی‌آلدئید (MDA) و سایر آلدهیدها: نتایج بررسی مقایسه میانگین اثرات اصلی تیامین، اپی براسینولید و کادمیوم بر مقدار مالون دی‌آلدئید و سایر آلدهیدهای برگ‌های گیاه کلزا نشان داد که کمترین مقدار مالون دی‌آلدئید به ترتیب در تیمار با غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار تیامین (۰/۳۹ میکرومول بر گرم وزن تر) و ۱۰۰ میکرومولار تیامین (٤/۷۰ میکرومول بر گرم وزن تر) مشاهده شد. در مورد اپی براسینولید، کمترین مقدار مالون دی‌آلدئید و سایر آلدهیدها به ترتیب در تیمار با غلظت ۰/۰۲ میکرومولار اپی براسینولید (۰/۳۷ میکرومول بر گرم وزن تر) و ۰/۰۲ میکرومولار اپی

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]
[DOI: DOI: 10.22034/15.71.67]

براسینولید (۴/۷۰ میکرومول بر گرم وزن تر) مشاهده شد. در مورد اثر کادمیوم، کمترین مقدار مالون دی‌آلدئید و سایر آلدهیدها به ترتیب در تیمار با غلظت صفر میکرومولار کادمیوم (۰/۳۱ میکرومول بر گرم وزن تر) و صفر میکرومولار کادمیوم (۴/۶۷ میکرومول بر گرم وزن تر) مشاهده شد. در رابطه با اثرات متقابل تیامین و کادمیوم، هیچ کدام از غلظت‌های تیامین نتوانستند به طور معنی‌داری مقدار مالون دی‌آلدئید را کاهش دهند. کمترین مقدار آلدهیدها در تیمار با غلظت ۱۰۰ میکرومولار تیامین و صفر میکرومولار کادمیوم (۴/۶۶ میکرومول بر گرم وزن تر) مشاهده شد (جدول ۲ و ۳). همچنین، در مورد اثرات متقابل اپی براسینولید و کادمیوم، کمترین میزان مالون دی‌آلدئید در تیمار با غلظت صفر میکرومولار اپی براسینولید و صفر میکرومولار کادمیوم (۰/۳۰ میکرومول بر گرم وزن تر) مشاهده شد. کمترین میزان آلدهیدها نیز در تیمار با هر دو غلظت صفر و ۰/۰۲ میکرومولار اپی براسینولید و صفر میکرومولار کادمیوم (۴/۶۶ میکرومول بر گرم وزن تر) مشاهده شد (جدول ۲).

در این پژوهش، تنش کادمیوم باعث افزایش غلظت MDA و سایر آلدئیدها ونشت یونی در گیاه کلزا شد. که با نتایج Izadi و همکاران بر روی تربچه (۲۰۲۱) و Maghsoudi و همکاران بر روی اسفناج (۲۰۲۱) مطابقت دارد. اما این اثر با استفاده از EBL-۲۴ قابل برگشت است که محتوای MDA را تحت تنش Cd کاهش می‌دهد. نتایج Jia و همکاران (۲۰۲۳) نشان داد که تیمار کادمیوم به طور قابل توجهی تولید MDA، پرولین و نشت الکترولیت در بافت برگ را نسبت به شاهد افزایش داد.

در مطالعه حاضر، کاربرد تیامین و EBL به صورت جداگانه، پراکسیداسیون لیپیدها، H_2O_2 و EL را در گیاهان کلزا در معرض استرس فلزی کاهش داد. یکی از مکانیسم‌های بهبود پراکسیداسیون لیپیدها و ROS توسط EBL می‌تواند به افزایش هورمون‌های درون‌زا گیاه که رشد گیاه را تنظیم می‌کنند، مانند اسید سالیسیلیک و اتیلن، و تعامل بین آنها نسبت داده شود. این مکانیسم‌ها می‌توانند تحمل گیاه را در برابر سمیت فلزات بهبود بخشند. درمان با EBR محتوای MDA و EL را کاهش داد، با کاهش پراکسیداسیون لیپیدها و نشت الکترولیت‌ها در گیاهانی که تحت استرس Cd قرار داشتند (Santos *et al.*, 2018; Kuo *et al.*, 2020). نتایج مطالعه بر روی اسفناج نیز حاکی از این موضوع دارد (Wang *et al.*, 2009; Kheyri *et al.*, 2022).

پرولین اندام هوایی: نتایج نشان داد که بیشترین مقدار پرولین مربوط به غلظت ۲۰۰ میکرومولار تیامین (۷/۷۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، ۰/۰۲ میکرومولار اپی براسینولید (۸/۲۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و ۵۰۰ میکرومولار کادمیوم (۹/۴۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بود. در رابطه با اثرات متقابل تیامین و کادمیوم، بیشترین مقدار پرولین مربوط به غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار تیامین و ۵۰۰ میکرومولار کادمیوم (۹/۵۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در مقایسه با تنش کادمیوم به تنهایی بود. در رابطه با اثرات متقابل اپی براسینولید و کادمیوم نیز بیشترین میزان این اسیدآمینه مربوط به غلظت ۰/۰۲ میکرومولار اپی براسینولید و ۵۰۰ میکرومولار کادمیوم (۱۰/۰۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در مقایسه با تنش کادمیوم تنها بود. هر چند این تیمار با تیمار ۰/۵ میکرومولار اپی براسینولید و ۵۰۰ میکرومولار کادمیوم (۹/۵۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۲).

برای تحمل استرس فلزی، گیاهان انواع مختلفی از متابولیت‌ها را انباشته می‌کنند. پرولین یک متابولیت مهم اسید آمینه است که نقش مهمی در تحمل گیاه به شرایط استرس‌زا دارد و می‌تواند به عنوان یک ماده تنظیم‌کننده اسمزی گیاه، کلاتور فلزی و خاموش‌کننده ROS عمل کند (Kour *et al.*, 2021; Song *et al.*, 2021). پرولین می‌تواند عملکردهای مختلف آنزیم‌ها را تثبیت و محافظت کند، رشد گیاه را تنظیم کند و نقش مهمی در کاهش سمیت فلزات سنگین ایفا کند (Haider *et al.*, 2021; Li *et al.*, 2021). در مطالعه‌ای، استرس کادمیوم باعث افزایش مقدار پرولین در کاهو تحت تنش کادمیوم شد (Kour *et al.*, 2021; Li *et al.*, 2020).

