نشریه علمی پژوهشی دانش کشاورزی و تولید پایدار

جلد ۳۰ شماره ۳ / سال / ۱۳۹۹/ صفحات ۱۶۸-۱۴۷

تاثیر تلقیح باکتری‌های افزاینده رشد بر عملکرد دانه و ویژگی‌های فیزیولوژیک دو رقم گندم نان تیمار شده با کلریدکادمیوم

زهرا وطن پور[۱*]، روح اله متفکر آزاد[۲]، سدابه جهانبخش گده کهریز[۳]، علی موافقی[۴]، محسن سبزی نوجه ده[۵]

تاریخ دریافت: ۹۸/۱۱/۵ تاریخ پذیرش: ۹۹/٤/١٤

۱- دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، ایران

۲-استادیار دانشکده علوم طبیعی، بیوشیمی، دانشگاه تبریز، ایران، تبریز

۳-دانشیار دانشگاه محقق اردبیلی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی زراعت و اصلاح نباتات، اردبیل، ایران

٤- استاد دانشکده علوم طبیعی، سیتوفیزیولوژی، دانشگاه تبریز، ایران

٥- استادیار دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر- دانشگاه تبریز، اهر، ایران

*مسئول مکاتبه : Email: Zahra_vatanpour@yahoo.com

چکیده

اهداف: پژوهش حاضر به منظور ارزیابی اثرات باکتری‌های افزاینده رشد (به عنوان یک روش بیولوژیک) بر کاهش اثرات منفی فلز سنگین کادمیوم و افــزایش عملکرد دو رقم گندم نان انجام گرفت.

مواد و روش‌ها:آزمایش بر پایه طرح کاملا تصادفی با سه تکرار در گلخانه دانشگاه محقق اردبیلی انجام گرفت. فاکتورهای آزمایش شامل دو رقم گندم گنبد و کریم، چهارسطح کلرید کادمیوم ($CdCl_2.H_2O$) (۰، ۷۵، ۱۵۰ و ۳۰۰ میکرومولار) و نیز سه سطح باکتری (شاهد، *ازتوباکتر کروکوکوم* و *سودوموناس پوتیدا*) بودند. صفات عملکرد دانه، ، مقدار کادمیوم جذب شده دراندام‌های ریشه، ساقه و دانه و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت اندازه گیری شدند.

یافته‌ها: با کاربرد *ازتوباکتر* بیشینه عملکرد دانه در سنبله مشاهده گردید. بررسی نتایج حاصل از اثر کادمیوم روی صفات زراعی اندازه‌گیری شده، بیشینه میزان این صفات را در شاهد (بدون کادمیوم) و کمینه را در بالاترین غلظت کادمیوم نشان داد. بیشترین میزان قندهای محلول در هر دو رقم در حضور کادمیوم و کمترین میزان در تیمار شاهد بدست آمد و *ازتوباکتر* نسبت به *سودوموناس* در مورد این صفت از برتری برخوردار بود. باکتری‌ها اثرات افزایشی پرولین در حضور کادمیوم را کاهش دادند. درمورد آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت حضور کادمیوم میزان کاتالاز و پراکسیداز را افزایش ولی میزان پلی فنل‌اکسیداز را کاهش داد.

نتیجه گیری: در کل حضور باکتری‌ها سمیت حاصل از کادمیوم را کاهش داد و اثر باکتری روی جذب کادمیوم معنی‌دار بود و نیزمشخص شد رقم کریم نسبت به رقم گنبد در مقابل تنش‌ها مقاوم‌تر هست.

واژه های کلیدی: عملکرد دانه، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، باکتری، پرولین، گندم، کادمیوم

Effect of Inoculation of Growth-Enhancing Bacteria on Grain Yield and Physiological Characteristics of two Cultivars of Bread Wheat Treated with Cadmium Chloride

Zahra Vatanpour[1*], Rouhollah Motafakker Azad[2], Sodabe Jahanbakhsh Godeh Kahriz[3], Ali Movafeghi[4], Mohsen Sabzie Nojah Deh[5]

Received: January 25, 2020 Accepted: July 4, 2020
1-PhD. Student of Plant Physiology, Faculty of Natural Sciences, Tabriz University, Iran.
2-Assoc. Prof., of Biochemistry, Faculty of Natural Sciences, Tabriz University, Iran.
3-Assoc. Prof., of Agriculture and Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Mohaghegh Ardabili University, Iran.
4- Prof., of Cytophysiology, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz
5- Assist. Prof., of Plant Breeding-Genetics, Ahar Faculty of Agriculture and Natural Resources- University of Tabriz, Iran.
*Corresponding Author Email: Zahra_vatanpour@yahoo.com

Abstract

Background and Objective: The aim of this study was to evaluate the effects of growth-enhancing bacteria on reducing the negative effects of cadmium heavy metal in two varieties of bread wheat.

Materials and Methods: The experiment was performed on a completely randomized basis with three replications in the Mohaghegh Ardabili University.The experimental factors included two wheat cultivars (Gonbad and Karim),four levels of $CdCl_2.H_2O$ (0, 75, 150 and 300 µm) and three bacterial levels (control ,Azotobacter Crococum and Pseudomonas potida).The grain yield, the amount of cadmium absorbed in the root,stem and seed organs and the activity of antioxidant enzymes were measured.

Results: The maximum grain yield was observed in spike using Azotobacter. Examination of the results of the effect of cadmium on the measured agricultural traits showed the maximum of these traits in the control and the minimum in the highest concentration of cadmium. The highest amount of soluble sugars in both cultivars was obtained in the presence of cadmium and the lowest amount in the control treatment and Azotobacter was superior to Pseudomonas in this regard. Bacteria reduced proline in the presence of cadmium. In the case of antioxidant enzymes, the presence of cadmium increased the amount of catalase and peroxidase but reduced the amount of polyphenol oxidase.

Conclusion: In general, the presence of bacteria reduced the toxicity of cadmium and the effect of the bacterium on the absorption of cadmium was significant and it was found that the Karim cultivar was more resistant to stress than the Gonbad cultivar.

Keyword: Grain Yield, Antioxidant Enzymes, Bacteria, Proline, Wheat, Cadmium

مقدمه

پیچیده ترین تنش در گیاهان، تنش ناشی از فلزات سنگین است. در این میان، کادمیوم با ایجاد گونه‌های مختلف اکسیژن فعال در فیزیولوژی، مورفولوژی و بیوشیمیایی گیاهان اختلال ایجاد می‌کند و بدین طریق بر رشد گیاهان نیز اثرگذار هست (جیا و همکاران، ۲۰۱۶ و دیاس و همکاران ۲۰۱۳). جذب سریع و نیز دوام بیولوژیکی بالای کادمیوم موجب شده اثرات سوء

کادمیوم ۲۰ برابر سایر فلزات سنگین باشد (نوریان آزاد و کفیل زاده ۲۰۱۰). از اصلی ترین اثرات سو ورود کادمیوم به محیط زیست گیاه، کاهش عملکرد گیاهان می باشد (آلن و همکاران ۲۰۰۳). علاوه بر این سمیت کادمیوم بر گیاهان موجب تغییر در میزان پرولین و گونه‌های اکسیژن فعال می‌گردد. در واقع افزایش میزان گونه‌های فعال اکسیژن مکانیسم اصلی سمیت فلزات سنگین می‌باشد (کلانتری و علومی ۲۰۰۵). اکسیژن فعال بر روی ترکیبات حیاتی نظیر پروتئین و اسیدهای نوکلئیک اثر می‌گذارد و گیاهان در مواجه با تنش و از بین بردن رادیکال‌های آزاد شروع به افزایش سنتز ترکیباتی نظیر پرولین می‌کنند که از طریق افزایش پتانسیل اسمزی، نقش حمایتی از ساختار سلول و سایر پروتئین‌ها را ایفا می‌کنند (زمانی و همکاران ۲۰۱٤ و اوزترک و همکاران ۲۰۱۲). مطالعه پژوهش‌های انجام شده حاکی از حساس بودن پروتئین‌ها در برابر تنش است، زیرا واحدهای سازنده آنها یا اسیدهای آمینه با گونه‌های فعال اکسیژن واکنش نشان می‌دهند. به عنوان مثال متیونین به سولفوکسید متیونین تبدیل می‌شود و مقدار سنتز لایزین نیز به عنوان اسیدآمینه ضروری تحت تاثیر تنش قرار می‌گیرد (علی رضایی و همکاران ۲۰۱۲). آنزیم‌ها نیز چون ساختار پروتئینی دارند و از جمله روش‌های گیاهان برای مقابله با سمیت گونه‌های فعال اکسیژن روش‌های آنزیمی است لذا میزان آنزیم‌های آنتی اکسیدانت نیز متاثر از تنش خواهد بود و از مهمترین آنزیم‌های دخیل در سم‌زدایی حاصل از تنش می‌توان به سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، کاتالاز و پلی‌فنل‌اکسیداز اشاره نمود (کیم و تای ۲۰۱۱). در اثر تنش غشای سلولی آسیب می‌بیند و تراوایی و نفوذپذیری انتخابی‌اش متاثر می‌شود. افزایش قندهای محلول (به دلیل نقش دوگانه آنها هم به عنوان منبع انرژی درفرایندهای بیوسنتزی و هم تنظیم‌کننده اسمزی) در اثر تنش فلزات سنگین موجب پایداری ساختار غشا با حفظ سیالیت غشاها و حالت هیدراته پروتئین‌ها می‌گردد (قربانلی و نیاکان ۲۰۰۵). گذشته از این اهمیت ترکیبات تنظیم‌کننده اسمزی نظیر قندهای محلول، اسیدهای آمینه و متابولیت‌هایی با وزن مولکولی پایین علاوه بر نقش تنظیم‌کنندگی‌شان اینست که انباشت بالای این ترکیبات برای سلول‌ها نیز غیرسمی می‌باشد (چاپارزاده و همکاران ۲۰۱۵ و سلیمانی و پیرزاد ۲۰۱۵).

در سالهای اخیر به منظور افزایش بردباری گیاهان به فلزات سنگین توانمندی ریزجانداران و باکتری‌های افزاینده رشد گیاه (PGPR) (Plant Growth Promoting Rhizobacteria)مورد توجه قرار گرفته است. PGPR با تولید ویتامین‌ها، اسیدهای آمینه، انحلال فسفات‌های نامحلول و تشکیل کمپلکس سیدرفور–آهن، رشد و عملکرد گیاهان را بهبود می‌بخشند (زانگ و همکاران ۲۰۱٤، زو و همکاران ۲۰۱٤ و ما و همکاران ۲۰۱۵). علاوه بر اینPGPR به طور مستقیم و غیرمستقیم از طریق سازوکارهای مختلف جهت تعدیل و تنظیم پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان موجب افزایش تحمل و به تبع آن بقای گیاهان در مقابل تنش‌ها می‌گردند (ماراسکو و همکاران ۲۰۱۲ و کسیم و همکاران ۲۰۱۳).

لذا هدف از این پژوهش بررسی تأثیر PGPR در جذب کادمیم در گندم و تاثیر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت پراکسیداز، کاتالاز و پلی‌فنل‌اکسیداز و در نتیجه اثر آن بر عملکرد دانه و تعدادی از صفات زراعی در محیط گلخانه بود.

مواد و روش‌ها

آزمایش بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در گلخانه دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۳۹۷ اجرا گردید. روش کشت به صورت هیدروپونیک در محیط بسته (Close) بوده‌است(تیمارها و تکرارهای مربوط به هر تیمار در گلدان‌های مجزایی اعمال شده بودند و ارتباطی با هم نداشتند). فاکتورها

عبارت بودند از: دو رقم گندم نان گنبد و کریم (به ترتیب ارقام حساس و مقاوم)، تیمار با کلریدکادمیوم (CdCl2H2O)(٤ سطح؛ ۰، ۷۵، ۱۵۰ و ۳۰۰ میکرومولار) (کامران و همکاران، ۲۰۱۵ و عمو آقایی و همکاران ۲۰۱۲) و باکتری شامل سه سطح شاهد، ازتوباکتر کروکوکوم و سودوموناس پوتیدا. در مجموع ۲٤ تیمار در سه تکرار در چهار مرحله زمانی ۲٤ ساعت، ٤۸ ساعت، ۷۲ ساعت و مرحله ساقه‌دهی مورد ارزیابی قرار گرفت. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین برای هر مرحله زمانی به صورت مجزا انجام شد.

