Iranian Journal of Field Crop Science
Vol 48, No 1, Spring 2017 (253-266)
DOI: 10.22059/ijfcs.2017.205921.654102

علوم گیاهان زراعی ایران
دورهٔ ۴۸، شمارهٔ ۱، بهار ۱۳۹۶ (ص ۲۶۶-۲۵۳)

تأثیر پیش‌تیمار بذر با آب بر جوانه‌زنی، رشد و فعالیت آنزیم‌های پاداکسندهٔ گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی (*Borago officinalis* L.) در شرایط تنش کادمیوم

فاطمه محمودی[۱]، پریسا شیخ‌زاده‌مصدق[۲*]، ناصر زارع[۳] و بهروز اسماعیل‌پور[۳]
۱، ۲ و ۳. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، استادیار و دانشیار، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۲/۱۹ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۷/۱۷)

چکیده

کادمیوم یکی از فلزهای سنگین و از جمله آلاینده‌های مهم محیط‌زیست است که جوانه‌زنی و رشد و نمو گیاهان را مهار می‌کند، لذا در این شرایط استفاده از روش‌هایی که جوانه‌زنی گیاه را تحریک کند ضروری به نظر می‌رسد. در این تحقیق تأثیر پیش‌تیمار بذر با آب (هیدروپرایمینگ) بر شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های گیاه دارویی گاوزبان اروپایی (*Borago officinalis* L.) در شرایط تنش کادمیوم به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹٤ در دانشگاه محقق اردبیلی بررسی شد. عامل‌های آزمایشی شامل تنش کادمیوم در چهار سطح (S_1، S_2، S_3 و S_4: به ترتیب ۰، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم کادمیوم در لیتر) و پیش‌تیمار بذر با آب در چهار سطح (۰ (شاهد)، ۱۲، ۲٤ و ٤۸ ساعت) بود. نتایج نشان داد، با افزایش شدت تنش، میانگین درصد و سرعت جوانه‌زنی، وزن خشک و طول گیاهچه، شاخص‌های طولی و وزنی توان و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز کاهش یافت. در شرایط بدون تنش، درصد و سرعت جوانه‌زنی و وزن خشک گیاهچه‌های ناشی از بذرهای پیش‌تیمارشده به‌طور معنی‌داری بیشتر از بذرهای شاهد بود. پیش‌تیمار بذر با آب شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی در شرایط تنش کادمیوم را به‌طور معنی‌داری افزایش داد. به‌طوری‌که، پیش‌تیمار بذر با آب به مدت ٤۸ ساعت سبب افزایش معنی‌دار و دو برابری در سرعت جوانه‌زنی بذرها، ٤/۵ برابری شاخص وزنی گیاهچه‌ها، ۳/۵ برابری فعالیت آنزیم کاتالاز و ۲/۵ برابری فعالیت آنزیم پراکسیداز نسبت به شاهد شد. در مجموع، پیش‌تیمار بذر با آب به مدت ٤۸ ساعت بیشترین اثر مثبت را بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی داشت.

واژه‌های کلیدی: آنزیم کاتالاز، آنزیم پراکسیداز، فلزهای سنگین، گیاه دارویی، وزن‌خشک گیاهچه.

The effect of hydropriming on germination, growth and antioxidant enzymes Activity of Borage (*Borago officinalis* L.) seedling under cadmium stress

Fatemeh Mahmoudi[1], Parisa Sheikhzadeh Mosaddegh[2*], Naser Zare[3] and Behrouz Esmaielpour[3]
1, 2, 3. Former MSc. Student, Assistant Professor and Associate Professor, Faculty of Agriculture, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
(Received: May 8, 2016 - Accepted: Oct. 8, 2016)

ABSTRACT

Cadmium is one of the heavy metals and the important environmental pollutants that inhibits seed germination and plant growth and development. So, in these conditions, the use of methods for stimulation of seed germination is necessary. In this research, the effects of hydropriming on germination and growth indice of borage seedlings under cadmium stress were investigated in a factorial experiment based on completely randomized design with three replications at the University of Mohaghegh Ardabili in 2015. The Experimental treatments were cadmium stress with four levels (S_1, S_2, S_3 and S_4; zero (control), 10, 50 and 100 $mg.lit^{-1}$) and hydropriming with four levels (12, 24 and 48 hours). The results showed that the percentage and rate of germination, length and seedling dry weight, vigor indice and catalase and peroxidase enzymes activity were decreased with increasing stress level. In non stress condition, the percentage and rate of seed germination and seedlings dry weight of seedling derive from primed seeds were significantly higher than those of control seeds. Hydropriming significantly increased the seed germination and seedling growth indices of borage under cadmium stress conditions. 48 hours hydropriming under cadmium stress conditions, caused significant and 2-fold increase in the germination rate, 4.5-fold in the seedling weight index, 3.5 and 2.5-fold in the activity of catalase and peroxidase enzymes, respectively, as compared to control. In total,. 48 hours hydropriming was the most positive effects on seed germination and growth of borage seedling.

Keywords: Catalase enzyme, heavy metals, medicinal plant, peroxidase enzyme, seedling growth.

* Corresponding author E-mail: sheikhzadehmp@gmail.com Tel: +98 914 354 3018

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

گیاه دارویی گاوزبان اروپایی (*Borago officinalis* L.) گیاهی یکساله از خانوادهٔ گاوزبان[1] است. این گیاه افزون بر خواص دارویی، خواص چند صنعتی و علوفه ای چندی نیز دارد که سبب افزایش اهمیت آن شده است. این گیاه امروزه در بیشتر نقاط جهان به منظور استفاده‌های درمانی پرورش می‌یابد، به این صورت که از گلبرگ‌ها و سرشاخه‌های این گیاه به‌عنوان آرام‌بخش، معرق، ضد سرفه و التهاب‌های ریه، تقویت قلب و اعصاب استفاده می‌شود. دانه‌های گاوزبان به‌عنوان یکی از منابع اصلی اسید چرب گامالینولئیک اسید است که کاربردهای خوراکی و آرایشی دارد (Salehi Sormagi, 2009).

فلزهای سنگین از عمده‌ترین آلاینده‌های محیطی به‌شمار می‌آیند که سمیت آن‌ها به دلایل اکولوژیکی، تکاملی، تغذیه‌ای و محیطی مشکل بزرگی به‌شمار می‌رود. تجمع این فلزات به دلیل ایجاد سمیت در خاک‌های کشاورزی می‌تواند، تولید گیاهان زراعی به‌ویژه گیاهان دارویی را تحت تأثیر قرار داده و منجر به کاهش رشد، عملکرد و کیفیت این گیاهان شود (Amani, 2008). کادمیوم به دلیل سمیت بالا و حل شدن سریع و آسان در آب به‌عنوان یکی از مهم‌ترین فلزهای سنگین آلوده‌کنندهٔ زنجیرهٔ غذایی به شمار می‌رود. این فلز به‌آسانی توسط یاخته‌های گیاهان مختلف جذب می‌شود (Lyne *et al*., 2007). کادمیوم جذب‌شده در ریشه از راه آوند چوبی و از مسیر آپوپلاست به اندام‌های هوایی منتقل می‌شود و همچنین قابلیت حرکت در آوندهای آبکش را دارد (Verret *et al*., 2004). این فلز سبب ایجاد بسیاری از تغییرپذیری‌های ریخت‌شناختی (مورفولوژیکی)، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و ساختاری در گیاهان می‌شود که می‌توان به کاهش رشد به‌ویژه رشد ریشه، اختلال در جذب آب و در نتیجه تأثیر شدید بر وزن تر و خشک گیاهچه‌ها اشاره کرد (Mishra *et al*., 2006). در مرحلهٔ جوانه‌زنی و سبز شدن، کادمیوم موجب کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی، شاخص توان، وزن خشک گیاهچه (Munzuroglu & Geckil, 2002; Aziz Khan *et al*., 2012)، کاهش طول ساقه‌چه (Zhang *et al*., 2010; Siddhu & Ali Khan, 2012) و ریشه‌چه (Dinakar *et al*., 2009) می‌شود. همچنین این فلز می‌تواند منجر به ایجاد تنش اکسایشی (اکسیداتیو) و تولید انواع اکسیژن‌های فعال مانند سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیل در گیاهان شود. این اکسیژن‌های فعال به‌طورمعمول با ایجاد آسیب‌های غشایی، فرآیندهای مختلف یاخته‌ای را دچار اختلال می‌کنند (Pereira *et al*., 2002; Zhang *et al*., 2009). Kiran & Sahin (2006) در نتایج بررسی خود نشان دادند، جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های عدس به‌شدت تحت تأثیر فلز سنگین کادمیوم قرار گرفت و شمار گیاهچه‌های غیرطبیعی در این شرایط افزایش یافت. در بررسی که توسط Egharevba & Omoregie (2010) در مورد تأثیر وجود کادمیوم بر قوهٔ نامیهٔ لوبیا چشم‌بلبلی (*Vigna sinensis*) انجام شد، مشخص شد که درصد جوانه‌زنی و طول ساقه‌چه کاهش یافت. همچنین آنان اظهار کردند که غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم می‌تواند درصد بذرهای زنده را تا حدود ۵۰ درصد کاهش دهد. Thamayanthi *et al*. (2011) با بررسی تأثیر کادمیوم بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های آهار (*Zinnia elegans*) به این نتیجه رسیدند که در همهٔ سطوح تنش کادمیوم، کاهش جوانه‌زنی و فراسنجه‌های رشد مانند طول ریشه‌چه و ساقه‌چه رخ می‌دهد. بنابراین به‌کار بردن روش‌هایی که بتواند موجب غلبه بر تأثیر منفی تنش‌های محیطی از جمله فلزهای سنگین شده و از جذب آن‌ها توسط گیاه جلوگیری کند، اهمیت بسیاری دارد.

