نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی
جلد بیست و هشتم، شماره اول، ۱۴۰۰
۱۵۳-۱۶۸
http://jopp.gau.ac.ir
DOI: 10.22069/jopp.2021.17594.2624

اثر باکتری‌های محرک رشد، اسید سالیسیلیک و براسینواستروئید بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی خردل سیاه تحت تنش کادمیوم

*علی برقی[۱]، عبدالقیوم قلی‌پوری[۲]، اکبر قویدل[۳] و محمد صدقی[۴]

[۱]دانشجوی دکتری اکولوژی گیاهان زراعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران،
[۲]دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران،
[۳]استادیار گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران،
[۴]استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۰۶؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۱/۲۳

چکیده

سابقه و هدف: آلودگی کادمیوم به‌دلیل جذب توسط گیاهان و ممانعت از رشد مناسب گیاه موجب کاهش کیفیت و کمیت محصولات زراعی شده است. گیاهان تیره شب بو از جمله خردل سیاه در شرایط آلودگی فلزات سنگین قدرت رشد بالایی دارند. برخی باکتری‌ها به تحرک فلزات سنگین در خاک کمک می‌کنند. تنظیم‌کننده‌های رشد نیز در القای واکنش گیاهان به بسیاری از تنش‌های غیرزنده مانند فلزات سنگین نقش مهمی دارد. هدف از این آزمایش بررسی اثر باکتری‌های محرک رشد، اسید سالیسیلیک و براسینواستروئید بر کاهش اثرات تنش کادمیوم در خردل سیاه می‌باشد.

مواد و روش‌ها: آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه محقق اردبیلی اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل دو سطح کادمیوم (۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک)، سه سطح باکتری (شاهد، آزوسپریلوم و سودوموناس) و سه سطح تنظیم‌کننده‌های رشد (شاهد، اسید سالیسیلیک و براسینواستروئید) بودند. بذرها قبل از کاشت با باکتری‌های مورد نظر تلقیح و تنظیم‌کننده‌های رشدی در دو مرحله طی دوره رشد، روی گیاه محلول‌پاشی گردیدند. پس از برداشت مقادیر مالون دی آلدئید، پرولین، قندهای محلول، رنگدانه‌های فتوسنتزی، شاخص پایداری غشا و متابولیت‌های ثانویه اندازه‌گیری شدند.

یافته‌ها: نتایج مقایسه میانگین نشان داد که کاربرد کادمیوم، با اثراتی از جمله القای تنش اکسیداتیو، مقادیر مالون دی آلدئید، پرولین، قندهای محلول، فنل و فلاونوئید برگ را افزایش و مقادیر کلروفیل a و b، کاروتنوئید، پایداری غشای سلولی، محصول بوته و مقدار آنتوسیانین را کاهش داد. مقدارمالون دی آلدئید و پرولین تحت‌تأثیر کاربرد باکتری‌ها و تنظیم‌کننده‌های رشد به‌طور معنی‌داری کاهش و مقدار فنل، فلاونوئید و محصول بوته در هر دوسطح کادمیوم تحت‌تأثیر باکتری‌های محرک رشد افزایش یافت. این در حالی است که تنظیم‌کننده‌های رشد میزان کلروفیل a و b، قندهای محلول، پایداری غشای سلولی، فنل، فلاونوئید، آنتوسیانین و محصول بوته و هم‌چنین باکتری‌ها نیز میزان قندهای محلول، پایداری غشای سلولی و آنتوسیانین را به‌طور

* مسئول مکاتبه: a_barghi@uma.ac.ir

معنی‌داری افزایش دادند. بین براسینواستروئید و اسید سالیسیلیک از نظر تمام صفات مورد بررسی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت و از نظر صفاتی چون شاخص پایداری غشا و محصول بوته، تلقیح سودوموناس در مقایسه با آزوسپریلوم برتری معنی-داری را نشان داد.

نتیجه‌گیری: می‌توان نتیجه گرفت که تنش کادمیوم با القای تنش اکسیداتیو موجب تخریب غشای سلولی و افزایش مقدار مالون دی آلدئید گردیده و هم‌چنین به کاهش مقدار کلروفیل می‌انجامد که این موضوع با افزایش سنتز پرولین در شرایط تنش ارتباط دارد. در اثر تنش کادمیوم، فعالیت آنزیم‌های ساخت کربوهیدرات بیش‌تر شد و منجر به افزایش قندهای محلول و به‌دنبال آن افزایش مقدار متابولیت‌های ثانویه گردید. با کاربرد باکتری‌ها و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه، اثرات تنش اکسیداتیو کاهش یافته و به افزایش پایداری غشا و کاهش مقدار مالون دی آلدئید منجر گردید. هم‌چنین کاربرد این تیمارها موجب افزایش تولید کلروفیل و کاهش مقدار پرولین گردید. با افزایش مقدار کلروفیل در اثر این تیمارها مقدار تولید قندهای محلول نیز در گیاه افزایش یافت که نتیجه آن هم افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاه بود. با توجه به این نتایج، کاربرد تنظیم‌کننده‌ها و باکتری‌های محرک رشد برای کاهش اثرات تنش کادمیوم بر خردل سیاه در خاک‌های آلوده به این فلز، توصیه می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: باکتری، تنظیم‌کننده رشد گیاه، خردل، فلاونوئید، فلز سنگین

مقدمه

فلزات سنگینی مانند کادمیوم (Cd) مشابه سایر سموم شیمیایی، از منابع طبیعی یا صنعتی، می‌تواند زندگی انسان را در معرض خطر جدی قرار دهد (۳۵). آلودگی خاک بر اثر کادمیوم اهمیت زیادی دارد، زیرا پس از جذب توسط گیاهان با ورود به زنجیره غذایی می‌تواند برای انسان‌ها بسیار سمی باشد (۱۲). در غلظت‌های پایین، کادمیوم برای گیاهان سمیتی ندارد ولی در غلظت‌های بالاتر سمی است و رشد ریشه و تقسیم سلولی را به‌طور معنی‌داری ممانعت می‌کند (۲۷).

میزان جذب فلزات سنگین می‌تواند از طریق توسعه ارتباط گیاه با باکتری‌های مقاوم به فلزات سنگین، افزایش یابد. این باکتری‌ها با ترشح اسیدهای آلی و سیدروفورها به حل شدن فلزات سنگین و تحرک آن‌ها در خاک کمک می‌کنند (۲۸). از سوی دیگر برخی باکتری‌ها از طریق کاهش اتصال فلزات سنگین به گروه‌های آنیونی یا مواد پلی‌مری، حلالیت آن را در خاک افزایش می‌دهند (۳۶). مطالعات بسیاری نشان داده است که باکتری‌های همیار با گیاه توانایی تحریک رشد گیاه، افزایش جذب فلز و انتقال به اندام‌های هوایی گیاه و کاهش اثرات سمی فلزات را دارا می‌باشند (۱۵).

یکی دیگر از جنبه‌های مهم تحمل تنش‌های غیرزنده از جمله تنش فلزات سنگین در گیاهان نقش تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی می‌باشد (۴۵). از جمله این تنظیم کننده‌های رشد می‌توان به اسید سالیسیلیک اشاره کرد که در القای واکنش گیاهان به بسیاری از تنش‌های غیرزنده مانند فلزات سنگین نقش مهمی دارد (۳۴). این ترکیب به عنوان یک مولکول پیام‌رسان، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را افزایش و تولید گونه‌های فعال اکسیژن را کاهش می‌دهد (۲۰). براسینواستروئیدها نیز نقش مهمی را در القای ویژگی‌های مقابله با تنش در گیاهان در برابر تعدادی از تنش‌های غیر زیستی مانند سرما، شوری، گرما، خشکی، فلزات سنگین و تنش‌های زیستی ایفا می‌کنند (۴۸).

ثابت شده است که گیاهان تیره شب بو با تولید ماده خشک بالا قادر به تجمع فلزات سنگین در مقادیر بسیار بالایی هستند (۷). خردل سیاه (*Brassica nigra* L.) گیاهی روغنی از تیره شب بو است که در سراسر جهان رشد می‌کند. دانه‌های خردل حاوی روغن، پروتئین، غنی از فیبر غذایی و آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی هستند (۲۲).

