

تأثیر پیش تیمار با گلیسین بتائین بر کاهش اثر تنش کادمیوم در مرحله جوانه زنی و رشد گیاهچه سیاه دانه (*Nigella sativa*)

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

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

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۰/۱۴، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۳/۰۴/۰۴)

چکیده:

کادمیوم از جمله فلزات سنگین آلاینده محیط زیست بوده و آلودگی به آن باعث بروز اثرات سمی در گیاه و انسان می شود. گلیسین بتائین نیز از تنظیم کننده های اسمزی است که کاربرد آن موجب کاهش اثرات مضر تنش ها از جمله کادمیوم در گیاه می گردد. به منظور بررسی اثر پیش تیمار بذر با گلیسین بتائین در کاهش آسیب های ناشی از تنش کادمیوم بر گیاهچه سیاه دانه، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در آزمایشگاه دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۳۹۱ انجام شد. برای پیش تیمار بذر از محلول گلیسین بتائین (در غلظت های ۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار) و برای ایجاد تنش کادمیوم از محلول های ۰، ۲۵ و ۵۰ میلی مولار کلرید کادمیوم استفاده شد. در این بررسی شاخص های جوانه زنی، محتوای پروتئین کل، میزان فعالیت آنزیم های کاتالاز و پراکسیداز اندازه گیری شد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم درصد جوانه زنی، سرعت جوانه زنی، شاخص بنیه بذر، طول ریشه چه، طول ساقه چه، پروتئین کل و میزان فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش و نسبت طول ساقه چه به ریشه چه افزایش یافت. پیش تیمار با گلیسین بتائین اثرات نامطلوب کادمیوم را تخفیف داد. با افزایش غلظت کادمیوم میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز نیز بیشتر شد. همچنین استفاده از غلظت های بالای گلیسین بتائین فعالیت آنزیم را تشدید نمود. کادمیوم بر جوانه زنی و سیستم دفاعی گیاه تأثیر بازدارنده داشت و توانایی لازم از سیاه دانه در مقابله با این تغییرات مشاهده نگردی، با این وجود، پیش تیمار گلیسین بتائین با افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان از مضرات کادمیوم کاسته، پروتئین کل را افزایش داد و فرآیند جوانه زنی را در برابر سمیت این فلز سنگین محافظت نمود.

واژه های کلیدی: سیاه دانه، شاخص های جوانه زنی، کاتالاز، پراکسیداز، پروتئین کل

مقدمه:

کننده های محیطی است که می تواند در بسیاری از فرآیندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژی مانند فتوسنتز، تنفس، متابولیسم نیتروژن و پروتئین ها و جذب مواد غذایی درگیر شود (Zhang et al., 2009). کادمیوم باعث بروز اثرات سمی در گیاه می شود (Zhang et al., 2010) که از آن جمله می توان به کاهش رشد (Islam et al., 2009)، کاهش درصد جوانه زنی، شاخص قدرت، وزن خشک (Aziz-Khan et al., 2012)، کاهش

سیاه دانه با نام علمی *Nigella sativa* یکی از گونه های گیاهی از خانواده آلاله (*Ranunculaceae*) بوده که به طور طبیعی در نقاط مختلف ایران رشد می کند (Omidbaigi, 2000). از ویژگی های این گیاه می توان به اثرات ضد التهابی، ضد میکروبی و ضد تومور و دافع حشرات اشاره کرد (Siddiqui and Sharma, 1996). کادمیوم از مهمترین آلوده

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

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 گلاسیسین‌بتائین در شرایط تنش‌های مختلف محیطی موثر واقع می‌شود، به طوری که 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 گلاسیسین‌بتائین 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 می‌کند (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 می‌شود (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 Omoregie و Egharevba (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 ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم می‌تواند درصد بذور زنده را تا حدود ۵۰ درصد کاهش دهد. Thamayanthi و همکاران (۲۰۱۱) با بررسی اثر کادمیوم بر

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 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 تنظیم‌کننده‌های اسمزی، آنتی‌اکسیدان‌ها و مواد محافظت‌کننده را نام برد (Seregin and Ivanov, 2001). گلاسیسین‌بتائین $[(CH_3)_3N+CH_2COO^-]$ معمول‌ترین محلول آلی سازگار می‌باشد که در اکثر میکروارگانیسم‌ها، گیاهان و حیوانات وجود دارد و در میان ترکیبات آمونیم شناخته شده جزء فراوان‌ترین ترکیب در گیاهان می‌باشد که به تنش پاسخ می‌دهد (Yang *et al.*, 2003) همچنین گلاسیسین‌بتائین به عنوان یک تنظیم‌کننده اسمزی در سیتوپلاسم عمل کرده و موجب ثبات آنزیم‌ها و پروتئین‌ها تحت شرایط تنش شده و پتانسیل تئوروسانس 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 غشاء، 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

\bar{D} سرعت جوانه‌زنی، n تعداد بذرهاى 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 بذرهاى 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 \times درصد جوانه‌زنی = شاخص قدرت

در پایان دوره جوانه‌زنی (۱۴ روز) طول و وزن ریشه‌چه و

ساقه‌چه گیاهچه‌ها اندازه‌گیری شد. برای تعیین وزن خشک

گیاهچه، نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۶۵ درجه

سانتی‌گراد قرار داده شد و با استفاده از ترازوی دقیق (۰/۰۰۰۱

گرم) وزن خشک گیاهچه‌ها به دست آمد.

