Improvement of seed germination, growth and biochemical characteristics of Borage (*Borago officinalis* L.) seedlings with seed priming under cadmium stress conditions

Fatemeh Mahmoudi[1], Parisa Sheikhzadeh Mosaddegh[1*], Nasser Zare[1], Behroz Esmaielpour[2]

[1.] Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Univestity of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

[2.] Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

Abstract

In order to investigate the effect of hormones and hydro-priming on seed germination, growth and biochemical characteristics of borage seedlings under cadmium stress, a factorial experiment based on a completely randomized design was carried out with three replications. The experimental factors were cadmium stress (zero as a control, 10, 50 and 100 mg/L) and seed priming (hydro-priming for 48 hours, hormone priming with 150 ppm gibberellin for 48 hours, 4 mM salicylic acid concentration for 60 hours and control (no priming)).The results showed that the percentage and rate of seed germination, seedling length and dry weight and peroxidase and catalase enzymes activity of seedling were decreased under cadmium stress, which indicates the negative effect of cadmium on seed germination, growth and antioxidant enzymes activity of borage seedling. Also, cadmium stress was led to significantly increase of proline and percentage of abnormal seedlings. Hormone and hydro-priming significantly increased the germination, growth and biochemical characteristics of borage seedlings under cadmium stress conditions. Among the primed seeds, the highest germination rate, seedling length and dry weight and proline were obtained from seeds primed with 4 mM salicylic acid for 60 hours, which was significantly higher than those of the control. Furthermore, at all levels of cadmium stresses, seed priming with 150 ppm gibberellin for 48 hours, caused increase about 2.25 to14.3 and 1.6 to1.85 fold in the activity of catalase and peroxidase enzymes respectively as compared to control. Generally, seed priming was reduced the negative effects of cadmium stress through increasing seed vigor and improving the biochemical properties of seedlings, and led to improve the seed germination and seedling growth under favorable and cadmium stress conditions.

Keywords: Antioxidant enzymes activity, Heavy metals, Hydro priming, Medicinal plant, Salicylic acid.

* Corresponding Author: sheikhzadehmp@gmail.com

Copyright©2019, University of Isfahan. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/BY-NC-ND/4.0), which permits others to download this work and share it with others as long as they credit it, but they cannot change it in any way or use it commercially.

زیست‌شناسی گیاهی ایران، سال یازدهم، شمارهٔ سی و نهم، بهار ۱۳۹۸، صفحهٔ ۴۲-۲۳
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۷/۰۴/۲۳
تاریخ بررسی مجدد: ۱۳۹۷/۰۸/۱۰، ۱۳۹۷/۱۰/۰۹
تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۷/۱۰/۳۰

بهبود جوانه‌زنی بذر، رشد و ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی (*Borago officinalis* L.) در شرایط تنش کادمیوم با استفاده از پیش‌تیمار بذر

فاطمه محمودی[۱]، پریسا شیخ‌زاده مصدق[۱*]، ناصر زارع[۱]، بهروز اسماعیل‌پور[۲]
[۱] گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکدهٔ کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
[۲] گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

چکیده

به‌منظور بررسی تأثیر پیش‌تیمارهای آبی و هورمونی بر جوانه‌زنی، رشد و شاخص‌های بیوشیمیایی گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی در شرایط تنش کادمیوم، آزمایشی به‌شکل فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. فاکتورهای آزمایشی شامل تنش صفر (شاهد)، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم‌درلیتر کادمیوم و پیش‌تیمار بذر شامل پیش‌تیمار آبی به‌مدت ۴۸ ساعت، پیش‌تیمار هورمونی با غلظت‌های ۱۵۰ پی‌پی‌ام جیبرلین به‌مدت ۴۸ ساعت و سالیسیلیک‌اسید ۴ میلی‌مولار به‌مدت ۶۰ ساعت و شاهد بودند. نتایج نشان دادند به‌کاربردن کادمیوم موجب کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی، وزن خشک و طول گیاهچه‌ها و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز می‌شود که تأثیر منفی کادمیوم بر جوانه‌زنی، رشد و فعالیت آنزیم‌های پاداکسایندهٔ گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی را نشان می‌دهد؛ همچنین تنش کادمیوم موجب افزایش پرولین و درصد گیاهچه‌های غیرطبیعی شد. پیش‌تیمار آبی و هورمونی سبب افزایش معنادار جوانه‌زنی، رشد و شاخص‌های بیوشیمیایی گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی در شرایط تنش کادمیوم شد. بین بذرهای پیش‌تیمارشده، بیشترین سرعت جوانه‌زنی، طول و وزن خشک گیاهچه و محتوای پرولین در بذرهای پیش‌تیمارشده با سالیسیلیک‌اسید ۴ میلی‌مولار به‌مدت ۶۰ ساعت مشاهده شد که به‌طور معناداری بیشتر از شاهد بود؛ علاوه‌براین، در تمام سطوح کادمیوم، پیش‌تیمار بذر با ۱۵۰ پی‌پی‌ام جیبرلین به‌مدت ۴۸ ساعت موجب افزایش ۲/۲۵ تا ۱۴/۳ برابری فعالیت آنزیم کاتالاز و ۱/۶ تا ۱/۸۵ برابری پراکسیداز نسبت به شاهد شد. به‌طورکلی، پیش‌تیمار بذر با افزایش‌دادن قدرت بذر و بهبودبخشیدن به ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاهچه‌ها از آثار منفی کادمیوم می‌کاهد و موجب بهبود جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها در شرایط مساعد و تنش کادمیوم می‌شود.

واژه‌های کلیدی: سالیسیلیک‌اسید، پیش‌تیمار آبی، فعالیت آنزیم‌های پاداکساینده، فلزات سنگین، گیاه دارویی

* نگارندهٔ مسؤول: نشانی پست الکترونیک: sheikhzadehmp@gmail.com، شمارهٔ تماس: ۰۴۵۳۱۵۰۵۱۰۴

Copyright©2019, University of Isfahan. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/BY-NC-ND/4.0), which permits others to download this work and share it with others as long as they credit it, but they cannot change it in any way or use it commercially.

مقدمه

امروزه، تنش فلزات سنگین یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی محسوب می‌شود که با ایجاد سمیت در خاک‌های کشاورزی رشدونمو گیاهان زراعی به‌ویژه گیاهان دارویی را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد و سبب کاهش رشد، عملکرد و کیفیت این گیاهان می‌شود (Amani, 2008). مقدار عناصر سنگین درنتیجهٔ فعالیت‌های شهری، صنعتی و مصرف کودهای شیمیایی حاوی فلزات سنگین افزایش می‌یابد و تجمع مقادیر زیاد آنها در خاک به جذب این عناصر توسط ریشهٔ گیاهان و انتقال آنها به اندام‌های هوایی منجر و موجب اختلال در متابولیسم و کاهش رشد گیاهان می‌شود (Lee *et al.*, 2003). افزایش غلظت فلزات سنگین ممکن است سبب تخریب ساختمان خاک، کاهش حاصلخیزی خاک و درنهایت، افت عملکرد و کیفیت محصولات (به‌علت زیادی غلظت فلزات سنگین در تولیدات کشاورزی) شود؛ درنهایت، ورود این عناصر به زنجیرهٔ غذایی سبب آسیب به سلامتی انسان می‌شود (Lee and Kim, 2000; Cheng and Huang, 2006).

کادمیوم در بین فلزات سنگین یکی از سمی‌ترین عناصر برای اندام‌های زنده محسوب می‌شود. سمیت و تجمع این فلز به دلایل اکولوژیکی، تکاملی، تغذیه‌ای و محیطی نقش مهمی در به‌مخاطره‌انداختن سلامتی انسان دارد (Megateli *et al.*, 2009; Gerami, *et al.*, 2018). کادمیوم موجود در خاک دوام زیستی زیادی دارد و سبب ایجاد بسیاری از تغییرات ریخت‌شناختی، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و ساختاری در گیاهان ازجمله لوله‌ای‌شدن برگ‌ها، کاهش متابولیسم سلولی، کاهش تنفس و تعرق، مهار فعالیت آنزیم‌ها، کاهش جذب آب و مواد معدنی و کاهش رشد ریشه و ساقه می‌شود (Mishra *et al.*, 2006). کادمیوم با تأثیر بر کلروفیل و آنزیم‌های دخیل در تثبیت CO_2 فرایند فتوسنتز و رشد گیاهان را کاهش می‌دهد (Shi and Cai, 2008) و در مرحلهٔ جوانه‌زنی و سبزشدن موجب کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی، شاخص قدرت، طول و وزن خشک گیاهچه (Aziz-Khan *et al.*, 2012) و کاهش طول ساقه‌چه (Siddhu and Khan, 2012) و ریشه‌چه (Dinakar *et al.*, 2009) می‌شود. افزایش تولید گونه‌های اکسیژن فعال (Reactive Oxygen Species) مانند سوپراکسید، پراکسیدهیدروژن و رادیکال هیدروکسیل در گیاهان و ایجاد تنش اکسیداتیو یکی دیگر از آسیب‌های مهم بافتی است که در اثر قرارگرفتن گیاهان در معرض فلزات سنگین ازجمله کادمیوم رخ می‌دهد. اکسیژن‌های فعال معمولاً با آسیب‌رساندن به غشا و مولکول‌های زیستی نظیر لیپیدها، پروتئین‌ها و نوکلئیک‌اسیدها به‌ویژه DNA فرایندهای مختلف سلولی را مختل می‌کنند (Mishra *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2009).