آلودگی کادمیوم منجر به آسیب‌های اکسیداتیو در گیاهان می‌شود که به‌عنوان اثرات سمی این فلز سنگین شناخته می‌شود (۳۸). کادمیوم با ممانعت از فعالیت‌های آنزیمی بیوسنتز کلروفیل، ساختار کلروپلاست را تخریب می‌کند از این رو به‌عنوان موثرترین بازدارنده فعالیت فتوسنتزی و سوخت و ساز آنتی‌اکسیدان در گیاهان شناخته می‌شود (۱۳). اختلال در جذب عناصر معدنی ناشی از سمیت کادمیوم، میزان کلروفیل و فرآیندهای فتوسنتزی را به‌طور جدی متأثر می‌کند و به‌دنبال آن گیاهان ماده خشک کم‌تری انباشته می‌کنند که منجر به کاهش رشد و عملکرد می‌شود (۲۳). برخی مطالعات نشان داده‌اند که تحمل گیاه به تنش‌های غیرزنده از جمله تنش فلزات سنگین به کمک باکتری‌های محرک رشد بهبود یافته است (۸). دل آمیکو و همکاران (۹) گیاه کلزا را با ٤ نوع باکتری مقاوم به کادمیوم که قابلیت تولید اکسین یا سیدروفور داشتند، تلقیح کرده و مشاهده کردند که باکتری‌ها گیاه را در برابر اثرات بازدارندگی کادمیوم محافظت نمودند. اسیدسالیسیلیک اثرات سمیت کادمیوم در گیاه شاهدانه را از طریق کاهش جذب کادمیوم، بهبود ظرفیت فتوسنتزی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاهش می‌دهد (٤٠). اسید سالیسیلیک اثرات تنش اکسیداتیو در گیاهان ماشک و لوبیا را با فعال‌سازی آنزیم‌ها و کاهش تجمع H_2O_2 تحت تنش کادمیوم کاهش داد (۵۳). به‌علاوه گزارش‌های متعددی بیانگر آن است که کاربرد براسینواستروئید تحمل گیاه به تنش‌های مختلف غیرزنده از جمله فلزات سنگین را افزایش می‌دهد. کاربرد براسینواستروئیدها فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و سطوح رونویسی مربوط به آنتی‌اکسیدان را در گیاه گوجه فرنگی تحت تنش کادمیوم افزایش داده است (۲).

هدف از این آزمایش، بهبود خصوصیات فیزیولوژیکی خردل سیاه با کاربرد باکتری‌های محرک رشد شامل آزوسپریلوم و سودوموناس و تنظیم‌کننده‌های رشدی شامل اسید سالیسیلیک و براسینواستروئید در شرایط تنش کادمیوم بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۹٦ در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه محقق اردبیلی اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل دو سطح کادمیوم (۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک)، سه سطح باکتری‌های محرک رشد (شاهد بدون باکتری، آزوسپریلوم و سودوموناس) و سه سطح تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه (شاهد بدون تنظیم کننده رشد، ۰/۱ میکرومول ٢٤-اپی براسینولید و ۱ میلی‌مول اسید سالیسیلیک) بودند. آزمایش در چهار تکرار انجام شد. جنس گلدان‌ها پلاستیک با قطر ۳۲ و ارتفاع ٤٨ سانتی‌متر بود که هرکدام با ۱۰ کیلوگرم خاک خشک پر شد. تیمار کادمیوم به صورت $CdNO_3$ محلول در آب با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک خشک به گلدان‌ها اضافه گردید و خاک آلوده به مدت چهار ماه در گلدان‌ها بدون کشت رها شد. در طول این دوره به‌منظور جلوگیری از آبشویی کادمیوم، گلدان‌ها هر چهار روز یکبار تا حد

رسیدن به ظرفیت زراعی آبیاری گردیدند. خاک هر گلدان در طول این دوره سه بار به‌طور کامل مخلوط گردید. پس از این مدت ۳۰ بذر خردل سیاه در هر گلدان در عمق یک سانتی‌متری کشت شدند. بذر خردل سیاه از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اردبیل تهیه گردید. باکتری‌ها نیز از مؤسسه تحقیقات خاک و آب ایران تهیه شدند. قبل از کاشت، بذرها به منظور تلقیح، با استفاده از اتانول ۹۶ درصد به‌مدت یک دقیقه و هیپوکلریت ۱/۵ درصد به‌مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی سطحی گردیدند. سپس ۱۰ بار با آب مقطر شست‌وشو داده شدند تا هیپوکلریت آن‌ها به‌طور کامل حذف شود. به‌دنبال آن، بذرها به مایه تلقیح باکتریایی موردنظر افزوده شده و به‌مدت ۴۵ دقیقه در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد بر روی شیکر با دور ۱۲۰ rpm قرار داده شد. جمعیت باکتریایی در هر گرم مایه تلقیح مورد استفاده $۸/۳\times۱۰^{۷}$ بود. پس از این مدت، بذرها در زیر هود بیولوژیکی قرار داده شده و به‌منظور جذب کامل باکتری‌ها و حذف آب اضافی روی فویل آلومینیومی پخش گردیدند (۴۶). دمای گلخانه در محدوده ۲۲-۲۶ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی در محدوده ۶۵-۷۵ درصد تنظیم شد. گیاهچه‌های ظاهر شده تنک شده و به ۱۶ بوته در گلدان کاهش یافتند. تنظیم‌کننده‌های رشد در دو مرحله (قبل از گلدهی (۳۵ روز پس از کاشت) و در طول دوره پر شدن دانه (۶۵ روز پس از کاشت)) روی گیاهان محلول‌پاشی شدند. تیمارهای باکتریایی مجدداً در این دو مرحله با جمعیت $۸/۳\times۱۰^{۷}$ در هر گرم مایه تلقیح و به مقدار ۲۰ میلی‌لیتر برای هر گلدان همراه آب آبیاری به خاک افزوده شدند. اندازه‌گیری صفات ۱۰ روز پس از اعمال دومین مرحله تیمار تنظیم‌کننده‌های رشد انجام گرفت.

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در گلدان‌ها.

Table 1. Physical and chemical properties of soil applied in the pots.

بافت خاک Soil texture	درصد ماده آلی Organic matter percentage	pH	EC ($ds.m^{-1}$)	درصد نیتروژن کل Total nitrogen percentage	فسفر Phosphorus ($mg.kg^{-1}$)
لومی رسی Clay-loam	0.95	7.6	0.75	0.098	7.5

مقدار مالون دی‌آلدئید برگ طبق روش والنتوویک و همکاران (۴۷)، میزان کلروفیل برگ‌ها طبق روش پیشنهادی آرنون (۵)، شاخص پایداری غشا به روش رضا و همکاران (۳۷)، میزان پرولین برگ‌ها با استفاده از روش بیتز و همکاران (۶) و مقدار قندهای محلول به روش شلیگل و همکاران (۳۹) اندازه‌گیری شد. مقدار فنل برگ خردل به روش اسلینکارد و سینگلتون (۴۲)، مقدار فلاونوئید به روش ژیشن و همکاران (۵۴) و مقدار آنتوسیانین برگ به روش مانسینلی (۲۹) اندازه‌گیری گردید.

تجزیه‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS، مقایسات میانگین با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام گرفت.

نتایج و بحث

جدول ۲- تجزیه واریانس ویژگی‌های فیزیولوژیک خردل سیاه تحت‌تأثیر کادمیوم، باکتری‌های محرک رشد و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه.

Table 2. Analysis of variance of physiological properties of black mustard affected by cadmium, rhizobacteria and plant growth regulators.

منابع تغییر Source of variation	درجه آزادی Df	میانگین مربعات Mean of squares				
		مالون دی‌آلدئید MDA	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کاروتنوئید Carotenoid	شاخص پایداری غشا MSI
تکرار Replication	3	3.92**	0.041**	0.0011^{ns}	0.000032^{ns}	4.08^{ns}
کادمیوم Cadmium	1	222.6**	1.22**	0.177**	0.0045**	1081.12**
ریزوباکتری‌ها Rhizobacteria	2	38.79**	0.00065^{ns}	0.00045^{ns}	0.00004^{ns}	411.5**
تنظیم کننده‌های رشد Growth regulators	2	19.75**	0.061**	0.023**	0.00003^{ns}	353.04**
کادمیوم × ریزوباکتری‌ها Cadmium×Rhizobacteria	2	2.54*	0.0018^{ns}	0.0008^{ns}	0.000005^{ns}	10.5^{ns}
کادمیوم × تنظیم‌کننده‌های رشد Cadmium×Growth regulators	2	0.031^{ns}	0.0046**	0.0025*	0.00001^{ns}	21.79^{ns}
ریزوباکتری‌ها × تنظیم‌کننده‌های رشد Rhizobacteria×Growth regulators	4	0.608^{ns}	0.00015^{ns}	0.0014^{ns}	0.000007^{ns}	17.41^{ns}
کادمیوم × ریزوباکتری‌ها × تنظیم‌کننده‌های رشد Cadmium×Rhizobacteria×Growth regulators	4	0.97^{ns}	0.0013^{ns}	0.00143^{ns}	0.00002^{ns}	25.29*
خطا Error	51	0.676	0.00064	0.00073	0.000032	9.607
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)	-	9.37	1.85	5.07	10.64	6.35

^{ns}، * و ** به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

^{ns}, * and ** are insignificant, and significant in probabilities of five and one percent, respectively.