روش‌های چندی برای بهبود جوانه‌زنی و کاهش تأثیر منفی تنش‌های محیطی وجود دارد که یکی از این روش‌ها استفاده از پیش‌تیمار بذر (Seed priming) است که یک روش اقتصادی، ساده و قابل توصیه به کشاورزان برای بهبود جوانه‌زنی، سبز شدن، استقرار گیاهچه‌ها و تولید محصول است (Harris *et al*., 1999). پیش‌تیمار بذر روشی است که در آن ابتدا بذرها خیسانده شده و سپس خشکانده می‌شوند، به‌طوری‌که فرآیندهای

1. Boraginaceae

Archive of SID

www.SID.ir

جوانه‌زنی آغاز شده، ولی ریشه‌چه از بذر خارج نمی‌شود (Ashraf & Foolad, 2005). هدف از پیش‌تیمار بذر افزایش سرعت و درصد جوانه‌زنی و سبز شدن و بهبود استقرار گیاهچه‌ها حتی در شرایط نامساعد محیطی است (Ansari *et al*., 2012). بذرهای پیش‌تیمارشده نسبت به بذرهای شاهد سریع‌تر جوانه زده و مراحل مختلف زیستی خود را نیز سریع‌تر کامل می‌کنند. به‌طوری‌که آسیب وارده در شرایط نامساعد محیطی به بذرهای پیش‌تیمارشده در حال جوانه‌زنی و گیاهان به‌دست‌آمده از آن‌ها، کاهش خواهد یافت (Soltani *et al*., 2011). پیش‌تیمار بذر از راه افزایش فعالیت آنزیم‌های پاداکسنده (آنتی‌اکسیدان) مانند کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون ریداکتاز و دیگر آنزیم‌ها باعث حذف و غیرفعال شدن انواع فعال اکسیژن می‌شوند (Bailly, 2004). Hus & Sung (1997) در نتایج بررسی خود گزارش کردند که با پیش‌تیمار کردن بذرهای هندوانه (*Citrullus lanatus*) میزان فعالیت آنزیم‌های پاداکسنده در بذر افزایش می‌یابد که این آنزیم‌ها پراکسیداسیون لیپیدها را در فرآیند جوانه‌زنی کاهش می‌دهند و در نتیجه باعث افزایش درصد جوانه‌زنی می‌شوند.

در بین روش‌های مختلف پیش‌تیمار بذر، ساده‌ترین و ارزان‌ترین روش، استفاده از پیش‌تیمار با آب (Hydropriming) است. در این روش، بذرها بدون استفاده از هیچ مادهٔ شیمیایی و تنها با آب خالص برای مدت‌های معین تیمار می‌شوند (Zhang *et al*., 2010; Thamayanthi *et al*., 2011). پیش‌تیمار بذر با آب از راه کاهش مدت لازم برای جذب آب، موجب بهبود جوانه‌زنی، سبز شدن و استقرار سریع و مطلوب گیاهچه‌ها در دامنهٔ گسترده‌ای از شرایط محیطی می‌شود (Rowse *et al*., 2001). از سویی پیش‌تیمار بذر با آب امکان نگهداری را در انبار تا زمان کاشت نسبت به بذرهای تیمارنشده افزایش می‌دهد (Simth & Cobb, 1991). سودمندی اثرگذاری پیش‌تیمار بذر با آب بر جوانه‌زنی، رشد و استقرار گیاهچه‌های ناشی از بذرهای گندم (*Triticum aestivum*) (Sheikhzadeh mosaddegh *et al*., 2014)، ذرت (*Zea mays*) (Ashraf & Rauf, 2001)، زیرهٔ سبز (*Cuminam cyminum* L.) (Jabbari *et al*., 2010) و چاودار کوهی (*Secale montanum*) (Tavakkol Afshari *et al*., 2012) گزارش شده است.

با توجه به اینکه فلزهای سنگین یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی در بوم‌نظام (اکوسیستم)های زراعی امروزی به شمار می‌آید، افزون بر اینکه منجر به کاهش رشد و تولید گیاهان شود، می‌تواند سلامت انسان را به خطر انداخته و باعث بروز مسمومیت شود. بنابراین یافتن روش‌های جلوگیری یا کاهش تأثیر زیانبار ناشی از فلزهای سنگین مانند کادمیوم همواره مورد توجه محققان بوده است. بنابراین، این پژوهش به منظور بررسی تأثیر پیش‌تیمار با آب بر مؤلفه‌های جوانه‌زنی، رشد و فعالیت آنزیم‌های پاداکسندهٔ گیاهچه‌های به‌دست‌آمده از بذرهای گاوزبان اروپایی در شرایط تنش کادمیوم انجام شد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تأثیر پیش‌تیمار با آب بر درصد و سرعت جوانه‌زنی بذر، رشد گیاهچه‌ها و فعالیت آنزیم‌های پاداکسنده در گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل بر پایهٔ طرح کامل تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه بذر دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۳۹۴ اجرا شد. عامل‌های آزمایش شامل تنش کادمیوم در چهار سطح (S_1، S_2، S_3 و S_4: به ترتیب ۰ (شاهد)، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم کادمیوم در لیتر آب مقطر) و پیش‌تیمار با آب در چهار سطح (۰ (شاهد)، ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت) بود. در آغاز بذرها به چهار قسمت مساوی تقسیم شد و یک نمونه با رطوبت حدود ۱۰ درصد به‌عنوان شاهد درون کیسه‌های پلاستیکی در دمای ۳ تا ۵ درجهٔ سلسیوس در یخچال نگهداری شد. سه نمونهٔ دیگر در اتاقک رشد (انکوباتوری) با دمای ۱۰ درجهٔ سلسیوس به مدت‌های ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت درون آب مقطر خیسانده شدند. سپس بذرهای تیمارشده، در دمای آزمایشگاه خشک شد. برای انجام آزمون جوانه‌زنی، در آغاز سه تکرار ۲۵ بذری به‌طور تصادفی از هر نمونه جدا شد و درون پتری‌دیش به روش روی کاغذ (Top of paper) کشت شدند. سپس

Archive of SID

www.SID.ir

سطوح مختلف تنش کادمیوم (S_1، S_2، S_3 و S_4: به ترتیب ۰ (شاهد)، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم کادمیوم در لیتر آب مقطر) با استفاده از $Cd(NO_3)$ اعمال شد. برای تیمار شاهد از آب مقطر استفاده شد. پس از این مرحله نمونه‌ها به ژرمیناتوری با دمای۲۰ درجهٔ سلسیوس منتقل شدند. شمار بذرهای جوانه‌زده به‌صورت روزانه تا ده روز شمارش شده و ظهور ریشه‌چه به اندازهٔ ۲ میلی‌متر به‌عنوان معیاری برای جوانه‌زنی بذرها در نظر گرفته شد. پس از پایان مدت جوانه‌زنی، شمار جوانه‌های عادی و غیرعادی و درصد جوانه‌زنی بذرها تعیین شد. برای تعیین سرعت جوانه‌زنی از رابطهٔ زیر استفاده شد (Ellis & Roberts, 1980):

$$\overline{R} = \frac{\sum n}{\sum D.n}$$

در این رابطه $\overline{R}$ میانگین سرعت جوانه‌زنی، D شمار روزهای سپری‌شده از آغاز آزمایش و n شمار بذرهای جوانه‌زده در روز مورد نظر است. در پایان آزمون جوانه‌زنی (۱۰ روز)، طول گیاهچه‌های عادی با استفاده از خط‌کش با دقت ۱ میلی‌متر اندازه‌گیری شد. شاخص طولی و شاخص وزنی توان با استفاده از روابط زیر محاسبه شد (ISTA, 2010):

شاخص طولی توان (cm) =

(میانگین طول گیاهچه) × جوانه‌زنی استاندارد (٪)

شاخص وزنی توان (mg) =

(میانگین وزن خشک گیاهچه) × جوانه‌زنی استاندارد (٪)

برای تهیهٔ عصارهٔ آنزیمی از روش Chang & Koa (1988) استفاده شد. به منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز حدود ۰/۸ گرم مادهٔ تر گیاهی از هر نمونه درون نیتروژن مایع و با استفاده از هاون چینی به‌طورکامل پودر شده و پس از آن ۶ میلی‌لیتر بافر استخراج (Tris-HCL ۰/۰۵ مولار (pH=۷)، $MgCl_2$ ۳ میلی‌مولار و EDTA ۱ میلی‌مولار) به آن اضافه شد. محلول به‌مدت ۲۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجهٔ سلسیوس سانتریفوژ شد. سپس، محلول رویی برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز تا زمان استفاده در فریزر۷۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند.