محتوای ترکیبات فنلی: نتایج مقایسه میانگین اثرات اصلی

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]

[DOI: DOI: 10.22034/15.71.67]

تیامین، اپی براسینولید و کادمیوم بر محتوای ترکیبات فنلی برگ گیاه کلزا نشان داد که بیشترین محتوای ترکیبات فنلی مربوط به غلظت ۱۰۰ میکرومولار تیامین (۳/۲۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، صفر میکرومولار اپی براسینولید (۲/۸۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و ۵۰۰ میکرومولار کادمیوم (۳/۲٦ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بود. در رابطه با اثرات متقابل تیامین و کادمیوم، بیشترین محتوای ترکیبات فنلی مربوط به غلظت ۱۰۰ میکرومولار تیامین و ۵۰۰ میکرومولار کادمیوم (۳/۹۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در مقایسه با تیمار کادمیوم به تنهایی بود. در رابطه با اثرات متقابل اپی براسینولید و کادمیوم نیز بیشترین محتوای ترکیبات فنلی مربوط به غلظت ۰/۵ میکرومولار اپی براسینولید و ۵۰۰ میکرومولار کادمیوم (۳/٤۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در مقایسه با تیمار کادمیوم به تنهایی بود (جدول ۲).

محتوای فلاوونوئیدها: بررسی فلاونوئیدهای برگ گیاه کلزا نشان داد که بیشترین محتوای فلاونوئیدها مربوط به غلظت ۱۰۰ میکرومولار تیامین (٤/۷٦ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، ۰/۰۲ میکرومولار اپی براسینولید (٤/٦۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و ۵۰۰ میکرومولار کادمیوم (٤/۷۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بود. در رابطه با اثرات متقابل تیامین و کادمیوم، بیشترین محتوای فلاونوئیدها مربوط به غلظت ۱۰۰ میکرومولار تیامین و غلظت ۵۰۰ میکرومولار کادمیوم (۵/۰۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در مقایسه با کادمیوم به تنهایی بود. در رابطه با اثرات متقابل اپی براسینولید و کادمیوم نیز بیشترین محتوای فلاونوئیدها مربوط به غلظت ۰/۰۲ میکرومولار اپی براسینولید و ۵۰۰ میکرومولار کادمیوم (٤/۹۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) نسبت به تنش کادمیوم تنها بود (جدول ۲). این موضوع نشان می‌دهد که فلاونوئیدها نقش اساسی در مقاومت *B. juncea* در معرض استرس Cd دارند (Ren *et al.*, 2023; Rezaie *et al.*, 2020).

محتوای آنتوسیانین‌ها: بررسی محتوای آنتوسیانین برگ گیاه کلزا نشان داد که بیشترین محتوای آنتوسیانین مربوط به غلظت ۱۰۰ میکرومولار تیامین (۰/٦۳ میکرومول بر گرم وزن تر)، ۰/۵ میکرومولار اپی براسینولید (۰/٦۷ میکرومول بر گرم وزن تر) و ۵۰۰ میکرومولار کادمیوم (۰/۷٤ میکرومول بر گرم وزن تر) بود. در رابطه با اثرات متقابل تیامین و کادمیوم، بیشترین محتوای آنتوسیانین مربوط به غلظت ۱۰۰ میکرومولار تیامین و ۵۰۰ میکرومولار کادمیوم (۰/۸۳ میکرومول بر گرم وزن تر) نسبت به کادمیوم به تنهایی بود. در رابطه با اثرات متقابل اپی براسینولید و کادمیوم نیز بیشترین محتوای آنتوسیانین‌ها مربوط به غلظت ۰/۰۲ میکرومولار اپی براسینولید و ۵۰۰ میکرومولار کادمیوم (۰/۷۲ میکرومول بر گرم وزن تر) در مقایسه با تنش کادمیوم تنها بود (جدول ۲). نتایج این مطالعه نشان داد که فلاونوئیدها، فلاونول‌ها و ترکیبات فنولی در شرایط استرس کادمیوم به طور قابل توجهی افزایش یافتند. به نظر می‌رسد که این گیاه تحت استرس کادمیوم، ترکیبات فنولی را برای داشتن واکنش‌های دفاعی مناسب در برابر استرس افزایش داده است (Nie *et al.*, 2023; Raihan *et al.*, 2022).

میزان فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH تحت اثر تیمارها: بررسی فعالیت مهار رادیکال DPPH گیاه کلزا نشان داد که بیشترین فعالیت مهار رادیکال DPPH مربوط به غلظت ۱۰۰ میکرومولار تیامین (٥٤/٥۷ درصد)، صفر میکرومولار اپی براسینولید (۵۰/۳۳ درصد) و ۵۰۰ میکرومولار کادمیوم (٦۲/۰۲ درصد) بود. در رابطه با اثرات متقابل تیامین و کادمیوم، بیشترین فعالیت مهار رادیکال DPPH مربوط به غلظت ۱۰۰ میکرومولار تیامین و ۵۰۰ میکرومولار کادمیوم (۷۱/۸۵ درصد) نسبت به تنش کادمیوم تنها بود. همچنین اثرات متقابل اپی براسینولید و کادمیوم بیشترین فعالیت مهار رادیکال DPPH را در غلظت ۰/۰۲ میکرومولار اپی براسینولید و ۵۰۰ میکرومولار کادمیوم (۵۹/٦٤ درصد) در مقایسه با تنش کادمیوم تنها بود (جدول ۲). DPPH یک رادیکال آزاد پایدار است که به عنوان یک سوبسترا برای ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی استفاده می‌شود (Gharib *et al.*, 2023; Liu *et al.*, 2023).

در این مطالعه، فعالیت مهارکنندگی DPPH در نمونه‌های تیمارشده با کادمیوم بیشتر از نمونه‌های کنترل بود. این نتایج با گزارش‌های قبلی توسط Afzal و همکاران (۲۰۲۱)

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]

[DOI: DOI: 10.22034/15.71.67]

جدول ٤- مقایسه تأثیر ساده، دوگانه و سه‌گانه فاکتورهای آزمایش بر مقایسه میانگین برخی پارامترهای رشد، آنتی‌اکسیدانی و بیوشیمایی در گیاه کلزا تحت تیمارهای حاوی تیامین (B)، اپی براسینولید (E) و تنش کادمیوم (C)