تغییرات بیوشیمیایی گیاهچه‌ها بعد از ۱۴ روز اندازه‌گیری

شد. برای سنجش پروتئین کل ابتدا ۰/۲ گرم نمونه‌تر برگی در

هاون چینی در مجاورت نیتروژن مایع پودر شد و با ۰/۶ 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 ۴

درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شده و روشن‌آور درون لوله‌های

جدید به مدت ۲۰ دقیقه در ۴۰۰۰ 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

پروتئین ۱۰ 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 به کار می‌رود. در لوله

های آزمایش ۵ میلی‌لیتر معرف برادفورد افزوده و سپس به

ترتیب در لوله اول بدون افزودن سرم آلبومین گاوی، ۳۰۰

جوانه‌زنی، رشد و میزان رنگدانه‌های گیاه آهار به این نتیجه

رسیدند که در کلیه سطوح تنش کادميوم 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 کادميوم را بر جوانه‌زنی گندم توسط صارمی‌راد و

همکاران (۱۳۹۰) نشان داد که با افزایش غلظت کادميوم درصد

جوانه‌زنی کاهش یافت. این نتایج حاکی از تجمع کادميوم 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 گلايسين-

بتائين به‌منظور کاهش اثرات نامطلوب آلودگی به کادميوم،

به‌ویژه در مرحله جوانه‌زنی بود.

مواد و روش‌ها:

به‌منظور بررسی اثر پیش‌تیمار بذر سیاه‌دانه با گلايسين بتائين،

جهت کاهش آسیب‌های ناشی از آلودگی به کادميوم بر

شاخص‌های جوانه‌زنی، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب

طرح کاملاً تصادفی در آزمایشگاه دانشکده علوم کشاورزی

دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۳۹۱ انجام شد. بذر 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، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار گلايسين بتائين به مدت

۴۸ ساعت خیسانده شد و سپس بذر به مدت یک روز در

دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند تا خشک شوند.

برای ایجاد تنش کادميوم بذر به درون پتری‌دیش‌ها منتقل و از

محلول‌های (۰، ۲۵/۰ و ۵۰/۰) میلی‌مولار کلرید کادميوم استفاده

شد. بذر تیمار شده در داخل پتری‌دیش‌ها به ژرمیناتور انتقال

یافت. شمارش تعداد بذرهاى جوانه‌زده بر اساس خروج جوانه

دو میلی‌متری به‌صورت روزانه و به‌طور مرتب تا ۱۴ روز ادامه

یافت. سرعت جوانه‌زنی با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید

(Scott et al., 1984).

$$\bar{D} = \sum_{t=1}^{t=14} \frac{n}{t}$$

پیروگال ۱۰ میلی مولار در حمام یخ اضافه شد و منحنی جذب تغییرات در طول موج ۴۲۵ 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 میلی گرم پروتئین بر دقیقه محاسبه گردید.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۰/۰۵ و رسم نمودارها با استفاده از Excel انجام شد.

نتایج و بحث:

درصد جوانه‌زنی: نتایج پژوهش نشان داد که اثر اصلی کادمیوم و گلاسیسین بتائین و اثر متقابل آنها بر آزمون جوانه‌زنی استاندارد در سطح ۰/۰۱ معنی دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین اثرات متقابل کادمیوم در گلاسیسین بتائین بر درصد جوانه‌زنی نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم درصد جوانه‌زنی کاهش یافت و استفاده از گلاسیسین بتائین تا غلظت ۱۰۰ میلی مولار موجب افزایش درصد جوانه‌زنی شد ولی گلاسیسین بتائین در مقادیر بیشتر موجب کاهش جوانه‌زنی گردید. بیشترین درصد جوانه‌زنی (۹۵/۳۳٪) در پیش تیمار ۱۰۰ میلی مولار گلاسیسین بتائین و ۰/۲۵ میلی مولار کادمیوم مشاهده شد. کمترین درصد جوانه‌زنی (۶۳/۳۳٪) نیز مربوط به اثر تنش ۰/۰۵ میلی مولار کادمیوم و ۱۵۰ میلی مولار گلاسیسین بتائین بود (شکل ۱).

یافته‌های این پژوهش نشان داد که پرایمینگ بذر با گلاسیسین بتائین می‌تواند منجر به افزایش درصد جوانه‌زنی شود، در حالی که پیش تیمار با غلظت‌های بالاتر این اسمولیت نه تنها 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

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 ۴۰ میکرو لیتر سرم آلبومین، در لوله ششم ۲۶۰ میکرو لیتر بافر استخراج، در لوله هفتم ۶۰ میکرو لیتر سرم آلبومین و ۲۴۰ میکرو لیتر بافر استخراج و در نهایت به لوله هشتم ۸۰ میکرو لیتر سرم آلبومین 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.