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز از روش Aebi (1984) استفاده شد که بر پایهٔ تجزیهٔ پراکسید هیدروژن توسط این آنزیم استوار است. مخلوط واکنش شامل ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷)، ۱۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر عصارهٔ آنزیمی بود. پس از اضافه کردن عصاره، کاهش جذب در طول‌موج ۲۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه طیف‌سنج نوری (اسپکتروفتومتر) اندازه‌گیری شد (Alisoltani *et al.* 2011). از محلول بلانک که شامل همهٔ مواد واکنش به‌جز عصارهٔ آنزیمی بود، برای صفر کردن دستگاه طیف‌سنج نوری استفاده شد. برای سنجش میزان فعالیت این آنزیم از رابطهٔ زیر استفاده شد:

$$\text{Unit/ ml enzyme extract} = \frac{(\Delta A240nm)(3)(df)}{(40)(0.03)}$$

در این رابطه، df بیان‌کنندهٔ عامل رقیق‌سازی، عدد ۳ نشان‌دهندهٔ حجم محلول موردسنجش برحسب میلی‌لیتر، ۰/۰۵ نشان‌دهندهٔ حجم عصارهٔ آنزیمی، عدد ۴۰ بیان‌کنندهٔ ضریب خاموشی پراکسید هیدروژن و ΔA۲۴۰ بیان‌کنندهٔ عدد خوانده‌شده توسط طیف‌سنج نوری در طول‌موج ۲۴۰ نانومتر است. عدد به‌دست‌آمده بیان‌کنندهٔ میزان فعالیت آنزیم برحسب هر واحد از آنزیم است.

فعالیت آنزیم پراکسیداز به روش Chance & Maehly (1955) اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری فعالیت این آنزیم بر پایهٔ تشکیل تتراگایاکول از گایاکول در حضور پراکسید هیدروژن است. مخلوط واکنش شامل ۳ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷)، ۵۰ میکرولیتر گایاکول ۲۰ میلی‌مولار، ۵۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر عصارهٔ یاخته‌ای بود. پس از اضافه کردن عصارهٔ یاخته‌ای، کاهش جذب در طول‌موج ۴۷۰ نانومتر به مدت یک دقیقه با استفاده از دستگاه طیف‌سنج نوری اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی (ε=26.6 $mM^{-1}cm^{-1}$) برای تتراگایاکول و با استفاده از رابطهٔ زیر برحسب واحد در میلی‌لیتر عصارهٔ آنزیمی محاسبه شد.

Archive of SID

www.SID.ir

$$\text{Unit/ ml enzyme extract} = \frac{(\Delta A470nm)(3)(df)}{(26.6)(0.03)}$$

که در آن، ΔA470 میزان جذب خوانده‌شده از هر نمونه توسط طیف‌سنج نوری، سه میزان حجم واکنش، df ضریب رقت که از روش تقسیم حجم نهایی واکنش مورد استفاده یعنی ۳ میلی‌لیتر (۳۰۰۰ میکرو لیتر) بر حجم اولیهٔ عصارهٔ آنزیمی مورد استفاده یعنی ۵۰ میکرولیتر محاسبه می‌شود، ۲۶/۶ ضریب خاموشی تتراگایاکول و ۰/۰۵ هم‌حجم عصارهٔ آنزیمی مورد استفاده برحسب میلی‌لیتر است.

تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (Ver 9.1) انجام گرفت. عادی بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون غیر فراسنجه‌ای کولموگروف-اسمیرنوف و نرم‌افزار آماری SPSS (Ver 16) ارزیابی شد. مقایسهٔ میانگین‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel 2010 استفاده شد.

نتایج و بحث

درصد جوانه‌زنی

نتایج به‌دست‌آمده از تجزیهٔ واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد، درصد جوانه‌زنی، به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر سطوح تنش کادمیوم، پیش‌تیمار با آب و نیز اثر متقابل تنش کادمیوم × پیش‌تیمار با آب قرار گرفت. در شرایط بدون تنش، میانگین درصد جوانه‌زنی بذرهای پیش‌تیمارشده به مدت ۴۸ ساعت به‌طور معنی‌داری بیشتر از بذرهای شاهد بود. اما با بذرهای پیش‌تیمارشده به مدت ۲۴ ساعت اختلاف معنی‌داری نشان ندادند (شکل ۱). با افزایش شدت تنش کادمیوم از ۵۰ به ۱۰۰ میلی‌گرم کادمیوم در لیتر آب، درصد جوانه‌زنی بذرهای شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت، درحالی‌که در این شرایط کاهش درصد جوانه‌زنی در بذرهای پیش‌تیمارشده به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت معنی‌دار نبود. تحت تنش S_2 و S_4 درصد جوانه‌زنی بذرهای پیش‌تیمارشده به‌طور معنی‌داری بیشتر از بذرهای شاهد به دست آمد. همچنین در این شرایط، بین مدت زمان‌های پیش‌تیمار با آب در این صفت اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. کمترین درصد جوانه‌زنی، در شرایط تنش S_4 در بذرهای شاهد به دست آمد (شکل ۱). کاهش جوانه‌زنی می‌تواند به علت تجمع کادمیوم در یاخته و در نتیجه تمایل ترکیبی آن با گروه سولفیدریل پروتئین‌ها بوده و موجب کاهش ساخت (سنتز) و تولید پروتئین‌های ساختمانی و مورد نیاز در فرآیندهای رشد، تقسیم یاخته‌ای و جوانه‌زنی می‌شود (Siddhu & Ali Khan, 2012). در پژوهش انجام‌شده توسط Egharevba & Omoregie (2010) روی لوبیا چشم‌بلبلی و Kiran & Sahin (2006) روی عدس (*Lens culinaris*) تحت اثر کادمیوم مشخص شد که درصد جوانه‌زنی بذرها به‌شدت تحت تأثیر کادمیوم قرار گرفت و شمار گیاهچه‌های غیرطبیعی در این شرایط افزایش یافت. اما پیش‌تیمار بذرها با آب می‌تواند منجر به افزایش درصد جوانه‌زنی در شرایط بدون تنش (S_1) و تنش شدید کادمیوم (S_4) شود، جوانه‌زنی سریع، یکنواخت و کامل بذرها، موجب سبز شدن مطلوب و رشد اولیهٔ سریع گیاهچه‌ها می‌شود. رشد اولیهٔ مطلوب نیز منجر به دریافت بیشتر نور خورشید و افزایش عملکرد می‌شود (Rabie & Bayat, 2008).

جدول ۱. تجزیهٔ واریانس تأثیر تنش کادمیوم و پیش‌تیمار با آب بر صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی بذرهای گاوزبان اروپایی

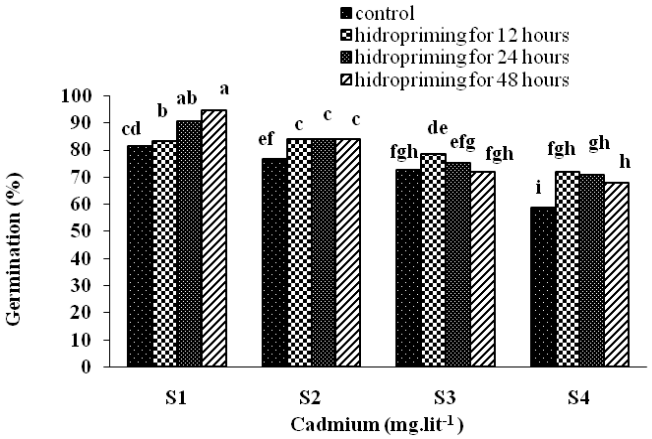
Table 1. Analysis of variance of cadmium stress and hydropriming effects on physiological and biochemical traits of borage seeds

S.O.V	df	Mean of Squares							
		Germination percentage	Germination rate	Seedling dry weight	Seedling length	Weight index	Length index	Catalase activity	Peroxidase activity
Cadmium	3	1051.63^{**}	0.8^{**}	$4\times10^{-4**}$	50.11^{**}	6913606.26^{**}	576286.06^{**}	0.003^{**}	236.7^{**}
Hidropriming	3	192.97^{**}	0.07^{**}	$1\times10^{-3**}$	6.65^{**}	13791630.5^{**}	63219.43^{**}	0.011^{**}	1525.9^{**}
Cadmium × Hidropriming	9	25.71^{**}	0.006^{**}	$1\times10^{-5\ ns}$	2.12^{**}	333985.65^{**}	12269.6^{**}	$9\times10^{-4**}$	1.8^{**}
Error	32	6.58	0.001	6×10^{-5}	0.13	482811.75	1115.5	2×10^{-7}	0.6
C.V. (%)		3.27	10.52	9.5	5.92	10.11	6.7	0.75	0.88

ns and **: non significant and significant at 1% level, respectively. ns و **: به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد.

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱. تأثیر مدت پیش‌تیمار بذر با آب بر درصد جوانه‌زنی بذرهای گاوزبان اروپایی در شرایط تنش کادمیوم.

S_1، S_2، S_3 و S_4: به ترتیب ۰، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم کادمیوم در لیتر آب.

میانگین‌های دارای دست‌کم یک حرف مشترک، بر پایهٔ آزمون چند دامنه‌ای دانکن از نظر آماری با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند.