تیمارهای آزمایش	DPPH	کربوهیدرات محلول	پروتئین کل	فنل‌ها	آنتوسیانین	آسکوربات	دی‌هیدروآسکوربات
			اثر ساده				
Control	٤٧/١٢^{c}	٠/٧٢^{b}	٤/٥٦^{b}	٢/٥٥^{c}	٠/٦٠^{b}	٧/١٤^{a}	٦/٣٢^{c}
C2	٢٤/٥٧^{a}	٠/٩٧^{a}	٦/٥٧^{a}	٣/٢٢^{a}	٠/٦٣^{a}	٧/١٥^{a}	٧/٠٠^{b}
C3	٢١/٣٣^{b}	١/٧٢^{b}	٦/٥٧^{a}	٤/٧٣^{a}	١/٥٦^{c}	٥/٤٦^{b}	٨/٨٥^{a}
E2	٥٠/٣٣^{a}	٠/٧٣^{b}	٤/٥٧^{b}	٤/٨١^{a}	١/٥٧^{c}	٤/١٦^{b}	٩/٧٤^{a}
E3	٣٥/٨١^{c}	٠/٩٤^{a}	٥/٢٢^{a}	٢/٢١^{c}	٠/٤٥^{c}	٨/٢٠^{a}	٥/١٤^{c}
B2	٣٤/٢٣^{g}	٠/٨٦^{b}	٥/٢٥^{b}	١/٧٧^{d}	٠/٣٤^{e}	٧/٥٩^{c}	٤/٧٧^{h}
B3	٣٤/٢٣^{g}	٠/٨٦^{b}	٥/٢٥^{b}	١/٧٧^{e}	٠/٣٤^{g}	٧/٥٩^{b}	٤/٧٧^{f}
			اثر دوگانه				
Control	٤٧/١٢^{c}	٠/٧٢^{b}	٤/٥٦^{b}	٢/٥٥^{c}	٠/٦٠^{b}	٧/١٤^{a}	٦/٣٢^{c}
E2×C2	٤٨/٩٢^{b}	٠/٨١^{a}	٤/٦٢^{a}	٢/٤٠^{c}	٠/٦١^{b}	٧/٨٤^{a}	٦/٤٥^{b}
E2×C3	٤٧/٣٥^{c}	٠/٦٦^{c}	٤/٤٧^{c}	٢/٧٦^{c}	٠/٦٧^{a}	٦/٧١^{c}	٦/١٦^{c}
E3×C2	٥٠/٥٢^{b}	٠/٧٥^{b}	٤/٩٦^{b}	٢/٦٨^{c}	٠/٦١^{b}	٧/٢٣^{b}	٦/٥٩^{b}
E3× C3	٦٢/٠٢^{a}	٠/٥٠^{c}	٣/٥٠^{c}	٣/٢٦^{ab}	٠/٧٤^{a}	٦/١٩^{c}	٧/٩٦^{a}
B2×C2	٤٣/٥٩^{e}	٠/٧١^{c}	٤/٩٦^{d}	٢/٧٠^{d}	٠/٥٠^{c}	٧/٠٨^{e}	٦/٨٣^{e}
B2×C3	٥٧/٣٩^{c}	٠/٤٩^{d}	٣/٥٠^{f}	٢/٩٧^{b}	٠/٧٢^{b}	٥/٩١^{g}	٧/٤٧^{c}
B2×E2	٣٤/٢٠^{g}	٠/٩٤^{a}	٥/٢٥^{a}	٢/٧١^{d}	٠/٣٥^{e}	٧/٨٩^{b}	٥/٢٠^{f}
B2×E3	٣٦/٨٨^{f}	٠/٩٤^{a}	٥/٢٥^{a}	٢/٤٢^{e}	٠/٤٦^{d}	٩/٠١^{a}	٥/١٩^{g}
B3×C2	٤٣/٥٩^{e}	٠/٧١^{d}	٤/٩٦^{d}	٢/٧٠^{d}	٠/٥٠^{e}	٧/٠٨^{c}	٦/٨٣^{c}
B3×C3	٥٧/٣٩^{b}	٠/٤٩^{g}	٣/٥٠^{f}	٢/٩٧^{b}	٠./٧٢^{a}	٥/٩١^{e}	٧/٤٧^{b}
B3×E2	٣٩/٩٥^{f}	١/٠٧^{a}	٥/٤٢^{a}	١/٧٧^{f}	٠/٤٦^{f}	٨/٩٢^{a}	٥/٢١^{e}
B3×E3	٣٦/٨٠^{f}	٠/٨٦^{c}	٤/٩٦^{c}	٢/٣٩^{d}	٠/٦٤^{d}	٧/٥٧^{b}	٥/٣١^{e}
			اثر سه¬گانه				
Control	٤٧/١٢^{c}	٠/٧٢^{b}	٤/٥٦^{b}	٢/٥٥^{c}	٠/٦٠^{b}	٧/١٤^{a}	٦/٣٢^{c}
B2×C2×C2	٥٧/٦٧c	٠/٨٦^{b}	٤/٩٦^{c}	٢/٩٧^{d}	٠/٧٢^{b}	٧/٢٦^{de}	٦/٨٤^{e}
B2×E2×C3	٧١/٨٥^{a}	٠/٥١^{d}	٣/٥٠^{e}	٣/٩٩^{b}	٠/٨٣^{a}	٦/٣٠^{f}	٨/٩٨^{a}
B2×E3×C2	٥٣/٤٧^{d}	٠/٧١^{c}	٤/٩٦^{cd}	٢/٨٠^{d}	٠/٥٠^{c}	٧/٤١^{cd}	٧/٣٢^{d}
B2×E3×C3	٦٣/٦٥^{b}	٠/٥١^{d}	٣/٥٠^{f}	٢/٩٧^{d}	٠/٧٣^{b}	٥/٩٧^{g}	٨/٠٢^{b}
B3×E2×C2	٥٠/١٨^{c}	٠/٨٦^{c}	٤/٩٦^{cd}	٢/٤٧^{d}	٠/٦٤^{d}	٧/٧٢^{b}	٦/٠٦^{d}
B3×E2×C3	٥٩/٦٤^{a}	٠/٥١^{f}	٣/٥٠^{e}	٢/٩٧^{d}	٠/٧٢^{b}	٦/٨٦^{cd}	٨/٠٩^{a}
B3×E3×C2	٤٧/٦٦^{d}	٠/٦٢^{e}	٤/٩٦^{c}	٢/٤٧^{d}	٠/٦٩^{c}	٦/٦٦^{d}	٥/٩١^{d}
B3×E3×C3	٥٧/٥٩^{b}	٠/٤٩^{g}	٣/٥٠^{g}	٣/٤١^{c}	٠/٦٩^{c}	٥/٩١^{e}	٧/٢٦^{b}

حروف مختلف لاتین در یک ستون، بیانگر معنی‌دار بودن بین دو میانگین در همان پارامتر سنجش‌شده در سطح معنی‌دار ۵ درصد است. سطوح غلظتی C1, B1, E1 مربوط به شاهد بوده و دارای غلظت صفر هستند.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]

[DOI: DOI: 10.22034/15.71.67]

در گیاهان تحت تنش ناشی از کادمیوم که نشان‌دهنده افزایش مهار رادیکال‌های DPPH در گیاهان تیمارشده با فلزات مس، روی و جیوه در مقایسه با کنترل بود، مطابقت دارد. نتایج Ahmad و همکاران (۲۰۱۵) حاکی از افزایش رادیکال DPPH توسط گیاهان تیمارشده با فلز Cd در مقایسه با شاهد بود.