عناصر سنگین ازجمله کادمیوم یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی در اکوسیستم‌های زراعی امروزی محسوب می‌شوند و بنابراین، یافتن روش‌هایی برای جلوگیری‌کردن از آثار زیان‌بار آنها یا کاهش‌دادن این آثار به‌ویژه در مرحلهٔ جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها اهمیت بسیاری دارد؛

استفاده از پیش‌تیمار بذر (Priming) یکی از این روش‌هاست. پیش‌تیمار بذر روشی معمول برای بهبودبخشیدن به جوانه‌زنی و سبزشدن بذرها در شرایط تنش محیطی مانند تنش فلزات سنگین است که موجب افزایش مقاومت گیاهچه‌ها به تنش‌های یادشده می‌شود (Iqbal and Ashraf, 2007; Patade *et al*., 2011; Zanganeh *et al*., 2018). در این روش، ابتدا بذرها خیسانده و سپس خشکانده می‌شوند؛ به‌طوری که فرایندهای جوانه‌زنی آغاز می‌شوند ولی ریشه‌چه از بذر خارج نمی‌شود (Ashraf and Foolad, 2005). ازجمله فواید پیش‌تیمار بذر عبارتند از: افزایش سرعت و درصد جوانه‌زنی و سبزشدن، بهبود استقرار گیاهچه‌ها حتی در شرایط نامساعد محیطی، بازسازی و ترمیم سلول‌های آسیب‌دیده، افزایش تحمل به تنش‌های محیطی در مرحلهٔ جوانه‌زنی و سبزشدن، افزایش قدرت بذر و گیاهچه‌ها و حذف و غیرفعال‌شدن انواع گونه‌های اکسیژن فعال از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های پاداکساینده در شرایط تنش محیطی (McDonald, 2000; Ansari *et al*., 2012).

تیمارهای مختلفی ازجمله پیش تیمار هورمونی برای پیش تیمار کردن بذر ها استفاده می‌شود. هورمون‌ها و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی شامل اکسین، جیبرلین، کینتین، آبسیزیک‌اسید، پلی‌آمین‌ها، اتیلن و سالیسیلیک‌اسید به‌طور معمول برای پیش‌تیمار کردن بذرها استفاده می‌شوند (Ashraf and Foolad, 2005). سالیسیلیک‌اسید ازجمله ترکیبات فنولی است که در تعدیل پاسخ‌های گیاه به تنش‌های محیطی نقش دارد. این ترکیب که توسط ریشه تولید می‌شود در دامنهٔ وسیعی از گونه‌های گیاهی وجود دارد و در تنظیم فرایندهای جوانه‌زنی، رشدونمو، جذب یون و فتوسنتز ایفای نقش می‌کند و از طریق کاهش گونه‌های اکسیژن فعال سبب افزایش مقاومت گیاهان نسبت به تنش‌های زیستی و غیرزیستی می‌شود (El-Tayeb, 2005). پژوهشگران نشان داده‌اند سالیسیلیک‌اسید در شکستن خواب و افزایش جوانه‌زنی نقش دارد (Shakirova*et al*., 2003). جیبرلین یکی دیگر از هورمون‌های مهم رشد گیاهی است که بیشترین دخالت مستقیم را در کنترل و تسهیل جوانه‌زنی بذر دارد (Afzal *et al*., 2006). جیبرلین از طریق فعال‌سازی متابولیسم، هضم مواد ذخیره‌ای و انتقال آنها به جنین و افزایش تقسیم و رشد سلولی موجب جوانه‌زنی بذرها می‌شود. افزایش جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها با اعمال پیش‌تیمار آبی و غلظت‌های مختلف مواد تنظیم‌کنندهٔ رشد گیاهی در شرایط تنش‌های محیطی را Ansari و همکاران (۲۰۱۲) در بذرهای چاودار و Ashraf و Rauf (۲۰۰۱) در بذرهای ذرت گزارش کرده‌اند.

سازوکارهای دفاعی گیاهان برای رویارویی با خسارت‌های ناشی از تنش اکسیداتیو و حذف گونه‌های اکسیژن فعال شامل آنزیم‌های پاداکساینده و پاداکساینده‌هاست. سازوکارهای آنزیمی شامل کاتالاز، پراکسیداز، گلوتاتیون‌ردوکتاز و سوپراکسیددیسموتاز است (Tabatabaei and Ansari, 2016) و پیش‌تیمار بذر باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های پاداکساینده مانند کاتالاز و پراکسیداز در بذرها می‌شود

(Varier *et al*., 2010)؛ این آنزیم‌ها فرایند پراکسیداسیون لیپید طی جوانه‌زنی را کاهش می‌دهند و درنتیجه باعث افزایش درصد جوانه‌زنی می‌شوند. استفاده از پیش‌تیمار بذر سبب افزایش محتوای آمینواسید پرولین در شرایط تنش و غیرتنش می‌شود (Mahmoudi *et al*., 2017).

در بین گیاهان دارویی، گاوزبان اروپایی (*Borago officinalis* L.) جایگاه ویژه‌ای در طب سنتی دارد. اهمیت زیاد این گیاه از ویژگی‌های متعدد دارویی، صنعتی و علوفه‌ای آن ناشی می‌شود. امروزه، گاوزبان اروپایی در بیشتر نقاط دنیا به‌منظور استفاده‌های درمانی پرورش می‌یابد. گلبرگ‌ها و سرشاخه‌های این گیاه به‌عنوان آرام‌بخش، معرق، ضد سرفه و التهاب‌های ریه و برای تقویت قلب و اعصاب استفاده می‌شوند و دانه‌های گاوزبان یکی از منابع اصلی اسیدچرب گاما- لینولئیک‌اسید هستند که مصرف خوراکی و آرایشی دارد (Salehi Surmaghi, 2009).

باتوجه‌به اهمیت دارویی گیاه گاوزبان اروپایی و مشکلات موجود در زمینهٔ جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های آن (به‌علت حساس و بحرانی‌بودن این مراحل)، استفاده از روش‌های اعمال‌شده پیش‌از کشت روی بذر گاوزبان اروپایی یکی از راهکارهاییست که به‌طور مستقیم و غیرمستقیم بر بهبود جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه‌های این گیاه دارویی در شرایط مختلف محیطی تأثیر دارد؛ ازاین‌رو، مطالعهٔ حاضر با هدف بررسی واکنش جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی به تنش کادمیوم و بررسی امکان بهبود جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها با به‌کاربردن پیش‌تیمار آبی و هورمونی بذر در شرایط یادشده انجام شد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی تأثیر پیش‌تیمارهای هورمونی و آبی بر جوانه‌زنی، رشد و ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی در شرایط تنش کادمیوم، آزمایشی به‌شکل فاکتوریل بر پایهٔ طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در دانشگاه محقق اردبیلی اجرا شد. فاکتورهای آزمایش شامل تنش کادمیوم در چهار سطح صفر (شاهد)، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم‌درلیتر و انواع پیش‌تیمار بذر در چهار سطح پیش‌تیمار آب به‌مدت ۴۸ ساعت، پیش‌تیمار بذر با غلظت ۱۵۰ پی‌پی‌ام جیبرلین به‌مدت ۴۸ ساعت، پیش‌تیمار بذر با غلظت ۴ میلی‌مولار سالیسیلیک‌اسید به‌مدت ۶۰ ساعت و تیمار شاهد بود. غلظت و مدت زمان بهینه برای پیش‌تیمار کردن بذرهای گاوزبان اروپایی بر اساس نتایج پژوهش پیشین انتخاب شد (Mahmoudi *et al*., 2018). ابتدا بذرها به‌مدت ۴۸ ساعت درون انکوباتوری (طب آشنای ممتاز، ایران) با دمای ۱۰ درجهٔ سانتی‌گراد در آب مقطر خیسانده شدند. به‌منظور اعمال پیش‌تیمار بذر با سالیسیلیک‌اسید و هورمون جیبرلین، ابتدا محلول‌های سالیسیلیک‌اسید ۴ میلی‌مولار و هورمون جیبرلین ۱۵۰ پی‌پی‌ام تهیه شدند؛ سپس بذرها به‌مدت ۶۰ ساعت با محلول سالیسیلیک‌اسید ۴ میلی‌مولار و به‌مدت ۴۸ ساعت با محلول هورمون جیبرلین ۱۵۰ پی‌پی‌ام تیمار و در انکوباتوری با دمای ۱۰ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شدند. بذرهای پیش‌تیمارشده تا رسیدن به رطوبت اولیه در محیط آزمایشگاه خشکانده شدند.

به‌منظور انجام آزمون جوانه‌زنی، ۲۵ بذر به‌طور تصادفی و در سه تکرار از هر نمونه جدا و به روش

روی کاغذ (Top of paper) در پتری‌دیش کشت شدند. نیترات کادمیوم $Cd(NO_3)_2$ برای اعمال سطوح مختلف تنش کادمیوم استفاده و پس‌از تهیهٔ غلظت‌های صفر (شاهد)، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم‌درلیتر کادمیوم، مقدار ۴ میلی‌لیتر از محلول‌های تهیه‌شده به هر پتری‌دیش اضافه شد (برای تیمار شاهد از آب مقطر استفاده شد)؛ سپس نمونه‌ها به ژرمیناتوری با دمای ۲۰ درجهٔ سانتی‌گراد منتقل شدند. تعداد بذرهای جوانه‌زده به‌طور روزانه تا ۱۰ روز شمارش شدند و ظهور ریشه‌چه به‌اندازهٔ ۲ میلی‌متر معیاری برای جوانه‌زنی بذرها در نظر گرفته شد. پس‌از اتمام مدت جوانه‌زنی، تعداد جوانه‌های طبیعی و غیرطبیعی و درصد جوانه‌زنی بذرها تعیین شد. رابطهٔ Ellis و Roberts (۱۹۸۰) برای تعیین سرعت جوانه‌زنی استفاده شد. در پایان آزمون جوانه‌زنی (۱۰ روز)، طول گیاهچه‌های طبیعی با خط‌کش (دقت ۱ میلی‌متر) اندازه‌گیری شد. به‌منظور تعیین وزن خشک گیاهچه‌های طبیعی، ۱۵ گیاهچه از هر تیمار و تکرار به‌طور جداگانه در پاکت‌های کاغذی ریخته و به‌مدت ۲۴ ساعت در آونی با دمای ۸۰ درجهٔ سانتی‌گراد خشکانده شدند.