نحوه تلقیح بذرها: به منظور تلقیح بذر (رقم گنبد و رقم کریم) ابتدا بذور به مدت ۱۲ ساعت در آب، بعد از شستشو با آب مقطر قرار داده شد. سپس به میزان ۱۰ گرم مایه تلقیح ؛ به ترتیب باکتری ازتوباکتر کروکوکوم و سودوموناس پوتیدا که از موسسه تحقیقات آب و خاک کشور تهیه شده بودند و هر میلی‌لیتر از مایه تلقیح دارای ۱۰۷ عدد باکتری زنده بود به توده بذری اضافه و در ادامه اقدام به افزایش رطوبت بذرها در آزمایشگاه گردید. بعد از گذشت ٤۸ ساعت برای انجام آزمون بایوپرایمینگ(پیش تیمار زیستی) آماده شدند. پس از گذشت زمان مورد نظر، ۲۰ عدد بذر درون هر گلدان کشت شد. آبیاری گلدانها با استفاده از محلول هوگلند و آرنون (۱۹۵۰) با pH مناسب ۵/۵ برای جذب کادمیوم انجام شد. آبیاری گیاه در مرحله ۳برگچه‌ای با کادمیوم انجام شد(تیمار کادمیوم به همراه محلول هوگلند که برای آبیاری گلدانها استفاده می‌شد اعمال شد). به منظور اندازه‌گیری صفات پرولین، قندهای محلول، لایزین، متیونین و آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز نمونه‌برداری در چهار بازه زمانی ۲٤، ٤۸، ۷۲ ساعت و نیز مرحله ساقه‌دهی پس از محلول‌پاشی با تیمارکلریدکادمیوم از نمونه‌های شاهد و تیماری انجام گردید. در مرحله نمونه‌برداری، گیاهچه‌های شاهد و تیمار به طور جداگانه نمونه‌برداری شدند و نمونه‌ها بلافاصله به داخل یخ و بعد به فریزر منفی ۷۰ انتقال یافتند.

ماده خشک بوته و عملکرد: به منظور اندازه‌گیری وزن خشک بوته بعد ازظهور علایم فاز زایشی، سه بوته از هرگلدان برداشت شد و به مدت ٤۸ ساعت در آون با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد خشک شدند و سپس به وسیله ترازوی ۰/۰۱گرم توزین شدند. به منظور اندازه‌گیری عملکرد دانه، پس از رسیدگی کامل بوته‌ها ده بوته به طور تصادفی انتخاب و بوته‌های موجود کف‌بر شدند و به آزمایشگاه انتقال یافتند. پس از خشک کردن بوته‌ها در هوای آزاد، دانه‌ها از کاه جدا گردید و عملکرد دانه از طریق تعداد دانه در سنبله و وزن دانه در سنبله (به صورت تصادفی) برحسب میلی‌گرم بدست آمد.

سنجش مقدار کادمیوم جذب شده در ریشه ، ساقه و دانه: ابتدا نمونه‌های ریشه و ساقه و نیز دانه‌ها با آب معمولی سپس آب به همراه مایع ظرفشویی و نهایتا آب مقطر شسته شده و سپس بر روی کاغذ منتقل شدند تا رطوبت اضافی آنها گرفته شود. بعد از این عمل نمونه‌ها به داخل کوره الکتریکی به مدت دوساعت با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند و خاکستر شدند سپس خاکسترهای حاصل وزن شدند و بعد از وزن کردن با ۵ml مخلوط اسید نیتریک و اسید کلریدریک به نسبت ۱ به ۲ به آرامی بر روی هات‌پلیت هضم شدند نمونه‌های هضم شده در ۲ml اسید کلریدریک ۱۰٪ حل و به حجم ۲۰ml رسانیده شدند و نهایتا در دستگاه جذب اتمی میزان کادمیوم اندازه‌گیری شد.

سنجش مقدار پرولین در برگ: استخراج پرولین از جوانترین برگ‌ها با استفاده از روش باتیس و همکاران (۱۹۷۳) صورت گرفت. ترکیبات و نحوه تهیه محلول‌های لازم برای سنجش مقدار پرولین با دستگاه اسپکترومتری شامل مراحل زیر بود.

مقدار g ۰/۱ بافت برگی در ml ۱۰ سولفوسالیسیلیک اسید ۳/۳ ٪ سائیده و همگنای حاصل از کاغذ صافی

عبور داده شد. محلول بدست آمده با سرعت rpm ٤٠٠٠ در دمای °C ٤ به مدت min ١٠ سانتریفیوژ گردید و در لوله جداگانه دیگری، به ml ٢ از عصاره حاصل، ml ٢ معرف ناین هیدرین و ml ٢ اسید اسیتیک گلاسیال خالص اضافه گردید. لوله‌ها به مدت h ١در بن‌ماری قرارگرفتند و پس از اضافه کردن ml ٤ تولوئن به هر کدام از لوله‌ها، به مدت ١٥ تا ٢٠ ثانیه ورتکس گردیدند. پس از تشکیل دو فاز جداگانه، فاز بالایی رنگی، با دقت جدا و در دستگاه اسپکتروفتومتری با طول موج nm ٥٢٠ اندازه‌گیری بعمل آمد.

سنجش غلظت لایزین و متیونین: ٠/٥گرم نمونه برگی در هاون به همراه ٥٠ میلی‌لیتر اسید هیدروکلریدریک ٠/١ درصد خوب سائیده و با آب مقطر به حجم ١٠٠میلی‌لیتر رسانده شد. جهت استخراج لایزین ١ میلی‌لیتر از محلول بالا با١٠ میلی‌لیتر گلیسرول (٥٠٪)، با ٢ میلی‌لیتر بافر فسفات (٥/٣٦٪ $4PO_2NaH_2PO_4$ ٠/١٧ ٪ ،pH=٦) و١ میلی‌لیتر ناین هیدرین (٠/٥ ٪ ناین هیدرین، ٢٦/٥ ٪کلریدسدیم و ١٠ ٪سدیم هیدروکسید ٠/١ نرمال) مخلوط، سپس به مدت ٣٠ دقیقه در آب جوش ١٠٠ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و بعد به حمام یخ منتقل گردید و در دمای محیط خنک شد. محلول را با آب به حجم ٢٥٠ میلی‌لیتر رسانده و پس از ١٥ دقیقه میزان جذب آن در دستگاه اسپکتروفتومتری با طول موج ٥٧٠ نانومتر قرائت شد (لوساک و همکاران ٢٠١٠).

سنجش قندهای محلول کل: قندهای محلول کل با روش آنترون ارزیابی شدند (برای اندازه‌گیری قند کل، ٠/٢ میلی‌لیتر از عصارهٔ تغلیظ‌شده، با ٣ میلی‌لیتر معرف آنترون (١٥٠ میلی‌گرم آنترون در ١٠٠ میلی‌لیتر سولفوریک اسید ١٣ مولار) مخلوط شد و به‌مدت ٢٠ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ١٠٠ درجهٔ سانتیگراد قرار گرفت. پس از سردشدن نمونه‌ها، میزان جذب هر یک از آن‌ها در طول موج ٦٢٠ نانومتر اندازه‌گیری شد. میزان قندهای محلول کل با منحنی استاندارد گلوکز محاسبه شد(ام سی کریدای ١٩٥٠).

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز: به منظور استخراج آنزیم پراکسیداز با روش مک آدام و همکاران (١٩٩٢)، ٠/١ گرم نمونه گیاهی با استفاده از هاون چینی سرد و ١ میلی‌لیتر بافر استخراج (٣ میلی‌لیتر بافر فسفات ١٠٠ میلی‌مولار، ٥٠ میکرولیتر تتراگوایاکول٢٠٠میلی‌مولار و٤٠ میکرولیتر محلول ٣٠ میلی‌مولار آب اکسیژنه باهم مخلوط گردید). در دمای٤ درجه سانتی‌گراد هموژن گردید. هموژن تهیه شده پس از انتقال به میکروتیوب با سرعت rpm١٢٠٠٠ به مدت ١٥ دقیقه در دمای٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. جهت پیشگیری از تخریب پروتئین آنزیمی، تا زمان اندازه‌گیری آنزیم نمونه‌های سانتریفیوژ شده در دمای ٢٠- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس، ١٠٠ میکرولیتر عصاره آنزیمی به آن اضافه شد و ٥ دقیقه بعد از شروع واکنش در دمای آزمایشگاه جذب در طول موج ٤٧٠ نانومتر با استفاده از اسپکتوفتومر اندازه‌گیری شد. اعداد مربوط به جذب بر عدد ضریب خاموشی تتراگوایاکول (٢٦/٦) تقسیم شد و فعالیت ویژه آنزیم پراکسیداز بر اساس میکرومول تتراگوایاکول تولید شده در دقیقه بیان شد.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز: به منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز با روش ابی (١٩٨٤)، همانند آنزیم پراکسیداز بود؛ با این تفاوت که برای آنزیم کاتالاز در بافر استخراج از KCl و تتراگوایاکول استفاده نشد. ابتدا دستگاه اسپکتروفتومتر روی طول موج ٢٤٠ نانومتر تنظیم شد. بافر استخراج شامل ٣٠٠٠ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم١٠٠میلی‌مولار با اسیدیته ٧ و ٤٠ میکرولیتر محلول هیدروژن‌پراکسید (٣٠ میلی‌مولار) در سل کوارتزی ریخته شدند. سل حاوی این دو ماده در دستگاه قرار گرفته و از آن به عنوان شاهد برای کالیبره کردن دستگاه استفاده شد. سپس، ١٠٠ میکرولیتر عصاره آنزیمی به آن اضافه و بعد از ٥ دقیقه از شروع

واکنش در دمای آزمایشگاه، جذب در طول موج ۲٤۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. اعداد مربوط به جذب بر عدد ضریب خاموشی پراکسید هیدروژن ۳۹/٤ تقسیم شد و فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز بر اساس میکرومول H_2O_2 تولیدشده در دقیقه بیان شد.

سنجش فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز: پس از آماده‌سازی عصاره پروتئینی(۰/۱ گرم نمونه گیاهی با استفاده از هاون چینی سرد و ۱ میلی‌لیتر بافر استخراج در دمای٤ درجه سانتی‌گراد هموژن گردید) فعالیت سینتیکی آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز با روش کار و میشرا (۱۹۷٦) بررسی شد. برای این منظور ۰/۵ میلی‌لیتر بافرتریس با ۱/۱ میلی‌لیتر پیروگالل و ۱/۰ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی خوب مخلوط و به مدت ۵ دقیقه در بن‌ماری ۹۵ درجه سانتیگراد قرار گرفت، منحنی تغییرات جذب در طول موج ۱۹۱ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. سرانجام فعالیت آنزیمی بر حسب تغییرات واحد جذب در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین محاسبه گردید.

روش های آماری تجزیه و تحلیل: این آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملا تصادفی با سه تکرار به ازای هر تیمار انجام شد. آنالیز واریانس و مقایسه میانگین تیمارها با نرم‌افزار SAS (Ver. 9.1) انجام شد. میانگین اثرات ساده و اثرات متقابل با استفاده از آزمونLSD در سطح احتمال پنج درصد با هم مورد مقایسه قرارگرفتند و نمودارها با استفاده از برنامه Excel ترسیم شدند.

نتایج و بحث

عملکرد دانه، وزن خشک ساقه، وزن هزار دانه و تعداد دانه در سنبله: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که از بین اثرات اصلی اثر کادمیوم بر روی وزن هزار دانه در سطح پنج درصد و در سایر صفات در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). اثر باکتری بر وزن خشک ساقه و عملکرد دانه در سطح یک درصد و بر وزن هزار دانه در سطح پنج درصد معنی‌دار بود. عملکرد دانه و وزن هزار دانه تحت تاثیر ژنوتیپ در سطح یک درصد معنی‌دار بود. داده‌های حاصل از مقایسه میانگین حاکی از برتری رقم کریم نسبت به رقم گنبد است. میانگین وزن خشک ساقه رقم کریم۱/۲۹ گرم و رقم گنبد ۱/۲٦ گرم، میانگین عملکرد دانه رقم کریم ۱۹۵/۵میلی‌گرم در بوته و رقم گنبد ۱۵۰ میلی‌گرم در بوته، میانگین وزن هزار دانه رقم کریم ۳۰/۲۲ میلی‌گرم و رقم گنبد ۲۱/۸۸ میلی‌گرم و میانگین تعداد دانه در سنبله رقم کریم ۱٦/۸۵ و رقم گنبد ۱٦/۵۲ است. درحضور ازتوباکتر بیشینه تمام صفات مذکورمشاهده گردید (جدول۲). بررسی نتایج حاصل از اثر کادمیوم بر روی عملکرد دانه، وزن خشک ساقه، وزن هزار دانه و تعداد دانه در سنبله بیشینه میزان صفات را در شاهد و کمینه را در بالاترین غلظت کادمیوم نشان داد (جدول۲). کاهش وزن خشک اندام هوایی در حضور کادمیوم در ارقام مختلف برنج (لیو وهمکاران ۲۰۱۰) و ذرت لاگریفول و همکاران (۱۹۹۸) نیزگزارش شده است. توقف رشد ناشی از کادمیوم مربوط به ایجاد اختلالات تغذیه‌ای و برهم زدن تعادل آبی گیاه و نیز اثرات بازدارندگی این عنصر بر تقسیم سلولی و کاهش سرعت اتساع سلول‌ها است (کاباتاپندایس و پندایس ۲۰۰۱). در بررسی اثرات متقابل مشخص شد که فقط اثر باکتری×ژنوتیپ در مورد وزن خشک ساقه و تعداد دانه در سنبله اختلاف معنی‌دار داشت در مورد وزن خشک ساقه ازتوباکتر بیشتر از سودوموناس بر روی رقم کریم موثر بوده است و تعداد دانه در سنبله رقم کریم در حضور باکتری‌ها نسبت به شاهد افزایش بیشتری نشان داد. این امر احتمالا به دلیل مقاومت بالاتر رقم کریم در مقابل سمیت کادمیوم می باشد و نیز احتمالا به دلیل کارایی بیشتر آنزیم‌های چرخه کربن این رقم می‌باشد (جوادزرین و همکاران ۲۰۱۷).

