تنش‌های محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses in Crop Sciences
جلد چهاردهم، شماره چهارم، زمستان ۱۴۰۰
۱۱۴۷-۱۱۶۱
http://dx.doi.org/10.22077/escs.2020.3512.1869

مقاله پژوهشی

بررسی تأثیر کاربرد باکتری‌های ازتوباکتر کروکوکوم و سودوموناس پوتیدا بر رنگیزه‌های فتوسنتزی و عملکرد گندم در شرایط تنش کادمیوم

زهرا وطن‌پور[1*]، روح‌اله متفکر آزاد[2]، سدابه جهانبخش گده‌کهریز[3]، علی موافقی[4]، محسن سبزی نوجه‌ده[5]

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز
۲. استادیار دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز
۳. دانشیار دانشگاه محقق اردبیلی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی زراعت و اصلاح نباتات، اردبیل
۴. استاد دانشکده علوم طبیعی، سیتوفیزیولوژی، دانشگاه تبریز، تبریز
۵. استادیار دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز

تاریخ دریافت: ۹۹/۰۴/۱۱؛ تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۶/۱۸

چکیده

آلودگی ناشی از فلزات سنگین یکی از مشکلات اساسی جوامع بشری در تولید محصولات کشاورزی است و به‌عنوان عامل اساسی تهدید سلامت بشر به شمار می‌رود. پژوهش حاضر به‌منظور بررسی امکان کاهش اثرات سمیت ناشی از آلودگی خاک با کادمیوم به‌وسیله کاربرد گونه‌های باکتریایی جنس ازتوباکتر و سودوموناس انجام گردید. برای این منظور، غلظت‌های صفر، ۷۵، ۱۵۰ و ۳۰۰ میکرومولار کلرید کادمیوم به همراه باکتری‌های محرک رشد (ازتوباکتر کروکوکوم و سودوموناس پوتیدا) به دو رقم گندم (گنبد و کریم) اعمال شدند. صفات موردبررسی شامل محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، b و کل) رنگیزه‌های کمکی (کارتنوئیدها، فلاونوئیدها)، عملکرد کوانتومی، SPAD، وزن خشک ساقه، عملکرد دانه، وزن دانه و تعداد دانه است. آزمایش در قالب طرح کامل تصادفی (CRD) با سه تکرار و در شرایط گلخانه‌ای انجام شدند. نتایج تجزیه واریانس صفات موردبررسی نشان داد که تنش کادمیوم موجب کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی، فلاونوئیدها، عملکرد کوانتومی و شاخص سبزینگی گردید اما میزان کارتنوئیدها افزایش یافت. حضور باکتری‌های محرک رشد موجب تخفیف اثرات تنش کادمیوم بر گیاهان گندم شد به‌طوری‌که شاخص‌های مذکور در گیاهان تیمار تلقیح شده با باکتری‌ها به‌صورت معنی‌داری افزایش نشان دادند

واژه‌های کلیدی: **ریزوباکتری‌های محرک رشد، رنگیزه، فلز سنگین، گندم**

مقدمه

گندم به‌عنوان یک محصول استراتژیک در تغذیه انسان به شمار می‌رود و افزایش روزافزون جمعیت جهانی مستلزم تولید بیشتر محصولات کشاورزی است (Mousavi, 2010; Najafi, et al., 2019). برای دست یافتن به عملکرد بالای گیاهان زراعی به‌ویژه در کشورهای درحال‌توسعه به‌طور وسیعی از کودهای شیمیایی و آفت‌کش‌ها استفاده می‌شود که موجب انباشت بیش‌ازحد فلزات سنگین در خاک‌های کشاورزی می‌گردد و اثرات زیان باری را بر سلامت انسان و سایر موجودات زنده می‌گذارد (Asadi Rahmani et al., 2012; Akbari and Cheraghi, 2019). افزایش غلظت فلزات سنگین در خاک از سوی دیگر موجب سمیت و رشد و عملکرد گیاهان زراعی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Salehi Jouzani et al., 2014; Hosseinpour et al., 2017). فلزات سنگین موجب اختلال در فرآیندهای فیزیولوژیکی و متابولیکی گیاهان می‌شوند (Isarankura et al., 2009; Alahbakhsh et al., 2018). کادمیوم به‌عنوان یکی از فلزات سنگین بسیار سمی (Amani, 2008) به شمار می‌رود

* نگارنده پاسخگو: زهرا وطن پور. پست الکترونیک: Zahra_vatanpour@yahoo.com

و تغییرات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی بسیاری را در گیاهان موجب می‌گردد (Dikkaya and Ergun, Alahbakhsh et al., 2018; 2014). مطالعات نشان داده‌اند که غلظت‌های بالاتر کادمیوم موجب مهار فتوسنتز، افزایش کنترل نشده رادیکال‌های آزاد و تغییر در زیرساخت‌های گیاهی می‌شود (Khan et al., 2013; Alahbakhsh et al., 2018). یکی دیگر از اثرات ثانویه سمیت کادمیوم در گیاهان، القای تنش اکسیداتیو است (Sergent et al., 2014; Nourbakhsh Rezaei, 2019) که موجب تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن[1]، مهار فعالیت آنزیم روبیسکو، جذب نیتروژن و سولفات می‌شود (Tkalec et al., 2014; Nourbakhsh Rezaei, 2019).

ناکارآمدی و هزینه‌بر بودن روش‌های پالایش فیزیکوشیمیایی خاک‌های آلوده به فلزات سنگین باعث شده است که روش‌های کم‌هزینه و مؤثرتر نظیر استفاده میکروارگانیسم‌ها در کاهش اثرات فلزات سنگین موردتوجه قرار گیرد (Ma et al., 2011; Rostami et al., 2019). استفاده از مخلوطی از یک یا چند میکروارگانیسم مفید خاکزی باعث تأمین عناصر غذایی گیاهان و یا موجب بهبود خواص فیزیکوشیمیایی خاک می‌شوند (Bach, 2014; Yousefipor et al., 2018). باکتری‌های سودوموناس و ازتوباکتر از ریزوباکتری‌های محرک رشد[2] هستند که با افزایش تولید آنزیم ACC دآمیناز (۱-آمینوسیکلوپروپان دکربوکسیلاز دآمیناز)، سیدروفور[3]، هورمون‌های رشد، ویتامین‌ها و افزایش جذب عناصر غذایی ضروری در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین رشد و عملکرد گیاهان را بهبود می‌بخشند (Ma et al., 2011; Alikhani and Emami, 2020). یکی از دلایل کاهش رشد و عملکرد گیاهان تحت تنش کادمیوم می‌تواند به کاهش فتوسنتز مربوط باشد. در پژوهش‌های پیشین گزارش شده است که سمیت کادمیوم موجب تغییر در ساختارهای فتوسنتزی ازجمله اجزای فتوسیستم II می‌شود. همچنین تغییر در شاخص‌های فلورسانس کلروفیل a در گیاهان تحت تیمار کادمیوم نشان‌دهنده کاهش عملکرد کوانتومی فتوسیستم II و تخریب اجزای مراکز واکنش است. از آنجائی که بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاهان وابسته به فتوسنتز و فرآورده‌های فتوسنتزی می‌باشند، ازاین‌رو به نظر می‌رسد بهبود فتوسنتز در گیاهان تحت تنش کادمیوم موجب بهبود رشد آن‌ها شود (Dikkaya and Ergun, 2014; Alahbakhsh et al., 2018).

با توجه به موارد ذکرشده و اهمیت گندم به‌عنوان غذای عمده انسان، پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر ریزوباکتری‌های محرک رشد (GPR) گیاهی در کاهش اثرات کادمیوم در دو رقم گندم و نیز اثر آن‌ها بر رنگیزه‌های گیاهی از طریق بررسی تغییر محتوای رنگیزه‌های گیاهی انجام گردید.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی نقش ریزوباکتری‌های محرک رشد (GPR) گیاهی در کاهش اثرات ناشی از سمیت کادمیوم در دو رقم گندم، آزمایشی در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار در دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۳۹۷ اجرا گردید. روش کشت به‌صورت هیدروپونیک در محیط بسته و فاکتورها شامل ارقام گنبد (آبی) و کریم (دیم) و تیمار با کلرید کادمیوم[4] در چهار سطح (صفر، ۷۵، ۱۵۰ و ۳۰۰ میکرومولار) و نیز باکتری‌های ازتوباکتر کروکوکوم و سودوموناس پوتیدا بود. برای تلقیح بذرها ابتدا بذور به مدت ۱۲ ساعت در آب قرار داده شد، سپس مقدار دو میلی‌لیتر (هر میلی‌لیتر از مایه تلقیح دارای ۱۰۷ عدد باکتری زنده بود) به ازای هر ۱۰ گرم بذر، به ترتیب باکتری ازتوباکتر و سودوموناس به توده بذری اضافه و بعد از گذشت ۴۸ ساعت بذرها برای کشت آماده شدند (Shariati et al., 2014). سپس ۲۰ عدد بذر درون هر گلدان کشت شد و ۰/۱ میلی‌لیتر مایه تلقیح در پرلیت داخل گلدان اضافه گردید.

