اثر کاربرد باکتری محرک رشد مولد بیوفیلم و اسید آمینه تریپتوفان بر عملکرد و غلظت کادمیوم در اندام‌هوایی گیاه چاودار

اسماعیل کریمی[1]، شکوفه محمدی و عزت‌اله اسفندیاری

استادیار گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه؛ **sm_ka80@yahoo.com**

دانشجوی سابق کارشناسی ارشد گروه علوم و مهندسی خاک، دانشگاه مراغه؛ **mohammadi.ms@yahoo.com**

استاد گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه؛ **esfand1977@yahoo.com**

ص **177 - 191**

دریافت: **1400/2/26** و پذیرش: **1400/10/29**

چکیده

با توجه به اجتناب‌ناپذیر بودن ورود عنصر کادمیوم به خاک‌ها و سمیت این عنصر، لازم است که از ورود آنها به زنجیره غذایی به‌ویژه از طریق جذب توسط گیاهان جلوگیری نمود، باکتری‌های محرک رشد گیاهان با قابلیت تولید بیوفیلم و تولید اکسین می‌توانند مانع ورود عناصر سنگین به اندام‌های‌هوایی گیاهان زراعی گردند. در این راستا آزمایشی در قالب طرح فاکتوریل بر پایه بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار به روش هیدروپونیک طراحی و اجرا شد. فاکتورهای مورد مطالعه شامل سطوح کادمیوم (صفر، 50 و 100 میلی‌گرم کادمیوم در لیتر)، مایه‌زنی باکتریایی (مایه‌زنی باکتری *Bacillus atrophaeus* 54-1 و عدم مایه‌زنی) و سطوح تریپتوفان (عدم کاربرد و کاربرد با غلظت 100 میلی‌گرم تریپتوفان در لیتر) بود. نتایج نشان دادند که افزودن تریپتوفان و مایه‌زنی باکتریایی منجر به افزایش 19 درصدی عملکرد ماده خشک چاودار در مقایسه با شاهد شد. همچنین، کاربرد تلفیقی تریپتوفان در غلظت‌های 50 و 100 میلی-گرم در لیتر به‌همراه مایه‌زنی باکتریایی به‌ترتیب سبب کاهش 100 و 62 درصدی غلظت کادمیوم در اندام‌های هوایی چاودار گردید. کاربرد تریپتوفان میزان مالون‌دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن را در مقادیر 50 میلی‌گرم کادمیوم بر لیتر به‌ترتیب 30 و 42 درصد و در شرایط 100 میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم به میزان 34 و 32 درصد کاهش داد که حاکی از بهبود سیستم آنتی‌اکسیدانی چاودار در اثر کاربرد تریپتوفان می‌باشد. لذا به نظر می‌رسد با مطالعات تکمیلی‌تر بتوان از این تیمارها جهت افزایش عملکرد و کاهش ورود کادمیوم به زنجیره غذایی از طریق گیاهان در شرایط خاک‌های مبتلا به آلودگی کادمیوم بهره‌برداری کرد.

واژه‌های کلیدی: فاکتور انتقال، فاکتور تغلیظ زیستی، کاتالاز، گایاکول پراکسیداز

---

[1]. نویسنده مسئول، آدرس: مراغه، دانشگاه مراغه، دانشکده کشاورزی، گروه علوم و مهندسی خاک

مقدمه

کادمیوم جزو فلزات سنگین بوده و در صورت ورود به سیستم‌های بیولوژیکی به دلیل هدف قرار دادن آنزیم-های کلیدی سبب بروز اختلالات شدید متابولیسمی در موجودات زنده می‌گردد. از سوی دیگر با توجه به نیازهای صنعتی رو به رشد جوامع بشری مانند تصفیه، استخراج و تولید پلاستیک و کودهای شیمیایی که مهمترین منبع تولید آلودگی هستند، این فلز سنگین در خاک‌ها رها شده و در اثر ورود مستمر، تجمع و افزایش غلظت آن در محیط‌زیست اتفاق خواهد افتاد؛ بنابراین لازم است راهکارهای جلوگیری از ورود آن به زنجیره غذایی به‌صورت جدی مورد بررسی قرار گیرند (رحمن و همکاران، 2020). پژوهش‌های انجام یافته بیانگر کارآمدی بالای پتانسیل میکروبی خاک به‌ویژه باکتری‌های محرک رشد گیاهان در راستای کاهش ورود عناصر سنگین از جمله کادمیوم به اندام‌های هوایی گیاهان در خاک‌های آلوده می‌باشد (آبدی و مجیری، 2020). خانا و همکاران (2019) گزارش کردند که تلقیح گیاهان خردل، کدو و سورگوم با باکتری *باسیلوس مگاتریوم*[1] توانست جذب و انتقال نیکل را کاهش دهد.

همچنین، این محققین اظهار نمودند که تلقیح با باکتری *نئوریزوبیوم هایوتلنز*[2] سویه T1-17، ضمن بهبود رشد تربچه و کلم چینی در حضور کادمیوم، جذب و تجمع آن را در گیاهان یاد شده کاهش داد. مکانیسم‌های عمل باکتری‌ها برای انجام اینکار متعدد بوده و تولید هورمون اکسین توسط گونه باکتری یاد شده یکی از آنها می‌باشد (راجکومار و همکاران، 2013). اکسین با دخالت در ساخت لیگاندهایی که می‌توانند با اتصال به فلز باعث ترسیب آن در ریشه گردند، مانع انتقال کادمیوم به اندام هوایی می‌شود. کادمیوم بر تولید و توزیع هورمون اکسین اثر گذاشته و مقدار بالای آن، بیوسنتز و عملکرد پروتئینی به نام پاین[3] را دچار اختلال می‌کند. این پروتئین مسئول انتقال و توزیع اکسین در گیاه بوده و در اثر اختلال در بیوسنتز آن توزیع هورمون یاد شده با اشکال مواجه می-گردد (راجکومار و همکاران، 2013). از دیگر اثرات منفی تجمع کادمیوم در گیاه افزایش غلظت اکسید نیتریک[4]، بازدارنده تولید و انتقال اکسین، می‌باشد (یوآن و هونگ، 2016). کاربرد اکسین خارجی می‌تواند کاهش بیوسنتز اکسین در گیاه را در اثر تجمع کادمیوم برطرف کرده و با رفع اختلال مسیرهای متابولیسمی ایجاد شده، شرایط را به نفع گیاه تغییر دهد. افزایش ماده خشک ریشه و اندام-های هوایی آفتابگردان در خاک آلوده به سرب پس از افزودن فیتوهورمون اسید ایندول استیک مشاهده شده است (لیپادزی و همکاران،2006). همچنین، تأثیر مثبت اسید ایندول استیک خارجی بر رشد خردل در مقادیر بالای آرسنیک گزارش شده است (سریواستاوا و همکاران، 2013).

توان ریزوباکتری‌ها در تولید اکسین و بهره‌برداری از مزایای آن، به‌عنوان پتانسیل طبیعی در خاک، می‌تواند راهگشای مشکلات مطرح شده باشد. بخش قابل توجهی از تریپتوفان مورد نیاز ریزوباکتری‌ها از هیدرولیز پروتئین‌های موجود در ماده آلی خاک و بخش کمی نیز از ترشحات ریشه تأمین می‌شود. همچنین، نوع باکتری و گیاه میزبان به‌همراه میزان وجود تریپتوفان بر مقدار تولید اکسین اثر گذار هستند. مصطفی و همکاران (2018) گزارش نمودند که بین میزان تریپتوفان موجود و اکسین تولید شده ارتباط مستقیم وجود دارد. دسوزا و همکاران (2015) گزارش نموده‌اند که افزودن تریپتوفان به خاک می‌تواند منجر به افزایش تولید اکسین توسط PGPR[5] شود. پائین بودن ماده آلی خاک و یا هر فاکتور اثرگذار بر تأمین کافی تریپتوفان می‌تواند تولید اکسین توسط ریزوباکتری را با محدویت مواجه نماید.