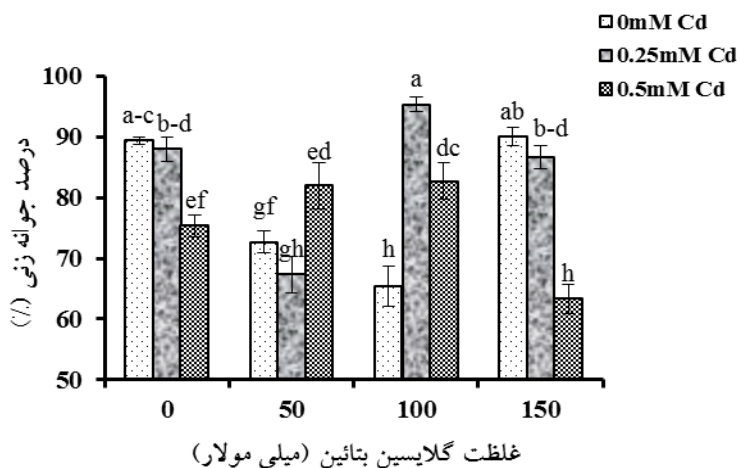
برای سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان ابتدا ۰/۰۵ گرم نمونه تر برگی در هاون چینی در مجاورت نیتروژن مایع پودر شد و با ۳ میلی لیتر بافر تریس-کلریدریک ۰/۰۵ مولار با pH=۷/۵ هموزن گردید. همگنای حاصل را به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سائتریفیوژ کرده و روشنای برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز مورد استفاده قرار گرفت (Sudhakar et al., 2001). برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز محلول واکنش شامل ۲/۵ میلی لیتر بافر تریس (۵۰ میلی مولار، pH=۷) و ۰/۳ میلی لیتر آب اکسیژنه (۵ میلی مولار) تهیه شده و ۶۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی در حمام یخ به آن اضافه نموده و میزان جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر قرائت شد (Kar and Mishra, 1976). برای مقایسه فعالیت آنزیم نیز یک نمونه به عنوان شاهد (blank) استفاده شده که در این نمونه به جای ۶۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی از بافر تریس-کلریدریک ۰/۰۵ مولار استفاده شد. سنجش فعالیت آنزیم بر اساس میزان تغییرات جذب در میلی گرم پروتئین بر دقیقه محاسبه گردید.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز نیز به روش Kar و Mishra (۱۹۷۶) انجام گرفت. به طوریکه ۵۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی به ۲/۵ میلی لیتر محلول واکنش شامل تریس-کلریدریک ۱۰۰ میلی مولار، آب اکسیژنه ۵ میلی مولار و

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثر پیش تیمار بذر با گلاسیسین بتائین و آلودگی به کادمیوم بر صفات اندازه گیری شده

منابع تغییر										میانگین مربعات																																	
درصد					سرعت					طول					شاخص																												
جوانه					جوانه زنی					ساقه					قدرت																												
آزادی					زنی					چه					ریشه																												
کادمیوم					گلاسیسین بتائین					کادمیوم × گلاسیسین بتائین					خطا																												
۳۴۹**	۳۶۶ ^{ns}	۸۹۳ ^{ns}	۲/۰۲ ^{ns}	۰/۰۸**	۳/۴۱**	۱۸/۷۹**	۰/۳۳*	۰/۰۱۱۱**	۲۱۹**	۲	۴۰۲**	۲۵۶۲**	۴۷۱۱**	۲۳/۷**	۰/۰۱۱ ^{ns}	۱/۶۷**	۶۷۸**	۰/۸۲**	۰/۰۱۷۱**	۱۶۴**	۳	۶۶**	۱۷۰۲**	۳۴۳۸**	۷/۲۸**	۰/۰۰۵ ^{ns}	۰/۱۷ ^{ns}	۰/۸۵**	۰/۱۷ ^{ns}	۰/۰۰۱۸**	۴۷۹**	۶	۱۵/۸۷	۳۳۱	۵۱۰	۱/۲۵	۰/۰۱	۰/۲۱	۰/۲۲	۰/۰۸	۰/۰۰۰۲	۱۶/۵۸	۲۴
۱۸/۳	۸/۲۹	۱۴/۷۶	۱۰/۳۴	۱۴/۷۷	۱۲/۶۷	۸/۸۶	۹/۷۶	۳/۷۳	۵/۱	-	۱۸/۳	۸/۲۹	۱۴/۷۶	۱۰/۳۴	۱۴/۷۷	۱۲/۶۷	۸/۸۶	۹/۷۶	۳/۷۳	۵/۱	-	۱۸/۳	۸/۲۹	۱۴/۷۶	۱۰/۳۴	۱۴/۷۷	۱۲/۶۷	۸/۸۶	۹/۷۶	۳/۷۳	۵/۱	-	۱۸/۳	۸/۲۹	۱۴/۷۶	۱۰/۳۴	۱۴/۷۷	۱۲/۶۷	۸/۸۶	۹/۷۶	۳/۷۳	۵/۱	-

ns، * و ** به ترتیب نشان دهنده غیر معنی داری و معنی داری در سطح ۵٪ و ۱٪ می باشد.



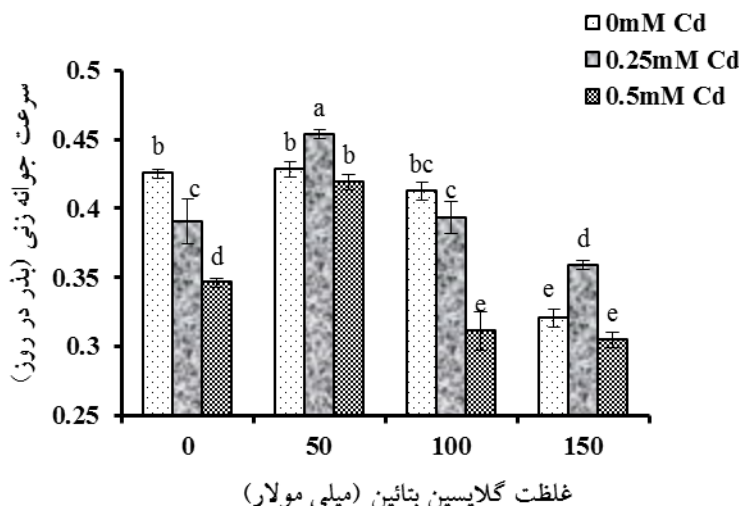
شکل ۱- تأثیر گلاسیسین بتائین و آلودگی کادمیوم بر درصد جوانه زنی.

حروف نامشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ آزمون LSD می باشد.