آبیاری گلدان‌ها با استفاده از محلول هوگلند با pH ۵/۵ برای جذب کادمیوم انجام شد (Hoagland and Arnon, 1950). محلول‌پاشی کادمیوم، در مرحله ۳ برگچه‌ای (۲۰ روز بعد از کشت) گیاه انجام شد. به‌منظور سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی، فلاونوئید کل، عملکرد کوانتومی و شدت سبزینگی، نمونه‌برداری در چهار بازه زمانی ۲۴، ۴۸، ۷۲ ساعت و نیز مرحله ساقه‌دهی انجام شد و پس از محلول‌پاشی با کلرید کادمیوم نهایتاً گیاهچه‌ها برداشت و تا زمان سنجش در ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی

[1] ROS
[2] Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)
[3] Siderophore
[4] $CdCl_2H_2O$

برای سنجش رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل‌های a، b و کارتنوئیدها، ابتدا مقدار ۰/۵ گرم از بافت برگ گیاه به قسمت‌ها خیلی کوچک تقسیم و در داخل استون ۸۰ درصد قرار داده شد. بعد از گذشت ۱۲ ساعت محلول به‌دست‌آمده با g ۵۰۰۰ سانتریفیوژ گردید و جذب نوری محلول رویی در طول‌موج‌های ۴۷۰،۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر به دست آمد (Dere, 1998). غلظت هر یک از رنگیزه‌های فتوسنتزی بر اساس فرمول‌های زیر محاسبه گردید.

$$Chlorophyll\ a\ (\mu gg^{-1}) = Ca = 11.75A663 - 2.350A645 \quad [۱]$$

$$Chlorophyll\ b\ (\mu gg^{-1}) = Cb = 18.61A645 - 3.960A663 \quad [۲]$$

$$Chlorophyll\ Total = Ca + Cb \quad [۳]$$

$$Carotenoids\ (\mu gg^{-1}) = Cx+c = 1000A470 + 2.270Ca - 81.4Cb\ /227 \quad [۴]$$

سنجش فلاونوئید کل

مقادیر فلاونوئیدها در نمونه عصاره‌های گیاهی به روش پورمراد و همکاران (Pourmorad et al., 2006) و جلالی و همکاران (Jalali et al., 2007) اندازه‌گیری شدند. ابتدا ۰/۱ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد را با ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم یک مولار مخلوط گردید و سپس به آن‌ها ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر دو بار تقطیر اضافه شد. در مرحله بعد ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول هر عصاره که با ۱/۵ میلی‌لیتر اتانول مخلوط گردیده بود، به مخلوط کلرید آلومینیوم، استات پتاسیم و آب اضافه گردید. مخلوط نهایی حاصل برای هر عصاره (با حجم ۵ میلی‌لیتر) برای مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. سپس جذب مخلوط واکنش در طول‌موج ۴۱۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر (مدل Lambda 45- UV/Visible) اندازه‌گیری شد. مقدار فلاونوئید کل به‌صورت معادل میلی‌گرم کوئرستین برگرم وزن خشک محاسبه و بیان شد.

شاخص سبزینگی

اندازه‌گیری محتوی نسبی کلروفیل با استفاده از دستگاه SPAD-502 در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری از برگ سوم انجام گردید و مقدار عددی دستگاه SPAD ثبت شد.

فلورسانس کلروفیل

مقدار این پارامتر توسط دستگاه تنش‌سنج یا فلوئوریمتر، مدل PSM Biomonitor S.C.I. AB, Umea Sweden اندازه‌گیری شد.

$$Qy=Fv/Fm \quad [۵]$$

که در آن Fm: در شرایط بسته بودن مراکز واکنشی حداکثر فلوئورسانس متغیر حاصل از مراکز واکنش چرخه‌ای فتوسیستم دو را می‌گویند. Fv: تغییرات فلوئورسانس بین F0 و Fm در شرایطی که تمام فرایندهای غیرفتوشیمیایی در حداقل قرار دارند. Qy: حداکثر بازده کوانتومی فتوسیستم دو در شرایط تاریکی هستند.

ماده خشک بوته و عملکرد

به‌منظور اندازه‌گیری وزن خشک بوته بعد از ظهور علائم فاز زایشی، پنج بوته از هر گلدان به‌صورت تصادفی انتخاب و به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. به‌منظور اندازه‌گیری عملکرد دانه، پس از رسیدگی کامل بوته‌ها پنج بوته از هر گلدان به‌طور تصادفی انتخاب و بوته‌های موجود کف‌بر و به آزمایشگاه منتقل شدند. پس از خشک شدن بوته‌ها در هوای آزاد، دانه‌ها از کاه جدا و عملکرد دانه تک بوته با ترازوی دارای دقت ۰/۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. میانگین تعداد دانه در سنبله اصلی و وزن دانه در سنبله اصلی نیز در پنج بوته از هر گلدان برحسب میلی‌گرم به دست آمد.

آنالیز آماری

تجزیه واریانس داده‌ها و مقایسه میانگین اثرات اصلی و اثرات متقابل تیمارها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 انجام شد و نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel ۲۰۱۶ ترسیم شدند. تجزیه واریانس در هر یک از زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت و مرحله ساقه‌دهی، بعد از اعمال تیمار کادمیوم به‌طور مجزا انجام شد.

نتایج و بحث

رنگیزه‌های اصلی فتوسنتزی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس رنگیزه‌های اصلی فتوسنتز (کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل) در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بعد از اعمال تیمار کادمیوم و مرحله ساقه‌دهی

نشان داد که اثرات متقابل رقم در باکتری در ۷۲ ساعت بر کلروفیل a (سطح پنج درصد) و بر کلروفیل b و کلروفیل کل (سطح یک درصد) معنی‌دار شد (جدول ۱). مقایسه میانگین-ها نشان داد، بیشترین مقدار کلروفیل b(بدون تغییر نسبت به شاهد) و کلروفیل کل (۴/۶۳ درصد نسبت به شاهد) از رقم کریم و کلروفیل a (۹۵/۳ ٪ نسبت به شاهد) در رقم گنبد در بازه زمانی ۷۲ ساعت مشاهده گردید (جدول ۲). اثرات متقابل باکتری در کادمیوم در مورد کلروفیل a در ۲۴ و ۷۲ ساعت و کلروفیل کل در ۷۲ ساعت معنی‌داری بود. اثرات متقابل رقم در باکتری در کلروفیل b در ۷۲ ساعت معنی‌دار شد (جدول ۱).

جدول ۱. تجزیه واریانس مقدار رنگیزه‌های اصلی فتوسنتزی تحت تنش کلرید کادمیوم و باکتری‌های محرک رشد در دو رقم گندم نان

Table 1- Analysis of variance of photosynthetic main pigments under cadmium chloride stress and growth-promoting bacteria in two bread wheat cultivars

			کلروفیل a Chlorophyll a				کلروفیل b Chlorophyll b			
S.O.V	منابع تغییرات	df	24h	48h	72h	Stem Stage	24h	48h	72h	Stem Stage
Genotype(G)	ژنوتیپ	1	0.129^{ns}	0.758*	1.751**	0.010^{ns}	0.0001^{ns}	0.332*	0.021*	0.004^{ns}
Bacteria(B)	باکتری	2	0.003^{ns}	0.070^{ns}	0.072*	0.011^{ns}	0.073^{ns}	0.212^{ns}	0.023**	0.081^{ns}
Cadmium(C)	کادمیوم	3	1.33**	4.73**	1.842**	0.652**	0.465**	1.96**	0.125**	0.294**
G×B	ژنوتیپ×باکتری	2	0.103^{ns}	0.246^{ns}	0.190*	0.048^{ns}	0.008^{ns}	0.03^{ns}	0.031**	0.015^{ns}
G×C	ژنوتیپ ×کادمیوم	3	0.030^{ns}	0.125^{ns}	0.172^{ns}	0.020^{ns}	0.009^{ns}	0.105^{ns}	0.003^{ns}	0.021^{ns}
B×C	باکتری ×کادمیوم	6	0.20**	0.121^{ns}	0.225**	0.078^{ns}	0.019^{ns}	0.047^{ns}	0.004^{ns}	0.021^{ns}
G×B×C	ژنوتیپ×باکتری×کادمیوم	6	0.022^{ns}	0.086^{ns}	0.032^{ns}	0.032^{ns}	0.005^{ns}	0.027^{ns}	0.003^{ns}	0.017^{ns}
Error	خطا	48	0.051	0.142	0.042	0.066	0.019	0.088	0.003	0.029
CV (%)	ضریب تغییرات	-	*11.3*	*14.16*	*9.01*	*11.12*	*15.7*	*20.40*	*7.56*	*15.79*