1. *Bacillus megaterium*
2. *Neorhizobium huautlense*
3. PIN
4. Nitric oxide
5. Plant growth promoting rhizobacteria

علاوه‌بر اکسین، یکی دیگر از ویژگی‌های مهم مطرح در باکتری‌ها که در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است، تولید بیوفیلم است. باکتری‌های تشکیل دهنده بیوفیلم از این ویژگی برای مقاومت در برابر شرایط نامساعد محیطی مانند تنش فلزات سنگین و کم‌آبی بهره‌برداری می‌کنند. تشکیل بیوفیلم باکتریایی در سطح ریشه گیاهان می‌تواند با جذب فلزات مانع ورود آنها به ریشه گیاه شود. لذا، می‌توان از این گونه باکتری‌ها جهت تلقیح به گیاهان در شرایط آلودگی برای جلوگیری از ورود فلز به اندام‌های هوایی بهره‌برداری نمود (وربورگن و همکاران، 2009). به اجتماع یا ماتریکس پیچیده از میکروب‌ها و تولیدات میکروبی که به سطح بی‌جان یا جاندار مانند سطح ریشه گیاهان متصل شده باشند، بیوفیلم[1] می‌گویند. مواد پلیمری خارج سلولی (EPS)[2] عمدتاً کمپلکس پلی‌ساکاریدی بوده ولی ممکن است پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک نیز در آن یافت شوند (استودلی و همکاران، 2002).

باکتری *باسیلوس آتروفائوس* که سابقا بنام *باسیلوس سابتایلیس* واریته نیجر[3] شناخته می‌شد، یکی از باکتری‌های بسیار مفیدی است که پتانسیل کاربردی زیادی برای آن در حوزه‌های صنعتی، سلامت انسان، سلاح‌های بیولوژیک، محرک رشدی گیاه و تصفیه فاضلاب قبلا گزارش شده است (سلا و همکاران، 2015). مهدی و همکاران (2021) گزارش کردند که باکتری *باسیلوس آرتوفائوس* سویه GQJK17 S8 یک باکتری تولید کننده بیوفیلم بوده و می‌تواند باعث افزایش مقاومت به فلزات سنگین کادمیوم، نیکل و مس در گیاهچه‌های کینوا[4] گردد. لکزیان و همکاران (2008) با جداسازی پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی از باکتری *انسیفر ملیلوتی*[5] گزارش کرده‌اند که این پلی‌ساکاریدها قادر به حذف مقادیر قابل توجهی از عناصر سنگین سرب، نیکل و روی از محلول‌های آلوده در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد که حاکی از توانایی جذب کادمیوم توسط پلی‌ساکاریدهای حاضر در ساختار بیوفیلم است. در ایران اگرچه مطالعات جامعی در خصوص پراکنش و میزان کادمیوم در خاک‌های زراعی انجام نگرفته است، اما، بالا بودن میزان این عنصر، بیش از مقدار استاندارد تعیین شده، در برخی از تولیدات گیاهی مانند برنج و کاهو گزارش شده است (گلچینی و همکاران، 2018).

باتوجه به اثرات منفی کادمیوم بر بدن انسان و ضرورت ممانعت از ورود آن به رژیم غذایی، مطالعات اندکی در خصوص اثر کاربرد باکتری‌های محرک رشد به‌ویژه آن دسته که مولد بیوفیلم می‌باشند، با هدف جلوگیری از ورود کادمیوم به زنجیر غذایی انجام شده است. با در نظر گرفتن موارد مذکور، این مطالعه با هدف بررسی تاثیر باکتری محرک رشد *باسیلوس آتروفائوس*، که از دسته مولد بیوفیلم می‌باشد، و اضافه نمودن تریپتوفان، به‌عنوان پیش‌ساز اکسین، به خاک با هدف کنترل جذب کادمیوم و ممانعت از انتقال آن به بخش هوایی چاودار[6] به به مرحله اجرا درآمد.

مواد و روش ها

انتخاب باکتری

در این مطالعه باکتری *Bacillus atrophaeus* 54-1، با ویژگی‌های محرک رشدی (جدول 1)، جدا شده از ریزوسفر گرامینه‌های علفی و غیر زراعی منطقه هشترود از توابع استان آذربایجان‌شرقی، استفاده گردید (کریمی و همکاران، 1398).

1. Biofilm
2. Extracellular polymeric substances
3. *Bacillus subtilis* var. niger
4. Quinoa
5. *Ensifer meliloti*
6. *Secale cereale* L.

جدول 1- خصوصیات محرک رشدی باکتری *Bacillus atrophaeus* 54-1 (کریمی و همکاران،1398)

شاخص تشکیل بیوفیلم	3/75
میزان تولید اکسین (میلی‌گرم در لیتر در حضور تریپتوفان)	14/43
توانایی تجزیه ACC (میکرومولار در 36 ساعت)	0/61

مطالعات گلخانه‌ای

به‌منظور بررسی تأثیر کاربرد خارجی تریپتوفان به‌همراه حضور باکتری محرک رشد بر خصوصیات عملکردی و فیزیولوژیکی چاودار، آزمایش گلدانی در قالب فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه مراغه اجرا شد. در این پژوهش بستر کشت هیدروپونیک بود و بوته‌ها تا مرحله ظهور سنبله در شرایط کنترل شده از نظر دما، رطوبت و شدت نور به ترتیب 2±25 درجه سانتی‌گراد، 5±60 درصد و 20 هزار لوکس نگهداری گشتند.

تیمارهای مورد مطالعه شامل سطوح کادمیوم (صفر، 50 و 100 میلی‌گرم در لیتر)، تیمار باکتریایی (مایه-زنی باکتری *Bacillus atrophaeus* 54-1 و عدم مایه‌زنی) و کاربرد خارجی تریپتوفان (عدم کاربرد و کاربرد با غلظت 100 میلی‌گرم در لیتر، بر اساس یافته‌های اعتصامی و همکاران (2009) بود. لازم به‌ذکر است که جهت ممانعت از ورود هر نوع باکتری به محیط کشت، پرلیت (اتوکلاو شدن در دمای 120 درجه سانتی‌گراد به‌مدت یک ساعت) استریل و بذور چاودار (به‌مدت 10 دقیقه در وایتکس 2 درصد و سپس 40 ثانیه در الکل 70 درصد) ضدعفونی و پس از مایه‌زنی با باکتری‌ها کشت گردید. برای آبیاری و تغذیه بوته‌ها از محلول هوگلند استفاده گردید. پس از ظهور و استقرار گیاهچه‌ها و یکسان-سازی تعداد بوته‌ها در تمامی گلدان‌ها (هفت روز پس از شروع آزمایش) تیمارهای مربوطه با افزودن کادمیوم و تریپتوفان همراه با محلول هوگلند اعمال شد. رطوبت گلدان‌ها با استفاده از ترازو و به روش وزنی هر روز کنترل و تنظیم شد.

اندازه‌گیری وزن خشک اندام‌های گیاه

اندام‌های مختلف گیاه (برگ، ساقه و ریشه) تفکیک شده و در دمای 70 70 درجه سانتی‌گراد به‌مدت 48 ساعت خشک و توزین گردیدند.

اندازه‌گیری مساحت برگ پرچم

بزرگ‌ترین برگ پرچم در هر گلدان برداشت شده و پس از تثبیت آن بر روی برگه A4 عکس برداری شد. در ادامه مساحت برگ پرچم با استفاده از نرم افزار ArcMap 10.6.1 محاسبه شد.

اندازه‌گیری میزان کادمیوم در ریشه و اندام هوایی

از بافت خشک ریشه و اندام‌های‌هوایی 0/5 گرم به‌صورت جداگانه برداشت و پس از هضم با روش تر، غلظت کادمیوم با دستگاه جذب اتمی (مدل دستگاه) اندازه‌گیری گردید. همچنین، به‌منظور ارزیابی و بررسی توانایی گیاه انتخاب شده در پاکسازی محیط از فلز سنگین، دو فاکتور تغلیظ زیستی برای اندام هوایی (رابطه 1) و فاکتور انتقال (رابطه 2) به ترتیب محاسبه شدند.

رابطه 1

$$TF = \frac{A}{D}$$ -2 و رابطه $$BCF = \frac{A}{B}$$ -

A غلظت فلز سنگین در اندام هوایی، B غلظت فلز سنگین در محلول هیدروپونیک و D غلظت فلز سنگین در ریشه می‌باشد.