اکسیژن تولیدی توسط غلظت های بالا کادمیوم شده و در نهایت موجب بهبود جوانه زنی می گردد (Islam et al., 2009). آغاز جوانه زنی سبب شروع فرآیند تنفس سلولی می شود که افزایش تنفس باعث افزایش میزان تولید پراکسید هیدروژن و آسیب به سلول می شود. سلول ها نیز با تولید سیگنال، مسیر دفاعی و پاسخ به تنش را فعال می کنند که از این مسیرهای دفاعی می توان به افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان اشاره کرد (Mittler, 2002; Desikan et al., 2001).

سرعت جوانه زنی: اثرات اصلی کادمیوم و پیش تیمار با گلاسیسین بتائین و اثرات متقابل آن بر سرعت جوانه زنی در سطح ۱٪ معنی دار شد (جدول ۱). تنش کادمیوم موجب کاهش

در نتیجه تمایل ترکیبی آن با گروه سولفیدریل پروتئین ها باشد که سبب کاهش در سنتز و تولید پروتئین های ساختمانی و مورد نیاز در فرآیندهای رشد و تقسیم سلولی و جوانه زنی شود (Siddhu and Ali Khan., 2012). پیش تیمار بذر با گلاسیسین-بتائین می تواند آسیب های ناشی از اثرات بازدارنده کادمیوم را کاهش دهد و موجب افزایش درصد جوانه زنی شود (Arafa et al., 2009; Duman et al., 2011; Islam et al., 2009). نتایجی در پژوهش های دیگر نیز گزارش شده است (Islam et al., 2009). پیش تیمار با گلاسیسین بتائین با افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان مانند کاتالاز و پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز موجب کاهش تأثیرات تولید رادیکال های آزاد



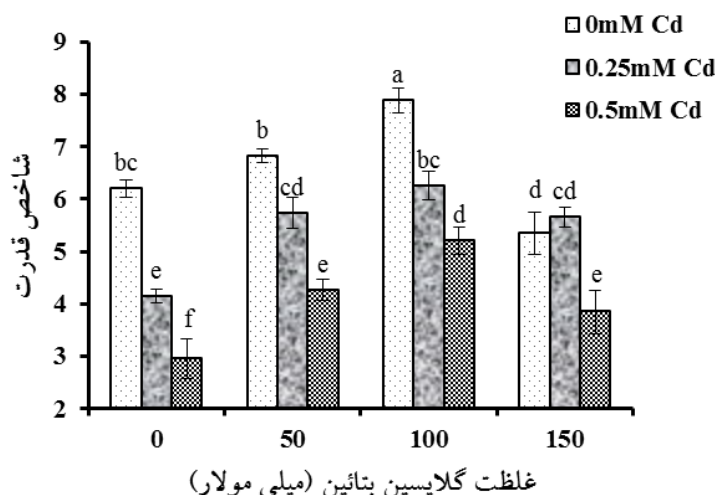
شکل ۲- تأثیر گلاسیسین بتائین و آلودگی کادمیوم بر سرعت جوانه زنی. حروف نامشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ آزمون LSD می باشد.

بر شاخص قدرت در سطح ۱٪ دارای تفاوت آماری معنی دار بود (جدول ۱). پیش تیمار بذر با گلاسیسین بتائین تا غلظت ۱۰۰ میلی مولار قدرت بذر را افزایش داد اما غلظت های بیشتر از این مقدار موجب کاهش شاخص قدرت شد. افزایش غلظت کادمیوم، موجب کاهش شاخص قدرت بذر گردید، به طوری که بیشترین قدرت بذر (۷/۸۷) مربوط به عدم آلودگی به کادمیوم و سطح گلاسیسین بتائین ۱۰۰ میلی مولار و کمترین مقدار آن (۲/۹۴) مربوط به سطح ۰/۲۵ میلی مولار کادمیوم بدون پیش تیمار بذر با گلاسیسین بتائین بود (شکل ۳). شاخص قدرت یکی از ویژگی های تعیین کننده کیفیت بذر می باشد که آلودگی به کادمیوم آنرا کاهش داد. شاخص بنیه روی کیفیت بذرها از طریق جوانه زنی نهایی و طول گیاهچه تأثیر می گذارد. بذرهایی که دارای شاخص قدرت بالاتری هستند، تنش های محیطی را بهتر تحمل می کنند. همچنین علاوه بر داشتن درصد جوانه زنی بالا، گیاهچه های قوی و عادی تولید می کنند (ربیعی و بیات، ۱۳۸۸). افزایش شاخص قدرت و طول ساقه در اثر اعمال پلی آمین که همانند گلاسیسین بتائین یکی از اسموپروتکتانت های مؤثر در تحمل به تنش هاست، در فلفل قرمز توسط Aziz Khan و همکاران (۲۰۱۲) گزارش شده است. آنها عنوان کردند که پیش تیمار بذر با پلی آمین به جذب این اسمولیت منجر می شود و باعث افزایش فعالیت های

و پیش تیمار با گلاسیسین بتائین موجب افزایش سرعت جوانه زنی شد. با توجه به مقایسه میانگین اثرات متقابل بیشترین سرعت جوانه زنی (۰/۴۵ بذر در روز) مربوط به پیش تیمار ۵۰ میلی -مولار گلاسیسین و ۰/۲۵ میلی مولار کادمیوم بود. کمترین سرعت جوانه زنی (۰/۳۰۴ بذر در روز) نیز تحت تنش کادمیوم در غلظت ۰/۵ میلی مولار و با پیش تیمار ۱۵۰ میلی مولار گلاسیسین بتائین مشاهده شد (شکل ۲).