Table 1. Continued **جدول ۱. ادامه**

			کلروفیل کل Chlorophyll total			
S.O.V	منابع تغییرات	df	24h	48h	72h	Stem Stage
Genotype(G)	ژنوتیپ	1	0.086^{ns}	1.125*	1.38**	0.002^{ns}
Bacteria(B)	باکتری	2	0.012^{ns}	0.066^{ns}	0.088*	0.011^{ns}
Cadmium(C)	کادمیوم	3	1.75**	6.59**	1.879**	0.927**
G×B	ژنوتیپ×باکتری	2	0.092^{ns}	0.193^{ns}	0.210**	0.037^{ns}
G×C	ژنوتیپ ×کادمیوم	3	0.027^{ns}	0.045^{ns}	0.124^{ns}	0.029^{ns}
B×C	باکتری ×کادمیوم	6	0.188^{ns}	0.152^{ns}	0.195*	0.076^{ns}
G×B×C	ژنوتیپ×باکتری×کادمیوم	6	0.014^{ns}	0.078^{ns}	0.028^{ns}	0.038^{ns}
Error	خطا	48	0.038	0.191	0.036	0.062
CV (%)	ضریب تغییرات	-	*8.9*	*14.37*	*7.82*	*9.74*

ns، * و ** به ترتیب غیره معنی‌دار، معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد

ns, * and ** Significant at 5% and 1% probability level

نتایج اثر متقابل باکتری در رقم نیز نشان داد که بین تیمارهای باکتری در رقم کریم تفاوت معنی‌دار نبود ولی در رقم گنبد اختلاف وجود داشته و بالاترین میزان کلروفیل a ۶/۳۱ میلی‌گرم بر گرم و کل (۷ میلی‌گرم بر گرم) از این رقم و تلقیح با ازتوباکتر مشاهده شد که با شاهد اختلاف معنی-داری نداشت. در مورد کلروفیل b نیز کمترین مقدار (۰/۵۷ میلی‌گرم بر گرم) از کاربرد سودوموناس در رقم گنبد حاصل شد و تلقیح باکتری در رقم کریم دارای اثر معنی‌دار نبود.

آزمایش‌ها نشان دادند اثر باکتری در ژنوتیپ در غالب صفات معنی‌دار نیست؛ به‌عبارت‌دیگر اثرات مشاهده‌شده در صفات موردمطالعه مستقل از ژنوتیپ‌های موردمطالعه است (جدول ۳). اثر متقابل باکتری بر کادمیوم بر کلروفیل b و کلروفیل کل نشان داد کلروفیل b متأثر از تنش حاصل از کادمیوم نگشت و در کل مقدار کلروفیل کل تغییری نکرد. همچنین نتایج نشان داد که غلظت‌های کادمیوم موجب کاهش شدید رنگیزه‌های اصلی شده (۶۲، ۶۲ و ۵۹ درصد به ترتیب کلروفیل a، b و کل) و کاربرد باکتری موجب کاهش تأثیرات منفی کادمیوم شد به‌طوری‌که در اثر ازتوباکتر تغییرات به ۴۲، ۵۹ و ۳۸ و با سودوموناس تغییرات به ۳۲، ۳۶ و ۳۵ درصد رسید (جدول ۴).

برتری رقم کریم نسبت به رقم گنبد احتمالاً به دلیل خصوصیات زودرس بودن ژنتیکی رقم کریم و سریع‌تر بودن روند بلوغ است (Javad Zarrin and Motsharezadeh, 2015). علاوه بر این ارقام مختلف گندم تفاوت معنی‌داری در تجمع کادمیوم در اندام خود دارند چون گیاهان در شرایط تنش با ترشح سیدروفور به‌منظور جبران کمبود مواد غذایی کادمیوم بیشتری جذب می‌نمایند (Javad Zarrin et al., 2017). احتمالاً حساس بودن رقم گنبد به خاطر جذب فلزات سنگین بیشتر باشد که خود عامل تولید اکسیژن فعال بیشتر و به‌تبع آن تنش‌های اکسیداتیو و تخریب پروتئین‌های فتوسنتزی و کاهش میزان کلروفیل‌ها است (Najafi Babady et al., 2018; Karimzadeh et al., 2019; sharifi et al., 2017).

جدول ۲. مقایسه میانگین مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی تحت تأثیر تنش کادمیوم، رقم و باکتری‌های محرک رشد

Table 2. Comparison of the average amount of photosynthetic pigments under the influence of cadmium stress, cultivar and growth-promoting bacteria

تیمارها Treatments			کلروفیل a Chlorophyll a (mgg^{-1})				کلروفیل b Chlorophyll b (mgg^{-1})			
			24h	48h	72h	Stem Stage	24h	48h	72h	Stem Stage
باکتری Bacteria	Control	شاهد	4.23 ^{a}	7.49^{a}	5.61^{a}	5.43^{a}	0.73^{a}	2.61^{a}	0.76^{a}	1.35^{a}
	Azotobacter	*ازتوباکتر*	4.09^{a}	7.22^{a}	5.50^{ab}	5.56^{a}	0.85^{a}	2.25^{ab}	0.70^{b}	1.17^{ab}
	Pseudomonas	*سودوموناس*	4.17^{a}	7.51^{a}	4.99^{b}	5.38^{a}	0.87^{a}	2.03^{b}	0.66^{b}	1.14^{b}
ژنوتیپ Genotype	Karim	کریم	3.98 ^{a}	7.88 ^{a}	4.71 ^{b}	5.40 ^{a}	0.83 ^{a}	2.55 ^{a}	0.73 ^{a}	1.25 ^{a}
	Gonbad	گنبد	4.34 ^{a}	6.94 ^{b}	6.02 ^{a}	5.51 ^{a}	0.81 ^{a}	2.04 ^{b}	0.68 ^{b}	1.19 ^{a}
کادمیوم Cadmium (µM)	0		5.47^{a}	10.61^{a}	6.68^{a}	6.55^{a}	1.17^{a}	3.52^{a}	0.89^{a}	1.53^{a}
	75		4.49^{b}	8.27^{b}	6.09^{a}	5.77^{b}	0.88^{b}	2.61^{b}	0.73^{b}	1.36^{a}
	150		3.76^{c}	6.33^{c}	5.08^{b}	4.96^{c}	0.72^{b}	1.81^{c}	0.63^{c}	1.11^{b}
	300		2.95^{d}	4.42^{d}	3.61^{c}	4.54^{c}	0.49^{c}	1.24^{c}	0.56^{c}	0.89^{b}

Table 2. Continued **جدول ۲. ادامه**

تیمارها Treatments			کلروفیل کل Total chlorophyll (mgg^{-1})			
			24h	48h	72h	Stem Stage
باکتری Bacteria	Control	شاهد	4.96^{a}	10.10^{a}	6.37^{a}	6.78^{a}
	Azotobacter	*ازتوباکتر*	4.94^{a}	9.47^{a}	6.20^{a}	6.73^{a}
	Pseudomonas	*سودوموناس*	5.03^{a}	9.55^{a}	5.56^{b}	6.52^{a}
ژنوتیپ Genotype	Karim	کریم	4.81 ^{a}	10.43 ^{a}	5.44 ^{b}	6.65 ^{a}
	Gonbad	گنبد	5.15 ^{a}	8.98 ^{b}	6.70 ^{a}	6.71 ^{a}
کادمیوم Cadmium (µM)	0		6.64^{a}	14.14^{a}	7.57^{a}	8.08^{a}
	75		5.37^{b}	10.88^{b}	6.82^{b}	7.12^{b}
	150		4.46^{c}	8.14^{c}	5.72^{c}	6.07^{c}
	300		3.44^{d}	5.66^{d}	4.17^{d}	5.43^{c}

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

The presence of different letters in each column indicates a significant difference by the Duncan test at the 5% level

جدول ۳. مقایسه میانگین اثر متقابل باکتری× ژنوتیپ بر رنگیزه‌های اصلی در زمان ۷۲ ساعت

Table 3. Comparison of mean bacterial × genotype interactions on major pigments over 72 hours

ژنوتیپ Genotype	Bacteria	باکتری	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Total chlorophyll
			---------- mgg^{-1} ----------		
کریم Karim	Control	شاهد	4.64 b	0.74 a	5.38 b
	Azotobacter	*ازتوباکتر*	4.69 b	0.70 a	5.39 b
	Pseudomonas	*سودوموناس*	4.77 b	0.74 a	5.52 b
گنبد Gonbad	Control	شاهد	6.56 a	0.77a	7.34 a
	Azotobacter	*ازتوباکتر*	6.30 a	0. 69 a	6.99 a
	Pseudomonas	*سودوموناس*	5.19 b	0.56 b	5.76 b

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

The presence of different letters in each column indicates a significant difference by the Duncan test at the 5% level

جدول ۴. مقایسه میانگین اثر باکتری×کادمیوم بر کلروفیلa (۲۴ و ۷۲ ساعت) و کلروفیل کل (۷۲ ساعت).