استخراج و سنجش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و گایاکول پراکسیداز

جهت استخراج آنزیم‌های کاتالاز و گایاکول پراکسیداز، 0/5 گرم از نمونه برگی با استفاده از هاون چینی سرد و نیتروژن مایع هموژن شد. سپس، به آن 5 میلی‌لیتر بافر فسفات سرد با pH 7/5 محتوی 0/5

میلی‌مولار EDTA اضافه گشت. هموژن‌ها پس از انتقال به لوله‌های آزمایش در 15000 دور در دقیقه و در دمای 4 درجه سانتی‌گراد به‌مدت 15 دقیقه سانتریفیوژ شدند (سایرام و همکاران، 2002). اندازه‌گیری آنزیم‌های کاتالاز و گایاکول پراکسیداز به ترتیب طبق روش ابی (1984)، تانک و نوتون (2005) انجام گردید. همچنین، میزان پروتئین محلول با روش برادفورد (1976)، اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری‌های فوق در آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی و آزمایشگاه مرکزی دانشگاه مراغه انجام گردید.

داده‌های به دست آمده از این تحقیق پس از آزمون نرمال بودن داده‌ها با استفاده از نرم افزار MSTATC تجزیه شده و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال 5 درصد انجام گرفت.

اندازه‌گیری میزان مالون‌دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن

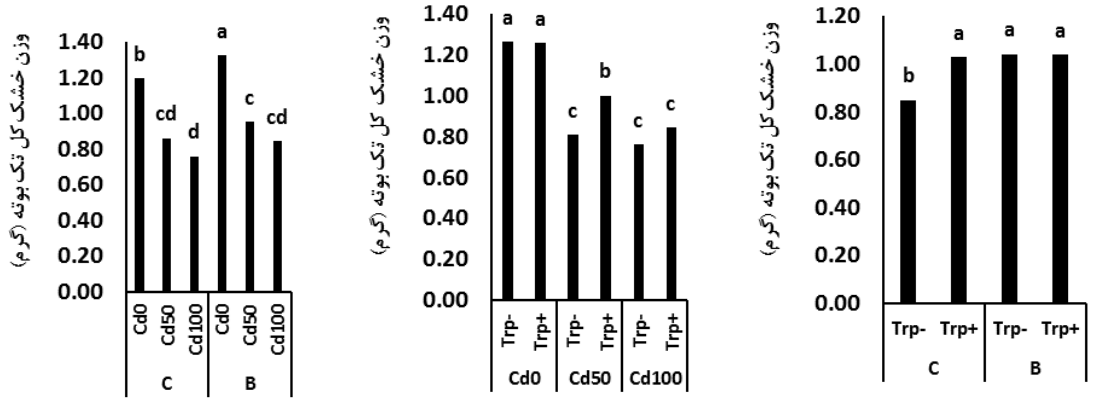
برای تعیین محتوی پراکسید هیدروژن، از روش سرگیو و همکاران (1997) با اندکی تغییر استفاده شد. 0/2گرم از بافت تازه برگی با 3 میلی‌لیتر تری کلرو استیک اسید 0/1 درصد در هاون چینی سابیده شده و عصاره ی حاصل در 12000 دور، به مدت 15 دقیقه سانتریفیوژ شد . 0/5 میلی‌لیتر از مایع رویی برداشت شده و به 0/5 میلی-لیتر بافر فسفات 0/2 مولار و 1 میلی‌لیتر یدید پتاسیم 1 مولار اضافه گردید. جذب آن در طول موج 390 نانومتر توسط اسپکتروفتومتر قرائت شد و در نهایت میزان پراکسید هیدروژن با لحاظ نمودن ضریب خاموشی Mm^{-1} 128 cm^{-1} به صورت نانومول بر گرم وزن تر بیان گردید.

اندازه گیری میزان مالون دی آلدهید (MDA) با روش هیس و پکر (1968) انجام شد. برای این منظور 0/1 گرم برگ تازه در هاون چینی حاوی 5 میلی‌لیتر تری کلرو استیک اسید 0/1 درصد سائیده شد. عصاره‌ی حاصل به مدت 10 دقیقه با دور 15000، سانتریفیوژ شد. 250 میکرولیتر از محلول رویی حاصل از سانتریفیوژ با 750 میکرولیتر محلولی که حاوی تری کلرو استیک اسید20 درصد و تیوباربیتوریک اسید 0/5 درصد بود، مخلوط گردید. مخلوط حاصل 30 دقیقه در دمای 95 درجه‌ی سانتی‌گراد در حمام آبی قرار داده شد. سپس بلافاصله در یخ سرد شده و دوباره به مدت 10 دقیقه با دور 15000 سانتریفیوژ گردید. میزان جذب این محلول با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج 532 نانومتر، خوانده شد. جذب بقیه رنگیزه‌های غیر اختصاصی در 600 نانومتر تعیین و از مقدار حاصل کسر گردید. برای محاسبه میزان مالون دی آلدئید، از ضریب خاموشی معادل Mm^{-1} 155 Cm^{-1} استفاده شد.

نتایج و بحث

عملکرد ماده خشک چاودار

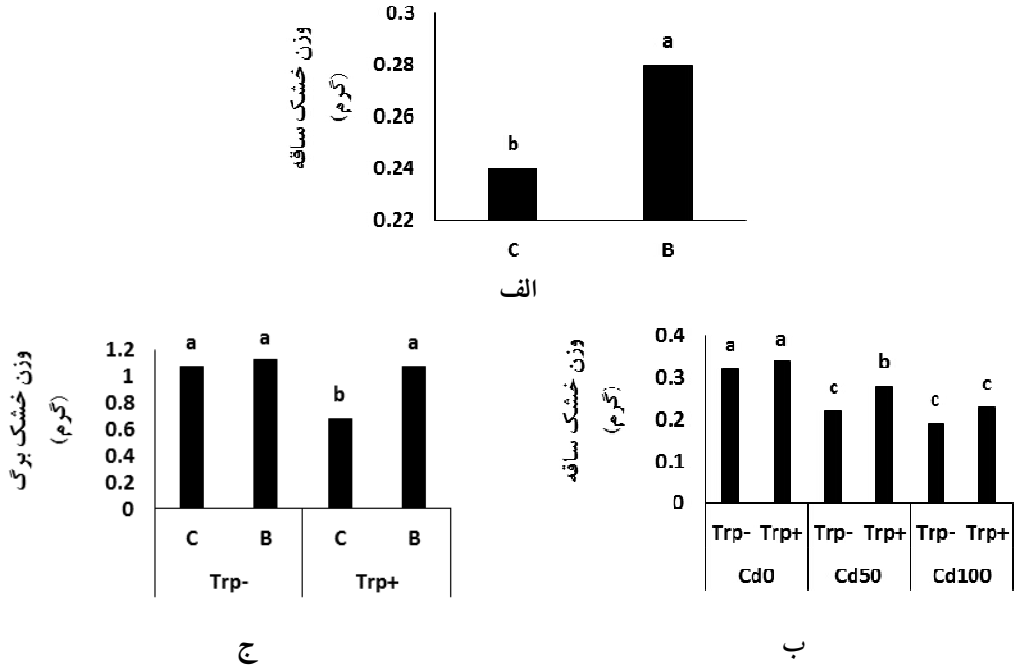
نتایج تجزیه واریانس داده‌های آزمایشی نشان داد که اثر متقابل تریپتوفان×کادمیوم، مایه‌زنی باکتریایی×کادمیوم و مایه‌زنی باکتریایی×تریپتوفان بر وزن خشک کل تک بوته چاودار در گلدان معنی‌دار بود (جدول 2). بر اساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها کاربرد تریپتوفان چه همراه با مایه‌زنی باکتریایی چه بدون آن توانست باعث افزایش 18 درصدی عملکرد ماده خشک چاودار در مقایسه با تیمار شاهد گردند (شکل 1-الف). در مقایسه با شاهد در هر غلظت از کادمیوم، افزودن تریپتوفان در غلظت‌های صفر و 100 میلی‌گرم کادمیوم بر لیتر بر این صفت بی‌تاثیر ولی در غلظت 50 میلی‌گرم کادمیوم بر لیتر باعث افزایش 19 درصدی گردید (شکل 1-ب). مایه‌زنی باکتریایی در غلظت صفر میلی‌گرم کادمیوم بر لیتر باعث افزایش 10 درصدی ماده خشک چاودار گردید در حالی که در سایر غلظت‌ها تأثیری بر ماده خشک چاودار نداشت (شکل 1-ج).