سرعت جوانه زنی به عنوان یکی دیگر از شاخص های کیفیت بذر می باشد که تحت تاثیر تیمارهای استفاده شده قرار گرفت. آزمایش های Geckil و Munzuroglu (۲۰۰۲) کاهش سرعت جوانه زنی در اثر کادمیوم را در گندم نشان داد. هرچه بذر در زمان کمتری، درصد جوانه زنی بالاتری داشته باشد، دارای کیفیت مطلوب و بنیه بالاتری است (ربیعی و بیات، ۱۳۸۸). از آنجایی که کادمیوم منجر به کاهش بنیه بذر شده بنابراین ممکن است روی کیفیت آن نیز تأثیر گذاشته و منجر به کاهش سرعت جوانه زنی شده باشد. این در حالی است که پیش تیمار با گلاسیسین بتائین منجر به افزایش سرعت جوانه زنی شد (Zhang and Rue, 2012) که ممکن است دلیل آن تأثیر مثبتی باشد که این ماده روی فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان گذاشته و یا متأثر از نقش تنظیم کنندگی آن باشد.

شاخص قدرت: اثر اصلی و اثر متقابل پیش تیمار و کادمیوم



شکل ۳- تأثیر گلیاسین بتائین و کادمیوم بر شاخص قدرت بذر. حروف نامشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۰/۵٪ آزمون LSD می باشد.

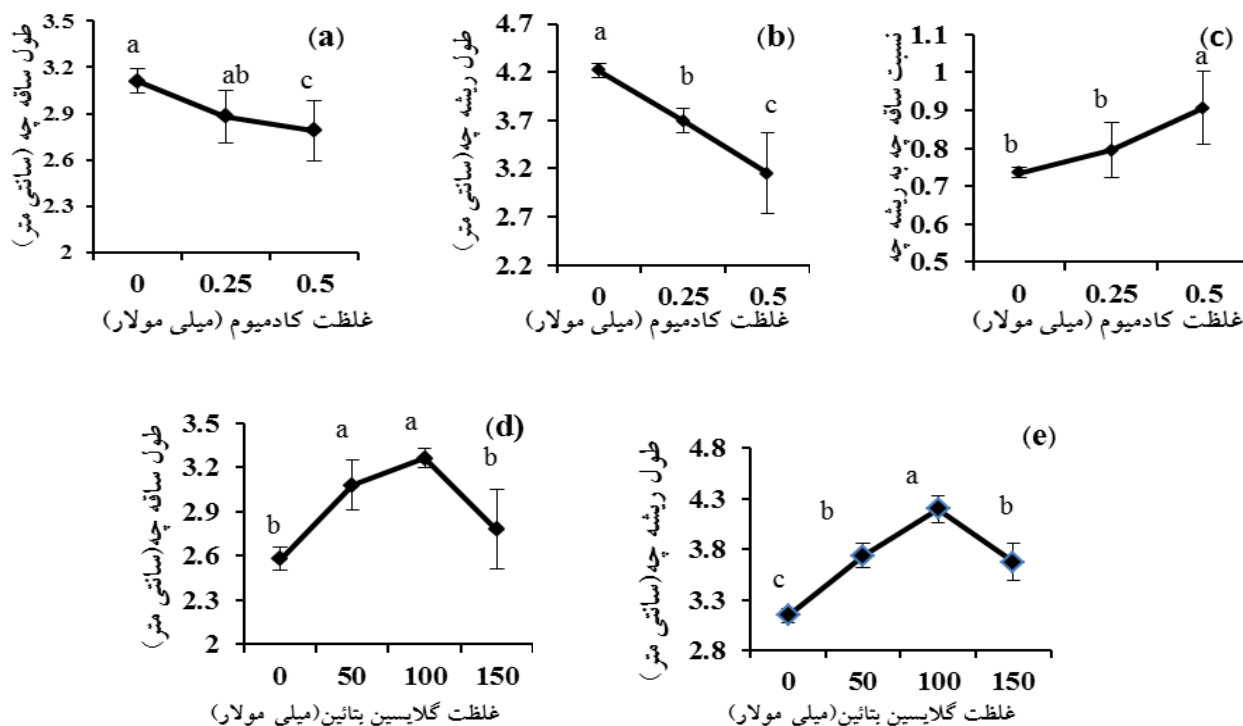
اثر اصلی کادمیوم بر نسبت طول ساقه چه به ریشه چه نیز معنی دار شد در حالی که اثر پیش تیمار و اثرات متقابل معنی دار نبود (جدول ۱). نتایج نشان داد کادمیوم منجر به کاهش این نسبت در تیمار ۰/۵ میلی مولار کادمیوم شد. بیشترین میزان نسبت طول ساقه چه به ریشه چه (۰/۹) مربوط به غلظت ۰/۵ میلی مولار کادمیوم بود و کمترین مقدار آن (۰/۷۳) در حالت عدم آلودگی به کادمیوم اتفاق افتاد (شکل ۴).

مشاهدات Siddhu و Ali khan (۲۰۱۲) نشان داد که غلظت-های کم کادمیوم منجر به افزایش طول گیاه شده در حالی که با افزایش میزان کادمیوم طول گیاه کاهش می یابد. 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 ریشه های موئین و انتقال آن به اندام های هوایی و یا انباشته شدن فلزات سنگین در ریشه باشد (Seregin and Ivanov, 2001). همچنین افزایش طول ریشه در اثر گلیاسین بتائین توسط Aldesuquy و همکاران (۲۰۱۲) گزارش شده است.

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

متابولیک سلولی شده و در نتیجه جوانه زنی و شاخص قدرت افزایش می یابد.