عصاره‌گیری برای سنجش فعالیت آنزیمی: عصارهٔ آنزیمی به روش Chang و Koa (۱۹۸۸) تهیه شد. به‌منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز، ۰/۸ گرم مادهٔ تر گیاهی از هر نمونه داخل هاون ریخته و کاملاً پودر شد؛ سپس ۶ میلی‌لیتر بافر استخراج (Tris-HCl ۰/۰۵ مولار با اسیدیتهٔ ۷، $MgCl_2$ ۳ میلی‌مولار و EDTA ۱ میلی‌مولار) به آن اضافه شد. محلول به‌مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دوردردقیقه و دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد سانتریفیوژ (Eppendorf, Germany) شد؛ پس‌از آن، محلول روشناور برای اندازه‌گیری آنزیم‌ها به فریزر منفی ۷۰ درجهٔ سانتی‌گراد منتقل شد.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز: فعالیت کاتالاز به روش Aebi (۱۹۸۴) اندازه‌گیری شد که بر پایهٔ تجزیهٔ پراکسیدهیدروژن توسط آنزیم کاتالاز است. مخلوط واکنش شامل ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (اسیدیتهٔ ۷)، ۱۰ میکرولیتر پراکسیدهیدروژن ۱۵ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر عصارهٔ سلولی بود. پس‌از اضافه‌کردن عصاره، کاهش جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (Biorad, Smart Spec, USA) اندازه‌گیری شد؛ محلول جذب زمینه (بلانک) برای صفرکردن دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده شد که شامل تمام مواد واکنش به‌جز عصارهٔ سلولی استخراج‌شده بود. رابطهٔ زیر برای سنجش میزان فعالیت این آنزیم در اثر اعمال تیمارهای محرک استفاده شد.

$$\text{Enzyme activity (Unit/ml)} = \frac{(\Delta A240nm)(3)(df)}{(40)\,(0.05)}$$

در این رابطه، df عامل رقیق‌سازی، عدد ۳ حجم محلول موردسنجش بر حسب میلی‌لیتر، ۰/۰۵ حجم عصارهٔ آنزیمی، عدد ۴۰ ضریب خاموشی پراکسیدهیدروژن و $\Delta A۲۴۰$ عدد خوانده‌شده توسط دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ۲۴۰ نانومتر را نشان می‌دهد. عدد به‌دست‌آمده میزان فعالیت آنزیم را بر حسب هر واحد آنزیم بیان می‌کند.

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز: فعالیت پراکسیداز به روش Chance و Maehly (۱۹۵۵) و بر پایهٔ تشکیل تتراگایاکول از گایاکول در حضور پراکسیدهیدروژن و گایاکول اندازه‌گیری شد.

مخلوط واکنش شامل ۳ میلی‌لیتر بافر پتاسیم‌فسفات ۵۰ میلی‌مولار (اسیدیتهٔ ۷)، ۵۰ میکرولیتر گایاکول ۲۰ میلی‌مولار، ۵۰ میکرولیتر پراکسیدهیدروژن ۱۵ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر عصارهٔ سلولی بود. پس‌از اضافه‌کردن عصارهٔ سلولی، کاهش جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر به‌مدت ۱ دقیقه با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی (ε =26.6 $mM^{-1}cm^{-1}$) تتراگایاکول بر حسب واحد در میلی‌لیتر عصارهٔ آنزیمی از طریق رابطهٔ زیر محاسبه شد.

$$\text{Enzyme activity (Unit/ ml)} = \frac{(\Delta A470nm)(3)(df)}{(26.6)(0.05)}$$

در این رابطه، $\Delta A470$ میزان جذب خوانده‌شده برای هر نمونه توسط دستگاه اسپکتروفتومتر، عدد ۳ مقدار حجم واکنش، df عامل رقیق‌سازی، ۲۶/۶ ضریب خاموشی تتراگایاکول و ۰/۰۵ حجم عصارهٔ آنزیمی استفاده‌شده برحسب میلی‌لیتر است.

سنجش مقدار پرولین: استخراج پرولین به روش Bates (۱۹۷۳) انجام شد؛ به‌این‌ترتیب که مقدار ۰/۱ گرم از نمونه در ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک‌اسید ۳ درصد ساییده و به‌مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دوردردقیقه در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. سپس در لولهٔ جداگانه‌ای ۲ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر استیک‌اسید گلاسیال خالص به ۲ میلی‌لیتر از عصارهٔ حاصل اضافه شد و لوله‌ها به‌مدت ۱ ساعت در بنماری با دمای ۱۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد قرار گرفتند؛ لوله‌ها پس‌از خارج‌شدن از بنماری و اضافه‌شدن ۴ میلی‌لیتر تولوئن به هرکدام از آنها به‌مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه ورتکس شدند. پس‌از تشکیل دو فاز جداگانه، فاز بالایی رنگی با دقت جدا و جذب نوری آن در طول موج ۵۲۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد.

پس‌از اطمینان‌یافتن از نرمال‌بودن توزیع داده‌ها، تجزیه‌های آماری و مقایسهٔ میانگین داده‌های حاصل با نرم‌افزار SAS 9.1 انجام شد. روش دانکن در سطح احتمال ۵ درصد برای مقایسهٔ میانگین‌ها استفاده شد. تجزیه واریانس داده‌ها بر اساس آزمایش فاکتوریل بر پایهٔ طرح کاملاً تصادفی (یک سویه) با سه تکرار و رسم شکل و نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

درصد جوانه‌زنی: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان می‌دهند درصد جوانه‌زنی به‌طور معناداری تحت‌تأثیر سطوح تنش کادمیوم، پیش‌تیمار بذر و اثر متقابل تنش کادمیوم×پیش‌تیمار بذر قرار دارد. تنش کادمیوم موجب کاهش درصد جوانه‌زنی بذرهای گاوزبان اروپایی از ۸۱/۳۳ درصد در تیمار شاهد به ۵۸/۶۶ درصد در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم‌درلیتر محلول کادمیوم شد (شکل ۱). کاهش درصد جوانه‌زنی ممکن است به‌علت تجمع کادمیوم در سلول و درنتیجه، میل ترکیبی آن با گروه سولفیدریل پروتئین‌ها باشد که موجب کاهش سنتز و تولید پروتئین‌های ساختمانی و موردنیاز فرایندهای رشد، تقسیم سلولی و جوانه‌زنی می‌شود (Siddhu and Shafiq .Khan, 2012) و همکاران (۲۰۰۸) و Chaudhary و Sharma (۲۰۰۹) کاهش درصد جوانه‌زنی بذرها در حضور غلظت‌های زیاد فلز سنگین کادمیوم را ناشی از تأثیر این ماده بر فعالیت آنزیم آمیلاز می‌دانند که آنزیمی کلیدی در فرایند جوانه‌زنی است. کاهش درصد جوانه‌زنی بذرها در حضور کادمیوم را Egharevba (۲۰۱۰) در لوبیا چشم‌بلبلی و Munzuroglu و Geckil (۲۰۰۲) در

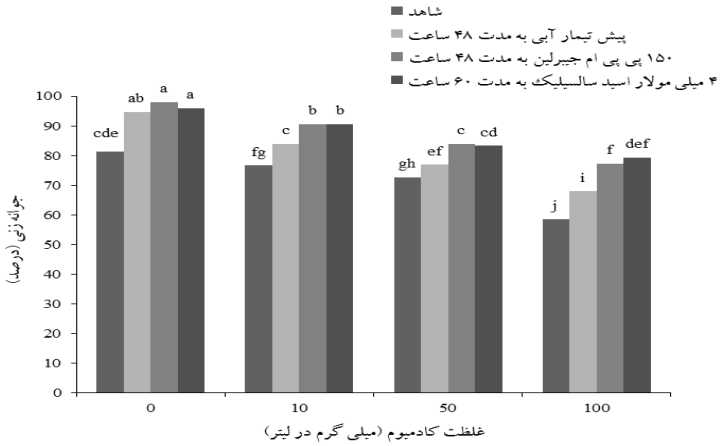
گندم و خیار گزارش کرده‌اند.

در شرایط بدون تنش کادمیوم، میانگین درصد جوانه‌زنی بذرهای پیش‌تیمارشده به‌طور معناداری بیشتر از بذرهای شاهد بود و اگرچه اختلاف معناداری ازنظر درصد جوانه‌زنی بین بذرهای پیش‌تیمارشده مشاهده نشد، درصد جوانه‌زنی بذرهای پیش‌تیمارشده با غلظت ۱۵۰ پی‌پی‌ام جیبرلین به‌مدت ۴۸ ساعت بیشترین مقدار را داشت (شکل ۱). به نظر می‌رسد هورمون جیبرلین با فعال‌سازی آنزیم آلفا- آمیلاز و هضم مواد ذخیره‌ای و تبدیل آنها به مواد قابل‌استفاده برای جنین موجب افزایش درصد جوانه‌زنی می‌شود (Yadollahi Nooshabadi and Sharifzadeh, 2015). در هر سه غلظت کادمیوم (۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم‌درلیتر) نیز افزایش درصد جوانه‌زنی بذرهای پیش‌تیمارشده در مقایسه با درصد جوانه‌زنی بذرهای شاهد معنادار بود؛ در این شرایط بین بذرهای پیش‌تیمارشده با غلظت ۴ میلی‌مولار سالیسیلیک‌اسید به‌مدت ۶۰ ساعت و بذرهای پیش‌تیمارشده با ۱۵۰ پی‌پی‌ام جیبرلین به‌مدت ۴۸ ساعت اختلاف معناداری وجود نداشت (شکل ۱). پیش‌تیمار بذر با جیبرلین در شرایط تنش سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های پاداکساینده در بذر می‌شود و این آنزیم‌ها فعالیت پراکسیداسیون لیپید طی جوانه‌زنی را کاهش می‌دهند و باعث افزایش درصد جوانه‌زنی می‌شوند (Alivand *et al.*, 2011). اگرچه کاهش درصد جوانه‌زنی بذرها با افزایش غلظت کادمیوم از ۵۰ به ۱۰۰ میلی‌گرم‌درلیتر معنادار بود، این کاهش در بذرهای پیش‌تیمارشده با غلظت ۴ میلی‌مولار سالیسیلیک‌اسید به‌مدت ۶۰ ساعت معنادار نبود (شکل ۱)؛ این امر تأثیر مثبت پیش‌تیمار بذر با سالیسیلیک‌اسید را بر جوانه‌زنی بذرهای گاوزبان اروپایی در شرایط تنش نشان می‌دهد.