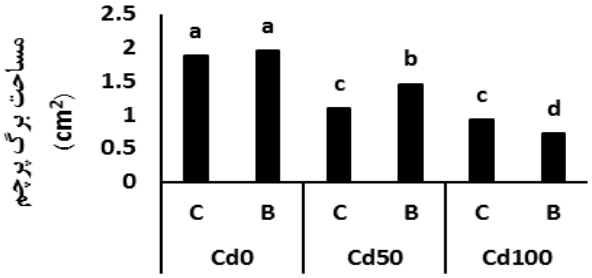
الف ب ج

شکل 1- مقایسه میانگین اثرات متقابل کادمیوم×تریپتوفان (الف)، مایه‌زنی باکتریایی×تریپتوفان (ب) و مایه‌زنی باکتری× کادمیوم (ج) بر عملکرد ماده خشک چاودار. Cd0،Cd50 و Cd100 به‌ترتیب بیانگر غلظت‌های صفر،50 و 100 میلی‌گرم کادمیوم در لیتر ، (Trp0) و (Trp+) به‌ترتیب بیانگر غلظت صفر و 100 میلی‌گرم تریپتوفان در لیتر ، C تیمار بدون مایه‌زنی باکتریایی و B باکتری (*Bacillus atrophaeus* 54-1) می‌باشد. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف آماری معنادار در سطح احتمال 5 درصد بر اساس آزمون دانکن هستند.

تفکیک ماده خشک به عملکرد ساقه و برگ نشان داد که تأثیر مایه‌زنی باکتریایی و اثر متقابل کادمیوم×تریپتوفان بر عملکرد ماده خشک ساقه و اثر مایه-زنی باکتریایی و اثر متقابل تریپتوفان×باکتری بر عملکرد ماده خشک برگ معنی‌دار گردید (جدول 2). بر اساس نتایج مقایسه میانگین مایه‌زنی باکتریایی موجب افزایش 15 درصدی وزن خشک ساقه (شکل 2-ب) و موجب افزایش 19 درصدی وزن خشک برگ (شکل 2-ج) در مقایسه با تیمار شاهد بدون مایه‌زنی گردید. کاربرد تریپتوفان به تنهایی باعث افت 59 درصدی وزن خشک برگ چاودار گردیده ولی در تلفیق با مایه‌زنی باکتریایی این تأثیر منفی از بین رفت (شکل 2- ج). همچنین، کاربرد تریپتوفان در غلظت صفر و 100 میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم بر وزن خشک ساقه بی تأثیر بوده ولی در غلظت 50 کادمیوم توانست 22 درصد آن را افزایش دهد (شکل 2- ب). نتایج تجزیه واریانس نشان داد که سطح برگ بطور معنی‌داری تحت تأثیر کادمیوم و اثر متقابل باکتری×کادمیوم در سطح احتمال یک درصد قرار گرفت (جدول 2). تنش کادمیوم سبب کاهش سطح برگ نسبت به شاهد گردید. در کادمیوم 50 و 100 میلی‌گرم در لیتر تلقیح با باکتری محرک رشد به ترتیب سبب افزایش 33 درصدی و کاهش 23 درصدی سطح برگ نسبت به عدم تلقیح گردید (شکل 3). تلقیح باکتریایی در شرایط 50 میلی‌گرم کادمیوم بر لیتر تأثیر مثبت و در شرایط 100 میلی‌گرم کادمیوم بر لیتر تأثیر منفی بر این صفت ایجاد کرد.



شکل 2 - تأثیر مایه‌زنی باکتری بر میانگین وزن خشک ساقه (الف)، اثر متقابل کادمیوم ×تریپتوفان بر میانگین وزن خشک ساقه (ب) و اثر متقابل تریپتوفان×مایه‌زنی باکتریایی بر میانگین وزن خشک برگ (ج). Cd50،Cd0 و Cd100 به‌ترتیب بیانگر غلظت-های صفر،50 و 100 میلی‌گرم کادمیوم در لیتر ، (Trp0) و (+Trp) به‌ترتیب بیانگر غلظت صفر و 100 میلی‌گرم تریپتوفان در لیتر ، C تیمار بدون مایه‌زنی باکتریایی و B باکتری (*Bacillus atrophaeus* 54-1) می‌باشد. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف آماری معنادار در سطح احتمال 5 درصد بر اساس آزمون دانکن هستند.



شکل 3- مقایسه میانگین تأثیر مایه‌زنی باکتریایی بر مساحت برگ پرچم در سطوح مختلف کادمیوم، C تیمار بدون مایه‌زنی باکتریایی و B باکتری (*Bacillus atrophaeus 54-1*) و Cd50،Cd0 و Cd100 به‌ترتیب بیانگر غلظت‌های صفر،50 و 100 میلی‌گرم کادمیوم در لیتر. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف آماری معنادار در سطح احتمال 5 درصد بر اساس آزمون دانکن هستند.

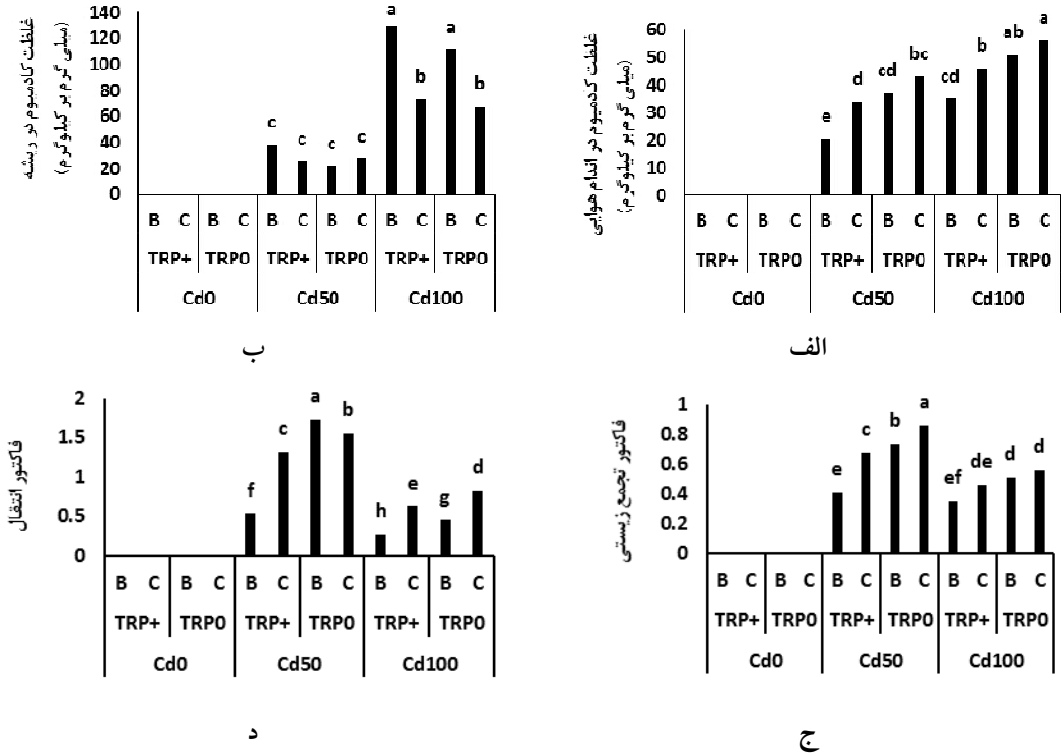
بتول و همکاران (2020) گزارش کردند که مایه‌زنی گیاه نوعی گیاه دارویی بنام سانتا[1] کاهش سطح برگ ناشی از تنش را تعدیل نموده و مانع از افت شدید آن در مقـایسه بـا شـاهد بدون مایه‌زنی بود. افزایش سطح برگ به معنی افزایش توان فتوسنتزی و ترغیب بیشتر تولید و توزیع آسیمیلات‌ها می‌باشد و به نظر می‌رسد که افزایش وزن خشک برگ‌ها (شکل 2- ب) در اثر افزایش سطح برگ کلی گیاه می‌باشد. کاربرد تریپتوفان چه به

[1] Santae

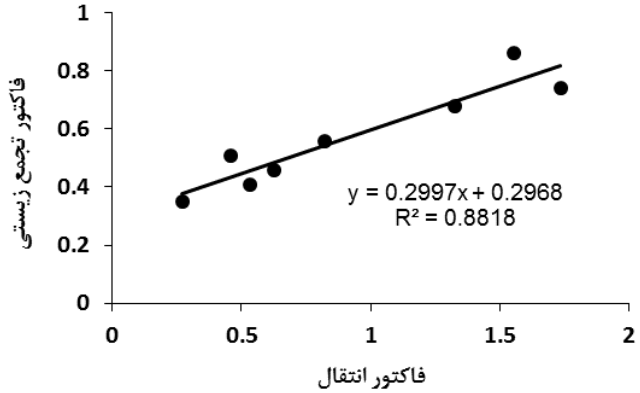
تنهایی و چه کاربرد تلفیقی آن با باکتری تأثیری بر این صفت نداشت.