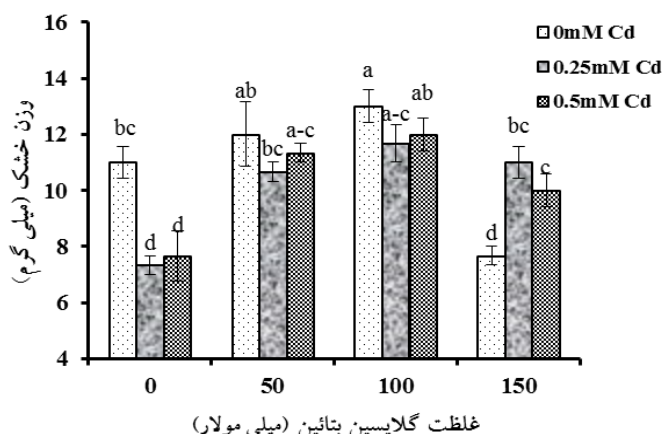
طول ساقه چه، طول ریشه چه و نسبت طول ساقه چه به ریشه چه: طول ساقه چه تحت تأثیر اثرات اصلی غلظت های مختلف کادمیوم در سطح احتمال ۰/۵٪ و سطوح مختلف گلیاسین بتائین در سطح احتمال ۰/۱٪ قرار گرفت و اثرات متقابل کادمیوم در گلیاسین بتائین معنی دار نشد (جدول ۱). مقایسه میانگین اثرات اصلی نشان داد که با افزایش غلظت پیش تیمار با گلیاسین بتائین، طول ساقه چه افزایش یافت به طوری که بیشترین طول ساقه چه (۳/۲۶ سانتی متر) با پیش تیمار ۱۰۰ میلی-مولار گلیاسین بتائین بدست آمد. افزایش میزان کادمیوم، سبب کاهش طول ساقه چه شد و کمترین طول ساقه چه (۲/۷۸ سانتی متر) در ۰/۵ میلی مولار کادمیوم مشاهده شد (شکل ۴). اثرات اصلی غلظت های مختلف کادمیوم و سطوح مختلف پیش تیمار با گلیاسین بتائین در سطح احتمال ۰/۱٪ بر طول ریشه چه معنی دار شد، اما اثر متقابل معنی دار بین آنها بدست نیامد (جدول ۱). پیش تیمار بذر با گلیاسین بتائین منجر به افزایش طول ریشه چه شد و بیشترین طول ریشه چه (۴/۱۹ سانتی متر) مربوط به پیش تیمار ۱۰۰ میلی مولار گلیاسین بود. کادمیوم باعث کاهش طول ریشه چه شد، به طوری که کمترین میزان طول ریشه چه (۳/۱۵ سانتی متر) مربوط به غلظت ۰/۵ میلی مولار کادمیوم بود.



شکل ۴- تأثیر تنش کادمیوم بر طول ساقه چه (a)، طول ریشه چه (b) و نسبت طول ساقه چه و ریشه چه (c) همچنین تأثیر پیش تیمار با گلاسیسین-بتائین طول ساقه چه (d) ریشه چه (e). حروف نامشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ آزمون LSD می باشد.

آنجایی که اسمولیت ها می توانند موجب ایجاد شبکه پیچیده پروتئینی در دیواره گردند و مشخص شده است که گلاسیسین-بتائین در مهار اکسیژن فعال در مجموعه فتوسیستم II نقش دارد، بنابراین گلاسیسین بتائین از تجزیه مولکولی پروتئین های تنظیم کننده در مرکز مجموعه جلوگیری می کند (Papageorgiou and Murata, 1995). ممکن است علت افزایش وزن خشک به دلیل کاهش خسارت به فتوسیستم II و در نتیجه افزایش فتوسنتز و فراورده های فتوسنتزی باشد. مصرف کادمیوم منجر به کاهش شاخص های جوانه زنی گردید اما استفاده از گلاسیسین بتائین موجب تخفیف اثرات سوء کادمیوم شد. در تیمار عدم کاربرد گلاسیسین بتائین (صفر) همان طور که در شکل های مربوط به شاخص های جوانه زنی قابل مشاهده است با افزایش غلظت کادمیوم شاخص های جوانه زنی کاهش یافت. کاهش درصد جوانه زنی، سرعت جوانه زنی، وزن خشک و قدرت بذر در اثر عدم استفاده از گلاسیسین بتائین قابل مشاهده است و با کاربرد گلاسیسین بتائین این شاخص ها افزایش یافته و حتی تأثیر غلظت های ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی مولار کادمیوم را نیز

میزان وزن خشک گیاهچه ها معنی دار بود (جدول ۱، $\alpha = 0.1$). نتایج نشان داد در سطوح پایین پیش تیمار بین سطوح مختلف تنش کادمیوم تفاوت زیادی مشاهده شد ولی با افزایش غلظت پیش تیمار اختلاف بین سطوح کاهش یافت به طوری که در غلظت ۱۰۰ میلی مولار بین سطوح مختلف کادمیوم اختلاف معنی داری وجود نداشت و افزایش غلظت گلاسیسین بتائین تا ۱۵۰ میلی مولار موجب افزایش وزن خشک گیاهچه در طی تنش کادمیوم شد. بیشترین وزن خشک گیاهچه (۱۳ میلی گرم) از پیش تیمار با ۱۰۰ میلی مولار گلاسیسین بتائین و عدم تنش کادمیوم و کمترین وزن خشک (۷/۳ میلی گرم) نیز در عدم پیش تیمار و تنش ۰/۵ میلی مولار کادمیوم بدست آمد (شکل ۵). به عقیده Yilmaz و Ekis (۲۰۰۳) عواملی که رشد محور جنینی را تحت تأثیر قرار می دهد 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 گلاسیسین بتائین در افزایش وزن خشک قبلاً نیز گزارش شده است (Aldesuquy et al., 2012). از



شکل ۵- تأثیر گلیاسین بتائین و آلودگی کادمیوم بر وزن خشک گیاهچه. حروف نامشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ آزمون LSD می باشد.