Table 4. Comparison of the mean effect of the bacterium× Cadmium on chlorophyll a (24 and 72 h) and total chlorophyll (72 h)

باکتری Bacteria	کادمیوم Cadmium	کلروفیلa (24h) Chlorophyll a	کلروفیل a (72h) Chlorophyll a	کلروفیل کل(72h) Total chlorophyll
	µM	---------- μgg^{-1} ----------		
شاهد Control	0	5.67 a	7.09 a	8.04 a
	75	5.53 a	7.19 a	7.98 ab
	150	3.58c	5.47c-e	6.18d-f
	300	2.15 d	2.66 h	3.25i
ازتوباکتر Azotobacter	0	5.66 a	6.74ab	7.69a-c
	75	3.78 c	5.92b-d	6.64c-e
	150	3.63 c	5.11d-f	5.69e-g
	300	3.28 c	4.24fg	4.77gh
سودوموناس Pseudomonas	0	5.09 ab	6.19 a-c	6.97b-d
	75	4.15bc	5.15c-f	5.84 ef
	150	4.00 c	4.66e-g	5.28f-h
	300	3.42 c	3.92g	4.48h

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

The presence of different letters in each column indicates a significant difference by the Duncan test at the 5% level

طبق داده‌های جدول ۲ مشخص شد میزان کلروفیل b در ۲۴ ساعت در حضور باکتری سودوموناس از برتری نسبی نسبت به دو تیمار دیگر برخوردار بود. حضور باکتری مانع از آن شده است که مقدار کلروفیل نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کند (جدول ۲) که با نتایج تحقیق ژ و همکاران (Zhu et al., 2014) و صنایعی و همکاران (Sanayei et al., 2019) مطابقت دارد. در میان باکتری‌ها، جنس‌های متعلق به سودوموناس به دلیل توانایی بالا در حل کردن فسفات نامحلول معدنی موجب افزایش جذب فسفر گیاه می‌شود (Fallah NosratAbad and Shariati, 2014; Ebrahimi et al., 2018). فسفر به‌عنوان حامل انرژی، جذب و انتقال نیتروژن به برگ‌ها را افزایش می‌دهد و در نتیجه موجب ساخت مقادیر بیشتر کلروفیل می‌گردد (Yousefpour et al., 2014). احتمالاً باکتری سودوموناس با افزایش جذب عناصر کم‌مصرف از طریق تحریک فعالیت پمپ پروتئینی ATPase و تبدیل فسفات نامحلول به فرم قابل‌استفاده در گیاه موجب ساخت مقادیر بیشتر کلروفیل گردید (Karimi et al., 2011; Satyaprakash et al., 2017).

بیشترین میزان رنگیزه‌های اصلی از شاهد و کمترین مقدار از بالاترین غلظت کادمیوم به دست آمد در توجیه این امر می‌توان گفت چون در شرایط تنش، گلوتامات پیش ماده

مشترک ساخت کلروفیل و پـرولین است، احتمالاً پرولین بیشتری به‌عنوان تنظـیم‌کننده اسمزی ساخته می‌شود و درنتیجه ساختن کلروفیـل کاهش می‌یابد (Mosavi et al., 2018). جدول ۴ نشان داد مقدار کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل با افزایش غلظت کادمیوم نسبت عکس داشت این امر حاکی از آن است که کلروفیل از حساسیت بالاتری نسبت به تنش کادمیوم برخوردار است که این نتایج با کارهای Xue و همکاران (Xue et al., 2013) در سویا، با کارهای یعقوبیان و همکاران (Yaghoubian et al., 2016) در گیاه خرفه و سحر طبیبان و همکاران (Tabibian et al., 2019) مطابقت دارد. کاهش رنگیزه‌ها در حضور کادمیوم را به افزایش سطوح اکسیژن واکنشگر مربوط می‌دانند (Asareh and Shariat, 2009). کاربرد باکتری‌ها در تمام صفات اثر تعدیل‌کنندگی اثرات منفی کادمیوم در غلظت‌های بالا را بر عهده دارد(جدول ۴) باکتری‌ها با کاهش جذب فلزات سنگین از محیط و نیز استفاده از این فلزات برای اهداف تغذیه‌ای اثرات سوء فلزات سنگین را کاهش می‌دهند (Rajkumar et al., 2012; Kahrarian and Taran, 2019) و نیز با توجه به داده‌های مقایسه میانگین مشخص شد (جدول ۳). مقدار کلروفیل کل در رقم گنبد نسبت به باکتری ازتوباکتر واکنش مثبت نشان می‌دهد. دلیل این امر انطباق شرایط بهینه فعالیت باکتری ازتوباکتر فعالیت در محیط‌های وسیع ازجمله محیط‌های آبی (در حد ظرفیت مزرعه)، خاک و سطح وسیع (pH) با رقم گنبد (آبی بودن گیاه) هست (Khosravi, 2014).

جدول ۵. تجزیه واریانس رنگیزه‌های کمکی تحت تنش کلرید کادمیوم و باکتری‌های محرک رشد گیاهی در دو رقم گندم نان.

Table 5. Analysis of variance of auxiliary pigments under cadmium chloride stress and plant growth-promoting bacteria in two bread wheat cultivars

منابع تغییرات S.O.V	df	Carotenoids کارتنوئیدها				Flavonoids فلاونوئیدها			
		24h	48h	72h	Stem Stage	24h	48h	72h	Stem Stage
ژنوتیپ Genotype (G)	1	0.021^{ns}	0.118^{ns}	0.0004^{ns}	0.009^{ns}	0.028^{ns}	0.636^{ns}	0.644**	1.00**
باکتری Bacteria (B)	2	0.036**	0.006^{ns}	0.004^{ns}	0.008^{ns}	2.422**	2.538**	0.630**	0.322**
کادمیوم Cadmium (C)	3	0.123**	0.273**	0.077**	0.070**	3.224**	4.377**	2.174**	1.439**
باکتری × ژنوتیپ G×B	2	0.046**	0.176^{ns}	0.013*	0.002^{ns}	1.435**	0.392^{ns}	1.209**	1.596**
ژنوتیپ × کادمیوم G×C	3	0.014^{ns}	0.040^{ns}	0.001^{ns}	0.002^{ns}	0.034^{ns}	0.081^{ns}	0.062^{ns}	0.114*
باکتری × کادمیوم B×C	6	0.004^{ns}	0.009^{ns}	0.0005^{ns}	0.001^{ns}	0.024^{ns}	0.113^{ns}	0.062^{ns}	0.018^{ns}
ژنوتیپ×باکتری×کادمیوم G×B×C	6	0.001^{ns}	0.010^{ns}	0.003^{ns}	0.005^{ns}	0.031^{ns}	0.146^{ns}	0.042^{ns}	0.022^{ns}
خطا Error	48	0.006	0.028	0.003	0.004	0.089	0.298	0.048	0.058
ضریب تغییرات CV (%)	-	*11.44*	*17.73*	*7.22*	*7.97*	*9.75*	*16.30*	*5.72*	*6.71*

ns و * و ** به ترتیب غیره معنی‌دار، معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد

ns, * and ** Significant at 5% and 1% probability levels

رنگیزه‌های کمکی، عملکرد کوانتومی و شاخص سبزینگی (SPAD)

نتایج جدول ۷ نشان داد اثر متقابل رقم در باکتری در مورد کارتنوئیدها در زمان ۲۴ ساعت، فلاونوئیدها در زمان‌های ۲۴، ۷۲ و مرحله ساقه دهی در سطح یک درصد معنی‌دار شد و در مورد کارتنوئیدها در ۷۲ ساعت و عملکرد کوانتومی در ۴۸ ساعت در سطح پنج درصد معنی‌داری نشان داد (جدول ۵ و ۶) بیشترین و کمترین مقدار کارتنوئیدها در رقم کریم از شاهد (۰/۶۴ میلی‌گرم بر گرم) و ازتوباکتر (۰/۴۰ میلی‌گرم بر گرم) به دست آمد (جدول ۷). بیشترین مقدار فلاونوئیدها از شاهد کریم (۱۶/۲۸ میکروگرم بر گرم) و کمترین مقدار از گنبد شاهد (۹/۶۴ میکروگرم بر گرم) به دست آمد؛ اما در

مورد عملکرد کوانتومی بیشترین مقدار در حضور باکتری‌ها به دست آمد (جدول ۷). اثر متقابل باکتری در کادمیوم در مورد عملکرد کوانتومی در زمان‌های ۴۸ و ۷۲ ساعت و شاخص سبزینگی در زمان‌های ۲۴ و ۷۲ ساعت بعد از اعمال تیمار در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. شاخص سبزینگی در ۴۸ساعت بعد از اعمال تیمار در سطح ۵ درصد تحت تأثیر باکتری در کادمیوم قرار گرفت (جدول ۶). اثر متقابل رقم در کادمیوم بر فلاونوئیدها در مرحله ساقه‌دهی، عملکرد کوانتومی در ۸ ساعت و شاخص سبزینگی در ۷۲ ساعت در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۶).