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس وزن خشک، عملکرد، وزن هزار دانه و تعداد دانه تحت تنش کلریدکادمیوم و تلقیح باکتری‌های افزاینده رشد

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		وزن خشک ساقه	عملکرددانه	وزن صددانه	تعداد دانه در سنبله
ژنوتیپ(G)	۱	۰/۱۲۲ ns	۳۷۲٦٤/٥ **	۱۲٥۰/۰ **	۱/۸۷۲ ns
باکتری(B)	۲	۰/٤۸۷ **	۱۰۹٦۹/٥ **	٤٦/۱۸ *	۳/۲۳۲ ns
کادمیوم(C)	۳	۰/٥۷۹ **	۲۰٦۲۱/۲ **	۱۰۸/۲٥ **	۱۱/۲۷٦ *
G×B	۲	۰/٤٥٦ **	۲٤۸۸/۰٤ ns	۳۱/۲۹۱ ns	۱۰/۸۸۱ *
G×C	۳	۰/۰۲۳ ns	۲۸۲۱/۰٥ ns	۲۰/۷۷ ns	۲/۲۹٥ ns
B×C	٦	۰/۰٤۳ ns	٦۸۳/٤۳ ns	٦/۷۱۷ ns	۰/٤۳۷ ns
G×B×C	٦	۰/۰۰۹ ns	٤٦۳/۳۷ ns	۸/۲۳٦ ns	۰/۱۳٥ ns
خطا	٤۸	۰/۰٤۳	۱٥٥۷/۰	۱۱/۲۹	۳/۰۱۱
ضریب تغییرات(%)	-	۲۱/۱٦	۲۲/۸٤	۱۲/۸۹	۲٥/۹۳

** معنی‌داری در سطح یک درصد، * معنی‌داری در سطح پنج درصد و ns غیرمعنی‌دار می باشد.

جدول ۲- نتایج مقایسه میانگین وزن خشک، عملکرد، وزن هزار دانه و تعداد دانه تحت تنش کلریدکادمیوم و تلقیح باکتری‌های افزاینده رشد

تیمارها		وزن خشک ساقه (g)	عملکرد دانه (mg.plant^{-1})	وزن هزار دانه (mg)	تعداد دانه
باکتری	شاهد	۱/۱۹۱۳ a	۱٤۸/۷۰۸۳ b	۲٤/٤٥۸۳ b	۱٦/۲۸٤۲ a
	ازتوباکتر	۱/٤٤٥٤ a	۱۸۹/٦۲٥ a	۲٦/۹٥۸۳ a	۱٦/۹۹۷٥ a
	سودوموناس	۱/۲۰٦۷ b	۱۷۹/۹۱٦۷ a	۲٦/۷٥ a	۱٦/۷۹۰٤ a
رقم	کریم	۱/۲۹٤۲ a	۱۹٥/٥ a	۳۰/۲۲۲۲ a	۱٦/۸۲۹٤ a
	گنبد	۱/۲٦۸۱ a	۱٥۰ b	۲۱/۸۸۸۹ b	۱٦/٥٥۱۹ a
کادمیوم	۰	۱/٤٦٥٦ a	۱۹٥ a	۲۸/٦۱۱۱ a	۱٦/۹٤٤٤ a
	۷٥	۱/۳٦٦۱ ab	۱۹۳/۳۸۸۹ a	۲٦/٦٦٦۷ ab	۱۷/۳۹۲۸ a
	۱٥۰	۱/۲٤۳۹ b	۱۷۹/٥٥٥٦ a	۲٦/۲۲۲۲ b	۱٦/۸۷۰٦ a
	۳۰۰	۱/۰٤۸۹ c	۱۲۳/۰٥٥٦ b	۲۲/۷۲۲۲ c	۱٥/٥٥٥ b

حروف متفاوت در هر ستون نشاندهنده اختلاف معنی دار توسط آزمون LSD در سطح ٥ درصد می باشد

جدول ۳- مقایسه میانگین برهم کنش باکتری × ژنوتیپ برای وزن خشک ساقه و تعداد دانه در سنبله

رقم	باکتری	وزن خشک ساقه(g)	تعداد دانه در سنبله
کریم	شاهد	۱/۰۷۸ c	۱٥/۳٥۱ b
	ازتوباکتر	۱/٦۰٥ a	۱۷/۱۳٦ a
	سودوموناس	۱/۱۹۸ bc	۱۷/۱۰۰ a
گنبد	شاهد	۱/۳۰٤ b	۱۷/۲۱٦ a
	ازتوباکتر	۱/۲۸٥ b	۱٦/۸٥۸ a
	سودوموناس	۱/۲۱٥ bc	۱٦/٤۸۰ ab

حروف متفاوت در هر ستون نشاندهنده اختلاف معنی‌دار توسط آزمون LSD در سطح ٥ درصد می‌باشد

جذب اتمی کادمیوم

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد اثرات متقابل سه گانه رقم×باکتری×کادمیوم در مورد میزان کادمیوم جذب شده در ریشه، ساقه و نیز دانه در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول٤) در هر سه صفت مذکور حضور باکتریها منجر به کاهش معنی‌دار(در سطح یک درصد) غلظت کادمیوم گشت به عبارت دیگر از ریشه تا دانه انباشت کادمیوم در حضور باکتریها کاهش یافت.این نتایج با کارهای لیو و همکاران ۲۰۰۳ مطابقت دارد در هر دو رقم با افزایش غلظت کادمیوم میزان انباشت کادمیوم در ریشه، ساقه و دانه بیشتر گشت. طوریکه بیشترین غلظت کادمیوم اندازه‌گیری شده در هر سه صفت از تیمار کنترل (شاهد) با غلظت ماکزیموم کادمیوم (۳۰۰ میکرومولار کادمیوم) بدست آمد با بررسی مقایسه میانگین انباشت کادمیوم در ساقه و دانه مشخص شد رقم کریم در حضور ازتوباکتر و سودوموناس کمترین میزان انباشت کادمیوم در ساقه و دانه را نسبت به رقم گنبد نشان داد و نتایج بدست آمده در حد استاندارد جهانی(۰/۰٦ میلی‌گرم در کیلوگرم) بود(راست منش و همکاران، ۱۳۹٤) و لذا مصارف انسانی و دامی آن مشکل‌ساز نخواهد بود. باکتری‌ها با ترشح سیدرفور و معدنی کردن (غیرمتحرک کردن فلزات سنگین) با تشکیل سولفیدهای غیرمحلول مانع از انتقال فلزات سنگین از ریشه به ساقه می‌گردند(جهانبخشی و همکاران، ۲۰۱٤). کاهش مقدار کادمیوم از ساقه به دانه طبق یافته‌های سیدشریفی(۱۳۹۲) به دلیل کاهش قدرت مخزن (فعالیت مخزن × اندازه آن= قدرت مخزن) نسبت به منبع با تامین نیتروژن توسط باکتری های محرک رشد می‌باشد. چرا که در شرایط کمبود نیتروژن به دلیل روابط فیزیولوژیکی بین منبع و مخزن ، قدرت مخزن بیشتر از منبع می‌گردد(سیدشریفی و حیدری، ۲۰۱۵) و ازتوباکتر با فراهم نمودن نیتروژن قدرت مخزن را کاهش داده لذا کادمیوم کمتری در دانه تجمع می‌یابد.

جدول۴- نتایج تجزیه واریانس وزن میزان کادمیوم جذب شده در ریشه، ساقه و دانه تحت تنش کلریدکادمیوم و اثر باکتری‌های افزاینده رشد

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		کادمیوم ریشه	کادمیوم ساقه	کادمیوم دانه
ژنوتیپ(G)	۱	۲/۰۹**	۰/۰۲۷*	۰/۰۲۲ ns
باکتری(B)	۲	۲۱/۷٤**	۲/٤۸**	۲/۳۸**
کادمیوم(C)	۳	۱۱/۷۲**	۰/٥۸**	۰/٦۲**
G×B	۲	۷/۷۰**	۰/۱٦**	۰/۱٤**
G×C	۳	۰/۷۸**	۰/۰۱۲ ns	۰/۰۱٤ ns
B×C	٦	٥/۰٦**	۰/۳٥**	۰/۳۷**
G×B×C	٦	۱/٦۱**	۰/۰۲۱**	۰/۰۲**
خطا	٤۸	۰/۰۲۷	۰/۰۰٥	۰/۰۰۳
ضریب تغییرات(٪)	–	۰/۱٦	۰/۰۷۱	۲۱/۳۰

** معنی‌داری در سطح یک درصد، * معنی‌داری در سطح پنج درصد و ns غیرمعنی‌دار می باشد.

جدول ۵- نتایج مقایسه میانگین ترکیبات تیماری جذب شده در ریشه، ساقه و دانه تحت تنش کلریدکادمیوم و اثر باکتری‌های افزاینده رشد

	تیمارها	کادمیوم ریشه ($mg.kg^{-1}$)	کادمیوم ساقه ($mg.kg^{-1}$)	کادمیوم دانه ($mg.kg^{-1}$)
باکتری	شاهد	۲/۱۱ a	۰/٦٤ a	۰/٦٢ a
	ازتوباکتر	۰/٤٢ b	۰/۰۸ b	۰/۰۵ b
	سودوموناس	۰/۵۰ b	۰/۱۰ b	۰/۰۹ b
رقم	کریم	۱/۱۸ a	۰/۲۵ b	۰/۲۲a
	گنبد	۰/۸٤ b	۰/۲۹ a	۰/۲۵a
کادمیوم	صفر	۰/۱۷d	۰/۰۹d	۰/۰۷d
	۷۵	۰/٦۰c	۰/۱۸c	۰/۱۵ c
	۱۵۰	۱/۲۳b	۰/۳۳b	۰/۳۰ b
	۳۰۰	۲/۰۳a	۰/۵۰a	۰/٤۹ a

حروف متفاوت در هر ستون نشاندهنده اختلاف معنی‌دار توسط آزمون LSD در سطح ۵ درصد می‌باشد

صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی

داده‌های حاصل از تجزیه واریانس قندهای محلول نشان از معنی‌داری اثرات اصلی در هر چهار زمان نمونه‌برداری شده (۲٤، ٤۸، ۷۲ ساعت و مرحله ساقه‌دهی) با معنی‌داری یک درصد بود. اثر متقابل ژنوتیپ × باکتری در سه زمان اول نمونه‌برداری، در سطح یک درصد معنی‌دار بود. برهمکنش ژنوتیپ×کادمیوم فقط در مرحله ۲٤ ساعت در سطح یک درصد معنی‌دار شد و اثر متقابل باکتری×کادمیوم به جز ۷۲ ساعت که معنی‌دار نشد در بقیه موارد معنی‌داری در سطح یک درصد را نشان داد، اما اثرات متقابل سه جانبه فاکتورها در هیچ یک از زمان‌ها معنی‌دار نبود (جدول۷). قندهای محلول هر دو رقم گندم تحت تاثیر باکتری‌ها قرار گرفتند و باکتری ازتوباکتر نسبت به سودوموناس دردو زمان نمونه‌برداری اول (مقدار ۰/۷۱ میلی‌گرم درگرم در رقم کریم) و زمان سوم نمونه‌برداری (۰/۵۷ میلی‌گرم درگرم در رقم گنبد) از برتری برخوردار بود و در مرحله ساقه‌دهی نیز بین دو رقم اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در دو زمان اول و دوم نمونه‌برداری (۲٤ ساعت و ٤۸ ساعت) برتری ازتوباکتر (به ترتیب با مقادیر ۰/۷۳ و ۰/۵۷ میلی گرم در گرم) با غلظت ۱۵۰ میکرومولارکادمیوم بدست آمد و با افزایش غلظت کادمیوم مقادیر قندهای محلول نیز افزایش نشان داد و کمترین مقدار قندهای محلول مربوط به شاهد بود (جدول۸).