غلظت کادمیوم در ساقه و ریشه چاودار و فاکتور انتقال کادمیوم از ریشه به اندام هوایی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تأثیر تیمارهای آزمایشی بر غلظت کادمیوم در ریشه و ساقه معنی‌دار بودند (جدول 2). بر اساس نتایج مقایسات میانگین (شکل 4) با توجه شرایط آزمایش و استفاده از مواد خالص، غلظت این عنصر در شاهد، صفر بوده و کادمیوم در ریشه و اندام هوایی مشاهده نشد. در تیمار 50 میلی‌گرم کادمیوم بر لیتر غلظت عنصر یاد شده در ریشه در همه تیمارهای آزمایشی یکسان بود. با این‌حال کمترین غلظت کادمیوم در سطح مذکور در تیمار باکتری به‌همراه تریپتوفان بود. در غلظت 100 میلی‌گرم کادمیوم بر لیتر بیشترین میزان کادمیوم در ریشه در تیمارهای باکتریایی مشاهده گردید که بیشترین آن در حضور تریپتوفان مشاهده شد. نظیر آنچه که در سطح 50 میلی‌گرم کادمیوم بر لیتر در اندام هوایی چاودار مشاهده شد، کمترین میزان کادمیوم باز متعلق به تیمار باکتری در حضور تریپتوفان اتفاق افتاد.



شکل 4- تأثیر مایه‌زنی باکتریایی و کاربرد تریپتوفان در غلظت‌های مختلف کادمیوم بر تجمع آن در ریشه (الف)، اندام هوایی چاودار (ب)، فاکتور تجمع زیستی (ج) و فاکتور انتقال (د). Cd0، Cd50 و Cd100 به‌ترتیب بیانگر غلظت‌های صفر، 50 و 100 میلی‌گرم کادمیوم در لیتر ، (Trp0) و (+Trp) به‌ترتیب بیانگر غلظت صفر و 100 میلی‌گرم تریپتوفان در لیتر، C تیمار بدون مایه‌زنی باکتریایی و B باکتری (*Bacillus atrophaeus* 54-1) می‌باشد. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف آماری معنادار در سطح احتمال 5 درصد بر اساس آزمون دانکن هستند.



شکل 5- رابطه رگرسیونی بین فاکتور انتقال (TF) و فاکتور تجمع زیستی (BF) کادمیوم در گیاه چاودار

نتایج تجزیه واریانس داده‌های آزمایشی نشان داد که فاکتور انتقال کادمیوم از ریشه به اندام هوایی بطور معنی‌داری تحت تأثیر مایه‌زنی باکتری و غلظت کادمیوم قرار گرفت (جدول 2). با توجه به شکل 4، مایه‌زنی باکتریایی سبب کاهش 17/2 درصدی فاکتور انتقال کادمیوم از ریشه به اندام‌هوایی چاودار گردید. همچنین، فاکتور انتقال کادمیوم از ریشه به اندام هوایی، در غلظت 50 میلی‌گرم کادمیوم در لیتر بالاتر از غلظت 100 میلی‌گرم در لیتر این فلز سنگین بود. با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول 2) اثرات متقابل کادمیوم × تریپتوفان × باکتری بر این ویژگی معنی‌دار شد. مقایسه میانگین تیمارهای آزمایشی نشان داد که کاربرد تریپتوفان و مایه‌زنی باکتریایی هر دو می‌توانند باعث کاهش این فاکتور گردند. بعلاوه، کاربرد تلفیقی این دو تیمار نتیجه مطلوب‌تری داشت (شکل 4). رابطه بین فاکتور انتقال و تجمع زیستی مستقیم و از نوع خطی با ضریب تبیین بالا 0/88 بود. بطوریکه با کاهش فاکتور انتقال، غلظت فلز در اندام هوایی کاهش پیدا کرد (شکل 5).

وانگ و همکاران (2018) کاهش 12 تا 32 درصدی کادمیوم در اندام‌هوایی گندم و همچنین کاهش 15 تا 28 درصدی کاهش دسترسی کادمیوم در خاک ریزوسفری را توسط تلقیح باکتری‌های *رالستونیا یوتروفا*[1] و *اگزیگوباکتریوم آرانتیاگوم*[2] گزارش کرده‌اند. جان و همکاران (2019) برای کاهش تجمع کادمیوم در برنج از باکتری‌های *اگزیکوباکتریوم اندیاکوم*[3] و *انتروباکتر لادویگی*[4] استفاده کردند. احمد و کیبرت (2019) گزارش کرده است که از *ریزوبیوم*، *بردی‌ریزوبیوم*، *سودوموناس* و *استنروفوتوموناس*[5] می‌توان در کاهش تجمع فلز در گیاهان استفاده کرد. نتایج نیز نشان دادند که در سطح کادمیوم 50 میلی‌گرم در لیتر تیمارهای تلقیح باکتریایی، تریپتوفان، باکتری به‌همراه تریپتوفان به‌ترتیب تجمع کادمیوم در چاودار را 14 ، 21 و 53 درصد کاهش می‌دهند. این مقادیر در تیمار 100 میلی‌گرم کادمیوم در لیتر به‌ترتیب برابر بود با 9، 18 و 37 درصد. فاروق و همکاران (2015) اظهار داشتند که افزودن سطوح مختلف تریپتوفان، به محیط اطراف ریشه بوته‌های برنج سبب رشد بهتر و تولید بیشتر این گیاه در خاک‌های آلوده به کادمیوم شده و باعث افزایش رشد گیاه و عملکرد تحت تنش کادمیوم همراه با کاهش انتقال عنصر به بخش هوایی شده است. تریپتوفان پیش‌ماده ساخت اکسین در گیاهان و باکتری‌های موجود در ریزوسفر آنها است (دال کورسو و همکاران، 2019). بنابراین به نظر می‌رسد، بهبود اثرات فیزیولوژیکی متاثر از اکسین که در بخش مقدمه ذکر گردیده است، در این امر دخیل است. علاوه‌بر این، صرف‌نظر از سایر مکانیسم‌های احتمالی مقاومت به فلزات سنگین در باکتری‌ها، طبق نتایج کریمی و همکاران (1398) باکتری *باسیلوس آتروفائوس* 1-54 یک باکتری بیوفیلمی بوده و قادر به تولید بیوفیلم در ریزوسفر گیاهان حین فرآیند کلنیزاسیون ریشه گیاه می‌باشد. لذا، می‌تواند فلز را در سطح ریشه جمع نموده و مانع ورود آن به داخل گیاه گردد که بیانگر توجیه کادمیوم زیاد ریشه در مقایسه با شرایط کنترلی این آزمایش باشد (1/8 برابر).

[1] *Ralstonia eutropha* Q2-8
[2] *Exiguobacterium aurantiacum* Q3-11
[3] *Exiguobacterium indicum* SA22
[4] *Enterobacter ludwigii* SAK5
[5] *Stenropothomonas acidaminiphila*

جدول 2- تجزیه واریانس اثر تیمارهای (کادمیوم، باکتری، تریپتوفان و اثرات متقابل آنها) بر عملکرد و صفات فیزیولوژیکی چاودار

منابع تغییرات	درجه-آزادی	میانگین مربعات					
		وزن خشک کل اندام هوایی	وزن خشک ساقه	وزن خشک برگ	مساحت برگ پرچم	غلظت کادمیوم در ریشه	غلظت کادمیوم در اندام هوایی
باکتری	1	0.124**	0.011**	0.062**	0.075^{ns}	281**	56.4^{ns}
تریپتوفان	1	0.095**	0.008*	0.049**	0.129*	808**	276*
کادمیوم	2	0.925**	0.057**	0.525**	4.73**	11697**	8758**
تریپتوفان×باکتری	1	0.097**	0.004^{ns}	0.063**	0.003^{ns}	18.0^{ns}	38.9^{ns}
کادمیوم × باکتری	2	0.002**	0.001^{ns}	0.004^{ns}	0.319**	134**	208*
تریپتوفان×کادمیوم	2	0.039**	0.006**	0.015^{ns}	0.028^{ns}	822**	237**
کادمیوم×تریپتوفان × باکتری	2	0.018^{ns}	0.001^{ns}	0.012^{ns}	0.014^{ns}	42.5*	102^{ns}
باقیمانده	36	0.007	0.001	0.005	0.021	12.2	40.0
ضریب تغییرات (%)		14.7	12.4	9.69	11.08	13.57	23.93