جدول ۳- تجزیه واریانس پرولین، قندهای محلول و متابولیت‌های ثانویه خردل سیاه تحت‌تأثیر کادمیوم، باکتری‌های محرک رشد و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه.

Table 3. Analysis of variance of Proline, soluble sugar and secondary metabolites of black mustard affected by cadmium, rhizobacteria and plant growth regulators.

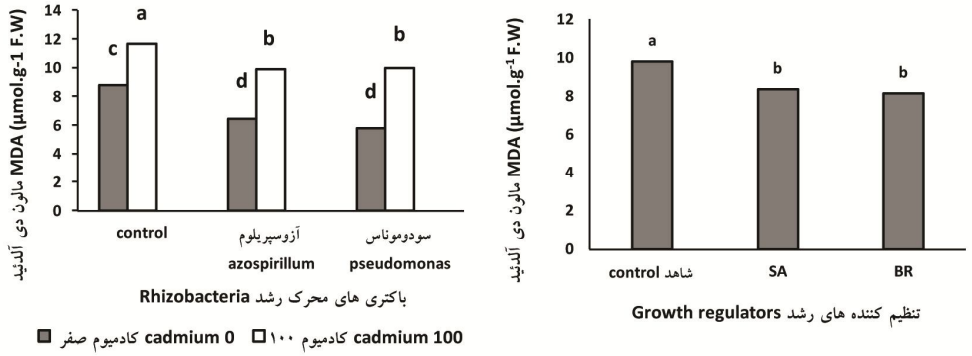
منابع تغییر Source of variation	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean of squares					
		پرولین Proline	قندهای محلول Soluble sugar	فنل Phenol	فلاونوئید Flavonoid	آنتوسیانین Anthocyanin	محصول بوته Plant yield
تکرار Replication	3	7.37^{ns}	0.88^{ns}	3.06**	2.3**	0.026**	0.168**
کادمیوم Cadmium	1	4355.5**	113.55**	62.51**	75.66**	0.148**	8.1**
ریزوباکتری‌ها Rhizobacteria	2	271.34**	15.46**	3.06**	4.96**	0.032**	1.707**
تنظیم‌کننده‌های رشد Growth regulators	2	296.43**	20.24**	2.88**	4.3**	0.036**	0.176*
کادمیوم × ریزوباکتری‌ها Cadmium×Rhizobacteria	2	3.18^{ns}	0.28^{ns}	0.98*	2.29**	0.0009^{ns}	0.16*
کادمیوم × تنظیم‌کننده‌های رشد Cadmium×Growth regulators	2	34.43*	0.01^{ns}	0.22^{ns}	0.074^{ns}	0.001^{ns}	0.015^{ns}
ریزوباکتری‌ها × تنظیم‌کننده‌های رشد Rhizobacteria×Growth regulators	4	7.09^{ns}	1.5*	0.042^{ns}	0.007^{ns}	0.0005^{ns}	0.025^{ns}
کادمیوم × ریزوباکتری‌ها × تنظیم‌کننده‌های رشد Cadmium×Rhizobacteria×Growth regulators	4	25.18*	1.15*	0.044^{ns}	0.07^{ns}	0.001^{ns}	0.023^{ns}
خطا Error	51	8.801	0.429	0.207	0.091	0.0018	0.038
ضریب تغییرات(%) CV	-	3.56	8.71	6.69	2.51	8.04	17.75

^{ns}، * و ** به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

^{ns}, * and ** are insignificant, and significant in 5 and 1 % probability level, respectively.

مالون دی آلدئید: نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که اثرات اصلی کادمیوم، باکتری‌های محرک رشد و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه در سطح احتمال ۱ درصد و اثر متقابل دوجانبه کادمیوم و باکتری‌های محرک رشد در سطح احتمال ۵ درصد بر میزان مالون دی آلدئید معنی‌دار گردید. مقدار مالون دی آلدئید در همه سطوح تیمار باکتری در اثر آلودگی کادمیوم به‌طور معنی‌داری افزایش یافت در حالی‌که آزوسپریلوم و سودوموناس در مقایسه با تیمار شاهد مقدار مالون دی آلدئید را به‌طور معنی‌داری کاهش دادند به‌طوری‌که در هردو سطح کادمیوم بین دو نوع باکتری از این نظر اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. هم‌چنین اثر اصلی تنظیم‌کننده‌های رشد بر مقدار مالون دی‌آلدئید معنی‌دار بود. اسیدسالیسیلیک و براسینواستروئید به‌طور معنی‌داری مقدار این صفت را در مقایسه با تیمار شاهد کاهش دادند به‌گونه‌ای که بین دو نوع تنظیم‌کننده رشدی اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید و در یک گروه قرار گرفتند (شکل ۱).

تنش اکسیداتیو پاسخی است که از افزایش مقادیر ROS در سلول‌های قرار گرفته در معرض تنش حاصل می‌شود (۱۱). به‌دنبال ایجاد ROS، در اثر تخریب لیپیدهای سلولی، پراکسیدها تشکیل می‌شوند (۳۳). در اثر تیمار کادمیوم، افزایش مقدار MDA نشانگر تنش اکسیداتیو در گیاهان است. کاهش میزان پایداری غشای سلولی در اثر تیمار کادمیوم نیز شاهدی بر این ادعاست. به این معنی که در اثر آسیب‌های جدی وارده بر غشاهای سلولی و کاهش پایداری آن، بر مقدار مالون دی آلدئید نیز افزوده می‌شود (٤). تلقیح باکتری‌ها و کاربرد تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه فعالیت کاتالاز در شرایط تنش کادمیوم را افزایش می‌دهد که می‌تواند به گیاه برای کاهش تنش اکسیداتیو کمک کند. فعالیت بالای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تولید رادیکال‌های آزاد را کاهش می‌دهد و بنابراین پراکسیداسیون لیپیدی را در ارتباط با تخریب غشایی کاسته و به‌دنبال آن منجر به افزایش پایداری غشای سلولی و تولید MDA کم‌تر در شرایط تنش می‌گردد (٤١). باکتری‌های محرک رشد گیاه بیان ژن‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گیاه را افزایش می‌دهد که منجر به بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، افزایش پایداری غشا و کاهش MDA و H_2O_2 در گیاهان تلقیح شده با باکتری در مقایسه با گیاهان شاهد رشدیافته در شرایط تنش کادمیوم می‌شود (۱۷).



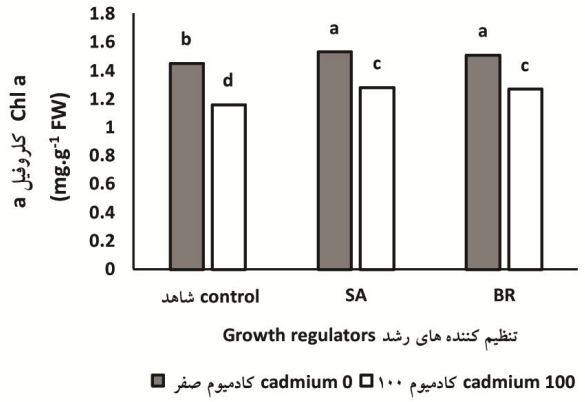
شکل ۱- مقدار مالون دی آلدئید برگ خردل سیاه در اثر متقابل کادمیوم و باکتری (a) و اثر اصلی تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه (b).

Fig. 1. MDA content of black mustard leaves in the interaction of cadmium and rhizobacteria (a) and the main effect of plant growth regulators (b).