بنابراین در پژوهش حاظر احتمال داده می‌شود غلظت ۰/۰۲ میکرومولار اپی براسینولید و ۲۰۰ میکرومولار تیامین تحت تنش ۵۰۰ میکرومولار کادمیوم باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و در نتیجه افزایش مهار فعالیت رادیکال‌های آزاد گردیده است. با توجه به اینکه غلظت ۰/۰۲ میکرومولار اپی براسینولید و ۲۰۰ میکرومولار تیامین از یک طرف میزان ترکیبات فنلی، فلاوونوئیدی، آنتوسیانین و از طرف دیگر ظرفیت مهار رادیکال‌های آزاد را افزایش داده است. به نظر می‌رسد اپی براسینولید و تیامین از طریق افزایش این ترکیبات موجب افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه کلزا گردیده است (جدول ۲ و ٤).

آسکوربیک اسید و دی هیدروآسکوربیک اسید: بررسی مقدار آسکوربیک اسید و دی هیدروآسکوربیک اسید نشان داد که بیشترین محتوای آسکوربیک اسید و دی هیدروآسکوربیک اسید به ترتیب مربوط به غلظت ۲۰۰ میکرومولار تیامین (۷/٤٦ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و ۱۰۰ میکرومولار تیامین (۷/۰۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بود. در رابطه با اپی براسینولید نیز بیشترین مقدار آسکوربیک اسید و دی هیدروآسکوربیک اسید به ترتیب مربوط به غلظت ۰/۰۲ میکرومولار اپی براسینولید (۷/۸٤ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و صفر میکرومولار اپی براسینولید (٦/۷٤ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بود.

در رابطه با اثرات متقابل اپی براسینولید و کادمیوم نیز بیشترین مقدار آسکوربیک اسید و دی هیدروآسکوربیک اسید به ترتیب مربوط به غلظت ۰/۰۲ میکرومولار اپی براسینولید و صفر میکرومولار کادمیوم (۸/۹۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و غلظت ۰/۰۲ میکرومولار اپی براسنولید و ۵۰۰ میکرومولار کادمیوم (۸/۰۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) نسبت به تیمار کادمیوم به تنهایی بود (جدول ۲). در واقع، اسید آسکوربیک (ASC) به دلیل توانایی اش در اهدا الکترون و کمک به حذف پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، به طور مستقیم در حذف رادیکال‌ها (مانند رادیکال‌های توکوفرکسیل، پراکسیدهای لیپیدی یا یون‌های فلزی اکسیدشده) دخیل است (Okla *et al.*, 2023; Nazir *et al.*, 2024).

تغییرات پروتئین کل تحت تیمارهای پژوهش: سنجش محتوای پروتئین برگ گیاه کلزا نشان داد که بیشترین محتوای پروتئین مربوط به غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار (٤/۵۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) تیامین بود. در رابطه با اپی براسینولید نیز بیشترین محتوای پروتئین مربوط به غلظت ۰/۰۲ میکرومولار (٤/٦۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) اپی براسینولید بود. در رابطه با کادمیوم بیشترین محتوای پروتئین مربوط به غلظت صفر میکرومولار (۵/۲۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) کادمیوم بود. در رابطه با اثرات متقابل تیامین و کادمیوم، بیشترین محتوای پروتئین (۵/۲۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) گزارش شد که مربوط به هر دو غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار تیامین و صفر میکرومولار کادمیوم بود هر چند اختلاف معنی‌داری بین این دو غلظت تیامین دیده نشد. بیشترین محتوای پروتئین مربوط به غلظت ۰/۰۲ میکرومولار اپی براسینولید و صفر میکرومولار کادمیوم (۵/٤۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بود (جدول ۲).

نتیجه‌گیری

بطورکلی از نتایج این پژوهش می‌توان گفت؛ تأثیر جداگانه تیامین و اپی براسینولید بر بهبود شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی گیاهان کلزا تحت تنش کادمیوم معنی‌دار بوده، اما تأثیر همزمان و توأم این دو الیسیتور برونزا جهت این موضوع چندان چشمگیر و معنی‌دار نبود. به هر حال کاربرد ۱۰۰ میکرومولار تیامین (B2) یا کاربرد ۵۰ میکرومولار اپی براسینولید (E2) دارای بهترین تأثیر جهت بهبود شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی مانند پراکسیداسیون غشاء و یا آلدئیدها و رشد بهتر کلزا تحت تنش ۲۵۰ میکرومولار کادمیوم (C2) در این تحقیق بنیادی علمی بود. هر چند سایر تیمارهای حاوی تیامین یا اپی

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]
[DOI: DOI: 10.22034/15.71.67]

براسینولید نیز دارای تأثیر نسبی در هردو سطح تنش کادمیوم بودند، اما تأثیر جداگانه این دو الیسیتور ویتامینی و هورمونی در تنش ۲۵۰ میکرومولار کادمیوم کاملاً تأثیرگذار و چشمگیرتر بود و مقاومت اکسیدانی گیاهان کلزا تحت تنش کادمیوم را در این پژوهش بهبود بخشید. پیشنهاد می‌گردد جهت تکمیل تحقیقات آتی، برخی مسیرهای متابولیکی و ژنی در این رابطه و حتی در شرایط مزرعه مورد تحقیق و پژوهش قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش بخشی از رساله دکتری بوده، که مراحل تحقیقاتی آن در آزمایشگاه تحقیقاتی و گلخانه بخش زیست‌شناسی دانشگاه شهید باهنر کرمان انجام شده است و بدین وسیله از مساعدت و حمایت مسئولین مربوطه دانشگاه و بخش زیست‌شناسی، کمال تشکر را داریم.

منابع

Afzal, S., Chaudhary, N., & Singh, N. K. (2021). Role of soluble sugars in metabolism and sensing under abiotic stress. Plant growth regulators: Signalling under stress conditions. *Plant Physiology and Biochemistry*, 305-334. Doi: 10.1007/978-3-030-61153-8_14

Ahmad, P., Castagna, A., & Salem, E. (2015). Alleviation of cadmium toxicity in *Brassica juncea* L. (Czern. & Coss.) by calcium application involves various physiological and biochemical strategies. *PloS One*, *10*(1), 0114571.

