

The Effect of Biofilm Forming Growth Promoting Bacterium and Tryptophan on Root Characteristics of Rye and their Relationship with Root Cadmium Accumulation

Esmaeil Karimi^{1*}, Shokofeh Mohammadi², Ezzat Allah Esfandyari³

Received: April 26, 2021 Accepted: October 10, 2021

1- Assist. Prof., Dept. of Soil Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Iran.

2- Former MSc. Dept. of Soil Science and Engineering, Faculty of Agriculture University of Maragheh, Iran.

3- Prof., Dept. of Plant Production Engineering and Genetics, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Iran.

*Corresponding Author Email: Email: sm_ka80@yahoo.com

Background & Objective: Auxin producing plant growth-promoting bacteria can prevent the entry of heavy elements such as cadmium into the aerial section of plants. This issue was investigated using *Bacillus atrophaeus* in the presence and absence of tryptophan by inoculation of rye under cadmium contamination.

Materials and Methods: This experiment with 12 treatments including two bacterial levels (inoculation with *B. atrophaeus* and non-inoculation), two levels of the tryptophan amino acid (application and non-application) and three cadmium levels (zero, 50 and 100 mg.L⁻¹) was performed as hydroponic culture with rye culture in factorial experiment with randomized complete design.

Results: The results showed that the co-application of tryptophan with bacterial inoculation of rye as a superior treatment reduced the entry of cadmium into its aerial section by 53 and 37% compared to the control treatment respectively at 50 and 100 mg.L⁻¹ of cadmium. Also, the highest amount of cadmium accumulation in the roots, especially at the level of 100 mg.L⁻¹ cadmium, was 2 times higher than the control treatment. The study of root characteristics also showed that there is the highest correlation between root cadmium concentration and root surface density and root surface density characteristics ($r^2=0.87$).

Conclusion: In order to reduce the entry of cadmium into the shoots of rye, *B. atrophaeus* can be inoculated alone or with the addition of tryptophan. Due to the high accumulation of cadmium in the roots, this compound can be used in the cadmium phyto-stabilization process.

Keywords: Bacterial Biofilm, Heavy Metal, Root Length, Root Tissue Density, Root Volume

تأثیر باکتری محرک رشد بیوفیلمی و تریپتوفان بر خصوصیات ریشه گیاه چاودار و ارتباط آنها با تجمع کادمیوم در ریشه

اسماعیل کریمی^{۱*}، شکوفه محمدی^۲، عزت اله اسفندیاری^۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۲/۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۷/۱۸

۱- استادیار گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

۲- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

۳- استاد گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

*مسئول مکاتبه: Email: sm_ka80@yahoo.com

چکیده

اهداف: باکتری‌های محرک رشد گیاهان با توانایی تولید اکسین می‌توانند مانع ورود عناصر سنگین از جمله کادمیوم به اندام‌های هوایی گیاهان گردند. این موضوع، با استفاده از باکتری *Bacillus atrophaeus* در حضور و عدم حضور تریپتوفان به عنوان پیش ماده سنتز اکسین با مایه‌زنی گیاه چاودار در شرایط آلودگی کادمیوم بررسی گردید.

مواد و روش‌ها: این آزمایش با ۱۲ تیمار شامل دو سطح باکتریایی (مایه‌زنی با *B. atrophaeus* و عدم مایه‌زنی)، اسید آمینه تریپتوفان در دو سطح (۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و عدم کاربرد) و سه سطح کادمیوم (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) به صورت هیدروپونیک با کشت گیاه چاودار در قالب آزمایش فاکتوریل با طرح کامل تصادفی اجرا شد.

یافته‌ها: نتایج نشان دادند که کاربرد تلفیقی تریپتوفان به همراه مایه‌زنی باکتریایی چاودار به عنوان تیمار برتر به ترتیب در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم باعث کاهش ۵۳ و ۳۷ درصدی ورود کادمیوم به اندام‌های هوایی آن در مقایسه با تیمار شاهد شد. در مقابل بیشترین میزان تجمع کادمیوم با دو برابر افزایش نسبت به تیمار شاهد در ریشه‌ها در سطح ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم مشاهده گردید. تیمارهای آزمایشی توانستند بر اغلب صفات مورد بررسی ریشه تأثیر معنی‌داری داشته باشند و مطالعه ارتباط بین غلظت کادمیوم و ویژگی‌های ریشه نشان داد که تجمع کادمیوم در ریشه تحت تأثیر این تغییرات بوده و بیشترین همبستگی آن با سطح ریشه و چگالی سطح ریشه ($r^2=0/87$) می‌باشد.