رنگدانه‌های فتوسنتزی: نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که اثر اصلی کادمیوم بر مقدار کلروفیل a، b و کاروتنوئید و اثر اصلی تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه بر مقدار کلروفیل a و b در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار به‌دست آمد. اثر متقابل دو جانبه کادمیوم و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه بر مقدار کلروفیل a در

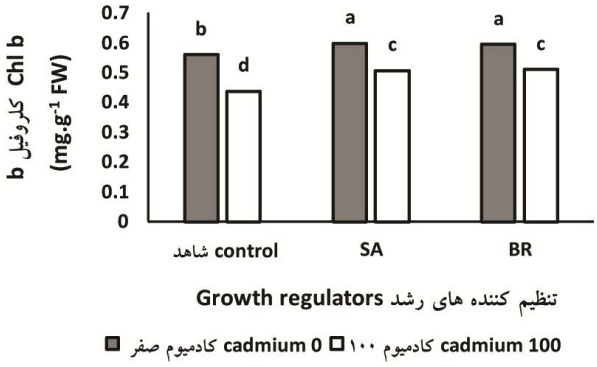
سطح احتمال ۱ درصد و بر مقدار کلروفیل b در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار گردید. هر دو نوع کلروفیل a و b با کاربرد اسید سالیسیلیک و براسینواستروئید در هر دو سطح آلودگی کادمیوم در مقایسه با تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافتند در حالی‌که در تمام سطوح تنظیم‌کننده‌های رشدی، آلودگی کادمیوم مقدار این رنگدانه‌ها را در مقایسه با تیمار شاهد بدون آلودگی کاهش داد. علاوه بر این، هیچ تفاوت معنی‌داری بین دو نوع تیمار تنظیم‌کننده رشدی از نظر مقدار این دو نوع کلروفیل وجود نداشت (شکل‌های ۲ و ۳). مقدار کاروتنوئید نیز در نتیجه اثر اصلی آلودگی کادمیوم در مقایسه با تیمار شاهد بدون آلودگی کاهش معنی‌داری را نشان داد (شکل ٤).

کادمیوم از طریق جایگزینی با اتم منیزیم مرکزی، مولکول کلروفیل را غیرفعال می‌کند (۲٦). علاوه بر این کادمیوم آنزیم کلروفیلاز را که آنزیم تجزیه‌کننده کلروفیل است فعال می‌کند (۱) و سنتز آنزیم‌های بیوسنتز کلروفیل از جمله ۵-آمینولاولینیک اسید و ترکیب پروتوکلروفیلاید ردوکتاز را کاهش می‌دهد (۳۱). بنابراین کاهش مقدار کلروفیل در برگ‌های خردل و سایر گیاهان تحت تنش کادمیوم گزارش شده است (١٤). افزایش مقدار کلروفیل خردل سیاه با کاربرد تنظیم‌کننده‌های رشد ممکن است به حذف کارآمد ROS توسط آنزیم‌های آنتی اکسیدان نسبت داده شود در غیر این‌صورت آن‌ها رنگدانه‌های فتوسنتزی را تخریب می‌کردند (٤٣).



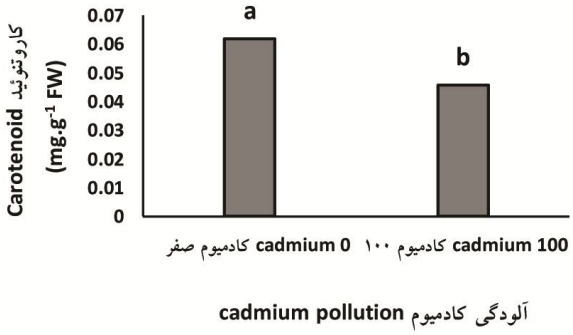
شکل ۲- مقدار کلروفیل a برگ خردل سیاه در اثر متقابل آلودگی کادمیوم و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه.

Fig. 2. Chlorophyll a content of black mustard leaves in the interaction of cadmium and plant growth regulators.



شکل ۳- مقدار کلروفیل b برگ خردل سیاه در اثر متقابل آلودگی کادمیوم و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه.

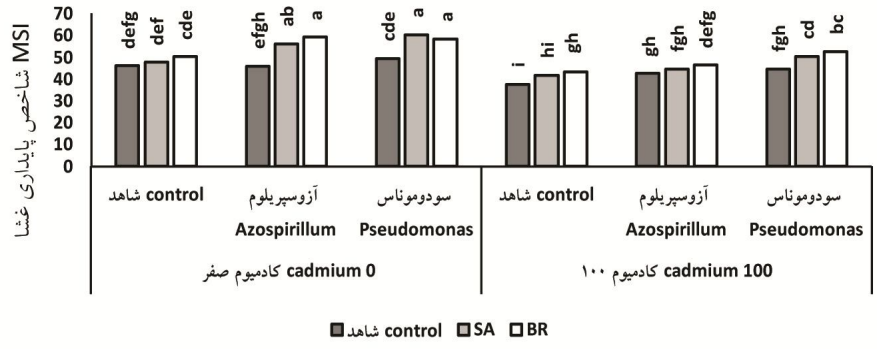
Fig. 3. Chlorophyll b content of black mustard leaves in the interaction of cadmium and plant growth regulators.



شکل ٤- مقدار کاروتنوئید برگ خردل سیاه در اثر اصلی آلودگی کادمیوم.

Fig. 4. Carotenoid content of black mustard leaves in the main effect of cadmium.

شاخص پایداری غشا: نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که اثرات اصلی کادمیوم، باکتری‌های محرک رشد و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه در سطح احتمال یک درصد و اثر متقابل سه‌جانبه این عوامل در سطح احتمال ۵ درصد بر شاخص پایداری غشا معنی‌دار گردید. شاخص پایداری غشا با کاربرد ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم در تمام سطوح تلقیح باکتری‌ها و محلول‌پاشی تنظیم‌کننده‌های رشدی، به‌جز تیمار آزوسپریلوم بدون محلول‌پاشی تنظیم‌کننده‌ها، به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. هم‌چنین در تیمار بدون آلودگی کادمیوم، تلقیح باکتری‌های آزوسپریلوم و سودوموناس فقط در حضور تنظیم‌کننده‌های رشدی توانستند شاخص پایداری غشا را به‌طور معنی‌داری افزایش دهند. این در حالی است که در شرایط آلودگی کادمیوم، تلقیح آزوسپریلوم بدون محلول‌پاشی تنظیم‌کننده‌های رشدی و تلقیح سودوموناس در تمام سطوح تنظیم‌کننده‌ها، شاخص پایداری غشا را به‌طور معنی‌داری در مقایسه با تیمار شاهد بدون باکتری افزایش دادند. هم‌چنین کاربرد تنظیم کننده‌های رشد گیاه در شرایط بدون آلودگی کادمیوم، در حضور باکتری‌های محرک رشد شاخص پایداری غشا را به‌طور معنی‌دار بهبود بخشیدند. در حالی‌که در شرایط تنش این افزایش معنی‌دار، به‌دنبال محلول‌پاشی تنظیم‌کننده‌های رشدی، فقط در حضور باکتری سودوموناس مشاهده گردید (شکل ۵).

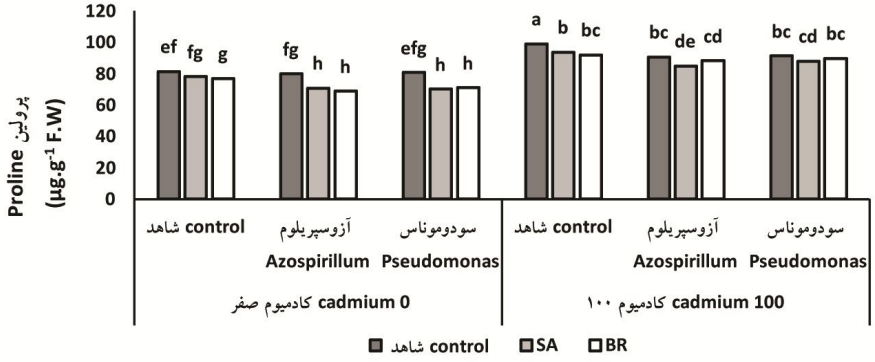


شکل ۵- شاخص پایداری غشای برگ خردل در اثر متقابل کادمیوم، باکتری‌های محرک رشد و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه.

Fig. 5. MSI of black mustard leaves in the interaction of cadmium, rhizobacteria and plant growth regulators.