Akram, W., Khan, W. U., Shah, A. A., Yasin, N. A., & Li, G. (2021). Liquiritoside alleviated Pb induced stress in *Brassica rapa* subsp. Parachinensis: modulations in glucosinolate content and some physiochemical attributes. *Frontiers in Plant Science*, *12*, 722498. doi: 10.3389/fpls.2021.722498

Alam, P., Balawi, T. A., Ashraf, M., & Ahmad, P. (2021). 24-Epibrassinolide (EBR) reduces oxidative stress damage induced by cadmium toxicity by restricting cd uptake and modulating some key antioxidant enzymes in maize plants. *Pakistan Journal Botany*, *53*(1), 59-66. DOI: http://dx.doi.org/10.30848/PJB2021-127

Alam, P., Kaur Kohli, S., Al Balawi, T., Altalayan, F. H., Alam, P., Ashraf, M., ... & Ahmad, P. (2020). Foliar application of 24-Epibrassinolide improves growth, ascorbate-glutathione cycle, and glyoxalase system in brown mustard (*Brassica juncea* (L.) Czern.) under cadmium toxicity. *Plants*, *9*(11), 1487. do: 10.3390/plants9111487

Ali, E., Hassan, Z., Irfan, M., Hussain, S., Rehman, H. U., Shah, J. M., ... & Ali, S. (2020). Indigenous tocopherol improves tolerance of oilseed rape to cadmium stress. *Frontiers in Plant Science*, *11*, 547133. doi.org/10.3389/fpls.2020.547133

Amiri, Z., Asgharipour, M. R., Campbell, D. E., & Sabaghi, M. A. (2020). Comparison of the sustainability of mechanized and traditional rapeseed production systems using an emergy-based production function: A case study in Lorestan Province, Iran. *Journal of Cleaner Production*, *258*, 120891. Doi: 10.1016/j.jclepro.2020.120891

Atif, M., Perveen, S., Parveen, A., Mahmood, S., Saeed, M., & Zafar, S. (2022). Thiamine and indole-3-acetic acid induced modulations in physiological and biochemical characteristics of maize (*Zea mays* L.) under arsenic stress. *Sustainability*, *14*(20), 13288. Doi: 10.3390/su142013288

Basit, F., Liu, J., An, J., Chen, M., He, C., Zhu, X., & Guan, Y. (2021). Brassinosteroids as a multidimensional regulator of plant physiological and molecular responses under various environmental stresses. *Environmental Science and Pollution Research*, *28*, 44768-44779. Doi:10.1007/s11356-021-15087-8

Bates, L. S., Waldren, R. P., &Tears, I. D. (1973). Rapid determination of free proline in water stress studies. *Plant and Soil*, *39*, 205-207. Doi: 10.3390/su142013288

Ben Hamed, K., Castagna, A., & Salem, E. (2007). Sea fennel (*Crithmum maritimum* L.) under salinity conditions: A comparison of leaf and root antioxidant responses. *Plant Growth Regulation*, *53*, 185-194. Doi: 10.1016/j.ecoenv.2007.112650

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, *72*(1-2), 248-254. doi: 10.1016/0003-2697(76)90527-3

El Rasafi, T., Oukarroum, A., Haddioui, A., Song, H., Kwon, E. E., Bolan, N., ... & Rinklebe, J. (2022). Cadmium stress in plants: A critical review of the effects, mechanisms, and tolerance strategies. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, *52*(5), 675-726. Doi:10.1080/10643389.2020.1835435

Elahi, N. N., Farrukh, N. U. A., Jalaluddin, S., Ahmed, H. M., Saima, S., Mustafa, S., ... & Danish, S. (2023). Comparing the positive impacts and stress induction by polyethylene glycol (PEG 6000) variable levels on canola (*Brassica napus* L.) growth, yield, and oil contents. *ACS Omega*, *8*(32), 29046-29059. doi: 10.1021/acsomega.3c02066

Fales, F. (1951). The assimilation and degradation of carbohydrates by yeast cells. *Journal of Biological Chemistry*, *193*(1), 113-124. Doi: 10.1016/S0021-9258(19)52433-4

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]

[DOI: DOI: 10.22034/15.71.67]

Farhat, F., Arfan, M., Wang, X., Tariq, A., Kamran, M., Tabassum, H. N., ... & Elansary, H. O. (2022). The impact of bio-stimulants on Cd-stressed wheat (*Triticum aestivum* L.): Insights into growth, chlorophyll fluorescence, Cd accumulation, and osmolyte regulation. *Frontiers in Plant Science, 13*, 850567. doi: 10.3389/fpls.2022.850567

Fitzpatrick, T. B, & Chapman, L. M. (2020). The importance of thiamine (vitamin B1) in plant health: From crop yield to biofortification. *Journal of Biological Chemistry, 295*(34), 12002-12013. doi: 10.1074/jbc. REV120.010918

Fu, X., Mehmood, S., Ahmed, W., Ou, W., Suo, P., Zhang, Q., ... & Li, W. (2023). Reducing chromium toxicity in Chinese cabbage through synergistic effects of silicon and selenium: A study of plant growth, chromium content, and biochemical parameters. *Sustainability, 15*(6), 5361. Doi:10.3390/su15065361

Gharib, F. A. E. L, & Ahmed, E. Z. (2023). Spirulina platensis improves growth, oil content, and antioxidant activitiy of rosemary plant under cadmium and lead stress. *Scientific Reports, 13*(1), 8008. Doi:10.1038/s41598-023-35063-1

Ghasemi-Omran, V. O., Ghorbani, A., & Sajjadi-Otaghsara, S. A. (2021). Melatonin alleviates NaCl-induced damage by regulating ionic homeostasis, antioxidant system, redox homeostasis, and expression of steviol glycosides-related biosynthetic genes in in vitro cultured *Stevia rebaudiana* Bertoni. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant, 57*, 319-331. Doi:10.1007/s11627-021-10161-9

Hafeez, M. B., Zahra, N., Zahra, K., Raza, A., Batool, A., Shaukat, K., & Khan, S. (2021). Brassinosteroids: Molecular and physiological responses in plant growth and abiotic stresses. *Plant Stress, 2*, 100029. Doi: 10.1016/j.stress.2021.100029

Haider, F. U., Liqun, C., Coulter, J. A., Cheema, S. A., Wu, J., Zhang, R., ... & Farooq, M. (2021). Cadmium toxicity in plants: Impacts and remediation strategies. *Ecotoxicology and Environmental Safety, 211*, 111887. Doi: 10.1016/j.ecoenv.2020.111887

Hajbagheri, S., Abbaspour, H., Enteshari, S., Habibollahi, S., & Iranbakhsh, A. (2017). The effect of mycorrhizal inoculation (*Glomus mosseae*) and brassinosteroid on the amount of antioxidants in *Pimpinella anisum* L. under cadmium stress. *Journal of Research in Ecology, 5*(2), 1033-1051.