Figure 1. The effects of hidropriming duration on the germination of borage seeds under cadmium stress

S_1, S_2, S_3 and S_4: 0, 10, 50 and 100 mg.lit^{-1} cadmium, respectively.

Means followed by the same letters are not significantly different ($p \leq 0.05$), at 5% probability level based on Duncan's multiple range.

به‌رغم کاهش درصد جوانه‌زنی در شرایط تنش کادمیوم، پیش‌تیمار با آب این اثرگذاری را تا حدی بهبود بخشید. به‌طوری‌که پیش‌تیمار با آب در شرایط تنش شدید کادمیوم (S_4) درصد جوانه‌زنی بذرها را در حدود ۱ تا ۱/۵ برابر افزایش داد (شکل ۱). بهبود درصد جوانه‌زنی در نتیجه اجرای پیش‌تیمار بذر به‌احتمال ناشی از فعال شدن سازوکارهای ترمیمی و فرآیندهای سوخت‌وسازی (متابولیکی) است که در فرآیند جذب آب رخ می‌دهد (Siddhu & Ali Khan, 2012).

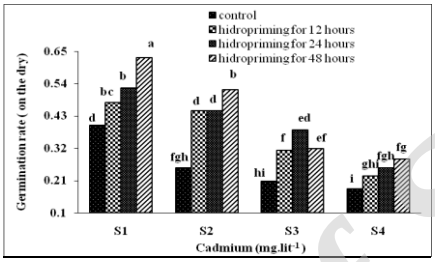
سرعت جوانه‌زنی

تأثیر سطوح تنش کادمیوم، پیش‌تیمار با آب و نیز اثر متقابل تنش × پیش‌تیمار با آب روی صفت سرعت جوانه‌زنی معنی‌دار بود (جدول ۱). تنش کادمیوم موجب کاهش سرعت جوانه‌زنی در بذرهای شاهد و پیش‌تیمارشده، گردید (شکل ۲). Munzuroglu & Geckil (2002) در بذرهای گندم و Bahmani *et al.* (2012) در بذرهای لوبیا، کاهش سرعت جوانه‌زنی در اثر کادمیوم را گزارش کردند. در شرایط بدون تنش و اعمال تنش S_2، سرعت جوانه‌زنی بذرهای پیش‌تیمارشده به‌طور معنی‌داری بیشتر از بذرهای شاهد به دست آمد به‌طوری‌که، بیشترین و کمترین سرعت جوانه‌زنی به ترتیب در بذرهای پیش‌تیمارشده به مدت ۴۸ ساعت و بذرهای شاهد مشاهده شد (شکل۲). همچنین با اعمال تنش S_3 (۵۰ میلی‌گرم کادمیوم در لیتر آب) سرعت جوانه‌زنی بذرهای پیش‌تیمارشده به‌طور معنی‌داری بیشتر از بذرهای شاهد به دست آمد. در این شرایط بیشترین سرعت جوانه‌زنی در بذرهای پیش‌تیمارشده به مدت ۲۴ ساعت به دست آمد که اختلاف معنی‌داری با بذرهای پیش‌تیمارشده به مدت ۴۸ ساعت نداشت (شکل۲). کمترین سرعت جوانه‌زنی تحت تنش ۱۰۰ میلی‌گرم کادمیوم در لیتر آب در بذرهای شاهد به دست آمد که اختلاف معنی‌داری با بذرهای پیش‌تیمارشده به مدت ۱۲ ساعت نداشت. همچنین در این شرایط بیشترین سرعت جوانه‌زنی در بذرهای پیش‌تیمارشده به مدت ۴۸ ساعت به دست آمد، اما بین مدت‌های پیش‌تیمار با آب از نظر آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل۲). در شرایط بدون تنش کادمیوم، پیش‌تیمار با آب سرعت جوانه‌زنی بذرها را نسبت به شاهد در حدود ۱/۱ تا ۱/۵ برابر افزایش داد. درحالی‌که این افزایش با اعمال تنش کادمیوم (S_2 تا S_4) در حدود ۱ تا ۲/۲ برابر بود (شکل۲). این افزایش در نتیجهٔ پیش‌تیمار با آب به‌احتمال ناشی از کوتاه کردن مدت‌زمان لازم برای جذب آب و همچنین افزایش فعالیت سوخت‌وسازی در فرآیند جذب آب است که این امر

Archive of SID

www.SID.ir

سبب می‌شود، تا بذرهای پیش‌تیمارشده حتی در شرایط تنش از لحاظ مراحل جوانه‌زنی نسبت به بذرهای شاهد پیشرفته‌تر باشند و سریع جوانه بزنند (Rowse *et al*., 2001). همچنین آنان گزارش کردند پیش‌تیمار با آب مؤثرترین روش برای افزایش سرعت جوانه‌زنی بذرهای پیاز (*Allium cepa*) است. افزایش سرعت جوانه‌زنی در نتیجهٔ اعمال پیش‌تیمار با آب، نمایانگر افزایش توان بذرهای پیش‌تیمارشده در شرایط بدون تنش و تنش کادمیوم است که این امر می‌تواند موجب بهبود سرعت رشد گیاهان و افزایش کیفیت و کمیت عملکرد شود (Sheikhzadeh mosaddegh *et al*., 2014). افزایش سرعت جوانه‌زنی نتیجهٔ پیش‌تیمار با آب در بذرهای برنج (*Oryza sativa*) (Simth & Cobb, 1991)، پیاز (Rowse *et al*., 2001) و گندم (Sivasubramaniam *et al*., 2011)، زیرهٔ سبز (Jabbari *et al*., 2010) و چاودار کوهی (Tavakkol Afshari *et al*., 2012) نیز گزارش شده است.



شکل ۲. تأثیر مدت پیش‌تیمار بذر با آب بر سرعت جوانه‌زنی بذرهای گاوزبان اروپایی در شرایط تنش کادمیوم.
S_1، S_2، S_3 و S_4: به ترتیب ۰، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم کادمیوم در لیتر آب.
میانگین‌های دارای دست‌کم یک حرف مشترک، بر پایهٔ آزمون چند دامنه‌ای دانکن از نظر آماری با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند.
Figure 2. The effects of hidropriming duration on the germination rate of borage seed under cadmium stress.
S_1, S_2, S_3 and S_4: 0, 10, 50 and 100 mg.lit^{-1} cadmium, respectively.
Means followed by the same letters are not significantly different ($p \leq 0.05$), at 5% probability level based on Duncan's multiple range.

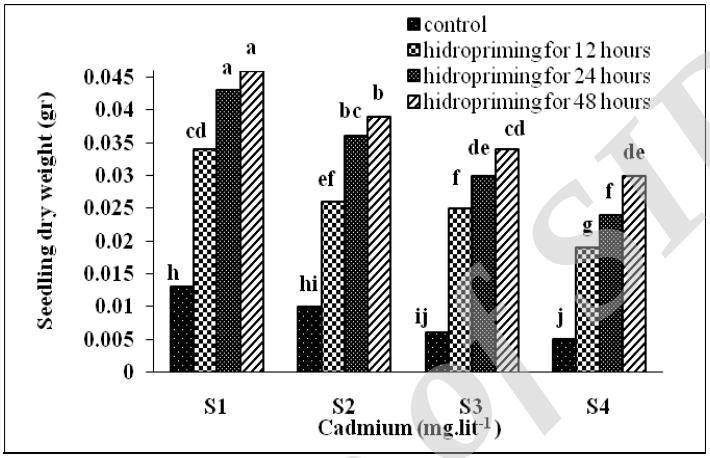
وزن خشک گیاهچه

تأثیر تنش کادمیوم، پیش‌تیمار با آب و اثر متقابل تنش کادمیوم × پیش‌تیمار با آب روی صفت وزن خشک گیاهچه‌ها معنی‌دار بود (جدول ۱). با افزایش غلظت کادمیوم وزن خشک گیاهچه‌ها به‌طور معنی‌داری کاهش یافت به‌طوری‌که کمترین میانگین وزن خشک گیاهچه‌های به‌دست‌آمده از بذرهای گاوزبان اروپایی تحت تنش ۱۰۰ میلی‌گرم کادمیوم در لیتر آب مشاهده شد که به‌طور معنی‌داری کمتر از شرایط بدون تنش بود (شکل ۳). این نتایج با یافته‌های Tiryakioglu *et al*. (2006) در جو (*Hordeum vulgare*) همخوانی دارد. کاهش وزن خشک گیاهچه‌ها تحت تنش کادمیوم توسط Aziz Khan *et al*. (2012) روی بذرهای فلفل (*Capsicum annuum* L.) و Thamayanthi *et al*. (2011) روی بذرهای آهار (*Zinnia elegans*) نیز گزارش شده است. بیشترین میانگین وزن خشک گیاهچه‌ها از بذرهای پیش‌تیمارشده به مدت ۴۸ ساعت در شرایط بدون تنش به دست آمد که به‌طور معنی‌داری بیشتر از بذرهای شاهد و بذرهای پیش‌تیمارشده به مدت ۱۲ ساعت بود. اما بین مدت‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۳). به‌طوری‌که در این شرایط، وزن خشک گیاهچه‌های به‌دست آمده از بذرهای پیش‌تیمارشده با آب را در حدود ۲/۵ تا ۳/۵ برابر افزایش داد. برتری بذرهای پیش‌تیمارشده از نظر تولید گیاهچه‌های بزرگ‌تر را می‌توان به‌سرعت جوانه‌زنی بالاتر نسبت داد. با توجه به اینکه بذرهای پیش‌تیمارشده سرعت و درصد جوانه‌زنی بالاتری نسبت به بذرهای شاهد داشتند، این امر موجب شد تا در یک‌زمان معین، سریع جوانه‌زده و مادهٔ خشک بیشتری نسبت به بذرهای شاهد تولید کنند (Shekari *et al*., 2009). با اعمال تنش کادمیوم (S_2، S_3 و S_4) پیش‌تیمار بذر با آب سبب شد تا وزن خشک گیاهچه‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش یابد، به‌طوری‌که