نتیجه‌گیری: با توجه به تأثیر مایه‌زنی باکتری *Bacillus atrophaeus* به تنهایی یا به همراه افزودن تریپتوفان در تجمع بالای کادمیوم در ریشه چاودار می‌توان از چاودار همراه با این تیمارها به منظور استفاده در فرآیند گیاه تثبیتی کادمیوم و جلوگیری از ورود آن به اندام هوایی گیاه چاودار بهره گرفت.

واژه های کلیدی: بیوفیلیم باکتریایی، چگالی بافت ریشه، حجم ریشه، طول ریشه، عنصر سنگین

مقدمه

بوده و تهدیدی جدی برای ادامه زندگی موجودات زنده محسوب می‌گردد. این فلز که اغلب از طریق فعالیت‌های صنعتی مانند تصفیه، استخراج و تولید پلاستیک و حتی

آلودگی خاک با فلزات سنگین به‌ویژه کادمیوم یکی از مهمترین چالش‌های زیست محیطی در سطح جهان

به شکل ناخالصی از طریق کودهای شیمیایی در خاک رها می‌شود (رحمان و همکاران ۲۰۱۹) در محیط زیست غیرقابل تجزیه بوده و بنابراین استمرار ورود این فلز منجر به تجمع و افزایش غلظت آن در خاک خواهد شد. این فلز در صورت ورود به سیستم‌های بیولوژیکی با هدف قرار دادن آنزیم‌های کلیدی در بدن جانداران فعالیت‌های متابولیسمی آنها را مختل و در نهایت موجب ناتوانی و مرگ آنها خواهد گردید. با توجه به نیازهای صنعتی جوامع رو به رشد بشری که مهمترین منبع تولید آلودگی هستند، علی‌رغم تمام تلاش‌ها در جلوگیری از گسترش آلودگی آن، احتمال افزایش آلودگی‌ها دور از ذهن نبوده و لازم است راهکارهای جلوگیری از ورود آن به زنجیره غذایی به صورت جدی مورد بررسی قرار گیرد (بهمن و همکاران ۲۰۱۹). اهمیت این امر زمانی آشکارتر می‌شود که مسئله امنیت غذایی نیز مورد توجه قرار گیرد، چرا که بر طبق پیش‌بینی‌های صورت گرفته تا سال ۲۰۵۰ حدود ۷۰ درصد تقاضا برای غذا با محوریت غلات جهت تامین غذای جمعیت جهان افزایش خواهد یافت (ویتال و همکاران ۲۰۲۰). به سبب محدودیت زمین‌های قابل کشت، کشت گیاهان زراعی در خاک‌های آلوده به عناصر سنگین و یا با توجه به محدودیت منابع آبی، استفاده از آب‌های آلوده به عناصر سنگین برای آبیاری محصولات کشاورزی اجتناب ناپذیر خواهد بود (عابدی و مجیری ۲۰۲۰).

نتیجه تحقیقات نشان داده است که کاربرد کودهای سولفوردار، استفاده از سیلیسیم، کاربرد عنصر روی و اصلاح کننده‌های آلی در خاک‌های آلوده می‌توانند در خصوص جلوگیری و یا کاهش ورود عناصر سنگین به گیاهان موثر واقع شوند (عابدی و مجیری ۲۰۲۰). موضوعی که اخیراً در کانون توجه اینگونه مطالعات قرار گرفته است استفاده از پتانسیل میکروبی خاک به‌ویژه تأثیر ریزوباکتری‌ها (PGPR) است. گزارشات علمی منتشر شده بیانگر کارآمدی بالای این روش جهت جلوگیری از ورود عناصر سنگین به اندام‌های هوایی گیاهان در شرایط آلوده می‌باشند. خانا و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که تلقیح گیاهان *Brassica* و *Sorghum halepense* و *Luffa cylindrica juncea*