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 آنزیم های آنتی اکسیدان در این پژوهش ممکن است به علت ویژگی محافظتی گلیاسین بتائین باشد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل تنش کادمیوم و گلیاسین بتائین بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در سطح ۱٪ معنی دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین های مربوط به اثر متقابل تیمارهای آزمایشی نشان داد کادمیوم در غلظت های پایین پیش تیمار با گلیاسین بتائین سبب افزایش فعالیت پراکسیداز شد و با رسیدن غلظت به ۱۰۰ میلی مولار گلیاسین بتائین، کادمیوم موجب کاهش فعالیت پراکسیداز گردید. افزایش پیش تیمار گلیاسین بتائین به ۱۵۰ میلی مولار سبب خنثی کردن تأثیر غلظت های مختلف کادمیوم شده به طوری که بین آنها اختلاف معنی داری مشاهده نشد. حداکثر فعالیت پراکسیداز به ۱۵۰ میلی مولار گلیاسین بتائین و ۰/۵ میلی مولار کادمیوم اختصاص یافت. حداقل فعالیت پراکسیداز در پایین ترین غلظت گلیاسین بتائین (صفر میلی مولار) و صفر میلی مولار کادمیوم مشاهده شد (شکل ۷).

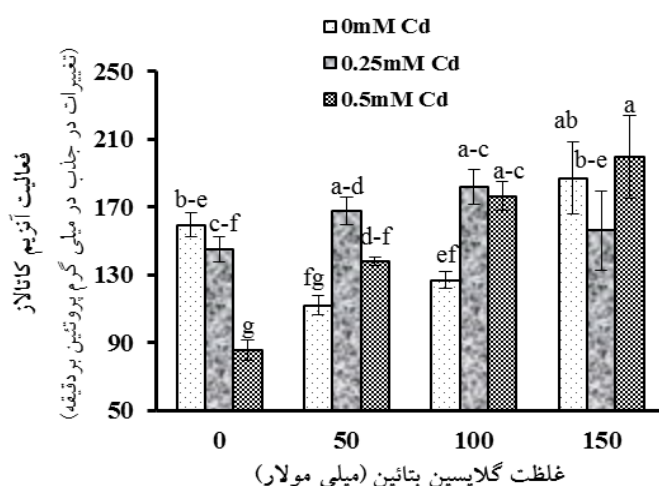
افزایش میزان فعالیت پراکسیداز در اثر تنش کادمیوم را می توان به اثرات سازگاری آن در شرایط تنش نسبت داد. فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تأثیر غلظت های مختلف گلیاسین بتائین و سطوح تنش کادمیوم از روند متفاوتی برخوردار بود (شکل ۷).

بر طرف کرد که نشان دهنده نقش این ترکیب در تخفیف آثار سوء کادمیوم می باشد.

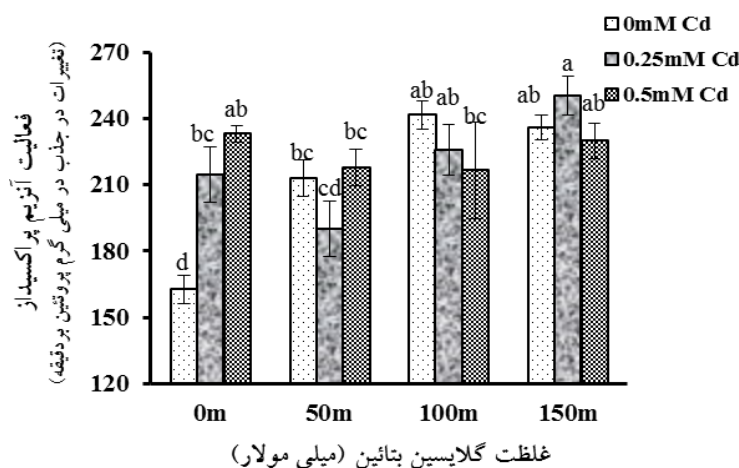
میزان فعالیت کاتالاز، پراکسیداز و میزان پروتئین کل: طبق

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) اثر متقابل کادمیوم و گلیاسین بتائین بر روی میزان فعالیت آنزیم کاتالاز تفاوت معنی داری نشان داد ($\alpha=0.1$). معنی دار بودن اثر متقابل تیمارهای آزمایشی را می توان به متفاوت بودن واکنش گلیاسین بتائین بر سطوح مختلف تنش کادمیوم نسبت داد. همان گونه که در شکل ۶ نشان داده شده است کادمیوم موجب کاهش فعالیت کاتالاز در شرایط عدم پیش تیمار شد. اما با پیش تیمار بذر در طی تنش کادمیوم فعالیت کاتالاز افزایش پیدا کرد، به طوری که بیشترین فعالیت کاتالاز (۱۹۹/۵۵) تغییرات جذب بر پروتئین) از تیمار کادمیوم ۰/۵ میلی مولار و پیش تیمار با غلظت ۱۵۰ میلی مولار گلیاسین بتائین بدست آمد.