Heath, R. L, & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics, 125*(1), 189-198. doi: 10.1016/0003-9861(68)90654-1

Huang, Q., Zhang, Y., Liu, S., Wang, H., Gao, F., & Shao, G. (2024). 24-epibrassinolide mitigates cadmium toxicity in rice plants by activating the plant detoxification system and regulating genes expression involved in Cd/Fe uptake and translocation. *Plant Stress, 12*, 100485. Doi:10.1016/j.stress.2024.100485

Ings, J., Mur, L. A., Robson, P. R., & Bosch, M. (2013). Physiological and growth responses to water deficit in the bioenergy crop *Miscanthus* × *giganteus*. *Frontiers in Plant Science, 4*, 468. doi: 10.3389/fpls.2013.00468

Izadi, F., Ghabooli, M., Rostami, M., & Movahedi, Z. (2021). Evaluation of fungus *Piriformospora indica* effects on some morphophysiological traits of radish under heavy metal stress. *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production, 31*(3), 117-129. Doi: 10.22034/saps.2021.13694

Jabeen, M., Akram, N. A., Ashraf, M., Alyemeni, M. N., & Ahmad, P. (2021). Thiamin stimulates growth and secondary metabolites in turnip (*Brassica rapa* L.) leaf and root under drought stress. *Physiologia Plantarum, 172*(2), 1399-1411.Doi: 10.1111/ppl.13215

Jafarhaddadian, E., Zoufan, P., & Shafiei, M. (2021). Effect of NaCl on Cd stress modulation, antioxidant system and Cd uptake and accumulation in *Malva parviflora* L. *Journal of Plant Biological Sciences, 12*(4), 59-76. DOI. 10.22108/IJPB.2021.122156.1204

Jan, S., Noman, A., Kaya, C., Ashraf, M., Alyemeni, M. N., & Ahmad, P. (2020). 24-Epibrassinolide alleviates the injurious effects of Cr (VI) toxicity in tomato plants: Insights into growth, physio-biochemical attributes, antioxidant activity and regulation of Ascorbate–glutathione and Glyoxalase cycles. *Journal of Plant Growth Regulation, 39*, 1587-1604. Doi:10.1007/s00344-020-10169-2

Jia, K., Zhan, Z., Wang, B., Wang, W., Wei, W., Li, D., & Xu, Z. (2023). Exogenous selenium enhances cadmium stress tolerance by improving physiological characteristics of cabbage (*Brassica oleracea* L. var. Capitata) seedlings. *Horticulturae, 9*(9), 1016. Doi:10.3390/horticulturae9091016

Kamal, M. A., Perveen, K., Khan, F., Sayyed, R. Z., Hock, O. G., Bhatt, S. C., & Qamar, M. O. (2023). Effect of different levels of EDTA on phytoextraction of heavy metal and growth of *Brassica juncea* L. *Frontiers in Microbiology, 14*, 1228117. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1228117

Kaya, C., Khan, F., Sayyed, R. Z., & Hock, O. G. (2015). Exogenous application of thiamin promotes growth and antioxidative defense system at initial phases of development in salt-stressed plants of two maize cultivars differing in salinity tolerance. *Acta Physiologiae Plantarum, 37*(1), 1741. doi: 10.3344/app .2015.00469

Khadem Moghadam, N., Motesharezadeh, B., Maali-Amiri, R., Asgari Lajayer, B., & Astatkie, T. (2020). Effects of potassium and zinc on physiology and chlorophyll fluorescence of two cultivars of canola grown under salinity stress. *Arabian Journal of Geosciences, 13*, 1-8. Doi: 10.1007/s12517-020-05776-y

Khan, R., Sarwar, M. J., Shabaan, M., Asghar, H. N., Zulfiqar, U., Iftikhar, I., & Soufan, W. (2024). Exploring the synergistic effects of indole acetic acid (IAA) and compost in the phytostabilization of nickel (Ni) in cauliflower rhizosphere. *BMC Plant Biology, 24*(1), 275. Doi:10.1186/s12870-024-04920-0

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]

[DOI: DOI: 10.22034/15.71.67]

Kheyri, F., Taheri, P., & Jafarinejad-Farsangi, S. (2022). Thiamine and Piriformospora indica induce bean resistance against *Rhizoctonia solani*: The role of polyamines in association with iron and reactive oxygen species. *Biological Control, 172*, 104955. doi: 10.1016/j.biocontrol.2022.104955

Kour, J., Kohli, S. K., Khanna, K., Bakshi, P., Sharma, P., Singh, A. D., ... & Sharma, A. (2021). Brassinosteroid signaling, crosstalk and, physiological functions in plants under heavy metal stress. *Frontiers in Plant Science, 12*, 608061. Doi:10.3389/fpls.2021.608061

Kuo, E. Y., Cai, M. S., & Lee, T. M. (2020). Ascorbate peroxidase 4 plays a role in the tolerance of *Chlamydomonas reinhardtii* to photo-oxidative stress. *Scientific Reports, 10*(1), 13287. Doi:10.1038/s41598-020-70247-z

Li, G., Shah, A. A., Khan, W. U., Yasin, N. A., Ahmad, A., Abbas, M., & Safdar, N. (2021). Hydrogen sulfide mitigates cadmium induced toxicity in *Brassica rapa* by modulating physiochemical attributes, osmolyte metabolism and antioxidative machinery. *Chemosphere, 263*, 127999. Doi:10.1016/j.chemosphere.2020.127999

Li, S., Le, S., Wang, X., Bai, J., Wang, R., & Zhao, Y. (2020). Functional analysis of organic acids on different oilseed rape species in phytoremediation of cadmium pollution. *Plants, 9*(7), 884. doi: 10.3390/plants9070884

Liao, Y., Tang, Y., Wang, S., Su, H., Chen, J., Zhang, D., & Liu, L. (2023). Abscisic acid modulates differential physiological and biochemical responses to cadmium stress in *Brassica napus. Environmental Pollutants and Bioavailability, 35*(1), 2168216. doi:10.1080/26395940.2023.2168216

Liu, X., Gong, D., Ke, Q., Yin, L., Wang, S., & Gao, T. (2023). Meta-analysis of the effect of nitric oxide application on heavy metal stress tolerance in plants. *Plants, 12*(7), 1494. Doi:10.3390/plants12071494

Lohani, N., Jain, D., Singh, M. B., & Bhalla, P. L. (2020). Engineering multiple abiotic stress tolerance in canola, *Brassica napus*. *Frontiers in Plant Science, 11*, 3. doi: 10.3389/fpls.2020.00003