مقایسه میانگین اثر متقابل رقم در باکتری نیز نشان داد، بالاترین میزان کارتنوئیدها (۰/۶۷ میلی‌گرم بر گرم) در ۲۴ ساعت از رقم گنبد و تلقیح با ازتوباکتر حاصل شد این در حالی بود که در زمان ۷۲ ساعت تیمار شاهد در رقم کریم بالاترین میزان کارتنوئیدها (۰/۶۱ میلی‌گرم بر گرم) را به خود اختصاص داد و با تیمار سودوموناس اختلاف معنی‌دار نداشت (جدول ۸). همچنین مشخص شد که بالاترین میزان فلاونوئیدها در زمان ۲۴ ساعت مربوط به شاهد در رقم کریم و سودوموناس در رقم گنبد مشاهده شد این در حالی بود که ۷۲ ساعت و مرحله ساقه‌دهی، تلقیح بر فلاونوئیدها رقم کریم بی‌اثر بود ولی هر دو تیمار موجب افزایش معنی‌دار در رقم گنبد شدند (جدول ۸). مقایسه میانگین اثر متقابل رقم در کادمیوم در مرحله ساقه‌دهی در فلاونوئیدها نیز نشان داد شیب تغییرات این صفت در رقم کریم شدیدتر از رقم گنبد بود به‌طوری‌که کادمیوم در غلظت ۳۰۰ میکرومولار موجب کاهش ۳۶ درصدی فلاونوئیدها در رقم گنبد و ۲۳ درصدی در رقم کریم شد (شکل ۱).

مقایسه میانگین مربوط به عملکرد کوانتومی در ۴۸ ساعت نیز مشخص کرد که بالاترین عملکرد کوانتومی در هر دو رقم مربوط به استفاده از ازتوباکتر و سودوموناس بود که با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند (جدول ۸). مقایسه میانگین‌ها نیز نشان داد که تنش کادمیوم موجب افت عملکرد کوانتومی می‌شود که این افت در رقم گنبد شدیدتر از رقم کریم بود به‌طوری‌که تغییرات در رقم کریم ۴۴ و در رقم گنبد ۳۰ درصد بود (شکل ۱).

جدول ۶. تجزیه واریانس عملکرد کوانتومی و شاخص سبزینگی تحت تنش کلرید کادمیوم و باکتری‌های محرک رشد در دو رقم گندم نان
Table 6. Analysis of variance of quantum yield and SPAD under cadmium chloride stress and growth-promoting bacteria in two bread wheat cultivars.

منابع تغییرات S.O.V	df	عملکرد کوانتومی Quantum yield				شدت سبزینگی SPAD			
		24h	48h	72h	Stem Stage	24h	48h	72h	Stem Stage
ژنوتیپ Genotype (G)	1	0.029 ns	0.021**	0.0009ns	0.014**	0.015ns	0.071ns	0.012ns	0. 032 ns
باکتری Bacteria (B)	2	0.050**	0.043**	0.038**	0.008**	0.571**	0.348**	0.348**	0.623**
کادمیوم Cadmium (C)	3	0.106**	0.127**	0.170**	0.112**	1.159**	0.187**	0.482**	0.509**
باکتری × ژنوتیپ G×B	2	0.0007ns	0.007*	0.0004ns	0.001ns	0.100ns	0.055ns	0.019ns	0.024 ns
ژنوتیپ × کادمیوم G×C	3	0.0038ns	0.005*	0.0009ns	0.0006ns	0.043ns	0.076ns	0.098*	0.006ns
باکتری × کادمیوم B×C	6	0.006ns	0.009**	0.008**	0.002 ns	0.135**	0.103**	0.136**	0.028 ns
ژنوتیپ×باکتری×کادمیوم G×B×C	6	0.002ns	0.003ns	0.001ns	0.001 ns	0.054ns	0.049ns	0.074*	0.033 ns
خطا Error	48	0.003	0.001	0.0008	0.001	0.028	0.030	0.031	0.041
ضریب تغییرات CV (%)		*6.62*	*4.83*	*3.73*	*4.74*	*7.54*	*7.45*	*8.52*	*11.14*

ns و * و ** به ترتیب غیره معنی‌دار، معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد

ns, * and ** Significant at 5% and 1% probability levels,

جدول ۷. مقایسه میانگین اثرات اصلی رقم، باکتری و کادمیوم بر روی رنگیزه‌های کمکی، عملکرد کوانتومی و شاخص سبزینگی

Table 7. Comparison of mean main effects of cultivar, bacterium and cadmium on auxiliary pigments, quantum yield and SPAD.

تیمارها Treatments			Carotenoids (mgg^{-1}) کارتنوئیدها				Flavonoids (μgg^{-1}) فلاونوئیدها			
			24h	48h	72h	Stem Stage	24h	48h	72h	Stem Stage
باکتری Bacteria	شاهد Control		0.56^{a}	0.98^{a}	0.62^{a}	0.72^{a}	7.70^{b}	9.30^{b}	13.65^{b}	12.47^{b}
	ازتوباکتر *Azotobacter*		0.46^{b}	0.93^{a}	0.63^{a}	0.66^{a}	10.90^{a}	13.21^{a}	15.27^{a}	13.54^{a}
	سودوموناس *Pseudomonas*		0.48^{b}	0.95^{a}	0.58^{a}	0.67^{a}	10.71^{a}	12.63^{a}	15.79^{a}	13.72^{a}
ژنوتیپ Genotype	Karim	کریم	0.48^{a}	1.04^{a}	0.61^{a}	0.70^{a}	9.60^{a}	12.51^{a}	15.63^{a}	14.07^{a}
	Gonbad	گنبد	0.52^{a}	0.87^{b}	0.61^{a}	0.66^{a}	9.94^{a}	10.92^{b}	14.18^{b}	12.42^{b}
کادمیوم Cadmium (µM)	0		0.39^{c}	0.73^{c}	0.50^{d}	0.65^{b}	13.15^{a}	16.03^{a}	17.75^{a}	15.86^{a}
	75		0.65^{a}	$1/26^{a}$	0.73^{a}	0.79^{a}	10.31^{b}	12.35^{b}	16.15^{b}	13.79^{b}
	150		0.52^{b}	1.03^{b}	0.65^{b}	0.73^{a}	8.76^{c}	10.62^{b}	13.99^{c}	12.32^{c}
	300		0.43^{c}	0.80^{c}	0.56^{c}	0.56^{c}	6.86^{d}	7.85^{c}	11.72^{d}	11.02^{d}

Table 7. Continued **جدول ۷. ادامه**

تیمارها Treatments			عملکرد کوانتومی Quantum yield				SPAD			
			24h	48h	72h	Stem Stage	24h	48h	72h	Stem Stage
باکتری Bacteria	*Control*	*شاهد*	0.67^{c}	0.62^{b}	0.58^{b}	0.55^{b}	4.46^{b}	5.00^{b}	3.89^{b}	2.79^{b}
	Azotobacter	ازتوباکتر	0.75^{b}	0.73^{a}	0.68^{a}	0.58^{ab}	5.38^{a}	6.01^{a}	4.60^{a}	3.79^{a}
	Pseudomonas	سودوموناس	0.82^{a}	0.73^{a}	0.68^{a}	0.60^{a}	5.57^{a}	5.70^{a}	4.65^{a}	3.76^{a}
ژنوتیپ Genotype	Karim	کریم	0.78^{a}	0.72^{a}	0.65^{a}	0.60^{a}	5.25^{a}	5.68^{a}	4.37^{a}	3.38^{a}
	Gonbad	گنبد	0.71^{b}	0.66^{b}	0.64^{a}	0.55^{b}	5.02^{a}	5.46^{b}	4.39^{a}	3.51^{a}
کادمیوم Cadmium (µM)	0		0.90^{a}	0.86^{a}	0.79^{a}	0.70^{a}	6.22^{a}	5.92^{a}	5.19^{a}	4.06^{a}
	75		0.78^{b}	0.74^{b}	0.72^{b}	0.64^{b}	5.55^{b}	5.79^{a}	4.53^{b}	3.71^{ab}
	150		0.71^{c}	0.63^{c}	0.63^{c}	0.53^{c}	5.09^{b}	5.61^{a}	4.15^{b}	3.34^{b}
	300		0.59^{d}	0.54^{d}	0.44^{d}	0.43^{d}	3.68^{c}	4.96^{b}	3.65^{c}	$2/.67^{c}$