افزایش فعالیت آنزیم های کاتالاز و پراکسیداز منجر به مهار انواع اکسیژن فعال از جمله H_2O_2 می شود که در طی تنش کادمیوم تجمع می یابد (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 گلیاسین بتائین علاوه بر کاهش مستقیم آسیب های ناشی از تنش اکسیداتیو می تواند با حفاظت از آنزیم های درگیر در سیستم آنتی اکسیدان به مهار ROS کمک کند (Ashraf and Foolad, 2007). فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان و ترکیبات با



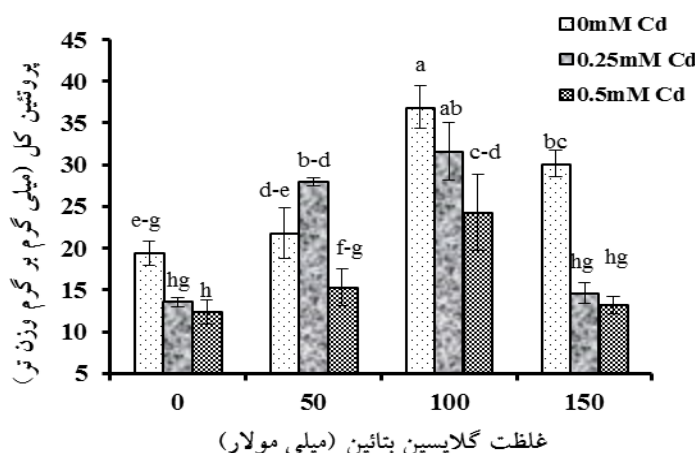
شکل ۶- تأثیر گلاسیسین بتائین و کادمیوم بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز حروف نامشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ آزمون LSD می باشد.



شکل ۷- تأثیر گلاسیسین بتائین و کادمیوم بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز. حروف نامشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ آزمون LSD می باشد.

اثر متقابل کادمیوم و گلاسیسین بتائین تأثیر معنی داری بر میزان پروتئین کل داشت (جدول ۱). به طوری که افزایش میزان پروتئین کل در اثر اعمال گلاسیسین بتائین قابل مشاهده بود، اگرچه کادمیوم تأثیر کاهنده بر میزان پروتئین کل داشت. مقایسه میانگین های اثرات متقابل نشان داد، بیشترین میزان پروتئین کل در اثر پیش تیمار ۱۰۰ میلی مولار گلاسیسین بتائین، بدون حضور کادمیوم مشاهده شد. با توجه به این نتایج مشاهده می شود که در غلظت ۱۰۰ میلی مولار که بیشترین فعالیت آنزیم در آن مشاهده شده بین سطوح مختلف کادمیوم اختلاف بیشتر گشته است، این در حالی است که بین پایین ترین غلظت پیش تیمار و بالاترین غلظت آن تفاوت اختلاف کادمیوم

Islam و همکاران (۲۰۰۹) افزایش میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز را در اثر تنش کادمیوم گزارش کردند. اگرچه میزان ROS در سلول ها، متأثر از فعالیت پراکسیدازی است که کاملاً در اندام های زنده گسترش یافته است (Quiroga *et al.*, 2000). با وجود نقش محافظتی گلاسیسین بتائین نسبت به آنزیم های آنتی اکسیدان (Ashraf & Foolad., 2007)، می توان بیان کرد که افزایش فعالیت این آنزیم موجب تحمل به تنش می شود زیرا آنزیم های کاتالاز و پراکسیداز به عنوان اصلی ترین آنزیم های مهارکننده H₂O₂ شناخته شده اند. میزان خسارت ناشی از ROS با افزایش سطوح فعالیت آنزیم پراکسیداز گیاه می تواند تقلیل یابد (زند و همکاران، ۱۳۸۸).



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

ممکن است کاهش اثرات مثبت گلیاسین بتائین 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 آنزیم‌هایی از قبیل کاتالاز و پراکسیداز را افزایش داد، اما اثرات نامطلوب کادمیوم تأثیری بازدارنده بر این تغییرات داشت. با این حال کاربرد بیرونی گلیاسین بتائین 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 گلیاسین بتائین تا ۱۰۰ میلی‌مولار بهبود دهنده این مکانیزم‌ها بود ولی با افزایش غلظت این اسمولیت از اثرات سودمند آن کاسته شد.

زند، ب.، سروش زاده، ع.، قناتی، ف. و مرادی، ف. (۱۳۸۸) اثر محلول‌پاشی روی (Zn) و اکسین (IBA) بر فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در ذرت دانه‌ای. مجله زیست‌شناسی گیاهی ایران. ۲: ۴۸-۳۵.
صارمی راد، ب.، شکرپور، م.، سفالیان، ا.، اسفندیاری، ع.

کمر 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 گلیاسین بتائین 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 گلیاسین بتائین 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 گلیاسین بتائین، از میزان انباشت درون سلولی آن کاسته می‌شود که

منابع:

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

- 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 proline content of Milk thistle (*Silybum marianum*). Annals of Biological Research 2:527-532
- Kiran, Y., Sahin, A. (2006) The Effects of Cadmium on Seed Germination, Root Development and Mitotic of Root Tip Cells of Lentil (*Len scularis* Medik). World Journal of Agricultural Sciences 2: 196-200
- Maestri, E., Klueva, N., Perrotta, C., Gulli, M., Hguyen, H. T. and Marmioli, 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 (*Ocimum basilicum*) 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. and Valpuesta, 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.
- آوانس، آ.، نادری، ح. (۱۳۹۰). تأثیر کادمیوم 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., Omeregie, 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. and Boucaud, J. (1991) Effect of salinity on lipid composition, glycine betaine content and photosynthetic activity in chloroplasts of *Suaeda*

- 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 Neotyphodium endophyte. *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, New York.
- 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 (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. *Plant Science* 167: 613-619.
- Thamayanthi, D., Sharavanan, P. S., Vijayaragavan, M. (2011) Effect of cadmium on seed germination, growth and pigments content of *Zinnia plant*. *Current Botany* 2: 08-13