**معنی‌داری در سطح آماری یک درصد، * معنی‌داری در سطح آماری پنج درصد و ^{ns} از لحاظ آماری غیر معنی‌دار

ادامه جدول 2 -

منابع تغییرات	درجه‌آزادی	میانگین مربعات					
		فاکتور انتقال از ریشه به اندام هوایی	فاکتور تجمع زیستی	مالون‌دی-آلدئید	پراکسید هیدروژن	آنزیم کاتالاز	آنزیم گایاکول پراکسیداز
باکتری	1	0.26*	0.037*	1340**	0.014**	0.011**	0.03^{ns}
تریپتوفان	1	0.013^{ns}	0.03*	512**	0.006**	0.0007^{ns}	0.23^{ns}
کادمیوم	2	9.74**	2.00**	4764**	0.011**	0.046**	6.85**
تریپتوفان×باکتری	1	0.001^{ns}	0.022^{ns}	64.4**	0.001^{ns}	0.001^{ns}	45.5**
کادمیوم × باکتری	2	0.102^{ns}	0.067**	332^{ns}	0.014**	0.002^{ns}	0.98^{ns}
تریپتوفان×کادمیوم	2	0.023^{ns}	0.022*	543**	0.003**	0.001^{ns}	8.55*
کادمیوم×تریپتوفان × باکتری	2	0.009^{ns}	0.034*	51.0^{ns}	0.0002^{ns}	0.0003^{ns}	3.99^{ns}
باقیمانده	36	0.042	0.006	42.4	0.0003	0.001	2.01
ضریب تغییرات (%)		25.79	21.4	17.6	16.67	12.7	20.18

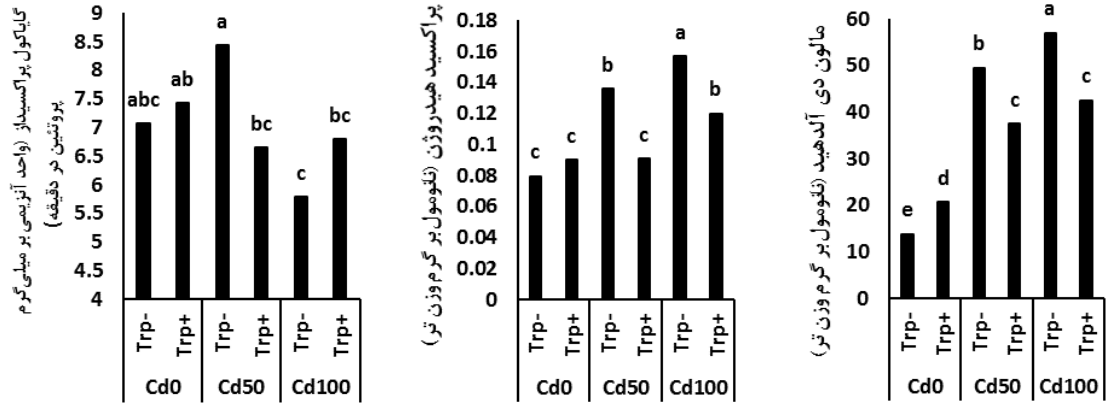
شاخص‌های تنش اکسیداتیو

با توجه به جدول تجزیه واریانس اثر متقابل تریپتوفان×کادمیوم بر غلظت مالون دی‌آلدئید، میزان پراکسید هیدروژن و آنزیم گایاکول پراکسیداز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول 2). همچنین اثر متقابل باکتری×کادمیوم در سطح احتمال یک درصد بر غلظت مالون دی‌آلدئید و میزان پراکسید هیدروژن و اثر متقابل تریپتوفان× مایه‌زنی باکتریایی بر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار گردیدند (جدول 2). فعالیت کاتالاز فقط تحت تأثیر باکتری و کادمیوم در سطح احتمال یک درصد قرار گرفت و هیچ یک از اثرات متقابل در این تیمار معنی‌دار نبود (جدول 2). بر اساس مقایسات میانگین، کاربرد تریپتوفان در شرایط بدون کادمیوم باعث افزایش 44 درصدی مالون دی‌آلدئید (شکل 6-الف)، افزایش 14

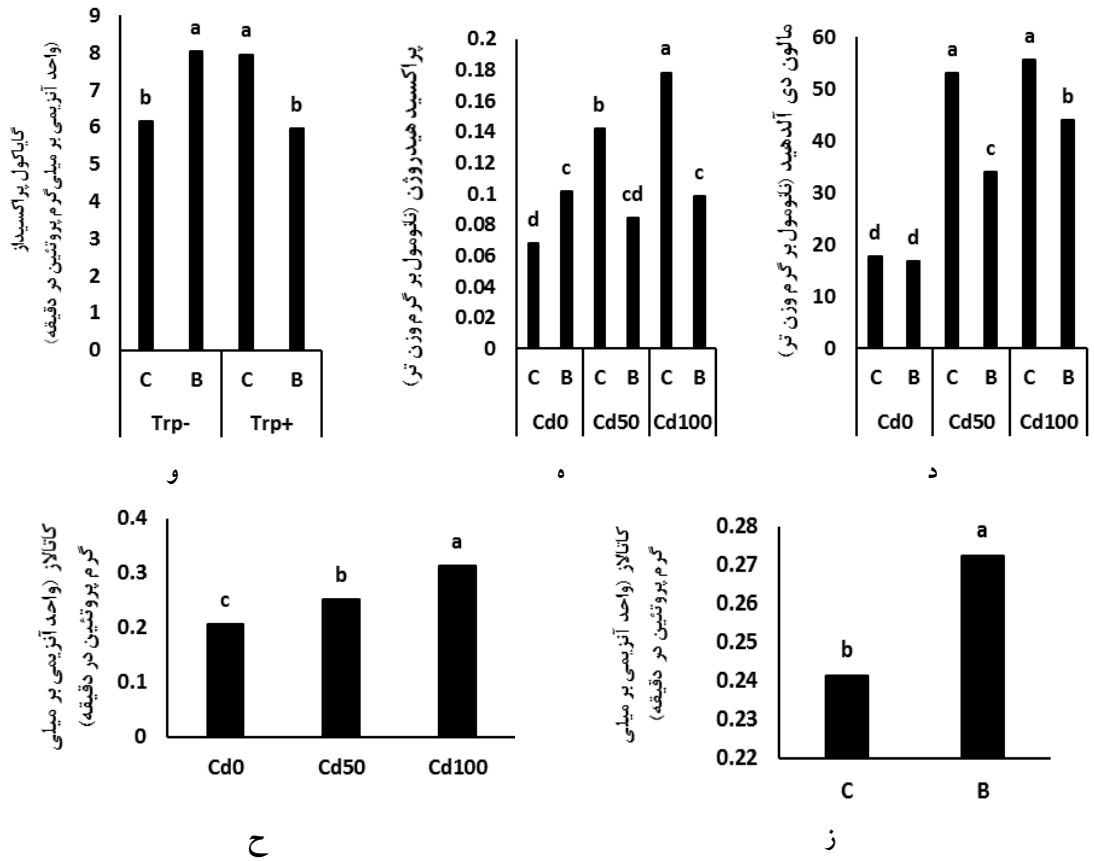
درصدی میزان پراکسید هیدروژن (شکل 6-ب) و افزایش 5 درصدی فعالیت گایاکول پراکسیداز (شکل 6-ج) و مایه‌زنی باکتریایی باعث کاهش 5 درصدی میزان مالون دی‌آلدئید و افزایش 67 درصدی پراکسید هیدروژن شد. در غلظت 50 میلی‌گرم کادمیوم بر لیتر کاربرد تریپتوفان باعث کاهش 30 درصدی مالون دی‌آلدئید، کاهش 42 درصدی میزان پراکسید هیدروژن و کاهش 26 درصدی فعالیت گایاکول پراکسیداز و مایه‌زنی باکتریایی باعث کاهش 55 درصدی میزان مالون دی‌آلدئید، کاهش 75 درصدی پراکسید هیدروژن گردیدند. کاربرد تریپتوفان در غلظت 100 میلی‌گرم کادمیوم بر لیتر باعث کاهش 34 درصدی میزان مالون دی‌آلدئید، کاهش 32 درصدی پراکسید هیدروژن و افزایش 15 درصدی فعالیت گایاکول پراکسیداز و مایه‌زنی باکتریایی این صفات به‌ترتیب ذکر شده گردید. در شرایط بدون کادمیوم و در غلظت‌های 50 و 100 میلی‌گرم کادمیوم بر لیتر باعث کاهش 28 درصدی میزان مالون دی‌آلدئید، کاهش 81 درصدی پراکسید هیدروژن گردید (شکل 6). در سطوح 50 و 100 کادمیوم در مقایسه با شرایط بدون کادمیوم فعالیت کاتالاز به طور متوسط به ترتیب 20 و 64 درصد افزایش داشت (شکل 7- ز) که مایه‌زنی باکتریایی توانست فعالیت کاتالاز را 12 درصد در همه شرایط افزایش دهد (شکل 6- و).