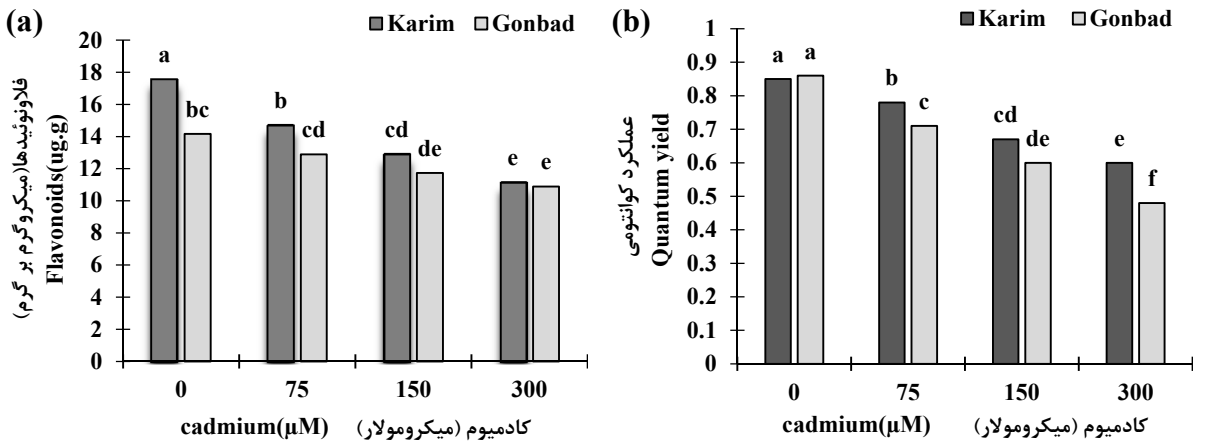
جدول ۸. مقایسه میانگین اثر متقابل رقم در باکتری بر رنگیزه‌های کمکی و عملکرد کوانتومی

Table 8.Comparison of the mean interaction of cultivar in bacteria on auxiliary pigments and quantum yield

تیمارها Treatments		کارتنوئیدها Carotenoids (mgg^{-1})		فلاونوئیدها Flavonoids(μgg^{-1})			عملکرد کوانتومی Quantum yield
ژنوتیپ Genotype	باکتری Bacteria	24 h	72h	Stem Stage	24 h	72h	48h
کریم Karim	شاهد Control	0.61^{a}	0.64^{ab}	9.24^{c}	16.28^{a}	15.30^{a}	0.62^{d}
	ازتوباکتر *Azotobacter*	0.40^{d}	0.58^{bc}	9.56^{c}	15.05^{a}	13.61^{b}	0.79^{a}
	سودوموناس *Pseudomonas*	0.43^{cd}	0.59^{bc}	9.99^{c}	15.55^{a}	13.30^{b}	0.76^{a}
گنبد Gonbad	شاهد Control	0.51^{bc}	0.59^{bc}	6.17^{d}	11.03^{b}	9.64^{c}	0.62^{cd}
	ازتوباکتر *Azotobacter*	0.51^{bc}	0.67^{a}	12.24^{a}	15.49^{a}	13.47^{b}	0.67^{cb}
	سودوموناس *Pseudomonas*	0.53^{ab}	0.57^{c}	11.43^{ab}	16.02^{a}	14.15^{ab}	0.70^{b}

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

The presence of different letters in each column indicates a significant difference by the Duncan test at the 5% level



شکل ۱. مقایسه میانگین اثر متقابل رقم در کادمیوم بر فلاونوئیدها در ساقه هی (a) و عملکرد کوانتومی در ۴۸ ساعت (b)

Fig. 1. Comparison of the mean interaction of the number in the medium on flavonoids (a) and quantum yield (b)

کاهش مقدار کارتنوئیدها احتمالاً به دلیل نقش آن‌ها در فرونشانی غیرفتوشیمیایی کلروفیل‌های برانگیخته باشد که موجبات به‌هم‌ریختگی ساختار این رنگ‌دانه‌ها و نهایتاً کاهش میزان این رنگیزه‌ها را فراهم می‌آورد (Rasouli Sadaghiani, 2016). به نظرمی‌رسد کادمیوم با افزایش تجمع ROS و تخریب فتوسیستم II به‌عنوان عامل تخریب رنگ‌دانه‌ها و سایر ماکرومولکول‌ها عمل می‌کند (Chen et al., 2011) و نیز فرونشانی غیرفتوشیمیایی کلروفیل‌های برانگیخته می‌تواند از دلایل دیگر تخریب و کاهش رنگیزه‌های کمکی باشد. در این پژوهش نقش کادمیوم به‌عنوان عامل تنش‌زا در مورد تمام صفات فیزیولوژیکی مشاهده شد و به‌غیراز کارتنوئیدها، بقیه صفات را کاهش داد. کادمیوم در آوند آبکش از تحرک بالایی برخوردار است و لذا با تجمع در اندام هوایی رنگیزه‌های فتوسنتزی را متأثر می‌سازد (Hussain et al., 2015).

افزایش کارتنوئیدها در گیاه زوفا (Rasam, et al., 2014) و بابونه (Lotfollahi, et al., 2015) نیز گزارش گردیده است. به دلیل نقش کارتنوئیدها در حفاظت از دستگاه فتوسنتزی از آسیب‌های رادیکال‌های آزاد و غیر فعال‌سازی اکسیژن تکی، افزایش آن احتمالاً دلیلی بر مقابله با تنش باشد چراکه کارتنوئیدها در چرخه گزانتوفیل، با مصرف NADPH از کلروفیل‌ها در مقابل فتواکسیداسیون مقاومت می‌کنند (Koyro, 2006). فلاونوئیدها به‌عنوان آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی، نقش مهمی به‌عنوان کلاته‌کننده فلزات و آنتی‌اکسیدان دارند و در ایجاد تحمل به فلزات سنگین نقش قابل‌توجهی ایفا می‌کنند (Kovacik et al., 2010). کاهش میزان ترکیبات فلاونوئیدها در این مطالعه نیز می‌تواند به علت سنتز این ترکیبات به سایر ترکیبات فنولی ازجمله لیگنین باشد (Matsouka et al., 2011).

وزن خشک ساقه، عملکرد، وزن دانه و تعداد دانه

از بین اثرات اصلی تنش‌زا بر روی وزن خشک ساقه، عملکرد، وزن دانه و تعداد دانه اثر کادمیوم بر روی این صفات (به‌جز تعداد دانه) در سطح یک درصد معنی‌دار شد. اثر متقابل رقم در باکتری بر روی وزن خشک ساقه (در سطح یک درصد) تعداد دانه (در سطح پنج درصد) معنی‌دار و در بقیه موارد معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۹).

داده‌های حاصل از مقایسه میانگین حاکی از برتری رقم کریم نسبت به رقم گنبد است. میانگین وزن خشک ساقه رقم کریم ۱/۲۹ گرم و رقم گنبد ۱/۲۶ گرم و میانگین عملکرد دانه تک بوته رقم کریم ۱۹۵/۵ میلی‌گرم در بوته و رقم گنبد ۱۵۰ میلی‌گرم در بوته بود. میانگین وزن دانه سنبله اصلی رقم کریم ۳۰/۲۲ میلی‌گرم و در رقم گنبد ۲۱/۸۸ میلی‌گرم و میانگین تعداد دانه رقم کریم ۶/۸۵ و رقم گنبد ۶/۵۲ بود (جدول ۱۰). در حضور ازتوباکتر بیشینه تمام صفات مذکور مشاهده گردید (جدول ۲). در مورد وزن خشک ساقه، ازتوباکتر بیشتر از سودوموناس بر روی رقم کریم مؤثر بوده است و تعداد دانه رقم کریم در حضور باکتری‌ها نسبت به شاهد افزایش بیشتری نشان داد (جدول ۱۱). این امر احتمالاً به دلیل مقاومت بالاتر رقم کریم در مقابل سمیت کادمیوم می‌باشد و نیز احتمالاً به دلیل کارایی بیشتر آنزیم‌های چرخه کربن این رقم می‌باشد (Javadzarrin et al., 2017). بررسی

نتایج حاصل از اثر کادمیوم بر روی عملکرد، وزن خشک، وزن دانه و تعداد دانه نشان داد که بیشینه میزان صفات از شاهد و کمینه از بالاترین غلظت کادمیوم به دست آمد(جدول ۱۰). کاهش وزن خشک اندام هوایی در حضور کادمیوم در ارقام مختلف برنج (Liu et al., 2010)و ذرت (Lagriffoul, et al., 1998) نیز گزارش 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 (Kabata-Pendias and Pendias, 2001).