جدول ۱- تجزیه واریانس آثار تنش کادمیوم و پیش‌تیمار بذر بر صفت‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی بذرهای گاوزبان اروپایی

منابع تغییر	درجهٔ آزادی	میانگین مربعات							
		درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	درصد گیاهچهٔ غیرطبیعی	طول گیاهچه	وزن خشک گیاهچه	آنزیم کاتالاز	آنزیم پراکسیداز	پرولین
تنش کادمیوم	۳	۹۸۰/۴**	۰/۰۶۳**	۲۴/۰۸**	۲۸/۷۶**	۰/۰۰۳**	۰/۰۰۳**	۲۸۴/۲**	۰/۰۶۳**
پیش‌تیمار بذر	۳	۴۰۴/۹۶**	۰/۱۵۳**	۶۵/۵۲**	۳۹/۴۹**	۰/۰۱۲**	۰/۰۰۱**	۳۸/۱۲**	۰/۱۵۳**
تنش کادمیوم×پیش تیمار	۹	۸/۲**	۰/۰۰۳**	۱۲/۸۱**	۳/۸۱*	۰/۰۰۴**	۰/۰۰۰۶**	۲/۷**	۰/۰۰۳**
خطا	۳۲	۶/۸۱	۰/۰۰۷	۵/۷۵	۱/۴۴	۰/۰۰۴	۰/۰۰۴	۰/۴۵	۰/۰۰۷
ضریب تغییرات (درصد)		۳/۲۵	۲۰/۹۷	۴/۲۳	۱۵/۰۶	۱۰/۱۱	۰/۸۸	۰/۹۲	۲۰/۹۷

* و ** به‌ترتیب معنادار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد

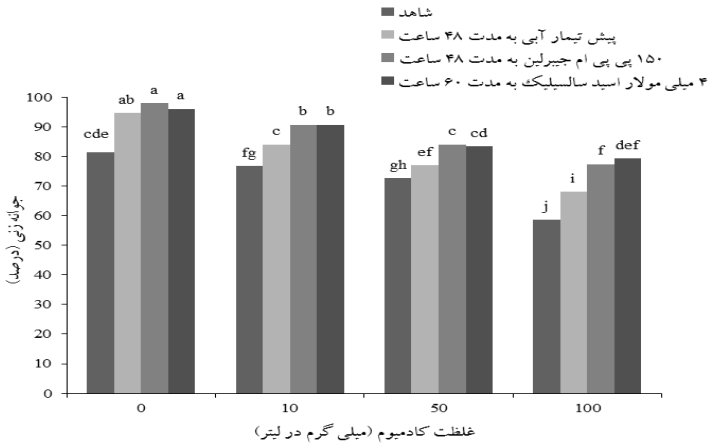


شکل ۱- تأثیر پیش‌تیمارهای بذر بر درصد جوانه‌زنی بذرهای گاوزبان اروپایی در شرایط تنش کادمیوم (حرف‌های متفاوت اختلاف معنادار در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون چنددامنه‌ای دانکن را نشان می‌دهند)

سرعت جوانه‌زنی: تأثیر سطوح تنش کادمیوم، پیش‌تیمار بذر و اثر متقابل تنش کادمیوم×پیش‌تیمار بذر روی صفت سرعت جوانه‌زنی معنادار بود. سرعت جوانه‌زنی بذرهای گاوزبان اروپایی با به‌کاربردن غلظت‌های ۱۰ تا ۱۰۰ میلی‌گرم کادمیوم حدود ۱۴/۵۱ تا ۵۴/۳۲ درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت که تأثیر منفی کادمیوم بر سرعت جوانه‌زنی بذرهای گاوزبان اروپایی را نشان می‌دهد (شکل ۲). کاهش سرعت جوانه‌زنی بذرها در اثر به‌کاربردن کادمیوم نتیجهٔ تأثیر این عنصر بر قدرت و کیفیت بذر است؛ زیرا هرچه بذر جوانه‌زنی بیشتری در زمان کمتری داشته باشد، کیفیت مطلوب و قدرت بیشتری دارد (Rabie and Bayat, 2008). طبق نظر Shafiq و همکاران (۲۰۰۸) کاهش سرعت جوانه‌زنی بذرها در اثر به‌کاربردن کادمیوم ممکن است به‌علت تجزیهٔ مواد غذایی ذخیره‌شده در دانه باشد که این امر قدرت و کیفیت بذر را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد. Munzuroglu و Geckil (۲۰۰۲) کاهش سرعت جوانه‌زنی بذرهای گندم را در اثر کادمیوم گزارش کرده‌اند.

در شرایط بدون تنش کادمیوم، سرعت جوانه‌زنی بذرهای گاوزبان اروپایی با پیش‌تیمارکردن بذرها حدود ۱/۲۶ تا ۱/۵۶ برابر نسبت به بذرهای شاهد افزایش یافت. در شرایط تنش کادمیوم نیز سرعت جوانه‌زنی بذرهای پیش‌تیمارشده به‌طور معناداری بیشتر از بذرهای شاهد بود و کمترین سرعت جوانه‌زنی در شرایط تنش در بذرهای شاهد به دست آمد (شکل ۲). افزایش سرعت جوانه‌زنی در اثر اعمال پیش‌تیمار بذر نشان‌دهندهٔ افزایش قدرت بذرهای پیش‌تیمارشده در شرایط بدون تنش و تنش کادمیوم است که این امر موجب بهبود سرعت رشد گیاهان و افزایش کیفیت و کمیت عملکرد آنها می‌شود (Ghasemi-Golezani *et al*., 2009). بیشترین سرعت جوانه‌زنی در تمام سطوح تنش کادمیوم در اثر استفاده از سالیسیلیک‌اسید ۴ میلی‌مولار به‌مدت ۶۰ ساعت حاصل شد که به‌طور معناداری بیشتر از سایر تیمارها بود (شکل ۲). پیش‌تیمار بذرها با سالیسیلیک‌اسید موجب افزایش ۱/۹ تا ۲/۱ برابری سرعت جوانه‌زنی در شرایط

اعمال تنش کادمیوم (۱۰ تا ۱۰۰ میلی‌گرم‌درلیتر) نسبت به تیمار شاهد شد. سرعت زیاد و یکنواختی جوانه‌زنی درنتیجهٔ به‌کاربردن سالیسیلیک‌اسید به‌عنوان پیش‌تیمار بذر ممکن است ناشی از افزایش فعالیت‌های متابولیکی در بذرهای تیمارشده باشد. افزایش سرعت جوانه‌زنی بر اثر پیش‌تیمار با سالیسیلیک‌اسید در بذرهای بامیه را Hussein (۲۰۱۵) و در بذرهای کلزا را Alivand و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کرده‌اند که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد.



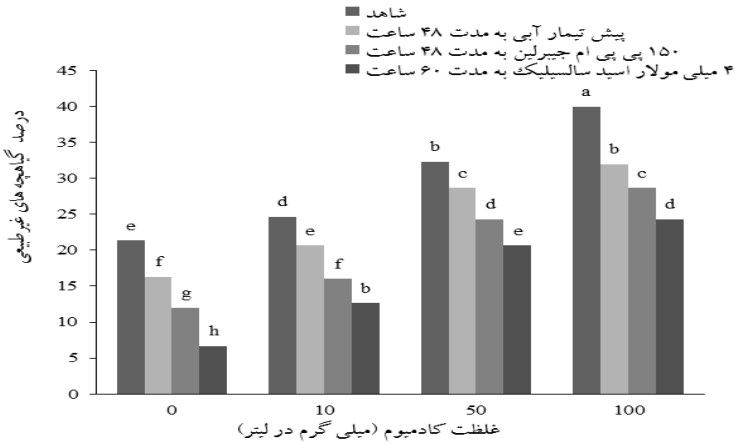
شکل ۲- تأثیر پیش‌تیمارهای بذر بر سرعت جوانه‌زنی بذرهای گاوزبان اروپایی در شرایط تنش کادمیوم (حرف‌های متفاوت اختلاف معنادار در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون چنددامنه‌ای دانکن را نشان می‌دهند)

درصد گیاهچه‌های غیرطبیعی: طبق نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) تأثیر کادمیوم، پیش‌تیمار بذر و اثر متقابل تنش کادمیوم×پیش‌تیمار روی درصد گیاهچه‌های غیرطبیعی معنادار بود و درصد گیاهچه‌های غیرطبیعی با افزایش شدت تنش کادمیوم به‌طور معناداری افزایش یافت (شکل ۳). کمترین و بیشترین درصد گیاهچه‌های غیرطبیعی به‌ترتیب به تیمارهای شاهد و غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم‌درلیتر کادمیوم مربوط بودند؛ به‌طوری‌که درصد گیاهچه‌های غیرطبیعی با به‌کاربردن غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم‌درلیتر کادمیوم حدود ۱/۱۵ تا ۳/۶۵ برابر نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت (شکل ۳). افزایش درصد گیاهچه‌های غیرطبیعی با به‌کاربردن کادمیوم در بذرهای لوبیا چشم‌بلبلی (Egharevba, 2010) و گندم و خیار (Munzuroglu and Geckil, 2002) گزارش شده است.

درصد گیاهچه‌های غیرطبیعی حاصل از بذرهای شاهد در شرایط بدون تنش کادمیوم به‌طور معناداری بیشتر از بذرهای پیش‌تیمارشده بود (شکل ۳). در شرایط بدون تنش کادمیوم، پیش‌تیمار بذر موجب کاهش ۲۳/۴۴ تا ۶۸/۷۷ درصدی گیاهچه‌های غیرطبیعی شد؛ در این شرایط، کمترین درصد گیاهچه‌های غیرطبیعی بین پیش‌تیمارهای بذری به بذرهای پیش‌تیمارشده با سالیسیلیک‌اسید ۴ میلی‌مولار به‌مدت ۶۰ ساعت مربوط بود. در تیمارهای فلز سنگین کادمیوم نیز درصد گیاهچه‌های غیرطبیعی حاصل از بذرهای پیش‌تیمارشده به‌طور معناداری کمتر از گیاهچه‌های

حاصل از بذرهای شاهد بود (شکل ۳). پیش‌تیمار بذر موجب کاهش ۱۱/۳۵ تا ۴۸/۶۶ درصدی گیاهچه‌های غیرطبیعی در شرایط تنش کادمیوم شد؛ به‌طوری‌که کمترین درصد گیاهچه‌های غیرطبیعی در بذرهای پیش‌تیمارشده با سالیسیلیک‌اسید ۴ میلی‌مولار به‌مدت ۶۰ ساعت حاصل شد (شکل ۳).