یکی از مهمترین دلایل سمیت کادمیوم در گیاهان تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن و ایجاد تنش اکسیداتیو است، افزایش تولید H_2O_2 و پیامد آن افزایش غلظت مالون‌دی‌آلدئید که به‌عنوان یک بیومارکر برای تعیین شدت وقوع تنش اکسیداتیو کاربرد دارد (چن و همکاران، 2007)، بیانگر وقوع این تنش در گیاه بوده و همانگونه که در شکل 6 (الف، ب، د و ه) نشان داده شده است، بروز چنین حالتی در خصوص چاودار قابل مشاهده است که در نهایت افت عملکرد چاودار را نیز در پی داشت (شکل 1).

گزارش شده که در این شرایط فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه از جمله گایاکول‌پراکسیداز و کاتالاز افزایش یافته (ژانگ و همکاران، 2010) و برخی از باکتری‌های مفید ریشه از جمله *سودوموناس‌ها* مقاومت در گیاه با بهبود این سازوکار مقاومت به تنش فلزات سنگین را افزایش داده و از غشاهای سلولی و آوندها محافظت می‌کنند (یان و همکاران، 2020). بر طبق نتایج این پژوهش، کاربرد تریپتوفان (شکل 6- ج) و همچنین مایه‌زنی باکتریایی (شکل 6- و) توانستند با افزایش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز نقش حمایتی داشته باشند و کاربرد تلفیقی در این خصوص مؤثرتر از اثرات یک جانبه آنها بود. علاوه‌بر این افزایش فعالیت کاتالاز نیز در اثر مایه‌زنی باکتریایی نیز در تیمارها مشاهده شد.



الف ب ج



شکل 6- تأثیر اثر متقابل تریپتوفان×کادمیوم بر میزان مالون دی‌آلدئید (الف)، میزان پراکسید هیدروژن (ب) و فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (ج). تأثیر اثر متقابل مایه‌زنی باکتریایی×کادمیوم بر میزان مالون‌دی‌آلدئید (د) و میزان پراکسید هیدروژن (ه). تأثیر اثر متقابل تریپتوفان× مایه‌زنی باکتریایی بر میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (و). تأثیر مایه‌زنی باکتریایی بر فعالیت آنزیم کاتالاز. (ز) و غلظت کادمیوم (ح) بر فعالیت آنزیم کاتالاز. Cd0،Cd50 و Cd100 به ترتیب بیانگر غلظت‌های صفر،50 و 100 میلی‌گرم کادمیوم در لیتر ، (Trp0) و (+Trp) به ترتیب بیانگر غلظت صفر و 100 میلی‌گرم تریپتوفان در لیتر ، C تیمار بدون مایه‌زنی باکتریایی و B باکتری (*Bacillus atrophaeus* 54-1) می‌باشد. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف آماری معنادار در سطح احتمال 5 درصد بر اساس آزمون دانکن هستند.

با اینحال مایه‌زنی باکتریایی در شرایط تنش کادمیوم تأثیری بر عملکرد ماده خشک چاودار نداشت (شکل 1-ج). دلیل این امر را می‌توان با تغلیظ کادمیوم در ریشه در اثر مایه‌زنی باکتریایی عنوان نمود که احتمالاً به اختلالات ناشی از حضور کادمیوم در ریشه برمی‌گردد (شکل 4). امانی‌فر و همکاران (2010) گزارش کردند که با افزایش غلظت سرب در خاک شاخص انتقال از ریشه به اندام هوایی کاهش یافت که منطبق با یافته این تحقیق است (شکل 4). کاهش رشد گیاهان در اثر افزایش غلظت کادمیوم و به تبعیت از آن کاهش میزان تبخیر و تعرق و کاهش میزان انتقال کادمیوم در آوندهای چوبی (رازا و همکاران، 2020) و همچنین کاهش فعالیت‌های متابولیکی ناشی از مسمومیت سلول‌های گیاهی و کاهش جذب فعال کادمیوم از محلول خاک به ریشه‌ها از دلایل احتمالی این امر می‌باشند. قابل ذکر است که هر چه غلظت کادمیوم موجود در خاک افزایش یافت، چه در حضور باکتری و چه در شرایط نبود باکتری، فاکتور انتقال کاهش یافته و گیاه چاودار تمایل به انباشت کادمیوم در ریشه‌های خود نشان داد که می‌تواند به‌عنوان نکته‌ای مهم در فرآیند گیاه تثبیتی[1] مورد توجه قرار گیرد. مایه‌زنی باکتری به‌همراه

[1] Phytostablization

کاربرد تلفیقی تریپتوفان این ویژگی را افزایش داد. به نظر می‌رسد توان ایجاد بیوفیلم توسط باکتری و بهبود ویژگی-های ریشه با کاربرد تریپتوفان، در این امر دخیل باشند. علاوه‌بر این موارد باکتری *باسیلوس آتروفائوس* 1-54 قادر به کاهش غلظت اتیلن گیاه از طریق فعالیت آنزیم ACC- دآمیناز و دآمیناسیون اسید 1-آمینو سیکلو پروپان -کربوکسیلیک بوده و مانع تولید اتیلن تنشی می‌گردد (جدول 1). کادمیوم القا کننده تولید اتیلن در گیاه می‌باشد که از دیگر عوامل کاهش دهنده تولید اکسین در گیاه به-شمار می‌آید (راجکومار و همکاران، 2013).

نتیجه‌گیری کلی

تیمارهای مورد بررسی اگر چه نتوانستند تاثیر چشمگیری بر رشد و عملکرد چاودار در شرایط تنش کادمیوم داشته باشند ولی تأثیر آنها بر نقل و انتقال این فلز به طور چشمگیری مشهود بود. با توجه به شاخص‌های انتقال و تجمع زیستی کادمیوم، کاربرد تلفیقی باکتری *باسیلوس آتروفائوس* 1-54 به‌همراه تریپتوفان جهت جلوگیری از انتقال کادمیوم به بخش-های هوایی چاودار توصیه می‌گردد. به بیان دیگر گیاه چاودار به‌همراه عوامل تیمار برتر این مطالعه می‌توانند به‌عنوان گیاه تثبیتی فلز کادمیوم در خاک‌های آلوده به این عنصر مد نظر قرار گیرد.

فهرست منابع:

1. کریمی، ا. علی‌اصغرزاد، ن. نیشابوری م.ر و اسفندیاری. 1398. جداسازی، شناسایی مولکولی و ارزیابی ویژگی‌های محرک رشدی باکتریهای تشکیل دهنده بیوفیلم از ریزوسفر گیاهان غیرزراعی در شمالغرب ایران. مجله تحقیقات کاربردی خاک7(2): 14-28

2. Abedi, T. and Mojiri, A. 2020. Cadmium Uptake by Wheat (*Triticum aestivum* L.): An Overview. Plants 9: 1-14.
3. Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. Methods in Enzymology 105: 121-126.
4. Ahemad, M. and Kibret, M. 2014. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. Journal of King Saud University Science 26:1–20.
5. Amanifar, S. Aliasgharzad, N. Najafi, N. Oustan, S.H.and Bolandnazar, S. 2012. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on lead phytoremediation by sorghum (*Sorghum bicolor* L). Water and Soil Science 22(1): 155-170.
6. Batool, T. Ali, S. Seleiman, M.F. Huma, N.N. and Ali, A. 2020. Plant growth promoting rhizobacteria alleviates drought stress in potato in response to suppressive oxidative stress and antioxidant enzymes activities. Scientific Reports 10: 16975.
7. Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical biochemistry 72(1-2): 248-254.
8. Chen, J. Zhu, C. Lin, D. and Sun, Z.X. 2007. The effects of Cd on lipid peroxidation, hydrogen peroxide content and antioxidant enzyme activities in Cd-sensitive mutant rice seedlings. Canadian Journal of Plant Science 87(1) 49-57.
9. DalCorso, G. Fasani, E. Manara, A. Visioli, G. and Furini, A. 2019. Heavy metal pollutions: state of the art and innovation in phytoremediation. International Journal of Molecular Science 20:3412.
10. Desouza, R. Ambrosini, A. and Passaglia, L.M.P. 2015. Growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. Genetics and Molecular Biology 38(4):S1415.
11. Etesami, H. Alikhani, H.A. Akbari, A.A. 2009. Evaluation of plant growth hormones production (IAA) ability by Iranian soils rhizobial strains and effects of superior strains application on wheat growth indexes. World Applied Science Journal 6(11): 1576-1584.