جدول ۹. تجزیه واریانس وزن خشک، عملکرد، وزن دانه و تعداد دانه تحت تنش کلرید کادمیوم و اثر باکتری محرک در دو رقم گندم نان

Table 9. Differential analysis of dry weight, yield, grain weight and number of grains under stress of cadmium chloride and the effect of stimulating bacteria in two cultivars of wheat bread

S.O.V	منابع تغییرات	df	وزن خشک ساقه Dry shoot weight	عملکرد Yeild	وزن دانه Grain weight	تعداد دانه Number of grains
Genotype (G)	ژنوتیپ	1	0.001^{ns}	51.59**	11.84**	0.0861 ^{ns}
Bacteria (B)	باکتری	2	0.099**	16.24**	0.516*	0.148 ^{ns}
Cadmium (C)	کادمیوم	3	0.124**	33.45**	1.094**	0.454*
G×B	باکتری×ژنوتیپ	2	0.089**	2.64^{ns}	0.408 ^{ns}	0.396*
G×C	ژنوتیپ×کادمیوم	3	0.004^{ns}	3.82^{ns}	0.191^{ns}	0.087 ^{ns}
B×C	باکتری×کادمیوم	6	0.008^{ns}	0.827^{ns}	0.064^{ns}	0.016 ^{ns}
G×B×C	ژنوتیپ×باکتری×کادمیوم	6	0.002^{ns}	0.684^{ns}	0.082^{ns}	0.004 ^{ns}
Error	خطا	48	0.009	2.16	0.116	0.110
CV (%)	ضریب تغییرات	-	8.49	11.35	6.74	12.97

ns, * and ** Significant at 5% and 1% probability levels ns و * و ** به ترتیب غیره معنی‌دار، معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد

جدول ۱۰. مقایسه میانگین اثرات اصلی باکتری، ژنوتیپ و کادمیوم در صفات وزن خشک، عملکرد، وزن دانه و تعداد دانه

Table 10. Comparison of average dry weight, yield, grain weight and number of grains under stress of cadmium chloride and the effect of stimulating bacteria in two cultivars of bread wheat

	تیمارها Treatments		وزن خشک ساقه Dry shoot weight	عملکرد Yeild	وزن صد دانه Grain weight one hundred grains	تعداد دانه Number of grains
			g	mg per plant	mg	
باکتری Bacteria	Control شاهد		1.19^{a}	148.7^{b}	24.46^{b}	6.28^{a}
	Azotobacter ازتوباکتر		1.44^{a}	189.6^{a}	26.96^{a}	6.99^{a}
	سودوموناس *Pseudomonas*		1.21^{b}	179.9^{a}	26.75^{a}	6.79^{a}
ژنوتیپ Genotype	Karim	کریم	1.29^{a}	195.5^{a}	30.22^{a}	6.85^{a}
	Gonbad	گنبد	1.27^{a}	150.0^{b}	21.88^{b}	6.52^{a}
کادمیوم Cadmium (µM)	0		1.46^{a}	195.0^{a}	28.61^{a}	6.94^{a}
	75		1.36^{ab}	193.4^{a}	26.66^{ab}	7.39^{a}
	150		1.24^{b}	179.5^{a}	26.22^{b}	6.87^{a}
	300		1.05^{c}	123.0^{b}	22.72^{c}	5.55^{b}

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

The presence of different letters in each column indicates a significant difference by the Duncan test at the 5% level

جدول ۱۱. مقایسه میانگین اثر متقابل باکتری × ژنوتیپ بر وزن خشک ساقه و تعداد دانه

Table 11. Comparison of the mean interaction of bacteria, genotype on dry stem weight and number of seeds

ژنوتیپ Genotype	Bacteria	باکتری	وزن خشک ساقه Dry shoot Weight (g)	تعداد دانه Number of grains
کریم Karim	Control	شاهد	1.08 c	5.35 b
	Azotobacter	ازتوباکتر	1.61a	7.14a
	Pseudomonas	سودوموناس	1.20bc	7.10 a
گنبد Gonbad	Control	شاهد	1.30b	7.22a
	Azotobacter	ازتوباکتر	1.28b	6.86 a
	Pseudomonas	سودوموناس	1.21bc	6.48 ab

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

The presence of different letters in each column indicates a significant difference by the Duncan test at the 5% level

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج نشان داد که کادمیوم موجب کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی، افزایش رنگیزه‌های کمکی (مانند کارتنوئیدها) و کاهش وزن خشک، عملکرد، وزن دانه و تعداد دانه در گیاهان گندم موردمطالعه می‌گردد. حضور باکتری‌های محرک رشدگیاهی موردمطالعه موجب بهبود سیستم فتوسنتزی، وزن خشک، وزن دانه، تعداد دانه و عملکرد گردید. کاربرد باکتری محرک رشد ازتوباکتر بهترین نتیجه را داشت طوری که در اکثر صفات موردبررسی تأثیرات تنش حاصل از اثر کادمیوم را بهبود بخشید؛ بنابراین می‌توان از ازتوباکتر به‌عنوان باکتری کاهنده اثرات تنش ناشی از حضور کادمیوم در گندم رقم کریم استفاده نمود.

منابع

Akbari, Sh., Cheraghi, M., 2019. The concentration of heavy metals Zn, Pb and Cd in rice supplied in the consumer market in Hamadan. Journal of Environmental Science and Technology. 21(8), 13-22. [In Persian with English summary].

Alahbakhsh, E., Sirousmehr, A.R., Ebrahimi, O., Shahraki, N., 2018. Accumulation potential and tolerance to cadmium pollution and the effect of silicon on some physiological indices of *Portulaca oleracea*. Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology). 31(2), 235-247. [In Persian with English summary].

Amani, A., 2008. Cadmium induced changes in pigment content, ion uptake, proline content and phosphoenol pyruvate carboxylase activity in *Triticum aestivum* seedlings. Australian Journal of Science. 2, 57-62.

Asadi rahmani, H., Khavazi, K., Asgharzadeh, A., Rejali, F., Afshari, M., 2012. Biofertilizer in Iran: Opportunities and challenges. Iranian Journal of Soil and Waters Sciences. 26,77-87. [In Persian with English Summary].

Asareh, M.H., Shariat, A., 2009. Salinity resistance in germination stage and growth stage in some Eucalyptus species. Journal of Agricultural Science and Technology. 15, 145-157.

Borang, Sh., Jahanbakhsh Gadeh Kahriz, S., Ebadi, A., 2019. Comparison of the effect of cadmium chloride application and foliar application of iron and zinc on biochemical properties of wheatIn terms of hydroponic culture. Journal of Plant Process and Function. 8, 25-38. [In Persian with English Summary].

Chen, S., Xu, B., Liu, L., Luo, Y., Zhou, H., Chen, W., Shen, T., Han, X., Kontes, C.D., Huang S., 2011. Cadmium induction of reactive oxygen species activates the mTOR pathways, leading to neuronal cell death. Free Radical Biology and Medicine. 50, 624–632.

Dere, S.H., Gunes, T., Sivaci, R., 1998. Spectrophotometric determination of

chlorophyll-a, b and total carotenoid contents of some algae species using different solvents. Turkish Journal of Botany 22, 13-17.

Dikkaya, T., Ergun, N., 2014. Effects of cadmium and zinc interactions on growth parameters and activities of ascorbate peroxidase on maize (*Zea mays* L.). European Journal of Experimental Biology. 4, 288-295.

Ebrahimi, M., Safari-sinegani, A.A., Sarikhani, M.R., Aliasgharzad, N., 2018. Study on phosphate solubilizing ability of some bacterial isolates and determination of solubilized phosphorus fractionation in supernatant and microbial biomass. Biological Journal of Microorganism. 25(7) 109-125. [In Persian with English summary].

Fallah Nosrat Abad, A., Shariati, Sh., 2014. Effect of *Pseudomonas* and *Bacillus* bacteria on yield and nutrient uptake in comparison with chemical and organic fertilizers in wheat. Journal of Water and Soil. 28(5), 976-986. [In Persian with English Summary].

Hoagland, D.R., Arnon, D.I., 1950. The water-culture method for growing plants without soil. California Agricultural Experiment Station. 347, 1-32.

Hosseinpour, K., Sodaeezade, H., Tajamolian, M., 2017. The effect of nickel and iron on soil acidity and growth parameters in stipa capensis (Case study: Gachsaran oil-rich region). Journal of Envirnomental Science and Technology. 19(5), 451-458. [In Persian with English summary].

Hussain, I., Ashraf, M.A., Rasheed, R., Asghar, A., Sajid, M. A., Iqbal, M., 2015. Exogenous application of silicon at the boot stage decreases accumulation of cadmium in wheat (*Triticum aestivum* L.) grains. Brazilian Journal of Botany 38, 234-223.

Isarankura, P., Isarankura, Ch., Kasikun, K., Thipkeaw, K., Prachayasittikul, V., 2009. Proteomic profiling of Escherichia Coli in response to heavy metals stress. European Journal of Science Research 25, 679-688.

Jalali, M., Asghari, Gh., Abedi, D., Rezaei, Z., 2007. Investigating the antimicrobial effect of several different plant fruit extracts Pycnocyclaspinosa. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences. 59, 76-85. [In Persian with English Summary].

Javad Zarrin, A., Motsharezadeh, B., 2015. The effect of cadmium on the concentrations of Cu, Fe, Mn and Zn in shoots of different wheat cultivars. Journal of Agricultural Agriculture. Journal of Agricultural Crop. 27-41. [In Persian with English Summary].

Javadzarin, I., Motesharezadeh, B., Ahmadi, A., 2017. Evaluating activity of some antioxidant enzymes under cadmium toxicity in two wheat cultivars. Journal of Soil Management and Sustainable Production, 6(4), 21-38.