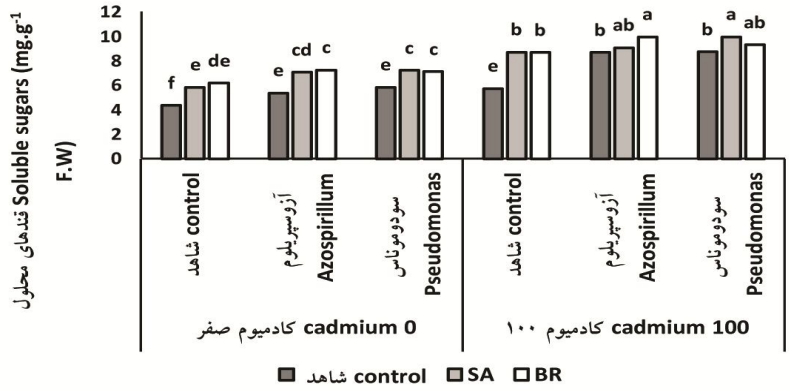
پرولین و قندهای محلول: نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که اثرات اصلی کادمیوم، باکتری‌های محرک رشد و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه در سطح احتمال یک درصد، اثر متقابل دوجانبه کادمیوم و تنظیم‌کننده‌های رشد در سطح احتمال ۵ درصد و اثر متقابل سه‌جانبه این عوامل در سطح احتمال ۵ درصد بر مقدار پرولین برگ خردل معنی‌دار گردید. مقدار پرولین در تمام ترکیبات تیماری با کاربرد کادمیوم نسبت به شرایط بدون تنش به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. بعلاوه در شرایط بدون آلودگی، تلقیح باکتری‌های آزوسپریلوم و سودوموناس فقط با کاربرد تنظیم‌کننده‌های رشدی توانستند مقدار پرولین را به‌طور معنی‌داری کاهش دهند. این در حالی است که در شرایط آلودگی کادمیوم، کاربرد باکتری‌های محرک رشد فقط در تیمارهای بدون محلول‌پاشی و محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک توانستند موجب کاهش معنی‌دار مقدار پرولین گردند. هم‌چنین محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک در شرایط تنش فقط در تیمارهای بدون باکتری و تلقیح با آزوسپریلوم مقدار پرولین را به‌طور معنی‌داری کاهش داد در حالی‌که محلول‌پاشی براسینواستروئید فقط در تیمار بدون باکتری توانست منجر به کاهش معنی‌دار پرولین گردد (شکل ٦). گزارش‌ها بیانگر آن است که تجمع اسمولیت‌هایی مثل پرولین تنظیم اسمزی را تسهیل می‌کند و پتانسیل اسمزی درون گیاه را کاهش می‌دهد و ممکن است با تحمل تنش غیرزنده ارتباط داشته باشد (۱۸). گلوماتات پیش ماده بیوسنتز کلروفیل و پرولین می‌باشد. بررسی‌ها نشان می‌دهند که شرایط تنش به سنتز بیش‌تر پرولین گلوتامات به‌جای سنتز کلروفیل منجر می‌شود (۳۲). کاهش بیوسنتز پرولین با تلقیح باکتری‌ها و کاربرد تنظیم‌کننده‌های رشد به افزایش سنتز کلروفیل در برگ‌های خردل سیاه و در نتیجه افزایش محصول بوته به‌دنبال این تیمارها مربوط می‌شود.

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که اثرات اصلی کادمیوم، باکتری‌های محرک رشد و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه در سطح احتمال یک درصد، اثر متقابل دوجانبه باکتری‌های محرک رشد و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه در سطح احتمال ۵ درصد و اثر متقابل سه‌جانبه این عوامل در سطح احتمال ۵ درصد بر مقدار قندهای محلول برگ خردل معنی‌دار بود. مقدار قندهای محلول در هر دو سطح آلودگی کادمیوم و بدون آلودگی با تلقیح باکتری‌ها و کاربرد تنظیم‌کننده‌های رشد در مقایسه با تیمارهای شاهد بدون تلقیح و بدون محلول‌پاشی افزایش یافت. هم‌چنین در تمام ترکیبات تیماری باکتری‌ها و تنظیم‌کننده‌های رشدی، آلودگی کادمیوم مقدار قندهای محلول را نسبت به تیمار بدون آلودگی به‌طور معنی‌داری افزایش داد (شکل ۷). دوی و همکاران (۱۰) افزایش تولید کربوهیدرات‌ها تحت تنش کادمیوم را به افزایش فعالیت آنزیم‌های ساکارز سنتاز و ساکارز فسفات سنتاز (SPS) در ریشه و اندام‌های هوایی نخود نسبت دادند. این نشان می‌دهد که فعالیت این آنزیم‌ها ممکن است با کاربرد کادمیوم افزایش یابد. کربوهیدرات‌ها ترکیبات ضروری هستند که برای تولید متابولیت‌های ثانویه در مسیر اسید شیکیمیک مورد نیاز می‌باشند (۱۹). افزایش قندهای محلول با محلول‌پاشی تنظیم کننده‌های رشد و تلقیح باکتری‌ها در هر دو سطح کادمیوم می‌تواند به نقش این تیمارها در بهبود مقدار کلروفیل و فتوسنتز نسبت داده شود. تجمع اسمولیت‌هایی مثل قندها می‌تواند تا حدودی گیاهان را از اثرات تنش محافظت کند. اپی براسینولید ظرفیت آسیمیلاسیون CO_2 را در چرخه کالوین بدنبال افزایش فعالیت اولیه روبیسکو افزایش می‌دهد (٤٤).



شکل ٦- مقدار پرولین برگ خردل در اثر متقابل کادمیوم، باکتری‌های محرک رشد و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه.

Fig. 6. Proline content of black mustard leaves in the interaction of cadmium, rhizobacteria and plant growth regulators.



شکل ۷- مقدار قندهای محلول برگ خردل در اثر متقابل کادمیوم، باکتری‌های محرک رشد و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه.

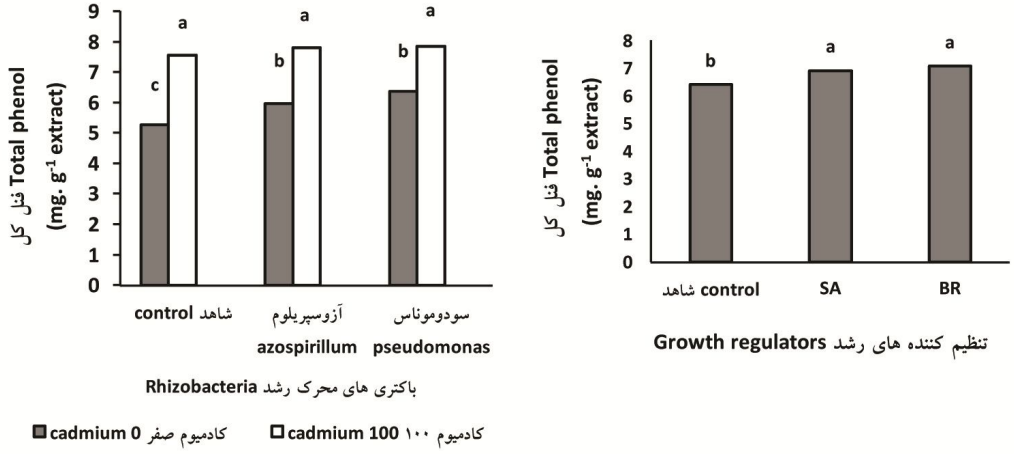
Fig. 7. Soluble sugars content of black mustard leaves in the interaction of cadmium, rhizobacteria and plant growth regulators.