Archive of SID

www.SID.ir

در شرایط تنش S_2، S_3 و S_4، وزن خشک گیاهچه‌های به‌دست‌آمده از بذرهای پیش‌تیمارشده نسبت به گیاهچه‌های به‌دست‌آمده از بذرهای شاهد به ترتیب در حدود ۲/۵ تا ۴ برابر، ۴/۵ تا ۶ برابر و ۴ تا ۶ برابر بیشتر بود. بنابراین، به‌رغم کاهش وزن خشک گیاهچه‌ها در نتیجه اعمال تنش کادمیوم، پیش‌تیمار با آب بذرهای گاوزبان اروپایی موجب کاهش اثرگذاری سوء تنش کادمیوم و حتی افزایش وزن خشک گیاهچه شد (شکل ۳). اثر متقابل غلظت‌های مختلف کادمیوم و مدت‌های پیش‌تیمار با آب نشان داد، این پیش‌تیمار باعث افزایش وزن خشک گیاهچه‌های به‌دست‌آمده می شود (شکل ۳)، پیش‌تیمار بذر با آب به‌احتمال از راه افزایش فعالیت آنزیم آمیلاز موجب افزایش سرعت جوانه‌زنی و در نهایت افزایش وزن خشک گیاهچه نسبت به وزن خشک گیاهچه‌های به‌دست آمده از بذرهای شاهد شده است (Alivand *et al.*, 2011).



شکل ۳. تأثیر مدت پیش‌تیمار با آب بر وزن خشک گیاهچه‌های به‌دست‌آمده از بذرهای گاوزبان اروپایی در شرایط تنش کادمیوم.
S_1، S_2، S_3 و S_4: به ترتیب ۰، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم کادمیوم در لیتر آب.
میانگین‌های دارای دست‌کم یک حرف مشترک، بر پایهٔ آزمون چند دامنه‌ای دانکن از نظر آماری با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند.

Figure 3. The effects of hidropriming duration on the seedling dry weight of borage seed under cadmium stress
S_1, S_2, S_3 and S_4: 0, 10, 50 and 100 mg.lit^{-1} cadmium, respectively.
Means followed by the same letters are not significantly different ($p \leq 0.05$), at 5% probability level based on Duncan's multiple range.

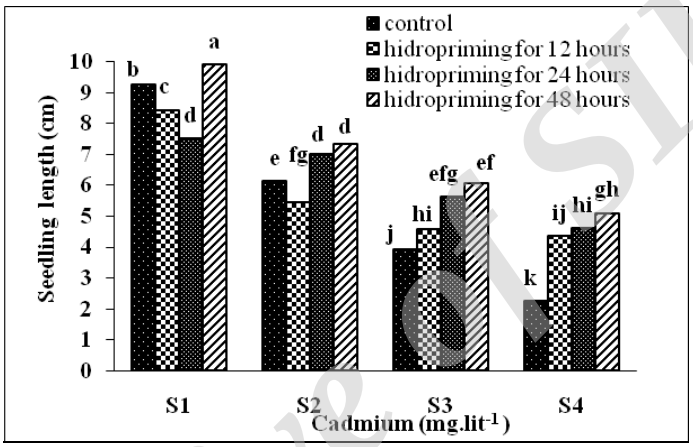
طول گیاهچه

نتایج به‌دست‌آمده از تجزیهٔ واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که طول گیاهچه‌ها به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر سطوح تنش کادمیوم، پیش‌تیمار با آب و نیز اثر متقابل تنش کادمیوم × پیش‌تیمار با آب قرار گرفت. در شرایط بدون تنش کادمیوم، طویل‌ترین گیاهچه‌ها از بذرهای پیش‌تیمارشده به مدت ۴۸ ساعت به دست آمد که به‌طور معنی‌داری بیشتر از گیاهچه‌های به‌دست‌آمده از بذرهای شاهد و دیگر پیش‌تیمارها بود (شکل ۴). با اعمال تنش کادمیوم، طول گیاهچه‌های به‌دست‌آمده از بذرهای گاوزبان کاهش یافت. کمترین طول گیاهچه‌ها در شرایط تنش ۱۰۰ میلی‌گرم کادمیوم در لیتر آب مشاهده شد. ازآنجایی‌که محل اولیهٔ تجمع کادمیوم ریشه‌چه بوده و میزانی از آن به اندام‌های هوایی منتقل می‌شود این امر موجب کاهش طول گیاهچه‌های در معرض تنش کادمیوم می‌شود. همچنین دلیل کاهش رشد گیاهچه‌ها در نتیجهٔ تیمار با فلزهای سنگین، می‌تواند در نتیجه کاهش یاخته‌های مریستمی در ناحیهٔ غشای یاخته‌ای و برخی آنزیم‌ها در لپه و یا داندرون (آندوسپرم) باشد که در نتیجه کاهش فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک به واسطهٔ فلزهای سنگین، میزان مواد غذایی رسیده به ساقه‌چه و ریشه‌چه‌ها کاهش یافته و در نتیجه طول گیاهچه‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Noorani Azad & Kafilzadeh, 2010). در شرایط تنش ۱۰ میلی‌گرم کادمیوم در لیتر آب، بیشترین طول گیاهچه‌ها از بذرهای پیش‌تیمارشده به مدت ۴۸ ساعت به دست آمد که اختلاف معنی‌داری با بذرهای پیش‌تیمارشده

Archive of SID

www.SID.ir

به مدت ۲۴ ساعت نداشت. اگرچه طول گیاهچه‌های به‌دست‌آمده از بذرهای شاهد در شرایط بدون تنش (S_1) نسبت به گیاهچه‌های به‌دست‌آمده از بذرهای پیش‌تیمارشده به مدت ۱۲ و ۲۴ ساعت و در شرایط تنش S_2 نسبت به گیاهچه‌های به‌دست‌آمده از بذرهای پیش‌تیمارشده به مدت ۱۲ ساعت بیشتر بود، اما با اعمال تنش ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم کادمیوم در لیتر آب (S_3 و S_4)، طول گیاهچه‌های به‌دست‌آمده از بذرهای شاهد به‌طور معنی‌داری کمتر از بذرهای پیش‌تیمارشده به دست آمد (شکل ۴) که علت این امر به‌احتمال ناشی از آن است که پیش‌تیمار بذر با آب از راه کاهش اثر منفی تنش کادمیوم، موجب افزایش سرعت جوانه‌زنی این بذرها و طویل شدن گیاهچه‌ها نسبت به گیاهچه‌های به‌دست‌آمده از بذرهای شاهد شده است. بنابراین هرچه بذرها سرعت جوانه‌زنی بالاتری داشته باشند، گیاهچه‌های به‌دست‌آمده طویل‌تر و وزن خشک بیشتری خواهند داشت، که این امر موجب استقرار بهتر و تولید گیاهچه‌های قوی‌تری می‌شود (Shekari *et al.*, 2010).



شکل ۴. تأثیر پیش‌تیمار با آب بر طول گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی در شرایط تنش کادمیوم.

S_1، S_2، S_3 و S_4: به ترتیب ۰، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم کادمیوم در لیتر آب.

میانگین‌های دارای دست‌کم یک حرف مشترک، بر پایهٔ آزمون چند دامنه‌ای دانکن از نظر آماری با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند.

Figure 4. The effects of hidropriming duration on the seedling length of borage seed under cadmium stress

S_1, S_2, S_3 and S_4: 0, 10, 50 and 100 mg.lit^{-1} cadmium, respectively.

Means followed by the same letters are not significantly different ($p \leq 0.05$), at 5% probability level based on Duncan's multiple range.