Loi, M., De Leonardis, S., Mule, G., Logrieco, A. F., & Paciolla, C. (2020). A novel and potentially multifaceted dehydroascorbate reductase increasing the antioxidant systems is induced by beauvericin in tomato. *Antioxidants, 9*(5), 435. doi:10.3390/antiox9050435

Ma, J., Saleem, M. H., Alsafran, M., Al Jabri, H., Rizwan, M., Nawaz, M., ... & Usman, K. (2022). Response of cauliflower (*Brassica oleracea* L.) to nitric oxide application under cadmium stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety, 243*, 113969. Doi: 10.1016/j.ecoenv.2022.113969

Maghsoudi, K., Ashrafi Dehkordi, E., & Mazloumi, S. M. (2021). The role of brassinosteroids and salicylic acid on spinach growth and cadmium accumulation under cadmium stress. *Journal of Vegetables Sciences, 4*(2), 15-33. DOI: 10.22034/iuvs.2021.139084.1125

Mostofa, M. G., Rahman, M. M., Siddiqui, M. N., Fujita, M., & Tran, L. S. (2020). Salicylic acid antagonizes selenium phytotoxicity in rice: Selenium homeostasis, oxidative stress metabolism and methylglyoxal detoxification. *Journal of Hazardous Materials, 394*, 122572. Doi:10.1016/j.jhazmat.2020.122572

Nazir, S., Arif, Y., Mir, A. R., Siddiqui, H., Faizan, M., Alam, P., & Shamsul, H. (2024). Comparative and interactive response of salicylic acid, 24–epibrassinolide or sodium nitroprusside against cadmium stress in *Linum usitatissimum*. *Journal of Umm Al-Qura University for Applied Sciences*, 1-13. Doi: 10.1007/s43994-024-00145-x

Nie, L., Zhou, B., Hong, B., Wang, X., Chang, T., Guan, C., & Guan, M. (2023). Application of selenium can alleviate the stress of cadmium on rapeseed at different growth stages in soil. *Agronomy, 13*(9), 2228. Doi:10.3390/agronomy13092228

Noctor, G., Reichheld, J. P., & Foyer, C. H. (2018). ROS-related redox regulation and signaling in plants. *Seminars in Cell and Developmental Biology, 80*, 3-12. Doi: 10.1016/j.semcdb.2017.07.013

Nolan, T. M., Vukasinovic, N., Liu, D., Russinova, E., & Yin, Y. (2020). Brassinosteroids: Multidimensional regulators of plant growth, development, and stress responses. *The Plant Cell, 32*(2), 295-318. doi: 10.1105/tpc.19.00335

Okla, M. K., Saleem, M. H., Saleh, I. A., Zomot, N., Perveen, S., Parveen, A., & Hamed, M. H. (2023). Foliar application of iron-lysine to boost growth attributes, photosynthetic pigments and biochemical defense system in canola (*Brassica napus* L.) under cadmium stress. *BMC Plant Biology, 23*(1), 648. Doi: 10.1186/s12870-023-04672-3

Raihan, M. R. H., Rahman, M., Mahmud, N. U., Adak, M. K., Islam, T., Fujita, M., & Hasanuzzaman, M. (2022). Application of rhizobacteria, *Paraburkholderia fungorum* and Delftia sp. confer cadmium tolerance in rapeseed (*Brassica campestris*) through modulating antioxidant defense and glyoxalase systems. *Plants, 11*(20), 2738. Doi:10.3390/plants11202738

Ren, Y., Li, X., Liang, J., Wang, S., Wang, Z., Chen, H., & Tang, M. (2023). Brassinosteroids and gibberellic acid actively regulate the zinc detoxification mechanism of *Medicago sativa* L. seedlings. *BMC Plant Biology, 23*(1), 75. Doi: 10.1186/s12870-023-04091-4

Rezaie, R., Abdollahi Mandoulakani, B., & Fattahi, M. (2020). Cold stress changes antioxidant defense system, phenylpropanoid contents and expression of genes involved in their biosynthesis in *Ocimum basilicum* L. *Scientific Reports, 10*(1), 5290. Doi:10.1038/s41598-020-62090-z

Rosado-Souza, L., Fernie, A. R., & Aarabi, F. (2020). Ascorbate and thiamin: Metabolic modulators in plant acclimation responses. *Plants, 9*(1), 101. doi:10.3390/plants9010101

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]

[DOI: DOI: 10.22034/15.71.67]

Santos, L. R., Batista, B. L., & Lobato, A. K. S. (2018). Brassinosteroids mitigate cadmium toxicity in cowpea plants. *Photosynthetica, 56*(2), 591-605. Doi:10.1007/s11099-017-0700-9

Shah, A. A., Ahmed, S., Abbas, M., & Yasin, N. A. (2020). Seed priming with 3-epibrassinolide alleviates cadmium stress in *Cucumis sativus* through modulation of antioxidative system and gene expression. *Scientia Horticulturae, 265*, 109203. doi: 10.1016/j.scienta.2020.109203

Shah, A. A., Khan, W. U., Yasin, N. A., Akram, W., Ahmad, A., Abbas, M., & Safdar, M. N. (2020). Butanolide alleviated cadmium stress by improving plant growth, photosynthetic parameters and antioxidant defense system of *Brassica oleracea*. *Chemosphere, 261*, 127728. Doi: 10.1016/j.chemosphere.2020.127728

Siddiqi, K. S, & Husen, A. (2021). Significance of brassinosteroids and their derivatives in the development and protection of plants under abiotic stress. *Biologia, 76*(10), 2837-2857. Doi:10.1007/s11756-021-00853-3

Soares, T. F., dos Santos Dias, D. C., Oliveira, A. M. S., Ribeiro, D. M., & dos Santos Dias, L. A. (2020). Exogenous brassinosteroids increase lead stress tolerance in seed germination and seedling growth of *Brassica juncea* L. *Ecotoxicology and Environmental Safety, 193*, 110296. Doi: 10.1016/j.ecoenv.2020.110296

Soland, S. F, & Laima, S. K. (1999). Phenolics and cold tolerance of *Brassica napus*. *Plant Agriculture, 1*, 1-5. doi:10.31390/plant agriculture. 8901.85011401

Song, Y. J., Li, Y., Leng, Y., & Li, S. W. (2021). 24-epibrassinolide improves differential cadmium tolerance of mung bean roots, stems, and leaves via amending antioxidative systems similar to that of abscisic acid. *Environmental Science and Pollution Research, 28*(37), 52032-52045. Doi: 10.1007/s11356-021-14404-5

Sun, J. Y., Guo, R., Jiang, Q., Chen, C. Z., Gao, Y. Q., Jiang, M. M., & Huang, J. (2024). Brassinosteroid decreases cadmium accumulation via regulating gibberellic acid accumulation and Cd fixation capacity of root cell wall in rice (*Oryza sativa*). *Journal of Hazardous Materials, 469*, 133862. Doi:10.1016/j. jhazmat.2024.133862

Tunc-Ozdemir, M., Abbas, M., & Yasin, N. A. (2009). Thiamin confers enhanced tolerance to oxidative stress in Arabidopsis. *Plant Physiology, 151*(1), 421-432.