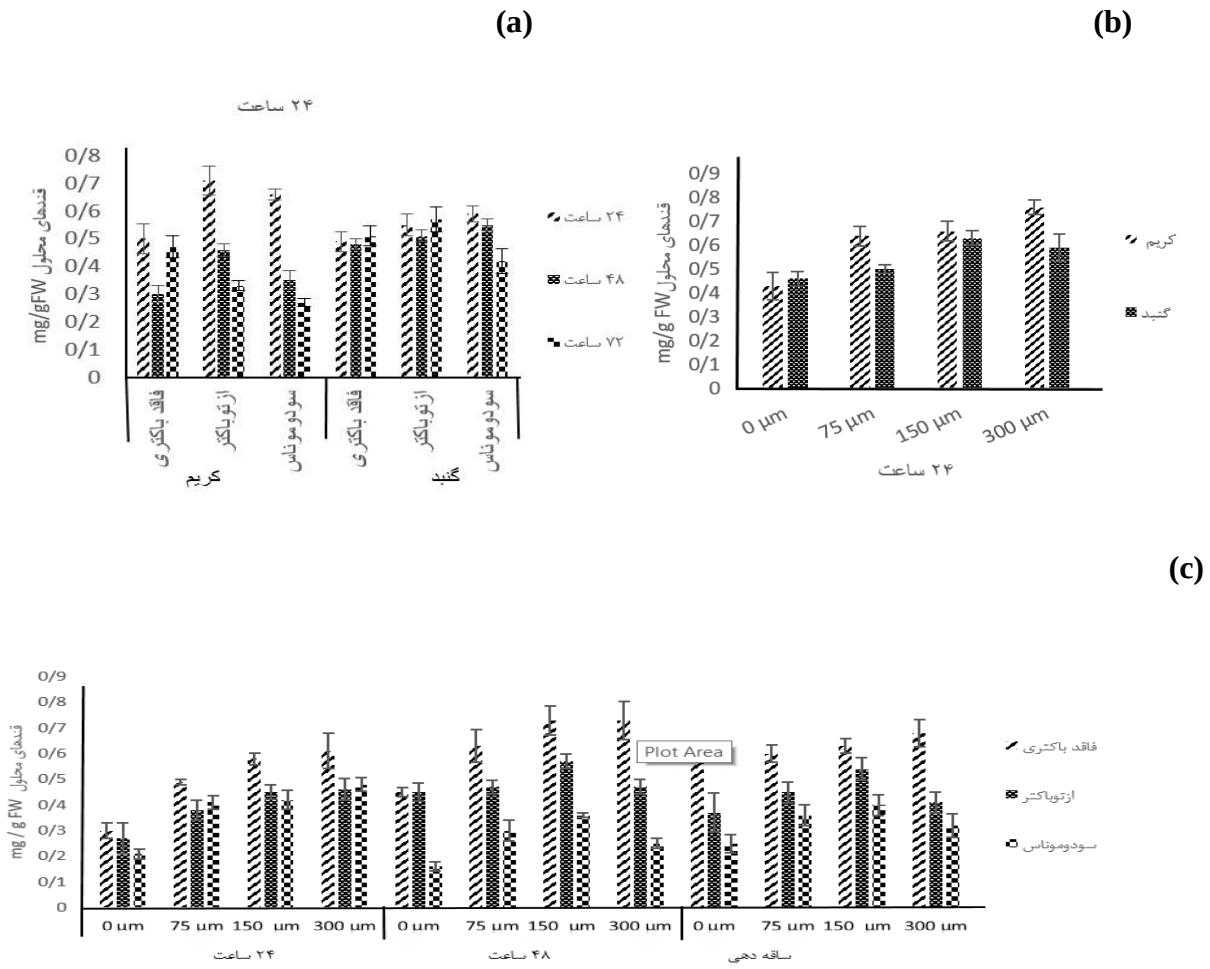
اثر متقابل رقم×کادمیوم برای قندهای محلول در ۲٤ ساعت نشان داد با افزایش غلظت کادمیوم (۰، ۷۵، ۱۵۰ و ۳۰۰ میکرومولار) در رقم کریم (به ترتیب ۰/٤۳، ۰/٦٤، ۰/٦٦، ۰/۷٦ میلی‌گرم در گرم) و رقم گنبد (به ترتیب ۰/٤٦، ۰/۵۰، ۰/٦۳، ۰/۵۹ میلی‌گرم درگرم) میزان قندهای محلول نیز افزایش یافت به جز غلظت ۳۰۰ میکرومولار کادمیوم در رقم گنبد که با افزایش غلظت کادمیوم میزان قند محلول (۰/۵۹ میلی‌گرم درگرم) کاهش یافت (شکل ۱).

جدول۶- مقایسه میانگین اثر متقابل رقم×باکتری×کادمیوم برای میزان کادمیوم جذب شده در ریشه، ساقه و دانه هر دو رقم کریم و گنبد

تیمارها			کادمیوم ریشه ($mg.kg^{-1}$)	کادمیوم ساقه ($mg.kg^{-1}$)	کادمیوم دانه ($mg.kg^{-1}$)
رقم	باکتری	کادمیوم (میکرومولار)			
کریم	شاهد	۰	۰/۲۹i-l	۰/۱۷e-h	۰/۱۱ef
		۷۵	۱/۴۰d	۰/۵۴d	۰/۵۱d
		۱۵۰	۳/۷۱b	۰/۷۹c	۰/۷۴d
		۳۰۰	۶/۳۲a	۱/۳۸a	۱/۳۸a
	ازتوباکتر	۰	۰/۰۶l	۰/۰۱j	۰/۰۱g
		۷۵	۰/۲۶j-l	۰/۰۱j	۰/۱۳g
		۱۵۰	۰/۴۰h-k	۰/۰۲ij	۰/۱۴g
		۳۰۰	۰/۴۷h-j	۰/۰۴ij	۰/۱۵g
	سودوموناس	۰	۰/۰۷l	۰/۰۱j	۰/۰۱g
		۷۵	۰/۲۴j-l	۰/۰۲ij	۰/۰۱g
		۱۵۰	۰/۳۷h-k	۰/۰۳ij	۰/۰۱g
		۳۰۰	۰/۵۶g-i	۰/۰۳ij	۰/۰۱g
گنبد	شاهد	۰	۰/۲۲j-l	۰/۱۳f-i	۰/۱۲ef
		۷۵	۰/۸۰fg	۰/۲۹e	۰/۲۶e
		۱۵۰	۱/۴۰d	۰/۸۲c	۰/۷۵c
		۳۰۰	۲/۷۱c	۱/۰۴b	۱/۰۵b
	ازتوباکتر	۰	۰/۱۹kl	۰/۰۸h-j	۰/۰۲g
		۷۵	۰/۴۳h-k	۰/۰۹g-j	۰/۰۲g
		۱۵۰	۰/۵۹gh	۰/۱۲f-j	۰/۰۸fg
		۳۰۰	۰/۹۴ef	۰/۲۴ef	۰/۲۵e
	سودوموناس	۰	۰/۱۹kl	۰/۱۲f-j	۰/۱۲ef
		۷۵	۰/۴۸h-j	۰/۱۱f-j	۰/۱۲ef
		۱۵۰	۰/۹۳ef	۰/۲۱e-g	۰/۱۹ef
		۳۰۰	۱/۱۶de	۰/۲۶e	۰/۲۵e

حروف متفاوت در هر ستون نشاندهنده اختلاف معنی دار توسط آزمون LSD در سطح ۵ درصد می باشد

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد اثرات متقابل سه گانه رقم×باکتری×کادمیوم هر چهار بازه زمانی در مورد پرولین معنی‌دار بود (جدول۷) تاثیر باکتری‌ها بر روی تمام غلظت‌های بررسی شده کادمیوم در این پژوهش بر روی مقدار پرولین در هر چهار زمان یک اثر کاهشی بود، طوریکه بالاترین غلظت پرولین از تیمار شاهد (۰/۵۰ میکرومول برگرم) بدست آمد. نتایج تجزیه واریانس در رابطه با متیونین نشان از معنی‌داری برهمکنش سه گانه رقم×باکتری×کادمیوم در همه زمان‌ها است این معنی‌داری برای زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت در سطح پنج درصد و برای زمان‌های۷۲ ساعت و مرحله ساقه‌دهی در سطح یک درصد بدست آمد. حضور باکتری‌ها مانع از افزایش مقدار متیونین در تنش حاصل از غلظت‌های مختلف کادمیوم در تمام بازه‌های زمانی بررسی شده (۲۴، ۴۸، ۷۲ و مرحله ساقه‌دهی)



شکل ۱- تاثیر تنش کادمیوم در زمان ۲۴ساعت(a) ، باکتری‌ها در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت (b) و اثرات متقابل باکتری و کادمیوم در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ساقه‌دهی(c) بر قندهای محلول در دو رقم کریم و گنبد

گشت، بطوریکه بیشترین مقدار متیونین در هر دو رقم بررسی شده (کریم و گنبد) از تیمار شاهد بدست آمد (جدول۹). جدول تجزیه واریانس (جدول ۷) لایزین به عنوان یکی از صفت‌های بررسی شده در این پژوهش نشان داد هیچ کدام از اثرات متقابل تفاوت معنی‌داری نشان ندادند فقط اثرات اصلی (باکتری و کادمیوم) در زمان های ٤٨، ٧٢ و مرحله ساقه‌دهی با معنی‌داری پنج درصد (به استثنای باکتری ٤٨ ساعت با معنی‌داری یک درصد) اثرگذار بودند. علاوه بر این ژنوتیپ و باکتری (از اثرات اصلی اثرگذار) اولی در زمان ٧٢ ساعت معنی‌داری پنج درصد و نیز عامل دوم در زمان ٢٤ ساعت معنی‌داری یک درصد را نشان داد و بقیه عوامل غیرمعنی‌دار بودند. نتایج نشان داد درحضور باکتری‌ها مقدار لایزین بیشتر شد طوریکه بیشترین مقدار از باکتری ازتوباکتر در زمان ٢٤ ساعت بعد از اعمال تیمار کادمیوم (٠/٨٤ میلی‌گرم درگرم) و کمترین مقدار(٠/٢٧میلی‌گرم درگرم) از تیمار شاهد در زمان ٧٢ ساعت بدست آمد. درمورد رقم‌ها نیز بیشترین مقدار (١/٩٠میلی‌گرم درگرم) از رقم کریم بدست آمد اثر کادمیوم به عنوان یکی از فاکتورهای تنش‌زا در غلظت های ٧٥ و ١٥٠ میکرومولار نسبت به تیمار شاهد اثر افزایشی اما در غلظت ٣٠٠ میکرومولار کاهشی بود. بررسی حاصل از تجزیه واریانس (جدول٧) فاکتورهای اصلی (ژنوتیپ، کادمیوم و باکتری) در مورد آنزیم‌های

مورد مطالعه در این پژوهش نشان داد در بین صفات بررسی شده اثر ژنوتیپ فقط بر صفت کاتالاز در ٤٨ ساعت (سطح معنی‌داری یک درصد) معنی‌دار شد. اما حضور باکتری‌ها مقادیر همه آنزیم‌ها را با معنی‌داری یک درصد افزایش داده (به جز زمان ٢٤ ساعت که کاهش نشان داد) حضورکادمیوم بر روی تمام آنزیم‌ها با سطح معنی‌داری یک درصد افزایش اما موجب کاهش مقادیر آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز گشت (جدول۱۰). و نیز اثرات دوگانه رقم×کادمیوم آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز در ٤٨ ساعت موجب افزایش مقادیر هر دو آنزیم ذکر شده در رقم کریم در غلظت‌های بالاتر (به ترتیب با معنی‌داری یک درصد و پنج درصد)گشت. همچنین، برهمکنش رقم×باکتری بر روی کاتالاز(با سطح معنی‌داری یک درصد) در نمونه‌برداری دوم(٤٨ ساعت) حاکی از افزایش مقدار آنزیم در رقم کریم و کاهش آن در رقم دیگر با حضور باکتری‌ها بود. نهایتا اثر باکتری×کادمیوم در مورد پلی‌فنل‌اکسیداز در ۷۲ ساعت معنی‌داری پنج درصد نشان داد و مشخص شد کاهش مقدار پلی‌فنل‌اکسیداز در این بازه زمانی در عدم حضور باکتری‌ها قابل توجه بود (شکل۲).