شاخص وزنی و شاخص طولی

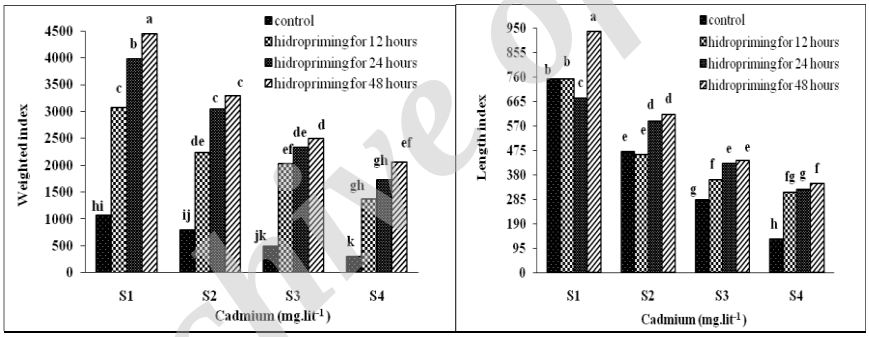
شاخص وزنی و طولی از نظر آماری تحت تأثیر سطوح تنش کادمیوم و پیش‌تیمار با آب و اثر متقابل سطوح تنش کادمیوم× پیش‌تیمار با آب قرار گرفت (جدول۱). همان‌طور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود، با افزایش شدت تنش کادمیوم شاخص وزنی، کاهش یافت. کمترین و بیشترین شاخص وزنی بذرهای گاوزبان اروپایی به‌ترتیب در شرایط تنش S_4 و شرایط بدون تنش (S_1) به دست آمد (شکل ۵). در همهٔ سطوح تنش کادمیوم، شاخص وزنی بذرهای شاهد به‌طور معنی‌داری کمتر از بذرهای پیش‌تیمارشده بود. همچنین در این شرایط شاخص وزنی بذرهای پیش‌تیمارشده با افزایش مدت پیش‌تیمار بذر با آب، افزایش داشت. به‌طوری‌که بیشترین شاخص وزنی مربوط به بذرهای پیش‌تیمارشده به مدت ۴۸ ساعت بود. اما، در تیمارهای S_2 و S_3، بین پیش‌تیمار با آب به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت از نظر آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۵). پیش‌تیمار بذر با آب شاخص وزنی گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی را در شرایط بدون تنش در حدود ۳ تا ۴ برابر و در تیمارهای S_2 تا S_4 در حدود ۴ تا ۴/۵ برابر نسبت به گیاهچه‌های به‌دست آمده از بذر شاهد افزایش داد (شکل ۵).

در شرایط بدون تنش کادمیوم، بیشترین شاخص طولی در گیاهچه‌های به‌دست آمده از بذرهای پیش‌تیمارشده به مدت ۴۸ ساعت به‌دست آمد که

Archive of SID

www.SID.ir

به‌طور معنی‌داری بیشتر از دیگر گیاهچه‌های به‌دست آمده از بذرها بود (شکل ۵). در این شرایط کمترین شاخص طولی در گیاهچه‌های به‌دست آمده از بذرهای شاهد مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با شاخص طولی گیاهچه‌های به‌دست آمده از بذرهای پیش‌تیمارشده به مدت ۱۲ ساعت نداشت. با افزایش شدت تنش کادمیوم شاخص طولی بذرهای گاوزبان کاهش یافت. در گیاهچه‌های به‌دست آمده از بذرهای شاهد کاهش شاخص طولی از S_1 به S_4 معنی‌دار بود درحالی‌که، در بذرهای پیش‌تیمارشده به مدت ۱۲ ساعت کاهش در این صفت از S_3 به S_4 معنی‌دار نبود (شکل ۵). در تیمار S_2 بیشترین شاخص طولی در گیاهچه‌های به‌دست آمده از بذرهای پیش‌تیمارشده به مدت ۴۸ ساعت به‌دست آمد که اختلاف معنی‌داری با گیاهچه‌های به‌دست آمده از بذرهای پیش‌تیمارشده به مدت ۲۴ ساعت نداشت (شکل۵). اما در شرایط تنش S_3 و S_4، شاخص طولی بذرهای پیش‌تیمارشده به‌طوری معنی‌داری بیشتر از گیاهچه‌های به‌دست آمده از بذرهای شاهد به دست آمد. تأثیر مثبت پیش‌تیمار با آب روی توان بذر لوتوس توسط Artola *et al.* (2003) گزارش شده است. شاخص‌های توان بذر (طولی و وزنی) را می‌توان به‌عنوان صفاتی در نظر گرفت که با توجه به نحوهٔ محاسبهٔ آن‌ها ارزش بیشتری در بررسی‌های جوانه‌زنی دارند و بیش از صفاتی چون وزن یا طول گیاهچه به تنهایی بیانگر شرایط تودهٔ بذری هستند. شاخص توان یکی از ویژگی‌های تعیین‌کنندهٔ کیفیت بذر است. این شاخص، کیفیت بذرها را از راه اثر روی جوانه‌زنی، وزن خشک و طول گیاهچه متأثر می‌کند. گیاهچه‌هایی که شاخص توان بالاتری دارند، تنش‌های محیطی را بهتر تحمل می‌کنند و در نتیجه افزون بر داشتن درصد جوانه‌زنی بالا، گیاهچه‌های قوی و عادی نیز تولید می‌کنند (Rabie & Bayat, 2008).



شکل ۵. تأثیر مدت پیش‌تیمار با آب بر شاخص وزنی و طولی گیاهچه‌های به‌دست‌آمده از بذرهای گاوزبان اروپایی در شرایط تنش کادمیوم.

S_1، S_2، S_3 و S_4: به ترتیب ۰، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم کادمیوم در لیتر آب.

در هر شکل، میانگین‌های دارای دست‌کم یک حرف مشترک، بر پایهٔ آزمون چند دامنه‌ای دانکن از نظر آماری با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند.

Figure 5. The effects of hidropriming duration on the weight and length index of seedling borage under cadmium stress.
S_1, S_2, S_3 and S_4: 0, 10, 50 and 100 mg.lit^{-1} cadmium, respectively.
In each figure, means followed by the same letters are not significantly different ($p \leq 0.05$), at 5% probability level based on Duncan's multiple range.

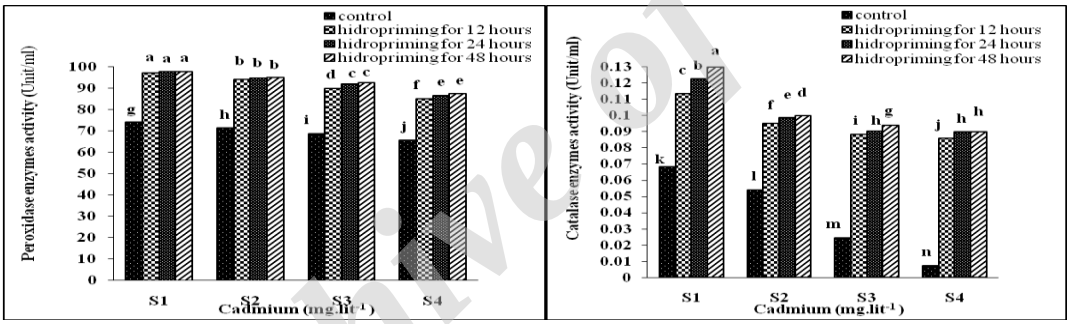
فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز

بر پایهٔ نتایج به‌دست‌آمده از تجزیهٔ واریانس داده‌ها (جدول ۱)، فعالیت آنزیم کاتالاز به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر سطوح تنش کادمیوم، پیش‌تیمار با آب و اثر متقابل تنش کادمیوم× پیش‌تیمار با آب قرار گرفت. با افزایش شدت تنش کادمیوم، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد. به‌طوری‌که بیشترین و کمترین میزان فعالیت این آنزیم به‌ترتیب تحت تیمار S_1 و S_4 به دست آمد (شکل ۶). در همهٔ سطوح تنش کادمیوم (S_1، S_2، S_3 و S_4)، میانگین فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهچه‌های به‌دست آمده از بذرهای پیش‌تیمارشده به‌طور معنی‌داری بیشتر از گیاهچه‌های به‌دست آمده از بذرهای شاهد بود (شکل ۶). همچنین

Archive of SID

www.SID.ir

در این شرایط، با افزایش مدت پیش‌تیمار بذر با آب، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. به‌طوری‌که در این شرایط، بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهچه‌های به‌دست آمده از بذرهای پیش‌تیمارشده به مدت ۴۸ ساعت به دست آمد که به‌طور معنی‌داری بیشتر از دیگر تیمارها بود (شکل ۶). درحالی‌که در شرایط تنش شدید کادمیوم (S_4)، بین گیاهچه‌های به‌دست آمده از بذرهای پیش‌تیمارشده به مدت‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در شرایط بدون تنش کادمیوم، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهچه‌های به‌دست آمده از بذرهای پیش‌تیمارشده در حدود ۱/۶ تا ۱/۸ برابر بیشتر از گیاهچه‌های به‌دست آمده از بذرهای شاهد بود. همچنین تحت تیمارهای مختلف کادمیوم، پیش‌تیمار بذر با آب موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در حدود ۳ تا ۳/۵ برابر نسبت به شاهد شد (شکل ۶). کاتالاز آنزیمی است که پراکسید هیدروژن تولیدشده در مسیرهای تنفس نوری درون پراکسیزوم‌ها را مهار می‌کند (Mittler, 2002). افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز منجر به مهار انواع اکسیژن فعال از جمله پراکسید هیدروژن می‌شود که در تنش کادمیوم تجمع می‌یابد (Zhang *et al*., 2009). نشان داده شده، کادمیوم باعث القاء نشانه‌های پیری در پراکسیزوم برگ و فعالیت سوخت‌وسازی آن می‌شود (Palma *et al*., 2002). بنابراین، به نظر می‌رسد که یاخته‌های گیاهی از راه افزایش فعالیت آنزیم‌های پاداکسندهٔ (شامل آنزیم کاتالاز) موجود در پراکسیزوم‌ها به این تغییرات ناشی از کادمیوم پاسخ می‌دهد و به‌احتمال این پاسخ فیزیولوژیکی گاوزبان در نتیجهٔ پیش‌تیمار با آب در مقایسه با شرایط بدون پیش‌تیمار بهبود یافت (شکل۶).