متابولیت‌های ثانویه: نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که اثرات اصلی کادمیوم، باکتری‌های محرک رشد و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه در سطح احتمال یک درصد بر مقادیر فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین برگ خردل معنی‌دار گردید. هم‌چنین اثر متقابل دوجانبه کادمیوم و باکتری‌های محرک رشد بر مقدار فنل در سطح احتمال ۵ درصد و بر مقدار فلاونوئید در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. مقادیر فنل و فلاونوئید برگ‌های خردل در تمام سطوح تلقیح باکتری‌های محرک رشد در اثر آلودگی کادمیوم به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. استفاده از باکتری‌های محرک رشد نیز خود منجر به افزایش معنی‌دار مقادیر فنل و فلاونوئید گردید به‌جز مقدار فنل در حالت آلودگی کادمیوم که افزایش مقدار آن در اثر کاربرد باکتری‌ها معنی‌دار نبود. هم‌چنین مشاهده می‌شود که استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه موجب افزایش معنی‌دار ترکیبات فنل و فلاونوئید در برگ‌های خردل گردید و بین اسید سالیسیلیک و براسینواستروئید از این نظر تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (شکل‌های ۸ و ۹). مقدار آنتوسیانین در اثر آلودگی کادمیوم به‌طور معنی‌داری کاهش یافت در حالی‌که کاربرد باکتری‌ها و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه هر دو منجر به افزایش

معنی‌دار مقدار آنتوسیانین گردیدند و میان آزوسپریلوم و سودوموناس و هم‌چنین اسیدسالیسیلیک و براسینواستروئید تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نگردید (شکل ۱۰). افزایش مقادیر فنل و فلاونوئید تحت تنش کادمیوم ممکن است به‌علت افزایش تولید کربوهیدرات‌ها به‌ویژه نشاسته باشد (۲۱). گو و همکاران (۲۰۱۱) نیز پیشنهاد دادند که افزایش تولید متابولیت‌ها در آزمایشی که روی کلم بروکلی انجام دادند ممکن است ناشی از افزایش تولید نشاسته در مقایسه با ساکارز باشد. در حالی‌که کو و همکاران (۲۰۱۱) گزارش دادند که افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه بر پایه کربن مثل فنل‌ها و فلاونوئیدها تحت تنش فلزات سنگین به‌ویژه کادمیوم، نتیجه افزایش موجودی فنیل آلانین تحت شرایط کاربرد ۵-۲۵ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم در گیاهچه‌های برنج بود.

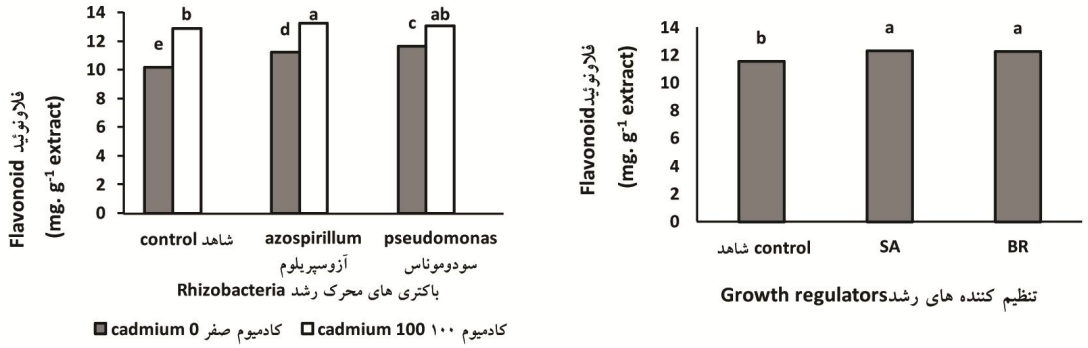
براساس مطالعات احمد و همکاران (۲۰۱۶) افزایش فعالیت فنیل آمونیا لیاز (PAL) در اثر کاربرد اسید سالیسیلیک و افزایش کادمیوم در خاک به احتمال زیاد مقدار فنل در برگ نعنا را افزایش می‌دهد. کیم و همکاران (۲٤) نیز افزایش ترکیبات فنلی با کاربرد اسید سالیسیلیک را در گیاه قاصدک گزارش کردند. آن‌ها افزودند که ترکیبات فنلی می‌توانند با آنزیم پراکسید دیسموتاز در تخریب H_2O_2 تولید شده در اثر تنش کادمیوم همکاری داشته باشد. کاهش مقدار آنتوسیانین در اثر سمیت کادمیوم نشان داد که فعالیت بالای پراکسیداز منجر به تخریب آنتوسیانین گردید (۵۲).

افزایش مقدار آنتوسیانین به‌عنوان یک متابولیت ثانویه در نتیجه کاربرد تنظیم کننده‌های رشد و تلقیح باکتری‌ها می‌تواند با تجمع کربوهیدرات‌ها در این شرایط ارتباط داشته باشد. تغییرات مقادیر متابولیت‌های ثانویه از جمله ترکیبات فنلی در آزمایش‌های دیگری با تلقیح باکتری‌ها بر گیاه مثل ریزوبیوم-برنج، آزوسپریلوم-ذرت و آزوسپریلوم-سودوموناس-گلوموس-ذرت مشاهده شده است (۳۰، ٤۹ و ۵۰). افزایش مقدار متابولیت‌های ثانویه خردل سیاه با تلقیح باکتری‌ها نشان می‌دهد که باکتری‌های محرک رشد گیاه ممکن است در سنتز پلی‌فنل‌ها و بهبود فعالیت فنیل آلانین لیاز و متعاقباً در رفع اثرات تنش دخیل باشد (۵۱).



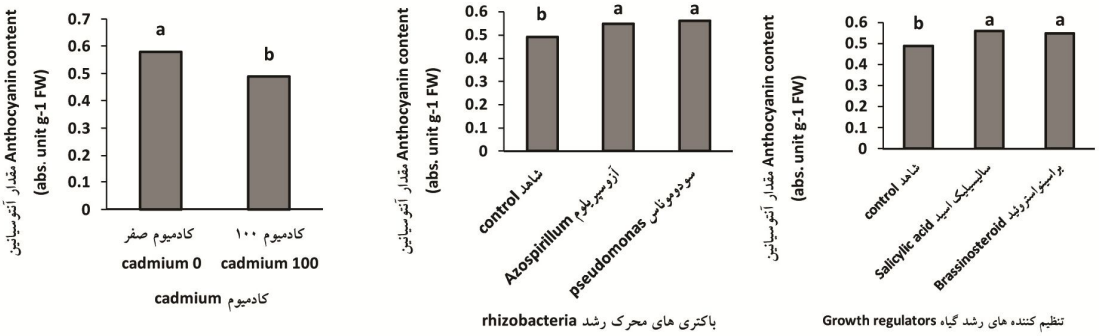
شکل ۸- مقدار فنل برگ خردل سیاه در اثر متقابل کادمیوم و باکتری‌های محرک رشد و اثر اصلی تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه.

Fig. 8. Phenol content of black mustard leaves in the interaction of cadmium and rhizobacteria and the main effect of plant growth regulators.



شکل ۹- مقدار فلاونوئید برگ خردل در اثر متقابل کادمیوم و باکتری‌های محرک رشد و اثر اصلی تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه.

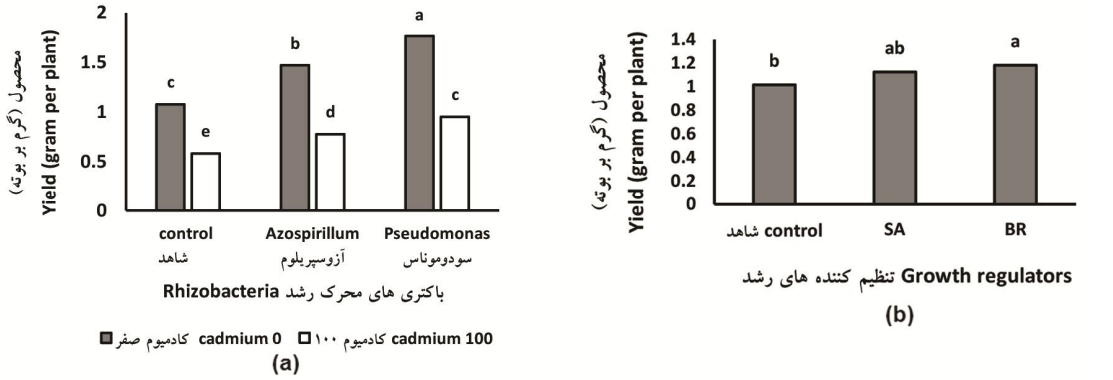
Fig. 9. Flavonoid content of black mustard leaves in the interaction of cadmium and rhizobacteria and the main effect of plant growth regulators.



شکل ۱۰- مقدار آنتوسیانین برگ خردل سیاه در اثرات اصلی کادمیوم، باکتری‌های محرک رشد و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه.

Fig. 10. Anthocyanin content of black mustard leaves affected by the main effects of cadmium, rhizobacteria and plant growth regulators.