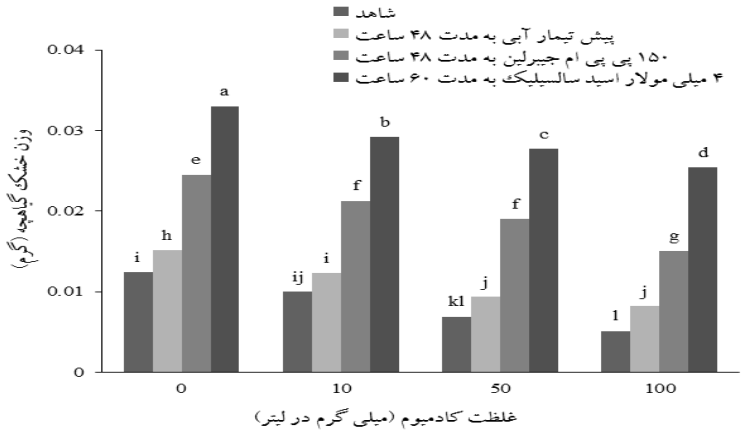
بهبود جوانه‌زنی و کاهش درصد گیاهچه‌های غیرطبیعی درنتیجهٔ اعمال پیش‌تیمار بذر احتمالاً از فعال‌شدن سازوکارهای ترمیمی و فرایندهای متابولیکی ناشی می‌شود که طی جذب آب رخ می‌دهند (Siddhu and Ali Khan, 2012).



شکل ۳- تأثیر پیش‌تیمارهای بذر بر درصد گیاهچه‌های غیرطبیعی حاصل از بذرهای گاوزبان اروپایی در شرایط تنش کادمیوم
(حرف‌های متفاوت اختلاف معنادار در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون چنددامنه‌ای دانکن را نشان می‌دهند)

وزن خشک گیاهچه: وزن خشک گیاهچه‌ها به‌طور معناداری تحت‌تأثیر تنش کادمیوم، پیش‌تیمار بذر و اثر متقابل تنش کادمیوم×پیش‌تیمار بذر قرار گرفت (جدول ۱). وزن خشک گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی با افزایش غلظت کادمیوم کاهش یافت؛ به‌طوری‌که کمترین میانگین وزن خشک گیاهچه‌ها در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم‌درلیتر کادمیوم مشاهده شد که به‌طور معناداری کمتر از شرایط بدون تنش بود (شکل ۴). علت کاهش وزن خشک گیاهچه‌ها در اثر به‌کاربردن کادمیوم احتمالاً از کاهش انتقال مواد غذایی از لپه به محور جنینی ناشی می‌شود؛ زیرا عواملی که رشد محور جنینی را تحت‌تأثیر قرار می‌دهند بر انتقال مواد غذایی از لپه به محور جنینی اثر می‌گذارند. بر اساس نظر Ramos و همکاران (۲۰۰۲) تجمع عنصر کادمیوم در ریشه‌چه یکی دیگر از دلایل کاهش وزن خشک گیاهچه‌ها در شرایط تنش این عنصر است؛ به‌شکلی‌که این مادهٔ سمی سازوکارهای فیزیولوژیکی عادی را مختل می‌کند و از این طریق بر وزن خشک گیاهچه اثر منفی می‌گذارد (Balestrasse *et al*., 2001). کاهش وزن خشک گیاهچه‌ها در شرایط تنش کادمیوم در بذرهای فلفل شیرین (Aziz-Khan *et al*., 2012)، بذرهای جو (Tiryakioglu *et al*., 2006) و بذرهای آهار (Thamayanthi *et al*., 2011) گزارش شده است که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد.

وزن خشک گیاهچه‌های حاصل از بذرهای پیش‌تیمارشده در تمام سطوح تنش کادمیوم به‌طور معناداری بیشتر (۱/۲۲ تا ۵/۰۸ برابر) از گیاهچه‌های حاصل از بذرهای شاهد بود و در این شرایط، وزن خشک گیاهچه‌های حاصل از بذرهای پیش‌تیمارشده با سالیسیلیک‌اسید ۴ میلی‌مولار به‌مدت ۶۰ ساعت به‌طور معناداری بیشتر از سایر تیمارهای بذری بود؛ کمترین وزن خشک گیاهچه‌ها در گیاهچه‌های حاصل از بذرهای شاهد مشاهده شد (شکل ۴). پیش‌تیمار بذر با کم‌کردن مدت زمان لازم برای جذب آب موجب افزایش سرعت جوانه‌زنی بذرها و درنتیجه، تولید گیاهچه‌های بزرگ‌تر می‌شود (Mahmoudi *et al.*, 2017). ازآنجاکه بذرهای پیش‌تیمارشده سرعت جوانه‌زنی بیشتری نسبت به بذرهای شاهد دارند، سریع‌تر جوانه می‌زنند و مادهٔ خشک بیشتری تولید می‌کنند (Shekari *et al.*, 2010). باوجود کاهش وزن خشک گیاهچه‌ها در حضور کادمیوم، پیش‌تیمار بذر با سالیسیلیک‌اسید موجب کاهش آثار سوء تنش کادمیوم و حتی افزایش وزن خشک گیاهچه‌ها در حدود ۲/۹ تا ۵/۱ برابر نسبت به گیاهچه‌های حاصل از بذرهای شاهد شد (شکل ۴). بهبود ویژگی‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها در اثر تیمار بذر با سالیسیلیک‌اسید در شرایط تنش فلزات سنگین ممکن است از افزایش پایداری غشای سلول (Mishra and Choudhuri, 1999)، تغییر تعادل هورمونی (Shakirova *et al.*, 2003) و بی‌تحرکی یون‌های کادمیوم (Metwally, 2003) ناشی شود.

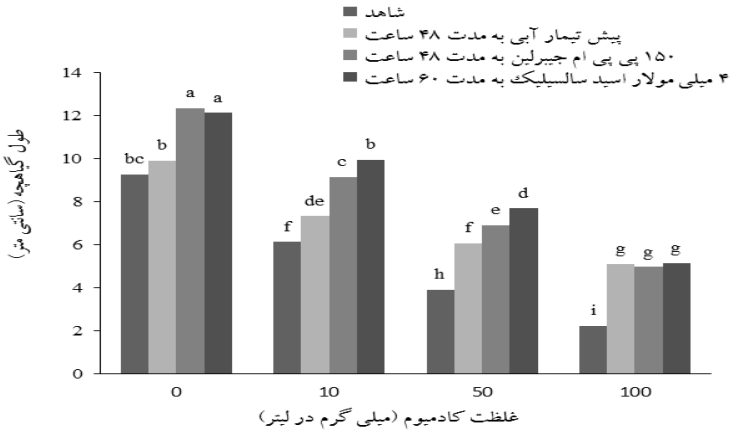


شکل ۴- تأثیر پیش‌تیمارهای بذر بر وزن خشک گیاهچه‌های حاصل از بذرهای گاوزبان اروپایی در شرایط تنش کادمیوم (حرف‌های متفاوت اختلاف معنادار در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون چنددامنه‌ای دانکن را نشان می‌دهند)

طول گیاهچه: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان دادند طول گیاهچه‌ها به‌طور معناداری تحت‌تأثیر سطوح تنش کادمیوم، پیش‌تیمار بذر و اثر متقابل تنش کادمیوم×پیش‌تیمار قرار دارد. طول گیاهچه‌های حاصل از بذرهای گاوزبان اروپایی با اعمال تنش کادمیوم به‌طور معناداری کاهش یافت؛ به‌طوری‌که این کاهش با به‌کاربردن غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم‌درلیتر کادمیوم حدود ۴۸ تا ۷۵/۸۲ درصد نسبت به تیمار شاهد بود. بیشترین طول گیاهچه در

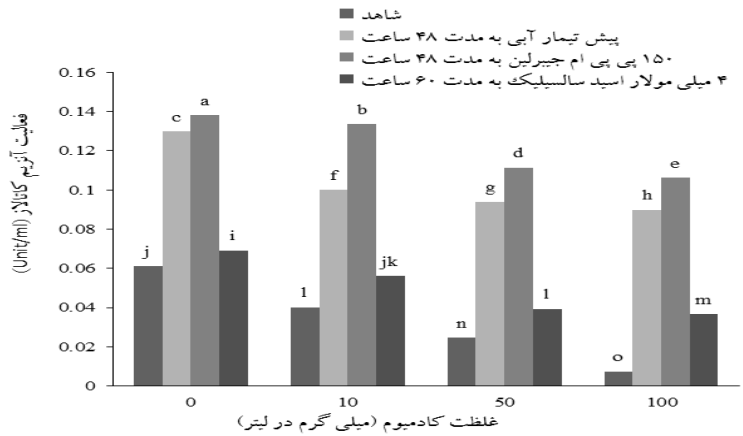
شرایط بدون تنش مشاهده شد و به‌طور معناداری بیشتر از شرایط تنش کادمیوم بود (شکل ۵). ازآنجاکه محل اولیهٔ تجمع کادمیوم ریشه‌چه است و مقداری از آن به اندام هوایی منتقل می‌شود، این امر سبب کاهش طول گیاهچه‌های قرارگرفته در معرض تنش کادمیوم می‌شود (Aziz-Khan *et al*., 2012). درنتیجهٔ کاهش فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک به‌واسطهٔ عناصر سنگین، میزان مواد غذایی رسیده به ساقه‌چه و ریشه‌چه‌ها کاهش می‌یابد و طول گیاهچه‌ها را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد (Kabir *et al*., 2008). Akbari و همکاران (۲۰۰۷) کاهش طول گیاهچه‌ها در گندم را نتیجهٔ تجمع کادمیوم گزارش کرده‌اند و این کاهش را با افزایش تجمع فلزات در گیاه متناسب دانسته‌اند.