شکل ۶. تأثیر مدت پیش‌تیمار بذر با آب بر فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی در شرایط تنش کادمیوم.
S_1، S_2، S_3 و S_4: به‌ترتیب ۰، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم کادمیوم در لیتر آب.
در هر شکل، میانگین‌های دارای دست‌کم یک حرف مشترک، بر پایهٔ آزمون چند دامنه‌ای دانکن از نظر آماری با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند.

Figure 6. The effects of hydropriming duration on the Catalase and peroxidase enzaymes activity in the borage seedling under cadmium stress.
S_1, S_2, S_3 and S_4: 0, 10, 50 and 100 mg.lit^{-1} cadmium, respectively.
In each figure, means followed by the same letters are not significantly different ($p \leq 0.05$), at 5% probability level based on Duncan's multiple range.

بنابر نتایج به‌دست‌آمده از تجزیهٔ واریانس داده‌ها (جدول ۱) تنش کادمیوم، پیش‌تیمار بذر با آب و اثر متقابل تنش کادمیوم × پیش‌تیمار با آب روی فعالیت آنزیم پراکسیداز معنی‌دار بود. با افزایش شدت تنش کادمیوم، میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز به‌طور معنی‌داری در گیاهچه‌های به‌دست‌آمده از بذرهای گاوزبان کاهش یافت. به‌طوری‌که کمترین و بیشترین فعالیت این آنزیم مربوط به تیمارهای S_4 و S_1 است. Noorani Azad & Kafilzade (2010) نیز کاهش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز در نتیجهٔ وجود کادمیوم در گلرنگ (*Carthamus tinctorius*) را گزارش کردند. کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز همراه با افزایش غلظت کادمیوم، می‌تواند به علت کاهش در میزان پروتئین‌های گیاه در اثر سمیت این فلز و تنش اکسایشی باشد (Vajpaee *et al*., 2000). افزون بر این، علت کاهش فعالیت آنزیم‌های پاداکسنده در اثر تنش کادمیوم را می‌توان به تکمیل ظرفیت فعالیت این آنزیم‌ها برای رادیکال‌های آزاد، تأثیر منفی افزایش

Archive of SID

www.SID.ir

تولید رادیکال‌های O_2^- و NO در پراکسیزوم‌ها و همچنین تأثیر منفی احتمالی کادمیوم در تولید این آنزیم‌ها در غلظت‌های بالای کادمیوم نسبت داد (Dell rio *et al*., 2003; Cakmak, 2000).

در همهٔ سطوح تنش کادمیوم (S_1 تا S_4)، کمترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز از گیاهچه‌های به‌دست‌آمده از بذرهای شاهد به دست آمد که به‌طور معنی‌داری کمتر از گیاهچه‌های به‌دست‌آمده از بذرهای پیش‌تیمارشده، بود. به‌طوری‌که میزان فعالیت این آنزیم در گیاهچه‌های به‌دست‌آمده از بذرهای پیش‌تیمارشده در تیمار S_1 در حدود ۱/۳ برابر و در تیمارهای S_2 تا S_4 در حدود ۲/۳ تا ۲/۵ برابر بیشتر از گیاهچه‌های به‌دست آمده از بذرهای شاهد بود (شکل۶). در شرایط بدون تنش و تنش ملایم (S_2)، فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاهچه‌های به‌دست‌آمده از بذرهای پیش‌تیمارشده به‌طور معنی‌داری بیشتر از گیاهچه‌های به‌دست آمده از بذرهای شاهد به دست آمد. اما بین مدت‌های پیش‌تیمار با آب اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۶). در شرایط تنش S_3 و S_4، بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز در بذرهای پیش‌تیمارشده با آب به مدت ۴۸ ساعت به دست آمد. اما با گیاهچه‌های به‌دست آمده از بذرهای پیش‌تیمارشده با آب به مدت ۲۴ ساعت از نظر آماری اختلاف معنی‌داری نداشت (شکل ۶). Varier *et al*. (2010) گزارش کردند که پیش‌تیمار با آب باعث افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در پنبه (*Gossypium hirsutum*) شد (Schloss *et al*., 1987). در شرایط تنش‌های محیطی از جمله تنش ناشی از فلز سنگین کادمیوم، آنزیم‌های پاداکسنده مانند پراکسیداز و کاتالاز، فعال می‌شوند که این ترکیب پاداکسندگی، گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) را تجزیه می‌کنند. افزون بر این، ظرفیت پاداکسندگی گیاهان با تحمل تنش، رابطهٔ مستقیم دارند (Mittler, 2002). به‌نظر می‌رسد پیش‌تیمار بذر با آب با افزایش میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز در شرایط تنش کادمیوم در مقایسه با نبود پیش‌تیمار موجب افزایش تحمل گیاهچه گاوزبان اروپایی به تنش کادمیوم شده و در نتیجه موجب شده تا بذرها حتی در شرایط تنش کادمیوم جوانه‌زنی و رشد گیاهچهٔ مطلوب‌تری نسبت به بذرهای شاهد داشته باشند (شکل ۶). Fateh *et al*. (2009) در نخود Uonesi *et al*. (2012) در ارزن مرواریدی (*Pennisetum glaucum*) و Varier *et al*. (2010) در پنبه نیز گزارش کردند، پیش‌تیمار بذرها با آب سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز شد.

نتیجه‌گیری کلی

به‌طورکلی نتایج این پژوهش نشان داد، با افزایش شدت تنش کادمیوم، صفات مورد بررسی کاهش یافت. به نظر می‌رسد که تنش کادمیوم از راه ایجاد تنش اکسایشی و تولید رادیکال‌های آزاد موجب کاهش جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های به‌دست‌آمده از بذرهای گاوزبان اروپایی شده است. با توجه به تأثیر منفی این تنش بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های به‌دست‌آمده، پیش‌تیمار با آب از راه کوتاه کردن مدت‌زمان لازم برای جذب آب و افزایش فعالیت سوخت‌وسازی مانند افزایش فعالیت آنزیم‌های پاداکسنده در مرحلهٔ جوانه‌زنی، سبب می‌شود تا بذرهای پیش‌تیمارشده از لحاظ مراحل جوانه‌زنی نسبت به بذرهای شاهد پیشرفته‌تر باشند. این امر سبب می‌شود تا پیش‌تیمار با آب، بذر از آسیب‌های کادمیوم کاسته و فرآیند جوانه‌زنی را در برابر سمیت این فلز سنگین محافظت کند. به عبارتی انجام پیش‌تیمار بذر با آب در زمان‌های مختلف و در سطوح مختلف تنش کادمیوم از راه افزایش توان بذر و گیاهچه از تأثیر منفی تنش کادمیوم می‌کاهد و موجب بهبود ویژگی‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های به‌دست آمده، می‌شود.

REFERENCES

1. Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105, 121-126.
2. Alisoltani, A., Alizadeh, H., Mahfoozi, S. & Khayalparast, F. (2011). Effect of short and long terms cold acclimation on biochemical characteristics of spring and winter wheat (*Triricum aestivum* L.) cultivars. *Iranian Journal of Crop Science*, 4(2), 108-120. (in Farsi)
3. Alivand, R., Tavakkol Afshari, R. & Sharifzadeh, F. (2011). Effects of gibberellin, salicylic acid, and ascorbic acid on improvement of germination characteristics of deteriorated seeds of *Brassica napus*. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 439, 561-571. (in Farsi)