محصول تک بوته: نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که اثرات اصلی کادمیوم و باکتری‌های محرک رشد گیاه در سطح احتمال یک درصد و اثر اصلی تنظیم‌کننده‌های رشدی در سطح احتمال ۵ درصد بر محصول تک بوته معنی‌دار بود. هم‌چنین اثر متقابل دوجانبه کادمیوم و باکتری‌های محرک رشد در سطح احتمال ۵ درصد بر محصول تک بوته خردل معنی‌دار به‌دست آمد. نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل کادمیوم در باکتری نشانگر افزایش معنی‌دار محصول تک بوته تحت‌تأثیر باکتری‌های محرک رشد در هر دو سطح کاربرد کادمیوم و بدون کادمیوم بود و تیمار با باکتری سودوموناس در هر دو سطح تیمار کادمیوم بیش‌ترین مقدار محصول تک بوته را در پی داشت. هم‌چنین کاربرد ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم در مقایسه با شاهد بدون کادمیوم موجب کاهش معنی‌دار محصول تک بوته گردید. محلول‌پاشی تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه موجب افزایش معنی‌دار محصول تک بوته شد. بیش‌ترین محصول تک بوته با اختلاف معنی‌دار نسبت به تیمار شاهد در گلدان‌های محلول‌پاشی شده با براسینواستروئید حاصل شد که با تیمار اسید سالیسیلیک در گروه مشترک قرار داشت. تیمار اسید سالیسیلیک هم‌چنین با تیمار شاهد از نظر محصول تک بوته تفاوت آماری معنی‌داری نداشت (شکل ۱۱).



شکل ۱۱- محصول بوته خردل سیاه در اثر متقابل کادمیوم و باکتری‌های محرک رشد (a) و اثر اصلی تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه (b).

Fig. 11. Black mustard plant yield in the interaction of cadmium and rhizobacteria (a) and the main effect of plant growth regulators (b).

نتیجه‌گیری

با توجه به این‌که گونه‌های تیره شب‌بو به‌عنوان گیاهان تجمع‌دهنده فلزات سنگین شناخته می‌شوند، استفاده از این گیاهان برای پاکسازی مناطق آلوده و هم‌زمان اعمال روش‌هایی برای کاهش اثرات سمی این فلزات و افزایش تحمل گیاه به تنش بسیار مفید و کارآمد به‌نظر می‌رسد. در این راستا در این آزمایش باکتری‌های محرک رشد و تنظیم کننده‌های رشد که نقش هر دو در کاهش اثرات تنش‌های غیرزنده در آزمایش‌های متعددی گزارش شده است مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که کاربرد کادمیوم مقدار مالون دی‌آلدئید را که به‌عنوان محصول پراکسیداسیون لیپیدی و نتیجه تنش اکسیداتیو می‌باشد و مقدار پرولین و قندهای محلول را به عنوان اسمولیت‌های فعال در تنظیم اسمزی و تحمل تنش در گیاه افزایش داده و شاخص پایداری غشا را به‌دنبال افزایش تنش اکسیداتیو و مقدار رنگدانه‌های فتوسنتزی را به‌دنبال کاهش پیش‌سازهای کلروفیل در جهت تولید پرولین و تخریب رنگدانه‌ها در نتیجه فعالیت آنزیم‌های تخریب رنگدانه‌ها کاهش داد و به‌دنبال آن محصول بوته نیز کاهش یافت. کاربرد کادمیوم با افزایش تولید کربوهیدرات‌ها و موجودی فنیل آلانین منجر به افزایش مقادیر فنل و فلاونوئید و با تخریب آنتوسیانین در اثر افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز موجب کاهش مقدار آنتوسیانین گردید. مقدارمالون دی آلدئید و پرولین تحت‌تأثیر کاربرد باکتری‌ها و تنظیم‌کننده‌های رشد کاهش یافت در حالی‌که تنظیم‌کننده‌های رشد میزان کلروفیل‌های a و b، قندهای محلول، پایداری غشای سلولی، محصول بوته و متابولیت‌های ثانویه و هم‌چنین باکتری‌ها نیز میزان قندهای محلول، پایداری غشای سلولی، محصول بوته و متابولیت‌های ثانویه را با بهبود سنتز پلی‌فنل‌ها و فعالیت فنیل آلانین لیاز به‌طور معنی‌داری افزایش دادند.

منابع

1. Abdel-Basset, R., Issa, A.A. and Adam, M.S. 1995. Chlorophyllase activity: Effect of heavy metals and calcium. Photosynthetica. 31: 421-425.
2. Ahammed, G.J., Choudhary, S.P., Chen, S. and Xia, X. 2013. Role of brassinosteroids in alleviation of phenanthrene-cadmium cocontamination-induced N photosynthetic inhibition and oxidative Stress in tomato. J. Exp. Bot. 64: 199-213.
3. Ahmad, P., Abdel Latef, A.A., Abd_Allah, E.F., Hashem, A., Sarwat, M., Anjum, N.A. and Gucel, S. 2016. Calcium and potassium supplementation enhanced growth, osmolyte secondary metabolite prodjduction, and enzymatic antioxidant machinery in madmium-exposed chickpea (*Cicer arietinum* L.). Front. Plant Sci. 7: 513.
4. Apel, K. and Hirt, H. 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. Ann. Rev. Plant Bio. 55: 373-399.
5. Arnon, A.N. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agron. J. 23: 112-121.
6. Bates, L.S., Waldren, R.P. and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil. 39: 205-207.
7. Broadley, M., Willey, M.J., Wilkins, J.C., Baker, A.J.M., Mead, A. and White, P.J. 2001. Phylogenetic variation in heavy metal accumulation in angiosperms. New Phytol. 152: 9-27.
8. Chen, Y., Yang, W., Chao, Y., Wang, S., Tang, Y. and Qiu, R. 2017. Metal-tolerant enterobacter sp. strain EG16 enhanced phytoremediation using *Hibiscus cannabinus* via siderophore-mediated plant growth promotion under metal contamination. Plant Soil. 413: 203-216.
9. Dell'Amico, E., Cavalca, L. and Andreoni, V. 2008. Improvement of *Brassica napus* growth under cadmium stress by cadmium-resistant rhizobacteria. Soil Bio. Biochem. 40: 74-84.
10. Devi, R., Munjral, N., Gupta, A.K. and Kaur, N. 2007. Cadmium induced changes in carbohydrate status and enzymes of carbohydrate metabolism, glycolysis and pentose phosphate pathway in pea. Environ. Exp. Bot. 61: 167-177.
11. Dietz, K.J., Baier, M. and Kramer, U. 1999. Free radicals and reactive oxygen species as mediator of heavy metal toxicity in plants. In: Prasad, M. N. V. and Hagemeyer, J. heavy metal stress in plants. From molecules to ecosystem, eds. Springer-Verlag, Berlin. Pp: 73-89.
12. Dong, J., Fei-bo, W.U. and Guo-ping, Z. 2005. Effect of cadmium on growth and photosynthesis of tomato seedlings. J. Zhejiang Univ. 6: 974-980.
13. Feng, J., Shi, Q., Wang, X., Wei, M., Yang, F. and Xu, H. 2010. Silicon supplementation ameliorated the inhibition of photosynthesis and nitrate metabolism by cadmium (Cd) toxicity in *Cucumis sativus* L. Sci. Hort. 123: 521-530.
14. Gadallah, M.A.A. 1995. Effects of cadmium and kinetin on chlorophyll content, saccharides and dry matter accumulation in sunflower plants. Biol. Plant. 37: 233-240.
15. Glick, B.R. 2010. Using soil bacteria to facilitate phytoremediation. Biotechnol. Adv. 28: 367-374.
16. Guo, R., Yuan, G. and Wang, Q. 2011. Effects of sucrose and mannitol accumulation of health promoting component and activity of metabolic enzyme in brocolli sprout. Sci. Hort. 128: 159-165.
17. Gururani, M.A., Venkatesh, J., Upadhyaya, C.P., Nookaraju, A., Pandey, S.K. and Park, S.W. 2012. Plant disease resistance genes: Current status and future directions. Physiol. Mol. Plant Pathol. 78: 51-65.
18. Hasegawa, P.M., Bressan, R.A., Zhu, J.K. and Bohnert, H.J. 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 51: 463-499.
19. He, J.Y., Ren, Y.F., Lu, Y.F. and Chang, H.Q. 2014. Cadmium impairs early seedling growth, mineral and carbohydrate mobilization during the