در شرایط بدون تنش کادمیوم، طویل‌ترین گیاهچه‌ها از بذرهای پیش‌تیمارشده با غلظت ۱۵۰ پی‌پی‌ام جیبرلین به‌مدت ۴۸ ساعت به‌دست آمد که به‌طور معناداری بیشتر از گیاهچه‌های حاصل از بذرهای شاهد بود؛ هرچند اختلاف معناداری با گیاهچه‌های حاصل از بذرهای پیش‌تیمارشده با سالیسیلیک‌اسید ۴ میلی‌مولار به‌مدت ۶۰ ساعت نداشت (شکل ۵). افزایش طول گیاهچه‌ها در اثر پیش‌تیمار بذر با هورمون جیبرلین از افزایش فعالیت آنزیم آلفا- آمیلاز ناشی می‌شود که موجب افزایش انتقال مواد غذایی به محور جنینی و افزایش طولی گیاهچه‌ها می‌شود (Alivand *et al*., 2011). در شرایط تنش کادمیوم نیز طول گیاهچه‌های حاصل از بذرهای پیش‌تیمارشده به‌طور معناداری بیشتر از طول گیاهچه‌های حاصل از بذرهای شاهد بود. در شرایط تنش ۱۰ و ۵۰ میلی‌گرم‌درلیتر کادمیوم، بیشترین طول گیاهچه‌ها به بذرهای پیش‌تیمارشده با سالیسیلیک‌اسید تعلق داشت و به‌کاربردن سالیسیلیک‌اسید باعث افزایش حدود ۱/۶ تا ۲ برابری طول گیاهچه‌ها نسبت به تیمار شاهد شد (شکل ۵)؛ علت این امر آنست که پیش‌تیمار بذر با سالیسیلیک‌اسید از طریق کاهش آثار منفی تنش کادمیوم، افزایش برخی هورمون‌های محرک مانند اکسین و سیتوکینین (Shakirova *et al*., 2003) و کاهش نشت یونی (Borsani *et al*., 2001) موجب افزایش سرعت جوانه‌زنی بذرها (شکل ۲) و طویل‌شدن گیاهچه‌ها نسبت به گیاهچه‌های حاصل از بذرهای شاهد می‌شود. طول گیاهچه‌های حاصل از بذرهای شاهد در شرایط تنش ۱۰۰ میلی‌گرم‌درلیتر کادمیوم به‌طور معناداری کمتر از طول گیاهچه‌های حاصل از بذرهای پیش‌تیمارشده بود؛ اختلاف آماری معناداری بین گیاهچه‌های حاصل از بذرهای پیش‌تیمارشده در صفت یادشده مشاهده نشد. پیش‌تیمار آبی و هورمونی بذر با افزایش‌دادن انتقال مواد ذخیره‌ای بذر به محور جنینی و فعال‌کردن تنظیم‌کننده‌های رشد سبب رشد بیشتر محور جنینی و درنتیجه افزایش سرعت جوانه‌زنی می‌شود (Tavakkol Afshari *et al*., 2012)؛ بنابراین، هرچه بذرها سرعت جوانه‌زنی بیشتری داشته باشند، گیاهچه‌های حاصل طویل‌تر می‌شوند و وزن خشک بیشتری دارند که این امر موجب استقرار بهتر و تولید گیاهچه‌های قوی‌تر می‌شود (Shekari *et al*., 2010).



شکل ۵- تأثیر پیش‌تیمارهای بذر بر طول گیاهچه‌های حاصل از بذرهای گاوزبان اروپایی در شرایط تنش کادمیوم (حرف‌های متفاوت اختلاف معنادار در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون چنددامنه‌ای دانکن را نشان می‌دهند)

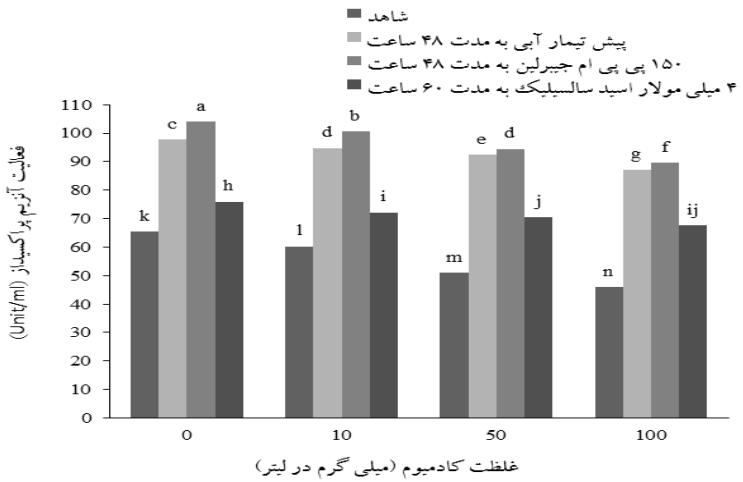
فعالیت آنزیم کاتالاز: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان دادند فعالیت آنزیم کاتالاز به‌طور معناداری تحت‌تأثیر سطوح تنش کادمیوم، پیش‌تیمار بذر و اثر متقابل تنش کادمیوم×پیش‌تیمار بذر قرار دارد. میزان فعالیت آنزیم کاتالاز گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی با افزایش شدت تنش کادمیوم به‌طور معناداری کاهش یافت؛ به‌طوری‌که بیشترین و کمترین مقدار فعالیت این آنزیم به‌ترتیب در شرایط بدون تنش و تنش ۱۰۰ میلی‌گرم‌درلیتر کادمیوم به دست آمد (شکل ۶) و به‌کاربردن ۱۰ تا ۱۰۰ میلی‌گرم‌درلیتر کادمیوم موجب کاهش حدود ۳/۳۳ تا ۸۷/۹۲ درصدی میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی شد. به نظر می‌رسد با افزایش شدت تنش فلزات سنگین ازجمله کادمیوم به بیشتر از حد آستانه و یا در سطوح تنش بسیار شدید، فعالیت آنزیم‌های پاداکساینده مانند کاتالاز به‌علت خسارت واردشده به سیستم‌های دفاعی کاهش می‌یابد (Bakalova *et al*., 2004). Noorani Azad و Kafilzadeh (۲۰۱۰) کاهش فعالیت آنزیم‌های پاداکساینده ازجمله کاتالاز در گلرنگ را در شرایط تنش کادمیوم گزارش کرده‌اند که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد.



شکل ۶- تأثیر پیش‌تیمارهای بذر بر فعالیت آنزیم کاتالاز گیاهچه‌های حاصل از بذرهای گاوزبان اروپایی در شرایط تنش کادمیوم (حرف‌های متفاوت اختلاف معنادار در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون چنددامنه‌ای دانکن را نشان می‌دهند)

میانگین فعالیت آنزیم کاتالاز گیاهچه‌های حاصل از بذرهای پیش‌تیمارشده در تمام سطوح تنش کادمیوم (صفر، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم‌درلیتر) به‌طور معناداری بیشتر از گیاهچه‌های حاصل از بذرهای شاهد بود (شکل ۶). آنزیم کاتالاز یکی از مهم‌ترین اجزای سیستم پاداکساینده است که میزان فعالیت آن با پیش‌تیمارکردن بذرها افزایش می‌یابد. افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز به مهار انواع اکسیژن فعال ازجمله پراکسیدهیدروژن تجمع‌یافته طی تنش کادمیوم منجر می‌شود (Zhang *et al.*, 2009; Gerami, *et al.*, 2018). در شرایط بدون تنش و تنش کادمیوم، بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهچه‌های حاصل از بذرهای پیش‌تیمارشده با غلظت ۱۵۰ پی‌پی‌ام جیبرلین به‌مدت ۴۸ ساعت به دست آمد که به‌طور معناداری بیشتر از سایر تیمارها بود (شکل ۶). در شرایط اعمال تیمارهای مختلف کادمیوم، پیش‌تیمار آبی و هورمونی بذر موجب افزایش ۱/۱ تا ۱۴/۳ برابری فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به شاهد شد. Ansari و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کرده‌اند پیش‌تیمار بذر با هورمون جیبرلین باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهچه‌های چاودار کوهی می‌شود. افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز درنتیجهٔ به‌کاربردن پیش‌تیمار آبی در بذرهای نخود را Fateh و همکاران (۲۰۰۹) و در بذرهای پنبه را Varier و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کرده‌اند. در تیمارهای بدون تنش و تنش کادمیوم، اگرچه میزان فعالیت آنزیم کاتالاز گیاهچه‌های حاصل از بذرهای پیش‌تیمارشده با سالیسیلیک‌اسید ۴ میلی‌مولار به‌طور معناداری بیشتر از گیاهچه‌های حاصل از بذرهای شاهد بود، میزان فعالیت این آنزیم در گیاهچه‌های حاصل از بذرهای پیش‌تیمارشده با غلظت ۴ میلی‌مولار سالیسیلیک‌اسید به‌طور معناداری کمتر از گیاهچه‌های حاصل از سایر پیش‌تیمارهای بذری بود. کم‌بودن فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط یادشده ممکن است از این ناشی شود که سالیسیلیک‌اسید با داشتن اکسیژن گروه هیدروکسیل آزاد روی حلقهٔ بنزوئیک می‌تواند آهن موجود در کاتالاز را کلاته‌کند (Shi and Zhu, 2008)؛ بنابراین، سالیسیلیک‌اسید سبب بازدارندگی فعالیت آنزیم کاتالاز (آنزیم پاکسازی‌کنندهٔ پراکسیدهیدروژن است) می‌شود. این نتایج با یافته‌های Farhoudi و همکاران (۲۰۱۱) در خربزه مطابقت دارند.

فعالیت آنزیم پراکسیداز: تأثیر سطوح تنش کادمیوم، پیش‌تیمار بذر و اثر متقابل تنش×پیش‌تیمار بذر روی فعالیت آنزیم پراکسیداز گیاهچه‌ها معنادار بود (جدول ۱). میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز گیاهچه‌های حاصل از بذرهای گاوزبان با افزایش شدت تنش کادمیوم کاهش یافت؛ به‌طوری که کمترین و بیشترین فعالیت این آنزیم به‌ترتیب به تیمارهای ۱۰۰ میلی‌گرم‌درلیتر و شاهد مربوط بود (شکل ۷). Noorani Azad و Kafilzade (۲۰۱۰) نیز کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز در اثر کادمیوم را در گلرنگ گزارش کرده‌اند. علت کاهش فعالیت آنزیم‌های پاداکساینده در اثر تنش کادمیوم به تکمیل ظرفیت فعالیت این آنزیم‌ها برای رادیکال‌های آزاد، تأثیر منفی افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و همچنین تأثیر منفی احتمالی کادمیوم در تولید این آنزیم‌ها در غلظت‌های زیاد کادمیوم نسبت داده می‌شود (Dell Rio *et al.*, 2003).