با باکتری *باسیلوس مگاتریوم* توانست جذب و انتقال فلز سنگین نیکل را کاهش دهد. همچنین، تلقیح با *Neorhizobium huautlense* T1-17 علاوه بر بهبود رشد تربچه و کلم چینی در حضور کادمیوم، جذب و تجمع این عنصر در این گیاهان را کاهش داد. مکانیسم‌های عمل باکتری‌ها برای انجام اینکار بسیار متعدد هستند، راجکومار و همکاران (۲۰۱۳) یکی از دلایل این امر را تولید هورمون اکسین توسط اینگونه باکتری‌عنوان می‌کنند چرا که اکسین با دخالت در ایجاد لیگاند‌هایی که قادرند با اتصال به کادمیوم، موجب ترسیب آن در ریشه شده و مانع انتقال به اندام‌های هوایی شوند. علاوه بر این، مقادیر بالای کادمیوم موجب اختلال در بیوسنتز و عملکرد پروتئین‌های مسئول انتقال و توزیع اکسین در گیاه، افزایش تولید اتیلن (راجکومار و همکاران ۲۰۱۳) و افزایش تولید اکسید نیتریک (یانگ و هونگ ۲۰۱۶) تولید و توزیع هورمون اکسین در گیاه را مختل می‌نماید. کاربرد اکسین خارجی می‌تواند محدودیت‌های متابولیسمی ایجاد شده در بیوسنتز اکسین در اثر تجمع کادمیوم را برطرف نموده و از تأثیر منفی این عنصر بر گیاه بکاهد. افزایش ماده خشک ریشه و اندام‌های هوایی آفتابگردان در یک خاک آلوده به سرب پس از افزودن فیتوهورمون ایندول استیک اسید مشاهده شده است (لیپادزی و همکاران ۲۰۰۶). همچنین، تأثیر مثبت ایندول استیک اسید خارجی بر رشد *Brassica juncea* در مقادیر بالای آرسنیک گزارش شده است (سرویستاوا و همکاران ۲۰۱۳). فاروق و همکاران (۲۰۱۵) 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 بخش‌های هوایی شده است.

تریپتوفان پیش‌ماده ساخت هورمون اکسین در گیاهان و باکتری‌های موجود در ریزوسفر است (دال کورسو و همکاران ۲۰۱۹). بخش قابل توجهی از تریپتوفان مورد نیاز ریزوباکتری‌ها از هیدرولیز پروتئین‌های موجود در ماده آلی خاک و بخش کمی نیز از ترشحات ریشه تامین می‌شود و مشخص شده که نوع

۵۲-۱ *Bacillus simplex* 1، استفاده شد (کریمی و همکاران ۲۰۱۹). باکتری‌های مذکور از ریزوسفر گرامینه‌های علفی و غیرزراعی منطقه هشتروند واقع در استان آذربایجان شرقی جداسازی شده و در مجموعه باکتریایی آزمایشگاه بیولوژی خاک دانشگاه مراغه نگهداری می‌شوند.

برای ارزیابی مقاومت باکتری‌های مورد مطالعه به کادمیوم، محیط کشت نوترینت آگار محتوی مقادیر صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر کادمیوم از منبع کلرید کادمیوم تهیه و باکتری‌ها به صورت نقطه‌ای در آنها کشت گردیدند. ظروف کشت باکتری‌ها به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی-گراد نگهداری شده و رشد کلنی‌ها به صورت چشمی مورد ارزیابی قرار گرفت.