germination of rice seeds. Adv. Mat. Res. 864: 243-247.
20. Horvath, E., Szalai, G. and Janda, T. 2007. Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling. J. Plant Growth Reg. 26: 290-300.
21. Ibrahim, M.H., Ismail, A., Omar, H., Mohd Nadzir, M.N.H. and Mohd Zain, N.A. 2017. Primary, secondary metabolites, biochemical and antioxidant activity of *Orthosiphon staminues Benth* (Misai Kucing) under cadmium exposure. Ann. Res. Rev. Biol. 19: 1-14.
22. Ildiko, S.G., Klara, K.A., Marianna, T.M., Gnes, B.A., Zsuzsanna, M.B. and Balint, C. 2006. The effect of radio frequency heat treatment on nutritional and colloid-chemical properties of different white mustard (*Sinapis alba* L.) varieties. Innov. Food Sci. Emerging Technol. 7: 74-79.
23. Irfan, M., Hasan, S.A., Hayat, S. and Ahmad, A. 2015. Photosynthetic variation and yield attributes of two mustard varieties against cadmium phytotoxicity. Cog. Food Agric. 1: 1106186.
24. Kim, Y.A., Kong, C.S., Um, Y.R., Lim, S.Y., Yea, S.S. and Seo, Y. 2009. Evaluation of *Salicornia herbacea* as a potential antioxidant and anti-inflammatory agent. J. Med. Food. 12: 661-668.
25. Kuo, C.L., Chao, Y.Y. and Kao, C.H. 2011. Heat shock pretreatment suppresses cadmium induced ammonium ion accumulation and phenylalanine ammonia-lyase activity in rice seedling leaves. Bot. Stud. 52: 471-478.
26. Küpper, H., Küpper, F. and Spiller, M. 1998. In situ detection of heavy metal substituted chlorophylls in water plants. Photosynthesis Res. 58: 123-133.
27. Liu, D.H., Jiang, W.S. and Hou, W.Q. 2006. Uptake and accumulation of cadmium by roots and shoots of maize (*Zea mays* L.). Pak. J. Bot. 38: 701-709.
28. Ma, Y., Rajkumar, M. and Freitas, H. 2009. Isolation and characterization of Ni mobilizing PGPB from serpentine soils and their potential in promoting plant growth and Ni accumulation by *Brassica* spp. Chemosphere. 75: 719-725.
29. Mancinelli, A.L. 1984. Photoregulation of anthocyanin synthesis. Plant Physiol. 75: 447-453.
30. Mishra, A., Benham, B.L. and Mostaghimi, S. 2006. Sediment and nutrient losses from field scale cropland plots treated with animal manure and nitrogen fertilizer. Water Air Soil Pollut. 175: 61-67.
31. Mysliwa-Kurdziel, B., Prasad, M.N.V. and Strzalka, K. 2004. Photosynthesis in heavy metal stressed plants. P 47–119, In: M.N.V. Prasad (Eds), Heavy metal stress in plants, from biomolecules to ecosystems. New Delhi, Springer-Verlag. Heidelberg, Narosa.
32. Nazarbeygi, E., Lari Yazdi, H., Naseri, R. and Soleimani, R. 2011. The effects of different levels of salinity on proline and A-, B- chlorophylls in canola. Am-Eur J. Agric. Environ. Sci. 10: 70-74.
33. Panda, S.K. 2003. Heavy metal phytotoxicity induces oxidative stress in a moss, Taxithellium sp. Curr. Sci. 84: 631-633.
34. Rady, M.M. and Mohamed, G.F. 2015. Modulation of salt stress effects on the growth, physio-chemical attributes and yields of *Phaseolus vulgaris* L. plants by the combined application of salicylic acid and *Moringa oleifera* leaf extract. Sci. Hort. 193: 105-113.
35. Rafati Rahimzadeh, M., Rafati Rahimzadeh, M., Kazemi, S. and Moghadamnia, A.A. 2014. Current approaches of the management of mercury poisoning: need of the hour. DARU. 22: 46.
36. Rajkumar, M., Sandhya, S., Prasad, M.N.V. and Freitas, H. 2012. Perspectives of plant associated microbes in heavy metal phytoremediation. Biotechnol. Adv. 30: 1562-1574.
37. Rizza, F., Crossatti, C., Stancan, M. and Cattevelli, L. 1994. Studies for assessing the influences of hardening on cold tolerance of barley genotypes. Euphytica. 75: 131-138.

38. Sharma, A. and Dhiman, A. 2014. Nickel and cadmium toxicity in plants. J. Pharm. Sci. Innov. 2: 20-24.
39. Sheligl, H.Q. 1986. Die verwertung orgngischer souren durch chlorella lincht. Planta J. 47-51.
40. Shi, G.R., Cai, Q.S., Liu, Q.Q. and Wu, L. 2009. Salicylic acid-mediated alleviation of cadmium toxicity in hemp plants in relation to cadmium uptake, photosynthesis, and antioxidant enzymes. Acta Physiol. Plant. 31: 969-977.
41. Siddiqui, M.H., Mohammad, F., Khan, M.M.A. and Al-Whaibi, M.H. 2011. Cumulative effect of nitrogen and sulphur on *Brassica juncea* L. genotypes under NaCl stress. Protoplasma.
42. Slinkard, K. and Singleton, V.L. 1977. Total phenol analyses: Automation and Comparison with Manual Methods. Am. J. Enol. Viticult. 28: 49-55.
43. Strzałka, K., Kostecka-Gugała, A. and Latowski, D. 2003. Carotenoids and environmental stress in plants: significance of carotenoid-mediated modulation of membrane physical properties. Russ. J. Plant Physiol. 50: 168-173.
44. Szepesi, A. 2006. Salicylic acid improves the acclimation of *Lycopersicon esculentum Mill.* L. to high salinity by approximating its salt stress response to that of the wild species L. *Pennellii*". Acta Biol. Szegediensis. 50: 177.
45. Upreti, K.K. and Sharma, M. 2016. Role of plant growth regulators in abiotic stress tolerance. Abiotic Stress Physiol. Hortic. Crops. 58: 19-47.
46. Vafadar, R., Ghavidel, A., Goli Kalanpa, E. and Soltani, A.A. 2017. The effect of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida* on some soil biological properties and plant growth indices of wheat under salt stress. J. agric. Sci. Sust. Prod. 27: 65-79.
47. Valentovic, P., Luxova, M., Kolarovi, L. and Gasparikora, O. 2006. Effect of osmotic stress on compatible solutes content, memberane stability and water relation in two maizes. Plant Soil Environ. 52: 186-191.
48. Vardhini, B.V. 2013. Brassinosteroids, role for amino acids, peptides and amines modulation in stressed plants- A review. P 300-316, In: N.A. Anjum, S.S. Gill and R. Gill (Eds.), Plant adaptation to environmental change: Significance of amino acids and their derivatives. International of Nosworthy Way, Wallingford OX10 8DE, United Kingdom.
49. Walker, V., Bertrand, C., Bellvert, F., Moënne-Loccoz, Y., Bally, R. and Comte, G. 2011. Host plant secondary metabolite profiling shows a complex, strain-dependent response of maize to plant growth-promoting rhizobacteria of the genus *Azospirillum*. New Phytol. 189: 494-506.
50. Walker, V., Couillerot, O., Von Felten, A., Bellvert, F., Jansa, J. and Maurhofer, M. 2012. Variation of secondary metabolite levels in maize seedling roots induced by inoculation with *Azospirillum*, *Pseudomonas* and *Glomus* consortium under field conditions. Plant Soil. 356: 151-163.
51. Xu, W., Peng, H., Yang, T., Whitaker, B., Huang, L. and Sun, J. 2014. Effect of calcium on strawberry fruit flavonoid pathway gene expression and anthocyanin accumulation. Plant Physiol. Biochem. 82: 289-298.
52. Zhang, Z., Xuequn, P., Yang, C., Ji, Z. and Jiang, Y. 2004. Purification and structural analysis of anthocyanins from litchi pericarp. Food Chem. 84: 601-604.
53. Zhang, F., Zhang, H., Xia, Y. and Wang, G. 2011. Exogenous application of salicylic acid alleviates cadmium toxicity and reduces hydrogen peroxide accumulation in root apoplasts of *Phaseolus aureus* and *Vicia sativa*. Plant Cell Reports. 30: 1475-1483.
54. Zhishen, J., Mengcheng, T. and Jianming, W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chem. 64: 555-559.