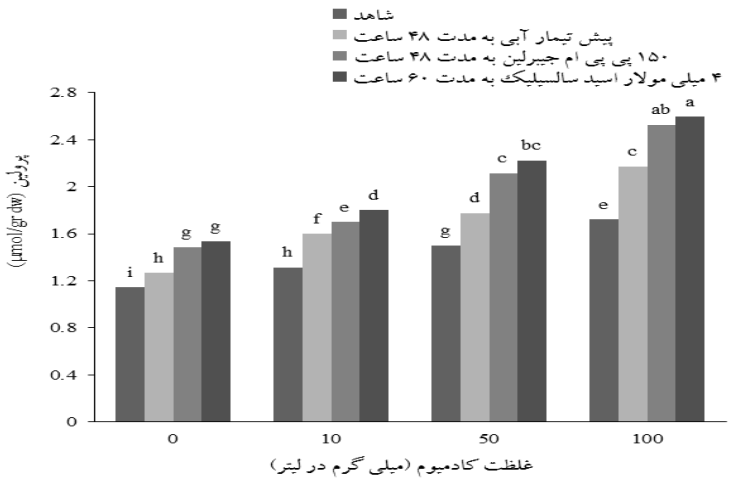
شکل ۷- تأثیر پیش‌تیمارهای بذر بر فعالیت آنزیم پراکسیداز گیاهچه‌های حاصل از بذرهای گاوزبان اروپایی در شرایط تنش کادمیوم (حرف‌های متفاوت اختلاف معنادار در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون چنددامنه‌ای دانکن را نشان می‌دهند)

میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز گیاهچه‌های حاصل از بذرهای شاهد در تمام سطوح تنش کادمیوم (صفر تا ۱۰۰ میلی‌گرم‌درلیتر) به‌طور معناداری کمتر از گیاهچه‌های حاصل از بذرهای پیش‌تیمارشده بود. دلیل افزایش فعالیت آنزیم‌های پاداکساینده مانند کاتالاز و پراکسیداز در اثر پیش‌تیمارکردن بذرها در تنش‌های محیطی ازجمله تنش کادمیوم (شکل‌های ۵ و ۶) ممکن است به‌واسطهٔ بهبود و تسریع ساخت DNA در بافت‌های جنینی طی مدت پیش‌تیمارکردن بذرها باشد (Jie *et al.*, 2002). در تیمارهای مختلف کادمیوم، بیشترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاهچه‌های حاصل از بذرهای پیش‌تیمارشده با غلظت ۱۵۰ پی‌پی‌ام جیبرلین به‌مدت ۴۸ ساعت به دست آمد که به‌طور معناداری بیشتر از گیاهچه‌های حاصل از سایر بذرهای پیش‌تیمارشده و بذرهای شاهد بود (شکل ۷). به نظر می‌رسد پیش‌تیمار بذر با افزایش حدود ۱/۲ تا ۲ برابری میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز و ۱/۱ تا ۱۴/۳ برابری آنزیم کاتالاز گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی در شرایط تنش کادمیوم نسبت به پیش‌تیمارنشدن موجب افزایش تحمل گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی به تنش کادمیوم می‌شود؛ درنتیجه در شرایط تنش کادمیوم نیز بذرها جوانه‌زنی (شکل‌های ۱ و ۲) و رشد گیاهچهٔ (شکل‌های ۴ و ۵) مطلوب‌تری نسبت به بذرهای شاهد دارند.

پرولین: مطابق نتایج جدول تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) تأثیر تنش کادمیوم، پیش‌تیمار بذر و اثر متقابل تنش کادمیوم×پیش‌تیمار بذر بر محتوای آمینواسید پرولین گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی معنادار است. مقدار آمینواسید پرولین گیاهچه‌ها با افزایش غلظت کادمیوم به‌طور معناداری افزایش یافت؛ به‌طوری‌که بیشترین میانگین محتوای پرولین گیاهچه‌ها در شرایط تنش ۱۰۰ میلی‌گرم‌درلیتر کادمیوم مشاهده شد که به‌طور معناداری بیشتر از شرایط بدون تنش بود (شکل ۸). تولید پرولین یکی از سازوکارهای مهم سمیت‌زدایی فلزات سنگین سمی در بیشتر گیاهان

است و تجمع پرولین در گیاهچه‌های قرارگرفته در معرض تنش فلزات سنگین ازجمله کادمیوم موجب کاهش آسیب به غشا و پروتئین‌ها می‌شود (Abraham *et al*., 2003). Zhang و همکاران (۲۰۰۹) نتیجه گرفته‌اند ارتباط مثبتی بین تجمع پرولین و مقدار پاداکسایندهٔ بافت وجود دارد؛ به‌طوری‌که مقدار رادیکال آزاد درنتیجهٔ تنش‌های مختلف افزایش می‌یابد و باعث تجمع پرولین در بافت گیاهی می‌شود.

مقدار آمینواسید پرولین گیاهچه‌های حاصل از بذرهای پیش‌تیمارشده در شرایط بدون تنش کادمیوم و کاربرد کادمیوم به‌طور معناداری بیشتر از گیاهچه‌های حاصل از بذرهای شاهد بود (شکل ۸). در تمام سطوح تنش کادمیوم، مقدار آمینواسید پرولین گیاهچه‌های حاصل از بذرهای پیش‌تیمارشده با سالیسیلیک‌اسید ۴ میلی‌مولار به‌مدت ۶۰ ساعت بیشترین مقدار را داشت؛ اما در شرایط بدون تنش و تنش ۱۰۰ میلی‌گرم‌درلیتر کادمیوم اختلاف معناداری با تیمار بذری ۱۵۰ پی‌پی‌ام جیبرلین به‌مدت ۴۸ ساعت دیده نشد (شکل ۸). افزایش مقدار پرولین در گیاهچه‌های حاصل از بذرهای پیش‌تیمارشدهٔ ماشک (Zhang *et al*., 2009; Gerami *et al*., 2018) نیز گزارش شده است که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. Tabatabaei و Ansari (۲۰۱۶) افزایش پرولین درنتیجهٔ پیش‌تیمارکردن بذرهای کلزا با سالیسیلیک‌اسید در شرایط تنش فلزات سنگین را یکی از راهکارهای تحمل بیشتر نسبت به شرایط تنش در مرحلهٔ جوانه‌زنی می‌دانند که سبب بهبود رشد گیاهچه‌ها در شرایط تنش و حتی پس‌از رفع تنش می‌شود. تنش کادمیوم موجب افزایش ۱/۱ تا ۱/۷ برابری پرولین در مقایسه با تیمار شاهد شد؛ درحالی‌که استفاده از پیش‌تیمار آبی و هورمونی موجب افزایش حدود ۱/۱ تا ۱/۵ برابری مقدار پرولین گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی شد.



شکل ۸- تأثیر پیش‌تیمارهای بذر بر مقدار پرولین گیاهچه‌های حاصل از بذرهای گاوزبان اروپایی در شرایط تنش کادمیوم (حرف‌های متفاوت اختلاف معنادار در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون چنددامنه‌ای دانکن را نشان می‌دهند)

جمع‌بندی

یافته‌های پژوهش حاضر نشان می‌دهند اگرچه جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی با افزایش غلظت کادمیوم کاهش می‌یابد، استفاده از پیش‌تیمار آبی و هورمونی موجب افزایش قابلیت جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی در شرایط بدون تنش (شاهد) و تنش عنصر سنگین کادمیوم می‌شود. دلیل بهبود جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها در شرایط بدون تنش و تنش کادمیوم از افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و مقدار آمینواسید پرولین ناشی می‌شود؛ به‌طوری‌که استفاده از پیش‌تیمار آبی به‌مدت ۴۸ ساعت، غلظت ۱۵۰ پی‌پی‌ام جیبرلین به‌مدت ۴۸ ساعت و سالیسیلیک‌اسید ۴ میلی‌مولار به‌مدت ۶۰ ساعت با تحریک فعالیت آنزیم‌های پاداکساینده و افزایش مقدارآمینواسید پرولین در شرایط تنش کادمیوم سبب کاهش و تعدیل آثار منفی تنش می‌شود. درکل، استفاده از پیش‌تیمار آبی و هورمونی در بذرهای گاوزبان اروپایی با افزایش قدرت بذر و بهبودبخشیدن به ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاهچه‌ها تا حدی از آثار منفی تنش فلز سنگین کادمیوم طی مراحل جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها می‌کاهد و تحمل گیاهچه‌ها نسبت به شرایط تنش کادمیوم را افزایش می‌دهد.

References

Abraham, E., Rigo, G., Szekely, G., Nagy, R., Koncz, C. and Szabados, L. (2003) Light-dependent induction of proline biosynthesis by abscisic acid and salt stress is inhibited by brassinosteroid in Arabidopsis. Plant Molecular Biology 51(3): 363-372.

Aebi, H. (1984) Catalase *in vitro*. Methods in Enzymology 105: 121-126.

Afzal, I., Basra, S., Farooq, M. and Nawaz, A. (2006) Alleviation of salinity stress in spring wheat by hormonal priming with ABA, salicylic acid and ascorbic acid. International Journal of Agriculture and Biology 1: 23-28.

Akbari, G., Sanavy, S. A., Yousefzadeh, S. (2007) Effect of auxin and salt stress (NaCl) on seed germination of wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.). Pakistan Journal of Biology Science 10(15): 2557-2561.

Alivand, R., Tavakkol Afshari, R. and 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 Persian).

Amani, A. L. (2008) Cadmium induced changes in pigment content, ion uptake, proline content and phosphoenolpyruvate carboxylase activity in *Triticum aestivum* seedlings. Australian Journal of Basic and Applied Sciences 2: 57-62.

Ansari, O., Choghazardi, H. R., Sharif Zadeh, F. and 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.