12. Farooq, H. Asghar, H.N. Khan, M.Y. Saleem, M. and Zahir, Z.A. 2015. Auxin-mediated growth of rice in cadmium-contaminated soil. Turkish Journal of Agriculture and Foresty 39:272-276.
13. Ghoochani, M. Rastkari, N. Yunesian, M. Nabizadeh, R. Mesdaghinia. A. Houshiarrad, A. Shamsipour, M. and Dehghani, M.H. 2018. What do we know about exposure of Iranians to cadmium? Findings from a systematic review. Environmental Science and Pollution Research 25, 1–11.
14. Heath, R. L. and Packer, L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. Archives of Biochemistry and Biophysics 125: 189-198.
15. Jan, R. Khan, M.A. Asaf, S. Lubna, N. Lee, I.J. and Kim, K.M. 2019. Metal Resistant Endophytic Bacteria Reduces Cadmium, Nickel Toxicity, and Enhances Expression of Metal Stress Related Genes with Improved Growth of *Oryza Sativa*, via Regulating Its Antioxidant Machinery and Endogenous Hormones. Plant 8: 363.
16. Khanna, K. Jamwal, V.L. Gandhi, S.G. Ohri, P. and Bhardwaj, R. 2019. Metal resistant PGPR lowered Cd uptake and expression of metal transporter genes with improved growth and photosynthetic pigments in *Lycopersicon esculentum* under metal toxicity Scientific Reports 9: 5855.
17. Lakzian, A. Berenji A.R. Karimi E. and Razavi, S. 2008. Adsorption Capability of Lead, Nickel and Zinc by Exopolysaccharide and Dried Cell of *Ensifer meliloti*. Asian Journal of Chemistry 20(8): 6075-6080
18. Liphadzi, M.S. Kirkham, M.B. and Paulsen, G.M. 2006. Auxin-enhanced root growth for phytoremediation of sewage-sludge amended soil. Environmental Technology 27:695-704.
19. Moe, L.A. 2013. Amino acids in the rhizosphere: From plants to microbes. American Journal of Botany 100: 1692–1705.
20. Mustafa, A, Imran, M. Ashraf, M. and Mahmood, K. 2018. Perspectives of using L-tryptophan for improving productivity of agricultural crops: A review. Pedosphere 28(1): 16–34.
21. Ostonen, U. Tsepp, P.U. and Biel, C. 2007. Specific root length as an indicator of environmental change. Plant Biosystems 141 (3): 426-442.
22. Rajkumar, M. Ma, Y. and Freitas, H. 2013. Improvement of Ni phytostabilization by inoculation of Ni resistant *Bacillus megaterium* SR28C. Journal Environmental Management 128: 973–980.
23. Raza, A. Habib, M. Kakavand, S.N. Zahid, Z. Zahra, N. Sharif, R. Hasanuzzaman, M. 2020. Phytoremediation of Cadmium: Physiological, Biochemical, and Molecular Mechanisms. Biology 9(7):177.
24. Rehman, M.Z.U. Zafar, M. Waris, A.A. Rizwan, M. Ali, S. Sabir, M. Usman, M. Ayub, M.A., Ahmad, Z. 2020. Residual effects of frequently available organic amendments on cadmium bioavailability and accumulation in wheat. Chemosphere 244:125548.
25. Sairam, R., Veerabhadra K. R. and Srivastava, G.C. 2002. Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. Plant Science 163: 1037-1046.
26. Sella, S.R., Vandenberghe, L.P. and Soccol, C.R. 2015. *Bacillus atrophaeus*: Main characteristics and biotechnological applications—A review. Critical Reviews in Biotechnology 35: 533–545.
27. Sergiev, I. Alexieva, V. and Karanov, E. 1997. Effect of spermine, atrazine and combination between them on some endogenous protective systems and stress markers in plants. Comptes Rendus Academic Bulgare Science 51: 121-124.
28. Srivastava, S. Chiappetta, A. and Beatrice, M. 2013. Identification and profiling of arsenic stress-induced miRNAs in Brassica juncea. Journal of Experimental Botany 64:303-315.

29. Stoodley, P. Sauer, K. Davies, D.G. and Costerton, J.W. 2002. Biofilms as complex differentiated communities. Annual Reviews of Microbiology 56:187–209.
30. Tang, W. and Newton, R.J. 2005. Polyamines reduce salt-induced oxidative damage by increasing the activities of antioxidant enzymes and decreasing lipid peroxidation in Virginia pine. Plant Growth Regulation 46(2): 31-43.
31. Verbruggen, N. Hermans, C. and Schat, H. 2009. Mechanisms to cope with arsenic or cadmium excess in plants. Current Opinion in Plant Biology 12(3):364-72.
32. Yan, A., Wang, Y., Swee N.T. Lokman, M.Y.M. Ghosh, S. and Chen1, Z. 2020. Phytoremediation: A Promising Approach for Revegetation of Heavy Metal-Polluted Land. Frontier in Plant Science
33. Younesi, O. and Moradi, A. 2014. Effects of plant growth-promoting rhizobacterium (PGPR) and arbuscular mycorrhizal fungus (AMF) on antioxidant enzyme activities in salt-stressed bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Agriculture 60(1): 10-21.
34. Zhang, H.H. Tang, M. Chen, H. Zheng, C.L. and Niu, Z.C. 2010. Effect of inoculation with AM fungi on lead uptake, translocation and stress alleviation of *Zea mays* L. seedlings planting in soil with increasing lead concentrations. European Journal of Soil Biology 46(5): 306-311.

Effect of biofilm-forming plant growth promoting bacterium and tryptophan on yield and Cadmium uptake in Rye (*Secale cereale*)

E. Karimi[1], Sh. Mohammadi, and E. Esfandyari

Assistant Professor, Dept. of Soil Science, Faculty of Agriculture, University of Maragheh;
E-mail: sm_ka80@yahoo.com
MSc Student, Dept. of Soil Science, Faculty of Agriculture, University of Maragheh;
E-mail: mohammadi.ms@yahoo.com
Professor, Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Maragheh;
E-mail: esfand1977@yahoo.com

Received: May, 2021 & Accepted: February, 2022

Abstract

Due to the inevitable entry of cadmium into the soils and its high toxicity, it is essential to prevent it from human food chains. Biofilm-forming plant growth-promoting bacteria with the ability of auxin production can prevent the transport of some heavy metals to plants. A hydroponic factorial experiment was designed based on a randomized complete block in three replications to investigate the effect of biofilm-forming plant growth-promoting bacterium and tryptophan on yield and cadmium uptake in Rye. Experimental factors include three levels of cadmium (zero, 50 and, 100 $mg.L^{-1}$), two bacterial inoculation (with or without *Bacillus atrophaeus*) and, tryptophan (presence in 100 mgL^{-1} and absence). The results showed that the addition of tryptophan and bacterial inoculation could increase the yield of rye dry matter by 19% on average vs control. In addition, the co-applying of tryptophan with bacterial inoculation was able to reduce 100% and 62% of the cadmium concentration in rye aerial parts at 50 and 100 $mg.L^{-1}$, respectively. The use of tryptophan by the improvement of the antioxidant system was able to reduce the amount of malondialdehyde and hydrogen peroxide at 50 $mg.L^{-1}$ cadmium level up to 30 and 42%, and for 100 $mg.L^{-1}$ cadmium by 34 and 32%, respectively. Therefore, it seems that with further studies, these treatments can be used to increase the yield and reduce the Cd entry into the food chain in the Cd-contaminated soils.

Keywords: Bioconcentration factor, Catalase, Guaiacol peroxidase, Transfer factor.

[1]. Corresponding author: Soil Science Department, Faculty of Agricultural, University of Maragheh.