افزایش قندها (اعم از احیاکننده و غیراحیاکننده) در گیاهان رزماری، کلزا و عدس تحت تاثیر فلزات سنگین توسط محققین دیگر نیز گزارش شده است (نوریان آزاد و کفیل‌زاده، ۲۰۱۰). یک دلیل برای این افزایش سازگاری گیاه برای حفظ شرایط اسمزی است (قربانلی و همکاران، ۲۰۱۰) زیرا در حضور کادمیوم انتقال آب کاهش می‌یابد (به دلیل افزایش این فلزات در درون سلول‌ها) و این امر موجب افزایش قندهای محلول در اندام‌های گیاهان می‌شود تا گیاه با حفظ فشاراسمزی قادر به جذب آب بیشتری شود (احمد و شارما ، ۲۰۱۰). دلیل دیگر افزایش محتوای قندها، هورمونهایی مانند سیتوکنین و جیبرلین است که در گیاهان با انتقال یون‌های مورد نیاز در باز شدن روزنه‌ها و تنظیم سطح کلروفیل منجر به افزایش فتوسنتز می‌شود و نهایتا محتوای قندها را در گیاهان افزایش دهد. علاوه بر این گیاهان به منظور حفظ متابولیسم پایه میزان قندهای محلول را افزایش می‌دهند زیرا به وسیله فلزات سنگین فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیکی نظیرآمیلاز که نشاسته را به قند تبدیل می‌کند و نیز آنزیم‌های تجزیه‌کننده قندهای غیرمحلول نظیرانورتاز و سوکروزسنتاز تحت تاثیر قرار می‌گیرد. میزان کربوهیدرات کل در گیاهان گوناگون، به غلظت فلزسنگین مورد استفاده و نیز مقاوم بودن گونه‌ها نیز بستگی دارد. ازتوباکتر برای کسب انرژی به عنوان یک شیمیوارگانوتروف از قندها و اسیدهای‌آلی برای تکثیر استفاده می‌کند لذا این امر یکی از دلایل افزایش قندها در حضور ازتوباکتر می‌باشد این افزایش توسط پژوهشگران دیگر نیز گزارش شده است زیرا استفاده از محرک‌های رشد موجب تنظیم پتانسیل اسمزی به منظور افزایش مقاومت گیاه به تنش می‌شوند (کاشوک و همکاران، ۲۰۱۰). در شرایط تنش به خصوص تنش ناشی از فلزات سنگین مقدار پرولین به عنوان یکی از اسیدهای آمینه تغییر می‌یابد زیرا پرولین در حفظ تعادل آب، حفظ نسبت $NADP^+/NADPH^+$، حفظ ساختار سه بعدی پروتئین‌ها و آنزیم‌ها ، تثبیت غشا و کاهش خطرات رادیکال‌های آزاد اکسیژن و نیز مولکول پیام‌رسان در طول تنش نقش دارد(حیات و همکاران، ۲۰۱۲) در طول تنش مقدار پرولین افزایش می‌یابد افزایش مقدار پرولین توسط محققین دیگر در گیاهانی مثل چغندرقند، گندم، فلفل و عدسک آبی نیز دیده شده است

(نادری و همکاران، ۲۰۱۳ و شکاری و همکاران،۲۰۱۷) در این پژوهش کاربرد باکتری اثرات تنش ناشی از کادمیوم را خنثی نمود طوریکه با کاربرد باکتریها میزان پرولین کاهش یافت. این امر احتمالا به دلیل محدویت انتقال فلزات سنگین توسط باکتری‌ها به عنوان یک مکانیسم دفاعی باشد یا کلاته کردن فلز سنگین با لیگاند و محبوس کردن کمپلکس لیگاند فلز سنگین در واکوئل

جدول ۷- نتایج تجزیه واریانس قندهای محلول، پرولین ، لایزین و متیونین تحت تنش کلریدکادمیوم و اثر باکتری‌های افزاینده رشد در دو رقم گندم نان در چهار مرحله زمانی

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات							
		قندهای محلول				پرولین			
		۲٤	٤۸	۷۲	ساقه دهی	۲٤	٤۸	۷۲	ساقه دهی
ژنوتیپ(G)	۱	۰/۱۱۳٦**	۰/۳٤۳۰**	۰/۳٦۲٦**	۰/۰۰۲٥ ns	۰/۰۰۰۲ ns	۰/۰۰۱۲ ns	۰/۰۰۰۹ ns	۰/۰۰٤۸*
باکتری(B)	۲	۰/۱٤۲۰**	۰/۰٥٦۹**	۰/۱۳۰۷**	۰/۰۷٥۱**	۰/۰٤۳۰**	۰/۳۲۷٤**	۰/۳۸٥۱**	۰/٤٤۸٥**
کادمیوم(C)	۳	۰/۱۸۲۹**	۰/۰۷۸٥**	۰/۱۷۳۷**	۰/۱۱۹٥**	۰/۱۲٦**	۰/۰٥۹۱**	۰/۰٦۱۰**	۰/۰٥٥۱**
G×B	۲	۰/۱۳٤٤**	۰/۰٤۲۲**	۰/۱۷۱۲**	ns۰/۰۰٦۱	۰/۰۰۲٤**	ns۰/۰۰۰۱	ns۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۳۹*
G×C	۳	۰/۰۳٥۹**	ns۰/۰۰۹۷	ns۰/۰۰۸٥	ns۰/۰۰۷۸	ns۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۲٥**	۰/۰۰۲۰*	۰/۰۰۳۱*
B×C	٦	۰/۱۲۳٦**	۰/۰۱۲۰**	ns۰/۰۰٦٥	۰/۱۱٤۹**	۰/۰۰٥۸**	۰/۰٦۰۷**	۰/۰٥۹۰**	۰/۰٦۰۳**
G×B×C	٦	ns۰/۰۰۸۱	ns۰/۰۰٦۰	ns۰/۰۰۳۹	ns۰/۰۰۷۷	۰/۰۰۰٥*	۰/۰۰۳۱**	۰/۰۰۲۰*	۰/۰۰۳٤*
خطا	٤۸	۰/۰۰۸۳	۰/۰۰۳٥	۰/۰۱۳٦	۰/۰۰٥۷	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۰٥	۰/۰۰۰٦	۰/۰۰۱۱
ضریب تغییرات(%)	-	۱٥/٦۸	۱۳/٥۸	۲۷/۳۷	۲۳/۲٥	۲۷/٤٥	۲٦/۰٤	۲٥/۹۸	۳۰/۳٤

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات							
		لایزین				متیونین			
		۲٤	٤۸	۷۲	ساقه دهی	۲٤	٤۸	۷۲	ساقه دهی
ژنوتیپ(G)	۱	ns۰/۰۲۲۰	ns۱/٥۷۲	*۰/۱۱٥۲	ns۰/۰۱۲۸	**۰/۰٦۱۲	ns۰/۰۰۰۱	ns۰/۰۲٥٦	*۰/۱٤۱۳
باکتری(B)	۲	**۱/۳٤۸	**۳۷/۸۹	*۰/۰٦٤۳	*۰/۱۲۰۷	**۲۰/۳۸	**٥٤/۰۳	**۳۷/٥۸	**۲٦/۰۲
کادمیوم(C)	۳	ns۰/۰۸۷٤	*۲/٥٦۱	*۰/۰٦۱٦	*۰/۱۱٦۹	*۰/۰۲۲٦	**۱/۱۷۳	**۱/۰٥٦	**۱/٥٥٤
G×B	۲	ns۰/۱۱۳٤	ns۰/٤٤۷۹	ns۰/۰۰۷۱	ns۰/۰۰۸٤	**۰/۰٥٥۹	ns۱/۰۱۳	ns۰/۰۳۷۹	**۰/۱۹۰۱
G×C	۳	ns۰/۰٤۳۰	ns۰/۰٦۳۳	ns۰/۰۰۳٥	ns۰/۰۱۷۰	*۰/۰۱۹۷	ns۰/۲٦۲	**۰/۱٦۲۹	**۰/۱۲۹۱
B×C	٦	ns۰/۰۳۰۷	ns۰/٤۷۳۷	ns۰/۰۰٤۰	ns۰/۰۱۱٦	**۰/۰۱۹٥	**۱/۲۰۱	**۰/۹۳٥۳	**۰/٦۲٥٥
G×B×C	٦	ns۰/۰۱۲۹	ns۰/۰٦۱۳	ns۰/۰۰۳۰	ns۰/۰۲٤٦	*۰/۰۱۷۲	*۰/۲٥٥۹	**۰/۱٥۹٥	**۰/۱۲۸٦
خطا	٤۸	۰/۰٤۳۳	۰/۷۲٤٦	۰/۰۱۹۰	۰/۰۳۰٤	۰/۰۰٥٦	۰/۱۰٦۰	۰/۰۳۳۳	۰/۰۳۰۱
ضریب تغییرات(٪)	-	۳٥/۰۰	٤۸/٥۹	٤۲/۳۳	۳٦/۲۲	۱۲/٤۸	۳٥/٥۰	۲۱/٤۳	۲۷/۱۸

ns، ** و * به ترتیب غیره معنی‌دار، معنی‌دار در سطح ۱٪ و معنی‌دار در سطح ٥٪ می باشد.

که از گردش آزاد فلز سنگین جلوگیری می‌نماید و در نتیجه موجب کاهش اثرات تنش ناشی از فلزات سنگین من جمله پرولین می‌گردد نیز، احتمالا باکتری‌های افزاینده رشد از طریق افزایش آنتی‌اکسیدان‌ها موجب کاهش اثرات سوء فلزات سنگین گشته است احتمالا در پایان تنش به منظور ترمیم خسارات با شکستن پرولین، ATP مورد نیاز فسفریلاسیون اکسیداتیو فراهم می‌گردد و لذا به نظر می‌رسد باکتریها با شکستن پرولین به منظور کسب انرژی موجب کاهش مقدار پرولین گردند (جدول۳). نقش اسیدآمینه متیونین به عنوان متابولیت اساسی سلول گیاهی غیرقابل انکار هست زیرا این اسیدآمینه نقش محوری به عنوان S-Adenosyl Methionine در شروع ترجمه mRNA دارد و نیز در سنتز ایزولوسین به عنوان

سوبسترا (حسین و همکاران،۲۰۰۷) و نیز نقش متعادل‌کننده ایزولوسین در شرایط مختلف برعهده دارد (جوشی و همکاران، ۲۰۱۰) علاوه بر این نقش دیگر متیونین به تحمل تنش است زیرا با شکستن متیونین و تبدیل آن به پلی آمین‌ها مقدار متیونین کاهش می‌یابد و این کاهش ممکن است به علت وارد شدن متیونین در فرایندهای تولید متابولیت‌های مقاومت به تنش نظیر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان باشد زیرا با تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شدت تنش کاهش می‌یابد گذشته از این میزان همه اسیدهای آمینه در حداقل تنش افزایش نمی‌یابند باکتری‌ها نیز با کاهش شدت تنش موجب کاهش میزان متیونین در برهمکنش سه‌گانه باکتری×کادمیوم×رقم گشته است و نهایتا دلیل دیگر این امراینست که احتمالا در شرایط تنش مقدار رادیکال‌های آزاد اکسیژن و سوپراکسید افزایش یافته و افزایش آنها موجب اکسیده شدن متیونین و هیستیدین وکاهش مقدار آنها می‌گردد.

لایزین به عنوان اسیدآمینه ضروری در پاسخ به تنش ابتدا به گلوتامات و سپس به سایر متابولیت‌های مرتبط با تنش نظیر پرولین، آمینوبوتیریک اسید و آرژینین (پیش ماده پلی‌آمین‌ها) تبدیل می‌شود علاوه بر این در تنظیم باز شدن روزنه‌ها، سنتز کلروفیل به منظور افزایش تحمل گیاه به تنش نیز نقش ایفا می‌کند. اسیدهای آمینه از آن جمله لایزین نقش صرفه‌جویی در مصرف انرژی در شرایط تنش را نیز بر عهده دارند علت بالاتر بودن مقدار لایزین در حضور باکتری‌ها به این دلیل است که در شدت‌های پایین‌تر تنش اسیدآمینه‌هایی مانند آسپارژین، لایزین و گلایسین مقدارشان افزایش می‌یابد (زالی و همکاران، ۲۰۱۶). به نظر می‌رسد باکتری‌ها با کاهش اثرات تنش منجر به افزایش مقدار لایزین می‌گردند. با توجه به اینکه ازتوباکتر به عنوان باکتری افزایش‌دهنده ازت مطرح هست و تغییر در ازت بر روی میزان اسیدهای آمینه و نیز پروتئین‌ها اثرگذار است (آتناسوا، ۲۰۰۸) علاوه بر این ازتوباکتر سنتز برخی اسیدهای آمینه را انجام می‌دهد که از آن جمله می‌توان به لایزین، تریپتوفان و هیستیدین اشاره نمود(خسروی، ۲۰۱۴).