Kabata-Pendias, A., Pendias, H., 2001. Trace Elements in Soils and Plants. CRC Press, New York, USA.

Kahrarian, Z., Taran, M., 2019. The effect of nitrogen, phosphorus and cadmium on biological uptake by bacteria Halomonas elongata IBRC-M10433. Journal of Envirnomental Science and Technology. 21(5), 33-45. [In Persian with English summary].

Karimi, A., Khodaverdiloo, H., Sepehri, M., Rasouli Sadaghiani, M. H., 2011. Arbuscular mycorrhizal fungi and heavy metal contaminated soils. African Journal of Microbiology Research. 5(13), 1571-1576.

Karimzadeh, J., Alikhani H.A., Etesami, ., 2019. Rhizosphere soil of dryland wheat as a useful source for isolating salinity and drought resistance fluorescent *Pseudomonas* bacteria. Journal of Water and Soil Conservation. 26(4), 173-189. [In Persian with English summary].

Khan, K., Lu, Y., Khan, H., Ishtiaq, M., Khan, S., Waqas, M., Wang, T., 2013. Heavy metals in agricultural soils and crops and their health risks in Swat District, northern Pakistan. Food Chem Toxicol. 58, 449–458.

Khosravi, h., 2014. Azotobacter and its role in soil management. Land Management: 79-94. [In Persian with English Summary].

Kovacik, J., Klejdus, B., Hedbavny, J., covska, S., Zon, J., 2010. Significance of phenols in cadmium and nickel uptake. Journal of Plant Physiology. 168, 576-584. [In Persian with English Summary].

Koyro, H.W., 2006. Effect of salinity on growth, photosynthesis, water relations and solute composition of potential cash crop halophyte *Plantago coronopus* L. Environmental and Experimental Botany. 56, 136-149.

Lagriffoul, A.B., Mocquot, M., Mench, b., Vangronsveld, J., 1998. Cadmium toxicity effects on growth, mineral and chlorophyll contents, and activities of stress related enzymes in young maize plants (*Zea mays* L.). Plant and Soil. 200, 241–250.

Liu, J., Cao, C., Wong, M., Zhang, Z., Chai, Y., 2010. Variations between rice cultivars in iron and manganese plaque on roots and the relation with plant cadmium uptake. Journal of Environmental Sciences. 22, 1067– 1072.

Lotfollahi, L., Torabi Gossafidi, H., Omidi, H., 2015. The effect of different salinity levels on proline, photosynthetic pigments and relative moisture content of German chamomile (*Matricaria chamomilla*) leaf in aquatic environment. Journal of Plant Production Research. 22, 89-104. [In Persian with English Summary].

Ma, Y., Prasad, M.N.V., Rajkumar, M., 2011. Plant growth promoting rhizobacteria and endophytes accelerate phytoremediation of metalliferous soils. Biotechnology Advances. 29, 248–258.

Matsouka, I., Beri, D., Chinou, I., Haralampidis, K. G., Spyropoulos, C., 2011. Metals and selenium induce medicarpin accumulation and excretion from the roots of fenugreek seedlings: a potential detoxification mechanism. Plant soil published online.

Mosavi, N., Ebadi, M., Khorshidi, M., Masoudian, N., Hokmabadi H., 2018. Study of some physiological characteristics of potato tissue under salinity stress. International Journal of Farming and Allied Sciences. 7, 1-5. [In Persian with English Summary].

Mousavi, S.H., 2010. An analysis of self sufficiency in wheat production. PhD dissertation, Faculty of Agricultural Economics, University of Shiraz, Iran. [In Persian with English Summary].

Najafi Babady, K., Hassibi P., Roshanfekr H., Broumand Nassab, S., 2018. Effect of drought stress on chlorophyll fluorescence and forage yield of two forage millet cultivars. Iranian Journal of Field Crops Research. 16, 333-344. [In Persian with English Summary].

Najafi, N., Ahmadinezhad, R., Aliasgharzad, N., Oustan, Sh., 2019. Effects of urea integration with manure and two types of compost (municipal waste and sewage sludge) on concentrations of micronutrients and sodium in wheat leaf, stem and seed. Journal of Water and Soil Conservation, 26(3), 63-81. [In Persian with English summary].

Nourbakhsh Rezaei, S.R., Shabani, L., Rostami, M., Abdoli, M., 2019. The effect of different concentrations of cadmium chloride on oxidative stress in shoot cultures of lemon balm. Plant Productions. 42(4), 509-522. [In Persian with English summary].

Pourmorad, F., Hosseinimehr, S. J., Shahabimajd N., 2006. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. African Journal of Biotechnology. 5, 1142-1145.

Rajkumar, M., Sandhya, S., Freitas., M.N.V., 2012. Perspectives of plant associated microbes in heavy metals Phytoremedeation. Biotechnology Advances. 30, 74-1562.

Rasam, GH., Dadkhah, A.S., Khoshnoud Yazdi, A., 2014. Evaluation of the effect of water deficiency on morphological and physiological traits of hyssop medicinal plant. Journal of Agricultural Science. 10, 12-1 [In Persian with English Summary].

Rasouli Sadaghiani, M.H., Khodaverdiloo, H., Barin, M., Kazemalilou, S., 2016. Influence of PGPR bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on growth and some physiological parameters of onopordon acanthium in a Cd-Contaminated Soil. Journal of water and soil. 30(2), 542-554. [In Persian with English Summary].

Rostami, F., Golchin, A., Heydari, M., 2019. Effect of mycorrhizal fungi and phosphate solubilizing bacteria on corn growth and cadmium uptake in cadmium spiked soils. Journal of Iranian Soil and Water Research. 50(10), 2413-2423.

Salehi Jouzani, Gh., Moaven, E., Morsali, H., 2014. Optimization of a wettable powder formulation for two native bacillus thuringiensis strains. Biological Control of Pest and Plant Diseases. 3, 1-68. [In Persian with English Summary].

Sanayei, S., Barmaki, M., Ebadi khazine Gadim, A., Torabi Giglou, T., 2019. Effect of drought stress and inoculation of mycorrihizal fungi and pseudomonas spp. On some morpho-physiological characteristics of Roselle (*Hibiscus sabdaeiffa* L.). Journal of Agricultural Knowledge and Sustainable Production. 30, 71-89. [In Persian with English summary].

Satyaprakash, M., Nikitha, T., Reddi, E., Sadhana, B., Vani, SS., 2017. Phosphorous and phosphate solubilising bacteria and their role in plant nutrition. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. 6(4), 2133-2144.

Sergent, K., Kieffer, P., Dommes, J., Hausman, F.J., 2014. Proteomic changes in leaves of poplar exposed to both cadmium and low temperature stress. Journal of Environmental and Experimental Botany. 106, 112-123.

Shariati, Sh., Alikhani, H., Ali Pourbabaei, A., Shariati, F., 2014. The effect of inoculation on seed and soil germination of bacteria that increase plant growth (*Pseudomonas fluorescence*) on yield and adsorption of some elements in corn. Journal of Agricultural Engineering. 1, 93-107.

Sharifi, R., Alizadeh, H., Ahmadzade M and Rasouli Sadaghiani, M.H., 2017. Investigation of different methods in siderophore measurement in indigenous fluorescent pseudomonads. Biological Journal of Microorganism. 6(21), 97-106. [In Persian with English summary].

Tabibian, S., Bidarigh, S., Torabian, S.Y., 2019. Investigation on the adsorption of heavy metal in lead in a plane species in traffic areas in Rasht. Human and Environment. 17(4), 39-46.

Tkalec, M., Peharec, P., Tefanic, S., Cvjetko, P., Sandra, S., Pavlica, M., Balen, B., 2014. The effects of cadmium-zinc interactions on biochemical responses in tobacco seedlings and adult plants. PLoS ONE 9, e87582 doi: 10.1371/journal.pone

Xue, Z.C., Gao, H.Y., Zhang, L.T., 2013. Effects of cadmium on growth, Photosynthetic rate, and chlorophyll content in leaves of soybean seedlings. Biologia Plantarum, 57, 587-590.

Yaghoubian, Y., Siadat, S.A., Moradi Telavata, M.R., Pirdashti, H., 2016. Quantify the response of purslane plant growth, photosynthesis pigments and photosystem II photochemistry to cadmium concentration gradients in the soil. Russian Journal of Plant Physiology, 63, 77-84.

Yousefipor, M., Lack, Sh., Payandeh, Kh., 2018. Evaluation Effect of combine application of biological and chemical phosphorus fertilizers and micronutrients on seed yield and morpho-physiological traits of barley (*Hordeum vulgare* L.). Bi-Quarterly Journal of Plant Production. 2, 107-119.

Yousefpour, Z., Yadav, A., Baluchi, E., Faraji, H., 2014. Evaluation of yield and some physiological, morphological and phenological characteristics of sunflower under the influence of biological and chemical fertilizers of nitrogen and phosphorus. Agricultural Boom Theory. 3, 508-519. [In Persian with English Summary].

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