Archive of SID

www.SID.ir

4. Amani, A. (2008). Cadmium induced changes in pigment content, ion uptake, proline content and phospho enol pyruvate carboxylase activity in *Triticum aestivum* seedlings. *Australian Journal of Science*, 2, 57-62.
5. Ansari, O., Choghazardi, H. R., Sharif Zadeh, F. & Nazarli, H. (2012). Seed reserve utilization and seedling growth of treated seeds of mountain rye (*Secale montanum*) as affected by drought stress. *Cercetări Agronomice în Moldova*, 2(150), 43-48.
6. Artola, A., Carrillo-Castaneda, G. & Santos, G.D.L. (2003). Hydropriming: A strategy to increase *Lotus Corniculatus L*. seed vigor. *Seed Science and Technology*, 31, 455-463.
7. Ashraf, M. & Foolad, M. R. (2005). Pre-sowing seed treatment a shotgun approach to improve germination plant growth, and crop yield under saline and non-saline conditions. *Advances in Agronomy*, 88, 223-271.
8. Ashraf, M. & Rauf, H. (2001). Inducing salt tolerance in maize (*Zea mays L*.) through seed priming with chloride salts: Growth ion transport at early growth stages. *Acta Plant Physiology*, 23, 407-414.
9. Aziz Khan, H., Ziaf, K. H., Amjad, M. & Iqbal, Q. (2012). Exogenous application of polyamine improves germination and early seedling growth of hot pepper. *Childhood Journal Agriculture Research*, 72(3), 429-433.
10. Bahmani, R., Hemati, M., Habibi, D. & Forozesh, P. (2012). Evaluation of germination, root and shoot growth under cadmium stress for different bean genotypes (*Phaseolus Vulgaris* L.). *Journal of Agriculture and Plant Breeding.* 8 (4), 145-154. (in Farsi)
11. Bailly, C. (2004). Active oxygen species and antioxidants in seed biology. *Seed Science Research*, 14, 93- 107.
12. Cakmak, I. (2000). Possible roles of zinc in protecting plant cells from damage by reactive oxygen species. *New Phytologist*, 146, 185-205.
13. Chance, B. & Maehly, A. C. (1955). Assay of catalases and peroxidase. *Methods in Enzymolog*, 2, 764-775.
14. Chang, C. J. & Koa, C. H. (1988). H_2O_2 metabolism during sense scence of rice leaves changes in enzyme activities in light and darkness. *Plant Growth Regulation*, 25, 11-15.
15. Dell Rio, L. A., Copas, F. J., Sandali, L. M., Palma, J. M. & Barroso, J. B. (2003). Plant peroxisomes, reactive oxygen metabolism and nitric oxide. *IUBMB Life*, 55, 71-81.
16. Dinakar, N., Nagajyothi, P. C. Suresh, S., Damodharam, T. & 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.
17. Egharevba, M. & Omoregie, H. (2010). Effect of cadmium on seed viability of *Vigna unguiculata*. *Ethnobotanical Leaflets*, 14, 413-19.
18. Ellis, R. H. & Roberts, E. H. (1980). Towards a rational basis for testing seed quality. In: P.D. Hebblethwaite (Ed), *Seed production*. (pp. 605-635). Butterworths.
19. Fateh, H., Siosemardeh, A. & Karimpoor1, M. (2009). Effects of seed priming and sowing date on antioxidant enzymes activity and yield of chickpea under dryland condition. *Plant Production Technology*, 2, 1-16. (in Farsi)
20. Harris, D., Joshi, A., Khan, P. A., Gothkar, P. & Sodhi, P. S. (1999). On farm seed priming in semi-arid agriculture: development and evaluation in maize, rice and chickpea in India using participatorymethods. *Experiental Agricculture*, 35, 15-29.
21. Hus, J. L. & Sung, J. M. (1997). Antioxidant role of glutathione associated with accelerated aging and hydration of triploid Waremelon seeds. *Physiological plantrum*, 100, 967-974.
22. International Seed Testing Association (ISTA). (2010). International rules for seed testing, *Seed vigour testing*, Chapter 15, 1-20.
23. Jabbari, R., Amini Dehghi, M., Ganji Arjenaki, F. & Agahi, K. (2010). How duration and methods of priming may affect the germination of cumin seeds (*Cuminum cyminum* L.). *Journal of agriculture Science*, 4, 23-30. (in Farsi)
24. Kiran, Y. & Sahin, A. (2006). The effects of cadmium on seed germination, root developmentandmiotic of root tip cells of lentil (*Len culinaris* Medik). *Journal Agriculture Science*, 2(2), 196-200.
25. Lyne, M. A., Kang, Y. J., Sensi, S. L., Perdrizet, G. A. & Hightower, L. E. (2007). Heavy metal ions in normal physiology, toxic stress, and cytoprotection. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1113, 159-172.
26. Mishra, S., Srivastava, S. Tripathi, R. D., Govindarajan, R., Kuriakose, S. V. & Prasad, M. N. V. (2006). Phytochelatin synthesis and response of antioxidants during cadmium stress in *Bacopa monnieri* L. *Plant Physiology and Biochemistry*, 44, 25-37.
27. Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 7, 405-410.
28. Munzuroglu, O. & 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.

Archive of SID

www.SID.ir

29. Noorani Azad, H. & Kafilzadeh, F. (2010). The effect of cadmium toxicity on growth, soluble sugars, photosynthetic pigments and some of enzymes in safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Iranian Journal of Biology*, 6, 858-867. (in Farsi)
30. Palma, J. M., Sandalio, L. M., Corpas, F. J., Romero-Puertas, M. C., McCarthy, I. & Del Rı´o, L. A. (2002). Plant proteases, protein degradation and oxidative stress: role of peroxisomes. *Plant Physiology and Biochemistry*, 40, 521-530.
31. Pereira, G. J. G., Molina, S. M. G., Lea, P. J. & Zevedo, R. A. (2002). Activity of antioxidant enzymes in response to Cd in *Crotalaria juncea*. Plant and Soil, 239, 123-132.
32. Rabie, B. & Bayat, M. (2008). A study of seed germination and seedling growth indices of oilseed rape (*Brassica napus* L.) cultivars through seed vigour tests. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 2, 93-104. (in Farsi)
33. Rowse, H. R., Mckee, J. M. T. & Finch-Savage, W. E. (2001). Memberance priming -a method for small samples of high value seeds. *Seed Science and Technology*, 29, 587-597.
34. Salehi Sormagi, M. (2009). *Medicinal plants and herbal medicine*. Vol. 1 (3rd ed.). Donyaye taghzieh press (in Farsi)
35. Schloss, P., Walter, C. & Mader, M. (1987). Basic peroxidases in isolated vacuoles of *Nicotiana tabacum* L. *Planta*, 170, 225-229.
36. Sheikhzadeh Mosaddegh, P., Lotfi, M. & Hayati, Y. (2014). The effect of hydropriming on seed germination of wheat cultivares under salt stress. In: Proceedings of *3th national congress on organic and conventional agriculture*, 20-21 August. Mohaghegh Ardabili University, Ardabil, Iran, pp. 1-4. (in Farsi)
37. Shekari, F., Baljani, R., Afsahi, J., Kamran, S. & Shekari, F. (2009). Effect of seed priming with salicylic acid on growth characteristics of borage plants (*Borago officinalis*) seedlings. *Agroecology Journal*, 18, 47-53. (in Farsi)
38. Shekari, F., Baljani, R., Saba, J., Afsahi, K. & Shekari, F. (2010). Effect of seed priming with salicylic acid on growth characteristics of borage (*Borago officinalis* L.) plants seedlings. *Journal New Agriculture Sciences*, 6, 47-53.
39. Siddhu, G. & Ali Khan, M. A. (2012). Effects of cadmium on growth and metabolism of *Phaseolus mungo*. *Journal of Environmental Biology*, 33, 173-179.
40. Simth, P. T. & Cobb, B. G. (1991). Physiological and enzymatic activity of pepper seeds during priming. *Plant Physiology*, 82, 433-439.
41. Sivasubramaniam, K., Geetha, R., Sujatha, K., Raja, K., Sripunitha, A. & Selvarani, R. (2011). Seed Priming: Triumphs and Tribulations. *Madras Agriculture Journal*, 98 (7-9), 197-209.
42. Soltani, A., Aliade, A., Mahfuzi, H., & Khialparast, F. (2011). Effect of short and long terms cold acclimation on biochemical characteristics of spring and winter wheat (Triricum aestivum L.) cultivars. *Iranian Journal of Crop Science*, 4, 108-120. (in Farsi)
43. Tavakkol Afshari, R., Ansari, O., Sharifzade, F. & Shayanfar, A. (2012). The role of priming on seed reserve utilization and germination of mountain rye (*Secale montanum*) seeds under salinity stress. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 2, 181-189. (in Farsi)
44. Thamayanthi, D., Sharavanan, P. S. & Vijayaragavan, M. (2011). Effect of cadmium on seed germination, growth and pigments content of Zinnia plant. *Current Botani*, 2, 8-13.
45. Tiryakioglu, M., Eker, S., Ozkutlu, F., Husted, S. & Cakmak, I. (2006). Antioxidanmt defense system and cadmium uptake in barley genotypes differing in cadmium tolerance. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 20, 181-189.
46. Unesi, E., Bahari, A., Azadi, M. & Ansari, O. (2012). The effect of priming and aging worn on the index millet seed germination and catalas in seed *Panucum Miliaceum*. *Seed research*, 3(4), 61-70. (in Farsi)
47. Vajpayee, P., Tripathi, R. D., Rai, U. N., Ali, M. B. & Singh, S. N. (2000). Chromium (VI) accumulation reduces chlorophyll biosynthesis, nitrate reductase activity and protein content of *Nymphaea alba*. *Chemosphere*, 41, 1075-1082.
48. Varier, A., Kuriakose, A. & Dadlani, M. (2010). The subcellular basis of seed priming. *Current Science*, 99 (4), 450-456.
49. Verret, F., Gravot, A., Auroy, P., Leonhardt, N., David, P., Nussaume, L., Vavasseur, A. & Richaud, P. (2004). Overexpression of AtHMA4 enhances root-to-shoot translocation of zinc and cadmium and plant metal tolerance. *FEBS Lett*, 576, 306-312.
50. Zhang, F. Q., Zhang, H. X. & Wang, G. P. (2009). Cadmium-induced accumulationof hydrogen peroxide in the leaf apoplast of *Phaseolusaureus* and *Vicia sativa* and the roles of different antioxidant enzymes. *Journal of Hazardous Materials*, 168, 76-84.
51. Zhang, X., Fan, X., Li, C. H. & Nan, Z. H. (2010). Effects of cadmium stress on seed germination, seedling growth and antioxidativeenzymes in Achnatheruminebrians plants infected with a Neotyphodi-umendophyte. *Plant Growth Regulatory*, 60, 91-97.

Archive of SID

www.SID.ir