جدول ۸- مقایسه میانگین قندهای محلول، پرولین، لایزین و متیونین تحت تاثیر تنش کادمیوم، رقم و باکترهای محرک رشد در چهار زمان مختلف

تیمارها		متیونین ($mg.g^{-1}$)				لایزین ($mg.g^{-1}$)				پرولین ($\mu mol.g^{-1}$ FW)				قندهای محلول ($mg.g^{-1}$ FW)			
		۲۴	۴۸	۷۲	ساقه دهی	۲۴	۴۸	۷۲	ساقه دهی	۲۴	۴۸	۷۲	ساقه دهی	۲۴	۴۸	۷۲	ساقه دهی
باکتری	شاهد	۱/۶۶a	۲/۶۵a	۲/۳۰a	۱/۸۴a	۰/۳۷c	۰/۳۱b	۰/۲۷b	۰/۴۰b	۰/۱۰a	۰/۲۳a	۰/۲۵a	۰/۲۷a	۰/۴۹b	۰/۳۹c	۰/۴۹a	۰/۳۸a
	ازتوباکتر	۰/۰۸b	۰/۰۴b	۰/۱۲b	۰/۰۴b	۰/۸۴a	۲/۶۱a	۰/۳۷a	۰/۵۴a	۰/۰۳b	۰/۰۲b	۰/۰۳b	۰/۰۳b	۰/۶۳a	۰/۴۹a	۰/۴۵a	۰/۲۷c
	سودوموناس	۰/۰۶b	۰/۰۶b	۰/۱۴b	۰/۰۴b	۰/۵۸b	۲/۳۴a	۰/۳۴ab	۰/۵۰ab	۰/۰۳b	۰/۰۳b	۰/۰۲b	۰/۰۳b	۰/۶۲a	۰/۴۰b	۰/۳۵b	۰/۳۳b
رقم	کریم	۰/۵۷b	۰/۹۲a	۰/۸۷a	۰/۵۹b	۰/۵۸a	۱/۹۰a	۰/۲۹b	۰/۵۰a	۰/۰۵a	۰/۰۹a	۰/۱۰a	۰/۱۲a	۰/۶۲a	۰/۳۷b	۰/۳۶b	۰/۳۲a
	گنبد	۰/۶۳a	۰/۹۲a	۰/۸۳a	۰/۶۸a	۰/۶۱a	۱/۶۰a	۰/۳۷a	۰/۴۷a	۰/۰۶a	۰/۰۹a	۰/۱۰a	۰/۱۰b	۰/۵۴b	۰/۵۱a	۰/۵۰a	۰/۳۳a
کادمیوم	۰	۰/۵۵b	۰/۵۵b	۰/۴۹b	۰/۲۷d	۰/۵۵b	۱/۴۸b	۰/۲۸bc	۰/۴۱b	۰/۰۲d	۰/۰۳d	۰/۰۳d	۰/۰۳d	۰/۴۵c	۰/۳۶c	۰/۳۵b	۰/۲۱b
	۷۵	۰/۶۳a	۱/۰۷a	۱/۰۱a	۰/۵۵c	۰/۶۹a	۲/۲۱a	۰/۳۷ab	۰/۵۵a	۰/۰۴c	۰/۰۷c	۰/۰۸c	۰/۱۱c	۰/۵۷b	۰/۴۳b	۰/۴۸a	۰/۳۶a
	۱۵۰	۰/۶۲a	۱/۱۲a	۰/۹۶a	۰/۸۰b	۰/۶۰ab	۱/۹۱ab	۰/۳۸a	۰/۵۵a	۰/۰۷b	۰/۱۱b	۰/۱۳b	۰/۱۳b	۰/۶۵a	۰/۵۲a	۰/۴۸a	۰/۳۹a
	۳۰۰	۰/۶۱a	۰/۹۳a	۰/۹۵a	۰/۹۴a	۰/۵۴b	۱/۴۰b	۰/۲۷c	۰/۴۲b	۰/۰۸a	۰/۱۶a	۰/۱۶a	۰/۱۷a	۰/۶۷a	۰/۴۵b	۰/۴۰ab	۰/۳۵a

وجود حروف متفاوت در هر ستون نشاندهنده اختلاف معنی‌دار توسط آزمون LSD در سطح ۵ درصد می باشد

جدول۹- مقایسه میانگین اثر متقابل باکتری× ژنوتیپ× کادمیوم بر متیونین و پرولین در هر چهار زمان بعد از اعمال تیمارکلریدکادمیوم

تیمارها			متیونین ($mg.g^{-1}$)				پرولین ($\mu mol.g^{-1}$ FW)			
رقم	باکتری	کادمیوم (میکرو-مولار)	۲٤ ساعت	٤۸ ساعت	۷۲ ساعت	ساقه‌دهی	۲٤ ساعت	٤۸ ساعت	۷۲ ساعت	ساقه‌دهی
کریم	شاهد	۰	۱/٤۳e	۱/۳۹e	۱/۷٤b	۰/۷۰e	۰/۰۳e-h	۰/۰۳f	۰/۰۳e	۰/۰٤d
		۷۵	۱/٦۹bc	۲/۷۰cd	۲/٦۸a	۱/۰۷d	۰/۰۸d	۰/۱۳e	۰/۱۷d	۰/۳٤b
		۱۵۰	۱/۷۲bc	۳/٥٤a	۲/٥۲a	۲/۲۰bc	۰/۱۲c	۰/۲۷c	۰/۳٥b	۰/۳٤b
		۳۰۰	۱/٤۹de	۳/۰۸a-c	۲/٥۰a	۲/۸۰a	۰/۱٤bc	۰/٥۰a	۰/٤۷a	۰/٤٤a
	ازتوباکتر	۰	۰/۰۳cd	۰/۰۲f	۰/۱۰d	۰/۰٥f	۰/۰۲gh	۰/۰٤f	۰/۰۳e	۰/۰۳d
		۷۵	۰/۰۷f	۰/۰٥f	۰/۱۲d	۰/۰٤f	۰/۰۲gh	۰/۰۲f	۰/۰۲e	۰/۰۲d
		۱۵۰	۰/۱۰f	۰/۰٥f	۰/۱٦d	۰/۰٤f	۰/۰۳e-h	۰/۰۲f	۰/۰٤e	۰/۰۳d
		۳۰۰	۰/۰۷f	۰/۰۳f	۰/۱۲d	۰/۰٤f	۰/۰٤e-h	۰/۰۱f	۰/۰۳e	۰/۰۳d
	سودوموناس	۰	۰/۰۸f	۰/۰۷f	۰/۱۱d	۰/۰۷f	۰/۰۳e-h	۰/۰۲f	۰/۰۳e	۰/۰٥d
		۷۵	۰/۰۷f	۰/۰۳f	۰/۱۳d	۰/۰٤f	۰/۰۲gh	۰/۰۳f	۰/۰۳e	۰/۰٤d
		۱۵۰	۰/۰٦f	۰/۰۳f	۰/۱٤d	۰/۰٤f	۰/۰٥e	۰/۰٤f	۰/۰۳e	۰/۰۳d
		۳۰۰	۰/۰٦f	۰/۰۳f	۰/۱۲d	۰/۰۳f	۰/۰٥e-f	۰/۰۳f	۰/۰۳e	۰/۰۳d
گنبد	شاهد	۰	۱/٦۱cd	۱/۷۱e	۰/۷۷c	۰/۷۲e	۰/۰۲f-h	۰/۰۳f	۰/۰۲e	۰/۰۳d
		۷۵	۱/۷۸b	۳/٤۷ab	۲/۷۹a	۲/۱۱c	۰/۰۹d	۰/۱۹d	۰/۲۳c	۰/۱۷c
		۱۵۰	۱/۷۰bc	۳/۰۰bc	۲/٦۲a	۲/٤۱b	۰/۱٥b	۰/۲۸c	۰/۳۳b	۰/۳۳b
		۳۰۰	۱/۹۱a	۲/۳۱d	۲/۷٦a	۲/۷۲a	۰/۱۹a	۰/۳۸b	۰/۳۷b	۰/٤٤a
	ازتوباکتر	۰	۰/۰۸f	۰/۰۳f	۰/۱۰d	۰/۰۲f	۰/۰۳e-h	۰/۰۲f	۰/۰۳e	۰/۰۲d
		۷۵	۰/۱۱f	۰/۰۷f	۰/۱٥d	۰/۰٤f	۰/۰۱h	۰/۰۱f	۰/۰۳e	۰/۰۳d
		۱۵۰	۰/۱۰f	۰/۰٥f	۰/۱۳d	۰/۰٥f	۰/۰٥ef	۰/۰۱f	۰/۰۳e	۰/۰۲d
		۳۰۰	۰/۰۷f	۰/۰٤f	۰/۱۰d	۰/۰۲f	۰/۰٤e-g	۰/۰۱f	۰/۰۳e	۰/۰۳d
	سودوموناس	۰	۰/۰۷f	۰/۰۹f	۰/۱۲d	۰/۰٥f	۰/۰۱h	۰/۰۲f	۰/۰۲e	۰/۰٤d
		۷۵	۰/۰٥f	۰/۰۹f	۰/۱۷d	۰/۰۲f	۰/۰۱h	۰/۰۳f	۰/۰۲e	۰/۰۳d
		۱۵۰	۰/۰۳f	۰/۰۳f	۰/۱۹d	۰/۰۲f	۰/۰۲gh	۰/۰۳f	۰/۰۲e	۰/۰۳d
		۳۰۰	۰/۰٦f	۰/۱۰f	۰/۱۲d	۰/۰۳f	۰/۰۳e-h	۰/۰۳f	۰/۰۳e	۰/۰۳d

اثر متقابل رقم×کادمیوم×باکتری در آنزیم‌ها فقط در آنزیم پراکسیداز در ۲٤ ساعت بعد از اعمال تیمار کادمیوم معنی‌دار (در سطح یک درصد) بود. در هر دو رقم (کریم و گنبد) میزان پراکسیداز با افزایش غلظت کادمیوم افزایش یافت. با تحت‌تاثیر قرار دادن باکتری‌ها اثرات افزایشی کادمیوم بر روی پراکسیداز کاهش یافت (جدول٦). به طور معمول تنش‌ها موجب افزایش رادیکالهای آزاد می‌شوند رادیکالهای حاصل با اثر بر روی پروتئین، DNA موجب هیدرولیز این ماکرومولکول‌ها و نیز با اثر بر روی غشای لیپوپروتئینی موجب نشت یونی می‌گردند. گیاه برای مقابله با این تنش میزان آنزیم های آنتی‌اکسیدانت را افزایش می‌دهد. اولین سیستم دفاعی سوپراکسیددیسموتاز هست که موجب تبدیل H_2O_2 به H_2O و O2 می‌گردند سپس آنزیم‌های دیگر بر حسب مکان خود مثلا کاتالاز (پراکسی‌زوم و میتوکندری) و پراکسیداز (در دیواره سلولی) عمل می کنند (میشرا و همکاران ۲۰۰٦ و چن و همکاران ۲۰۰۳) و در نتیجه موجب کاهش اثرات سمی تنش می‌گردند. نتایج حاصل از این پژوهش با کارهای ناریش کومار و همکاران بر

روی بادام زمینی مطابقت دارد (ناریش کومار و همکاران ۲۰۱۵).

افزایش آنزیم‌ها در حضور باکتری‌ها موید اینست که باکتری‌ها با افزایش فعالیت آنزیم ACCدآمیناز(۱- آمینوسیکلوپروپان ۱- کربوکسیلیک اسید دآمیناز) که ACCرا هیدرولیز می کند سمیت ناشی از فلزات سنگین را کاهش می‌دهند(کامران و همکاران ۲۰۱۶) و رقم کریم چون نسبت به رقم گنبد از مقاومت بیشتری برخوردار است لذا در حضور کادمیوم بیشتر، به منظور مقابله با تنش اکسیداتیو ناشی از تولید اکسیژن فعال، آنزیم آنتی‌اکسیدانت بیشتر سنتز و اثرات تنش ناشی از حضور کادمیوم را خنثی می‌سازد (شکل۲).کاهش مقدار آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز در حضور کادمیوم احتمالا به دلیل غیرفعال شدن آنزیم در حضور غلظت‌های بررسی شده این فلزسنگین باشد. این کاهش در کارهای برجیان و همکارانش نیز گزارش شده است (برجیان و همکاران ۲۰۱۸).