Ansari, O., Azadi, M. S., Sharif-Zadeh, F. and Younesi, E. (2013) Effect of hormone priming on germination characteristics and enzyme activity of mountain rye (*Secale montanum*) seeds under drought stress conditions. Journal of Stress Physiology and Biochemistry 9(3): 61-71.

Ashraf, M. and 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.

Ashraf, M. and 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 Physiologiae Plantarum 23: 407-414.

Aziz Khan, H., Ziaf, K., Amjad, M. and Iqbal, Q. (2012) Exogenous application of polyamines improves germination and early seedling growth of hot pepper. Chilean Journal of Agricultural Research 72(3): 429-433.

Bakalova, S., Nikolova, A. and Nedeva, D. (2004) Isoenzyme profiles of peroxidase, catalase and superoxide dismutase as affected by dehydration stress and ABA during germination of wheat seeds. Bulgarian Journal of Plant Physiology 30(1-2): 64-77.

Balestrasse, K. B., Gardey, L., Gallego, S. M. and Tomaro, M. L. (2001) Response of antioxidant defense system in soybean nodules and roots subjected to cadmium stress. Functional Plant Biology 28: 497-504.

Bates, L. S., Waldren, R. P. and Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil 39: 205-207.

Borsani, O., Valpuesta, V. and Botella, M. A. (2001) Evidence for a role of salicylic acid in the oxidative damage generated by NaCl and osmotic stress in Arabidopsis seedling. Plant Physiology 126: 1024-1030.

Chance, B. and Maehly, A. C. (1955) Assay of catalases and peroxidase. Methods in Enzymolog 2: 764-775.

Chang, C. J. and Koa, C. H. (1988) H_2O_2 metabolism during senescence of rice leaves changes in enzyme activities in light and darkness. Plant Growth Regulation 25: 11-15.

Chaudhary, S. and Sharma, Y. K. (2009) Interactive studies of potassium and copper with cadmium on seed germination and early seedling growth in maize (*Zea mays* L.). Journal of Environmental Biology 30(3): 427-432.

Cheng, S. F. and Huang, C. Y. (2006) Influence of cadmium on growth of root vegetable and accumulation of cadmium in the edible root. International Journal of Applied Science and Engineering 3: 243-252.

Dell Rio, L. A., Copas, F. J., Sandalio, L. M., Palma, J. M. and Barroso, J. B. (2003**)** Plant peroxisomes, reactive oxygen metabolism and nitric oxide. International Union of Biochemistry and Molecular Biology Life 55(2): 71-81.

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

Egharevba, H. (2010) Effect of cadmium on seed viability of *Vigna unguiculata*. Ethnobotanical Leaflets 14: 413-419.

Ellis, R. H. and Roberts, E. H. (1980) Towards a rational basis for testing seed quality. In: Seed production (Ed. Hebblethwaite, P. D.) 605-635. Butterworths, Londen.

El-Tayeb, M. A. (2005) Response of barley grains to the interactive effect salinity and salicylic acid. Plant Growth Regulatory 45: 215-225.

Farhoudi, R., Saeedipour, S. and Mohammadreza, D. (2011) The effect of NaCl seed priming on salt tolerance, antioxidant enzyme activity, proline and carbohydrate accumulation of muskmelon (*Cucumis melo* L.) under saline condition. African Journal of Agricultural Research 6: 1363-1370.

Fateh, H., Siosemardeh, A. and Karimpoor, M. (2009) Effects of seed priming and sowing date on antioxidant enzymes activity and yield of chickpea under dry land condition. Plant Production Technology 2: 1-16 (in Persian).

Gerami, M., Ghorbani, A. and Karimi, S. (2018) Role of salicylic acid pretreatment in alleviating cadmium-induced toxicity in *Salvia officinalis* L. Iranian Journal of Plant Biology 10(1): 81-95 (in Persian).

Hussein, J. H. (2015) Effect of seed priming treatment with salicylic acid on viability of Okra (*Abelmoschus esculentus* L.) seeds. Euphrates Journal of Agriculture Science 7(2): 1-9.

Iqbal, M. and Ashraf, M. (2007) Seed treatment with auxins modulates growth and ion partitioning in salt-stressed wheat plants. Journal of Integrative Plant Biology 49: 1003-1015.

Jie, L., Gongshe, L., Dongmei, Q., Fangfang, L. and Enhua, W. (2002)

Effect of PEG on germination and active oxygen metabolism in wildrye (*Leymus chinensis*) seeds. Acta Prataculturae Sinica 11(1): 59-64.

Kabir, M., Iqbal, M. Z., Shafiq, M. and Farooqi, Z. R. (2008) Reduction in germination and seedling growth of *Thespesia populnea* L. caused by lead and cadmium treatments. Pakistan Journal of Botany 40(6): 2419-2426.

Lee, S. H., Jew, S. S., Chang, P. S., Hong, I. J., Hwang, E. S., Kim, K. S. and Kim, K. T. (2003) Free radical scavenging effect and antioxidant activities of barley leaf blades. Food Science and Biotechnology 12: 268-273.

Lee, S. S. and Kim, J. H. (2000**)** Total sugars, a-amylase activity, and germination after priming of normal and aged rice seeds. The Korean Journal of Crops Science 45: 108-111.

Mahmoudi, F., Sheikhzadeh, P., Zare, N. and Esmaielpour, B. (2017) The effect of hydropriming on germination, growth and antioxidant enzymes activity of Borage (*Borago officinalis* L.) seedling under cadmium stress. Iranian Journal of Field Crop Science 48(1): 253-266 (in Persian).

Mahmoudi, F., Sheikhzadeh, P., Zare, N. and Esmaielpour, B. (2018) The effect of hormone and hydro priming on seed germination, growth and biochemical properties of borage seedling (*Borago officinalis* L.). Journal of Plant Process and Function (Accepted) (in Persian).

McDonald, M. B. (2000) Seed priming. In: Seed technology and its biological basis (Eds. Black, M. and Bewley, J. D.) 287-325. Sheffield Academic Press, Sheffield.

Megateli, S., Semsari, S. and Couderchet, M. (2009) Toxicity and removal of heavy metals (cadmium, copper, and zinc) by *Lemna gibba*. Ecotoxicology and Environmental Safety 72(6): 1774-1780.

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

Mishra, A. and Choudhuri, M. A. (1999) Effects of salicylic acid on heavy metal-induced memberane deterioration mediated by lipoxygenase in rice. Biologia Plantarum 42(3): 409-415.

Mishra, S., Srivastava, S., Tripathi, R. D., Govindarajan, R., Kuriakose, S. V. and Prasad, M. N. (2006) Phytochelatin synthesis and response of antioxidants during cadmium stress in *Bacopa monnieri* L. Plant Physiology and Biochemistry 44(1): 25-37.

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(2): 203-213.

Noorani Azad, H. and 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 24(6): 858-867 (in Persian).

Patade, V. Y., Maya, K. and Zakwan, A. (2011) Seed priming mediated germination improvement and tolerance to subsequent exposure to cold and salt stress in capsicum. Research Journal of Seed Science 4(3): 125-136.

Rabie, B. and 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 Persian).

Ramos, I. Esteban, E., Lucena, J. J. and Garate, A. (2002) Cadmium uptake and sub cellular distribution in plants of *lactuca* sp. Cd-Mn interaction. Plant Science 162: 761-767.

Salehi Surmaghi, M. H. (2009) Medicinal plants and phytotherapy. 3rd edition. Publications (in Persian).

Shafiq, M., Iqbal, M. Z. and Mohammad, A. (2008) Effect of lead and cadmium on germination and seedling growth of *Leucaena leucocephala*. Journal of Applied Sciences and Environmental Management 12(2): 61-66.

Shakirova, F. M., Sakhabutdinova, A. R., Bezrukova, M. V., Fatkhutdinova, R. A. and Fatkhutdinova, D. R. (2003) Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. Plant Science 164(3): 317-322.

Ghasemi-Golezani, K., Sheikhzadeh Mosaddegh, P. and Valizadeh, M. (2009) Effects of seed hydropriming on germination, seedling emergence and grain yield of chickpea. Journal of Sustainable Agricultural Science 1: 50-58 (in Persian).

Shekari, F., Baljani, R., Saba, J., Afsahi, K. and Shekari, F. (2010) Effect of seed priming with salicylic acid on growth characteristics of borage plants (*Borago officinalis* L.) seedlings. Agroecology Journal 6(1): 47-53.

Shi, G. R. and Cai, Q. S. (2008) Photosynthetic and anatomic responses of peanut leaves to cadmium stress. Photosynthetica 46(4): 627-630.

Shi, Q. and Zhu, Z. (2008) Effect of exogenous salicylic acid on manganese toxicity, element contents and antioxidative system in cucumber. Environmental and Experimental Botany 63(1-3): 317-326.

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

Tabatabaei, S. A. and Ansari, O. (2016) Effect of $Cu(SO_4)$ stress and plant growth regulators on germination characteristics and biochemical changes of *Brassica napus*. Iranian Journal of Seed Research 3(1): 109-121 (in Persian).

Tavakkol Afshari, R., Ansari, O. Sharifzade, F. and 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 Persian).

Thamayanthi, D., Sharavanan, P. S. and Vijayaragavan, M. (2011) Effect of cadmium on seed germination, growth and pigments content of Zinnia plant. Current Botany 2(8): 8-13.

Tiryakioglu, M., Eker, S., Ozkutlu, F., Husted, S. and Cakmak, I. (2006) Antioxidant defense system and cadmium uptake in barley genotypes differing in cadmium tolerance. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology 20(3): 181-189.

Varier, A. Kuriakose, V. A. and Dadlani, M. V. (2010) The subcellular basis of seed priming. Current Science 99(4): 450-456.

Yadollahi Nooshabadi, S. J. and Sharifzadeh, F. (2015) Gibberellic acid priming effect on *Agropyron elongatum* seed germination indices under drought stress. Agroecology Journal 11(1): 75-82 (in Persian).

Zanganeh, R., Jamei, R., Hosseini Sarghein, S. and Kargar Khorrami, S. (2018) Effect of seed priming with sodium hydrosulfide (NaHS) on some physiological and anatomical parameters in maize plants under lead stress. Iranian Journal of Plant Biology 10(2): 19-34 (in Persian).

Zhang, F., Zhang, H., Wang, G., Xu L. and Shen, Z. (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 168(1): 76-84.