Verma, T., Bhardwaj, S., Raza, A., Djalovic, I., Prasad, P. V., & Kapoor, D. (2023). Mitigation of salt stress in Indian mustard (*Brassica juncea* L.) by the application of triacontanol and hydrogen sulfide. *Plant Signaling and Behavior, 18*(1), 2189371. Doi:10.1080/15592324.2023.2189371

Viana, V. E., Aranha, B. C., Busanello, C., Maltzahn, L. E., Panozzo, L. E., de Oliveira, A. C., ... & Pegoraro, C. (2022). Metabolic profile of canola (*Brassica napus* L.) seedlings under hydric, osmotic and temperature stresses. *Plant Stress, 3*, 100059. doi: 10.1016/j.stress.2022.100059

Wagner, G. J. (1979). Content and vacuole/extravacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanin in protoplasts. *Plant Physiology, 64*(1), 88-93. Doi:10.1016/plant ph. 1979.200368

Wang, W., Aranha, B. C., Busanello, C., Maltzahn, L. E., & Panozzo, L. E. (2009). Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. *Plant Physiology and Biochemistry, 47*(7), 570-577. Doi: 10.1007/s101356-045-1558-7

Wu, C., Li, F., Xu, H., Zeng, W., Yu, R., Wu, X., ... & Li, J. (2019). The potential role of brassinosteroids (BRs) in alleviating antimony (Sb) stress in Arabidopsis thaliana. *Plant Physiology and Biochemistry, 141*, 51-59. doi: 10.1016/j.plaphy.2019.05.011

Wu, X., Li, L., Hannan, F., Qin, T., Ayyaz, A., Ma, J., & Zhou, W. (2024). Brassinosteroid-induced transcriptomic rearrangements unveiled the physiological mechanism of chromium stress tolerance in *Brassica napus*. *Current Plant Biology*, 100360. Doi:10.1016/j.cpb.2024.100360

Yang, L., Wu, Y., Wang, X., Lv, J., Tang, Z., Hu, L., & Yu, J. (2022). Physiological mechanism of exogenous 5-aminolevulinic acid improved the tolerance of Chinese cabbage (*Brassica pekinensis* L.) to cadmium stress. *Frontiers in Plant Science, 13*, 845396. doi: 10.3389/fpls.2022.845396

Zhang, Q., Liang, M., Song, R., Song, Z., Song, H., & Qiao, X. (2022). Brassinosteroids enhance resistance to manganese toxicity in *Malus robusta* Rehd. via modulating polyamines profile. *Journal of Plant Physiology, 277*, 153808. doi: 10.1016/j.jplph.2022.153808

Zhao, G., Cheng, P., Zhang, T., Abdalmegeed, D., Xu, S., & Shen, W. (2021). Hydrogen-rich water prepared by ammonia borane can enhance rapeseed (*Brassica napus* L.) seedlings tolerance against salinity, drought or cadmium. *Ecotoxicology and Environmental Safety, 224*, 112640. Doi: 10.1016/j.ecoenv.2021.112640

Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry, 64*(4), 555-559. Doi: 10.1007/s113561-021-144104-5

Zhou, H. Y., Nian, F. Z., Chen, B. D., Zhu, Y. G., Yue, X. R., Zhang, N. M., & Xia, Y. S. (2023). Synergistic reduction of arsenic uptake and alleviation of leaf arsenic toxicity in maize (*Zea mays* L.) by arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and exogenous iron through antioxidant activity. *Journal of Fungi, 9*(6), 677. Doi:10.3390/jof9060677

Zhu, K., Zhou, H., & Qian, H. (2006). Antioxidant and free radical-scavenging activities of wheat germ protein hydrolysates (WGPH) prepared with alcalase. *Process Biochemistry, 41*(6) 1296-1302. Doi: 10.1009/s 344561-021-144454-5

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]

[DOI: DOI: 10.22034/15.71.67]

Physiological comparison of the separate or interaction effects of thiamine and epibrassinolide on modulating or intensifying some oxidative stress indices in oilseed rape, cultivar Hyola 401, under cadmium stress

Shima Sanjari[1], Hossein Mozafari[2]*, Batool Keramat[1] and Nazi Nadernejad[1]

[1] Department of Biology, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran
[2] Department of Ecology, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran

Abstract

Cadmium stress induces oxidative stress in plants such as rapeseed. The use of plant growth regulators (PGR) or vitamins (such as thiamine) can help increase resistance to cadmium stresses. In this study, an attempt was made to study the comparative and reciprocal effects of thiamine and 24-epibrassinolide (EBL) on improving growth parameters and antioxidant resistance of rapeseed cultivar Hyola 401 under toxic levels of 250 and 500 micromolar cadmium chloride in the form of 27 treatment codes in a greenhouse environment. The overall results showed that the separate application of thiamine or 24-epibrassinolide had a significant effect compared to other separate elicitors used in most of the measured parameters and improved the antioxidant resistance of the plant under cadmium stress according to the measured indicatorsm, and even reduced the accumulation of cadmium in the shoot. The results obtained from measuring various growth, biochemical, enzymatic and elemental parameters showed that the separate application of thiamine and 24-epibrassinolide improved the growth and antioxidant resistance of plants under toxic treatment, especially 250 micromolar cadmium and it was able to alleviate the toxic effects of cadmium stress on rapeseed. For example, the level of membrane peroxidation (MDA and aldehydes) was well reduced by approximately 50% under 250 micromolar cadmium treatment. Although in some parameters such as magnesium nutrition, the combined treatment of thiamine and 24-epibrassinolide had a better effect, in some other parameters such as water content and leaf area, the application of treatments improved plant growth under cadmium stress.

Keywords: Catalase enzyme, Lipid peroxidation, Magnesium nutrition, Growth regulators, Antioxidant resistance

Received: Jul. 17, 2025; Revised: Oct. 23, 2025; Accepted: Oct. 29, 2025; Published Online: ??
*Corresponding Author: Mozafari.hossein@gmail.com

Copyright © 2025 Iranian Society of Plant Physiology, Published by Isfahan University of Technology press. This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Noncommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]

[DOI: DOI: 10.22034/15.71.67]