جدول ۱۰ - نتایج تجزیه واریانس آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت (کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز) تحت تنش کلرید کادمیوم و اثر باکتری‌های افزاینده رشد در دو رقم گندم نان

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات							
		پراکسیداز				کاتالاز			
		۲٤	٤۸	۷۲	ساقه‌دهی	۲٤	٤۸	۷۲	ساقه‌دهی
ژنوتیپ(G)	۱	۰/۰۰۱۰^{ns}	۰/۰٦٥٤^{ns}	۰/٤٤٤۹^{ns}	۱/٥٥۱^{ns}	۰/۰۲٦۰^{ns}	۰/۰۹۰۳**	۰/۰۱٤۱^{ns}	۰/۰۱۳۳^{ns}
باکتری(B)	۲	٦/٤۳۳**	۳/۱٦۸**	۰/۲۳۹۰**	۲۱/۰۸**	۰/٥۱۷٤**	۰/۰۰٥۷^{ns}	۰/۳۷۱٤**	۰/۰۲٦۱^{ns}
کادمیوم(C)	۳	۱/۰۰٥**	۰/۲٥۱۹^{ns}	۰/۹۲۹۷^{ns}	۰/۷۸٦٥^{ns}	۰/٥٤۸٦**	۰/۲٦۱٥**	۰/۳۷۲۲**	۰/۱٥٤۳**
G×B	۲	۰/۳۷۲٤**	۰/۰۲٤٤^{ns}	۰/۲۱۱۸^{ns}	۱/٤٥٦^{ns}	۰/۰۱۱۲^{ns}	۰/۱۰۰٥**	/۰۲۳٤^{ns}	۰/۰۱٦۷^{ns}
G×C	۳	۰/۰۹۷۹^{ns}	۰/۸٦۱۱**	۰/۱٦۸۰^{ns}	۰/۲۳۰٥^{ns}	۰/۰۱٥۲^{ns}	۰/۰٤۰۳*	۰/۰۳۰۰^{ns}	۰/۰۳۱۹^{ns}
B×C	۶	۰/۲٥۳٥**	۰/٤۰۸٥^{ns}	۰/۱۸۱۸^{ns}	۰/۱٥٥۰^{ns}	۰/۰۰۷٥^{ns}	۰/۰۱٤۳^{ns}	۰/۰۱۲۰^{ns}	۰/۰۳۰٥^{ns}
G×B×C	۶	۰/۱۸٥۸**	۰/۲۸۲۹^{ns}	۰/۱۱۷۲^{ns}	۰/۰٥۲۳^{ns}	۰/۰۱۱۸^{ns}	۰/۰۱٤٥^{ns}	/۰۰۸٦^{ns}	۰/۰۲۷۱^{ns}
خطا	۴۸	۰/۰٥٥٤	۰/۱۸۹٥	۰/۳٦۹۷	۰/۰٦۱٤	۰/۰۱٥۰	۰/۰۰۹۸	۰/۰٤٦۳	۰/۰۳٥۰
ضریب تغییرات(٪)	-	۱۲/٤۷	۱٤/٤٤	۲۰/٦۹	۲۸/٥۲	۳٤/۲٦	۱٥/۸٥	٤۷/۱۳	۳۲/٦٥

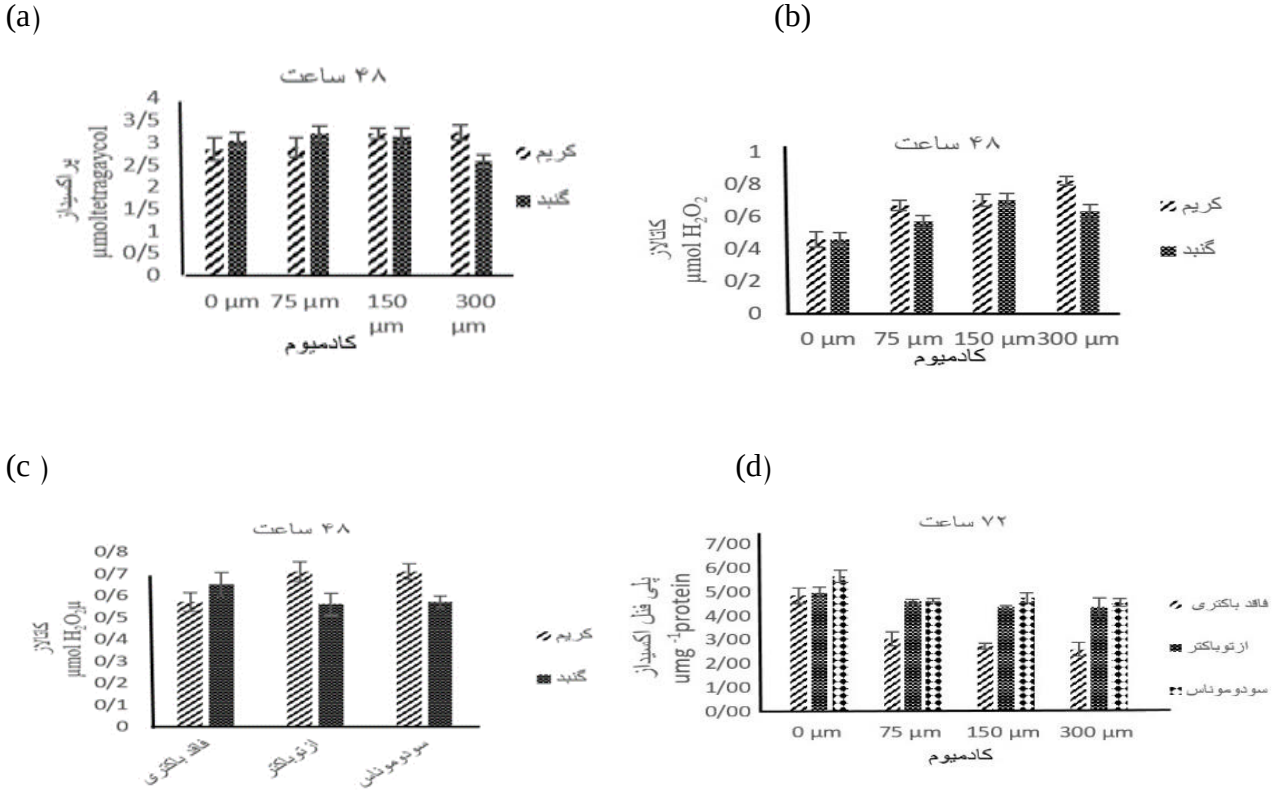
منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		پلی‌فنل‌اکسیداز			
		۲٤	٤۸	۷۲	ساقه‌دهی
ژنوتیپ(G)	۱	۰/۱٦۱٥^{ns}	۰/٥۲۸۷^{ns}	۰/۰۰۰۲^{ns}	۰/۷۹٥۹^{ns}
باکتری(B)	۲	۷/٦۰۰**	۲۰/۹۰**	۱۷/۰۷**	٥۳/٥۸**
کادمیوم(C)	۳	۱/۰۹٤**	٥/۱۷۳**	٦/۳۹۹**	۰/۷٤٦٥^{ns}
G×B	۲	۰/۲٤۳۱^{ns}	۰/٦٤٥۱^{ns}	۰/۲۰۷٦^{ns}	۲/۰۲۲۱^{ns}
G×C	۳	۰/۰۹۳۹^{ns}	۰/۱۳۸۳^{ns}	۰/٦٦۲۷^{ns}	۰/۱٥۹۲^{ns}
B×C	٦	۰/۱٥۸۹^{ns}	۰/۸۸۱٥^{ns}	۰/۹۷٤۲*	۰/۱٥۰۸^{ns}
G×B×C	٦	۰/۱٥۹٦^{ns}	۰/۷٤۷٥^{ns}	۰/۱۹٦٥^{ns}	۰/۲۱٤٤^{ns}
خطا	٤۸	۰/۲٤۰٦	۰/٥٦۸۰	۰/۳۳۷۱	۰/٦۹۲۰
ضریب تغییرات(٪)	-	۲٦/٦٦	۱۸/۹۰	۱۳/٦۱	۲۲/٤۸

جدول ۱۱- مقایسه میانگین اثرات اصلی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت (کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز) تحت تاثیر تنش کادمیوم، رقم و باکترهای محرک رشد در چهار زمان مختلف

تیمارها		پراکسیداز				کاتالاز				پلی‌فنل‌اکسیداز			
		۲۴	۴۸	۷۲	ساقه‌دهی	۲۴	۴۸	۷۲	ساقه‌دهی	۲۴	۴۸	۷۲	ساقه‌دهی
باکتری	شاهد	۲/۴۶a	۲/۵۹b	۲/۲۷b	۱/۶۷b	۰/۵۳a	۰/۶۱a	۰/۵۴a	۰/۵۹a	۲/۴۷a	۲/۹۱b	۳/۳۱b	۱/۹۸b
	ازتوباکتر	۱/۷۵b	۳/۲۱a	۳/۳۷a	۳/۲۷a	۰/۲۹b	۰/۶۴a	۰/۳۸b	۰/۵۹a	۱/۶۷b	۴/۴۹a	۴/۵۸a	۴/۶۳a
	سودوموناس	۱/۴۵c	۳/۲۳a	۳/۱۸a	۳/۳۱a	۰/۲۶b	۰/۶۴a	۰/۴۵ab	۰/۵۴a	۱/۳۸c	۴/۵۶a	۴/۹۱a	۴/۵۰a
رقم	کریم	۱/۸۹a	۳/۰۴a	۳/۰۲a	۲/۸۹a	۰/۳۸a	۰/۶۶a	۰/۴۷a	۰/۵۹a	۱/۸۹a	۴/۰۷a	۴/۲۷a	۳/۶۰a
	گنبد	۱/۸۸a	۲/۹۸a	۲/۸۶a	۲/۶۰a	۰/۳۴a	۰/۵۹b	۰/۴۴a	۰/۵۶a	۱/۷۹a	۳/۹۰a	۴/۲۷a	۳/۸۱a
کادمیوم	صفر	۱/۵۸c	۲/۹۴a	۲/۶۶b	۲/۵۲a	۰/۳۰b	۰/۴۶c	۰/۳۵c	۰/۴۵b	۲/۱۷a	۴/۶۱a	۵/۱۵a	۳/۸۵a
	۷۵	۱/۸۳b	۳/۰۵a	۳/۰۶ab	۲/۶۲a	۰/۴۰a	۰/۶۲b	۰/۵۶a	۰/۶۰a	۱/۸۷ab	۴/۱۵ab	۴/۱۰b	۳/۸۹a
	۱۵۰	۲/۰۸a	۳/۱۶a	۳/۱۷a	۲/۹۰a	۰/۴۱a	۰/۷۰a	۰/۵۱ab	۰/۶۷a	۱/۷۱b	۳/۸۶b	۳/۹۶b	۳/۶۲a
	۳۰۰	۲/۰۷a	۲/۹۰a	۲/۸۶ab	۲/۹۵a	۰/۳۳ab	۰/۷۳a	۰/۴۰bc	۰/۵۸a	۱/۶۰b	۳/۳۳c	۳/۸۶b	۳/۴۵a

جدول-۱۲ مقایسه میانگین ترکیبات تیماری رقم×باکتری×کادمیوم برای آنزیم پراکسیداز در زمان ۲۴ساعت بعد از اعمال تیمار

تیمارها			پراکسیداز
رقم	باکتری	کادمیوم (میکرومولار)	۲۴ ساعت
کریم	شاهد	۰	۲/۳۴
		۷۵	۲/۴۴
		۱۵۰	۲/۷۷
		۳۰۰	۲/۸۲
	ازتوباکتر	۰	۱/۵۲
		۷۵	۱/۶۲
		۱۵۰	۱/۸۷
		۳۰۰	۱/۹۵
	سودوموناس	۰	۱/۱۸
		۷۵	۱/۲۰
		۱۵۰	۱/۵۱
		۳۰۰	۱/۴۷
گنبد	شاهد	۰	۱/۴۹
		۷۵	۲/۱۰
		۱۵۰	۲/۶۶
		۳۰۰	۳/۰۵
	ازتوباکتر	۰	۱/۶۰
		۷۵	۱/۹۵
		۱۵۰	۱/۸۳
		۳۰۰	۱/۶۵
	سودوموناس	۰	۱/۳۳
		۷۵	۱/۶۵
		۱۵۰	۱/۸۱
		۳۰۰	۱/۴۷



شکل۲- تاثیر تنش کادمیوم برکاتالاز(a)، پراکسیداز(b)، اثر باکتری بر کاتالاز(c) در زمان ۴۸ساعت و(d) اثر باکتری×کادمیوم بر پلی‌فنل‌اکسیدازدر زمان ۷۲ ساعت در هر دو رقم(کریم و گنبد)

نتیجه گیری

نتایج این آزمایش نشان داد که با تاثیر باکتری روی بذر صفات زراعی (عملکرد دانه، وزن خشک ساقه، وزن هزار دانه) معنی دار شد. بررسی نتایج حاصل از اثر کادمیوم روی صفات زراعی اندازه‌گیری شده، بیشینه میزان این صفات را در شاهد (بدون کادمیوم) و کمینه را در بالاترین غلظت کادمیوم نشان داد. نتایج حاصل از جذب کادمیوم حاکی از کاهش جذب کادمیوم در هر سه اندام(ریشه، ساقه و دانه) در حضور باکتری‌ها بوده و نیز در حضور کادمیوم مقدار قندهای محلول نسبت به شاهد زیاد می‌شود و ازتوباکتر در قیاس با سودوموناس تاثیر مطلوب‌تری بر قندهای محلول دارد. باکتری‌ها اثرات افزایشی پرولین در حضور کادمیوم را کاهش دادند و بیشترین میزان پرولین و متیونین از تیمار شاهد بدست آمد برعکس میزان لایزین در حضور باکتری‌ها کاهش یافت. درمورد آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت حضورکادمیوم میزان کاتالاز و پراکسیداز را افزایش ولی میزان پلی‌فنل‌اکسیداز را کاهش داد. در کل حضور باکتری‌ها در رقم کریم نسبت به رقم گنبد اثرات کادمیوم را کاهش داد و مشخص شد کریم نسبت به گنبد در مقابل تنش‌ها مقاوم‌تر هست و در زمین‌های دارای فلز سنگین کادمیوم از این رقم می‌توان استفاده نمود.

منابع مورد استفاده

Aebi H, 1984. Catalase in vitro. Method of Enzymology, 105:121-126.

Ahmad P and Sharma S, 2010. Physiobiochmical attributes in two cultivars of mulberry (*Morus Alba* L.) under NaHCO3 stress. International Journal of Plant Production, 4: 79-86. (In Persian).

Alirezaie K, Jahanbakhsh Ghode Kahriz S, Razmju J, Faravardeh L and Ebadi A , 2012. Assess lysine and methionine in the two disease resistant and susceptible species under of, wheat yellow rust (*Puccinia striiformis* f.sp. tritici) stress. The 17th Iranian National & 5th International Biology Conference, Kerman, Iran.

Allen MF, Swenson WQ, uerejeta JI, Egerton-Warburton LM and Treasurer KK, 2003. Ecology of mycorhea: a conceptual framework for complex interactions among plants and fungi. Annual Review of Psychology, 41: 271- 303.

Amooaghaie R, Marefat E, Shabani L, 2012. Interaction of salicylic acid and cadmium on growth, photosynthetic pigments and ion distrubiution in arial parts of soybean plantlets. Journal of Plant Biology, 75-88.

Atanasova E, 2008. Effect of nitrogen sources on the nitrogenous forms and accumulation of amino acid in head cabbage. Plant Soil and Environment, 54: 66–71.

Bates L, Waldrem R and Teare I, 1973. Rapid determination of free praline for water stress studies. Plantand Soil, 39: 205 -207.

Borjian M, Mozafar M and Khosravi Rine M, 2018. The effect of cadmium on some oxidative stress factors oleracea cv. Brassica saccata in the hydroponic environment of Alzahra University Journal of Applied Biology, 31(1): 57-74. (In Persian).

Chaparzadeh N, Najjar-Khodabakhsh A, Pazhang M and Zarandi-Miandoab L, 2015. Effect of salinity and ascorbic acid on growth, water and osmotic relations of Lepidium sativum. Journal of Plant Biology, 24: 39-52 (in Persian).

Chen Y, He Y, Yang Y, Yu Y, Zheng S, Tian G and Wong M , 2003. Effect of cadmium on nodulation and N2-fixation of soybean in contaminated soils. Chemosphere, 50(6), 781-787.

Chinnusamy V, Zhu J and Zhu JK, 2007. Cold stress regulation of gene expression in plants. Trends in Plant Science, 12(10): 444-451.

Dias MC, Monteiro C, Moutinho Pereira J, Correia C, Goncalves B and Santos C, 2013. Cadmium toxicity affects photosynthesis and plant growth at different levels. Acta Physiologiae Plantarum, 35(4): 1281-1289.

Ghorbanli M and Niakan M, 2005. Studing the effect of drought stress on soluble sugars, protein, proline, phenol compounds and nitrate reductase enzyme activity in soybean plants cvGorgan 3. Tarbiat Moallem University Science Magazin, 5(1): 537-550. (In Persian).

Ghorbanli M, Bakhshi Khaniki GR, Salimi Elizei S and Hedayati M, 2010. Effect of water deficit and its interaction with ascorbate on proline, soluble sugars, catalase and glutathione peroxidase amounts in (*Nigella sativa* L.). Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 26:465-476.(In Persian).

Hayat S, Hayat Q, Alyemeni MN, Wani AS, Pichtel J and Ahmad A, 2012. Role of proline under changing environments. Plant Signaling and Behavior, 7(11): 1456-1466.

Hoagland DR and Arnon DI, 1950. The water-culture method for growing plants without soil. College of Agriculture, Univ of Cal Berkeley, Cal. Cicrcular, 347.

Hussein MM, Balbaa LK and Gaballah MS, 2007. Salicylic acid and salinity effects on growth of maize plants. Research Journal of Agriculture and Biology Sciences, 3: 321-328.

Jahanbakhshi Sh, Rezaei MR and Sayyari Zahan MH, 2014. Comparison of the efficiency of some parameters in increasing of cadmium availability to improve phytoremediation process in *Lepidum Sativum*. J. of Soil Management and Sustainable Production, 4(1): 241-252(In Persian).

Jia W. Lv S, Feng J, Li J, LiY, and Li S, 2016. Morphophysiological characteristic analysis monstrated the potential of sweet sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) in the phytoremediation of cadmiumcontaminated soils. Environmental Science and Pollution Research, 23(18): 18823-18831.

Joshi V, Joung JG, Fei Z and Junder G, 2010. Interdependence of threonine, methionine and isoleucine metabolism in plants: accumulation and and transcriptional regulation under abiotic stress. Amino Acids, 39: 33-47.

Kalantari KH and Oloumi H, 2005. Study the effects of $CdCl_2$ on lipid peroxidation and anti oxidant compounds content in *Brassica napus*. Iranian Journal of Science & Technology, 29:1. (In Persian).

Kamran MA, Eqani SA, Bibi S, Xu RK, Amna Monis MF, Katsoyiannis A, Bokhari H and Chaudhary HJ, 2016. Bioaccumulation of nickel by E. sativa and role of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) under nickel stress. Ecotoxicology and Environmental Safety, 126: 256–263. (In Persian).

Kamran MA, Syed JH, Musstjab SA, Eqani AS, Hussain Munis MF, Chaudhary HJ, 2015. Effect of plant growth-promoting rhizobacteria inoculation on cadmium (Cd) uptake by *Eruca sativa*. Environmental Science and Pollution Research, 22(12):9275-83.

Kar M and Mishra D, 1976. Catalase, Peroxidase, and Polyphenol oxidase activities during Rice leaf senescence. Plant Physiology, 57: 315 -319.

Kaschuk G, Leffelaar PA, Giller KE, Alberton O, Hungria M and Kuyper TW, 2010. Responses of legumes to rhizobia and arbuscular mycorrhizal fungi: a meta-analysis of potential photosynthate limitation of symbioses. Soil Biology and Biochemistry, 42:125-127.

Kasim WA, Osman ME, Omar MN, Abd El-Daim IA, Bejai S and Meijer J, 2013. Control of Drought Stress in Wheat Using Plant-Growth-Promoting Bacteria. Journal of Plant Growth Regulation, 32 (1): 122–130.

Khosravi Eh, 2014. Azotobacterr and its implications in soil management. Journal of Land Management, 2:79-94.

Kim SI and Tai TH, 2011. Evaluation of seedling cold tolerance in rice cultivars: a comparison of visual ratings and quantitative indicators of physiological changes. Euphytica, 178: 437-447.

Liu J, Li K, Xu J, Zhang Z, Mac T, Lu Z, Yang J and Zhu Q,2003. Lead toxicity, uptake, and translocation in different rice cultivars, Plant Science, 165: 793-/802.

Losak T, Hlusek J, Filipcik R, Pospisilova L, Manasek J, Prokes, K, 2010. Effect of nitrogen fertilization on metabolism of essential and non-essential amino acids yield-grown grain maize (*Zea mays* L). Plant Soil and Environment, 56: 574 -579.

Ma Y, Oliveira RS, Nai FJ, Rajkumar M, Luo YM, Rocha I and Freitas H, 2015a. The hyperaccumulator Sedum plumbizincicola harbors metalresistant endophytic bacteria that improve its phytoextraction capacity in multi-metal contaminated soil. Journal of Environmental Management, 156:62–69.

Mac-Adam JW, Nelson CJ, and Sharp RE, 1992. Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fescue. Plant Physiology, 99: 872-878.

Marasco R, Rolli E, Ettoumi B, Vigani G, Mapelli F, Borin S and Zocchi G, 2012. A drought resistance-promoting microbiome is selected by root system under desert farming. Public library of Science, 7(10): 479-484.

McCready R M, Guggolz J, Silviera V and Owens H S, 1950. Determination of starch and amylase in vegetables. Analytical Chemistry, 22:1156–1158.

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

Naderi N, Mirzamasoumzadeh B and Aghaei A, 2013. Effects of different levels of lead (Pb) on physiological characteristics of sugar beet. International Journal of Agriculture and Crop Sciences, 5 (10): 1154-115.

Nareshkumar A, Nagamallaiah GV, Pandurangaiah, M, Kiranmai K, Amaranathareddy V, Lokesh U, Venkatesh B and Sudhakar C, 2015. Pb-Stress induced oxidative stress caused alterations in antioxidant efficacy in two groundnut (*Arachis hypogaea* L.) cultivars. Agricultural Sciences, 6:1283-1297.

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.). Biological Science Promotion, 24: 858-867.

Ozturk L, Demir Y, Unlukara A, Karatas I, Kurunc A and Duzdemir O, 2012. Effects of long-term salt stress on antioxidant system, chlorophyll and proline contents in pea leaves. Romanian Biotechnological Letters, 17(3):7227-7236.

Rast manesh f, Marvani F, Mehrabi kushaki M and Zar asvandi AR, 2015 .Evaluation of Heavy Metal Enrichment in Wheat Farms of Ahvaz. Environmental Science and Engineering, (In Persian).

Seyed Sharifi R and Haydari Siahkhalaki MS, 2015. Effects of biofertilizers on growth indices and contribution of dry matter remobilization in wheat grain yield Journal of Plant Research. Iranian Journal of Biology, (In Persian).

Shekari L, Kamelmanesh MM, Mozafariyan M, Hasanuzzaman M and Sadeghi F, 2017. Role of selenium in mitigation of cadmium toxicity in pepper grown in hydroponic condition. Journal of Plant Nutrition, 40, 761772. (In Persian).

Soleymani F and Pirzad A, 2015.The effect of mycorrhizal fungi on malondialdehyde concentration and some metabolic processes in hyssop (Hyssopus officinalis) under water deficit stress. Iranian Journal of Plant Biology, 24: 15-26. (In Persian).

Zali H, Hassanloo T, Sefalian A, Asghari AS and Zain al-Abedini M, 2016. Effect on topology parameters and in vivo ideas. Announcement of the end of Zara's Reformation, 18: 191-203.

Zamani M, Rabiei M, Nejatian AS and Taheri M, 2014. The effect of external application of proline and glycine betaine on biochemical changes in grapes under drought stress condition. Journal of Agricultural Agriculture, 2:16 247-258.

Zhang F, Wan X, Zheng Y, Sun L, Chen Q, Zhu X, Guo Y, Liu M, 2014. Effects of nitrogen on the activity of antioxidant enzymes and gene expression in leaves of Populus plants subjected to cadmium stress. Journal Plant Interact, 9:599–609.

Zhu LJ, Guan DX, Luo J, Rathinasabapathi B, Ma LQ, 2014. Characterization of arsenic-resistant endophytic bacteria from hyperaccumulators Pteris vittata and Pteris multifida. Chemosphere, 113:9–16.