اندازه‌گیری میزان تولید اکسین توسط باکتری‌ها در محیط کشت LB و در حضور ترشحات ریشه چاودار
مقدار ۲۰۰ میکرولیتر از باکتری‌های ۱۲ ساعت کشت شده در محیط LB مایع، به محیط کشت‌های LB و عصاره استریل ریشه که یک سری حاوی ۵ میلی‌مولار تریپتوفان و سری بعدی که فاقد آن بودند، به صورت جداگانه منتقل شده و پس از ۷۲ ساعت میزان تولید اکسین با استفاده از معرف سالکوفسکی (شامل ۱۵۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ، ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۵/۷ میلی‌لیتر کلرید آهن $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) نیم‌مولار) با استفاده از اسپکتروفتومتر، در طول موج ۵۳۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. از ایندول استیک اسید به عنوان استاندارد استفاده گردید.

مطالعات گلخانه‌ای

ادامه پژوهش با استفاده از باکتری *Bacillus atrophaeus* 54-1 به همراه تریپتوفان (با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) انجام گرفت. در این مرحله به منظور بررسی تاثیر کاربرد اسید آمینه تریپتوفان به همراه حضور باکتری محرک رشد در جذب کادمیوم توسط چاودار، آزمایش گلدانی و هیدروپونیک به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کامل تصادفی در چهار تکرار و با

باکتری و گیاه میزبان به همراه میزان وجود تریپتوفان بر مقدار تولید اکسین اثرگذار هستند. مصطفی و همکاران (۲۰۱۸) گزارش نمودند که بین میزان تریپتوفان موجود و اکسین تولید شده ارتباط مستقیم وجود دارد. دسوزا و همکاران (۲۰۱۵) نیز گزارش نموده‌اند که افزودن تریپتوفان به خاک می‌تواند باعث افزایش تولید اکسین توسط PGPRها شود. پائین بودن ماده آلی خاک و یا هر فاکتور اثرگذار بر تامین کافی تریپتوفان می‌تواند تولید اکسین توسط ریزوباکترها را با محدودیت مواجه نماید. با توجه به مطالب ذکر شده به نظر می‌رسد که بتوان با عرضه تریپتوفان به خاک در راستای رفع اختلال ایجاد شده در بیوسنتز اکسین در پی تجمع کادمیوم استفاده نمود.

علاوه بر 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 بهره برداری می‌کنند. تشکیل بیوفیلم باکتریایی در سطح ریشه گیاهان همچنین می‌تواند با جذب فلزات مانع ورود آنها به ریشه گیاه شود، لذا، می‌توان از اینگونه باکتری‌ها جهت تلقیح به گیاهان در شرایط آلودگی برای جلوگیری از ورود فلز به اندامهای هوایی بهره‌برداری نمود (وربورگان و همکاران ۲۰۰۹).

در این مطالعه سعی شده است تا تاثیر افزودن تریپتوفان به خاک به همراه باکتری بیوفیلمی مولد اکسین (*Bacillus atrophaeus* 54-1) بر جذب کادمیوم و انتقال آن به بخش هوایی در گیاه چاودار (*Secale cereale* L.) به عنوان یک گیاه مهم در تغذیه انسان و دام مورد مطالعه قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

انتخاب باکتری و ارزیابی مقاومت آن‌ها به فلز کادمیوم

در این مطالعه چهار باکتری با قابلیت تولید بالای اکسین میکروبی با اسامی *Bacillus simplex* 32-1، *Bacillus simplex* 40-1، *Bacillus atrophaeus* 54-

احتمالی کادمیوم توسط زه آب گلدانها به سایر آنها تمامی گلدانها دارای زیر گلدانی بودند.

اندازه‌گیری خصوصیات ریشه چاودار

پس از اتمام آزمایش پرلایت گلدانها به آرامی خارج شده و پس از تکاندن ملایم ریشه‌ها، در داخل غربال با فشار آب شهری کاملاً تمیز شسته شده و آب اضافی ریشه‌ها با دستمال کاغذی گرفته شد. وزن تر ریشه‌ها با ترازوی دقیق تعیین شده و حجم ریشه‌ها با انداختن ریشه تازه در حجم مشخصی از آب در درون استوانه مدرج و تفاوت حجم اولیه با حجم ثانویه بدست آمد. سپس ریشه‌ها در داخل آون با دمای ۷۰ درجه سانتی-گراد قرار گرفته و پس از ۲۴ ساعت جهت اندازه‌گیری وزن خشک ریشه، با ترازو توزین شدند. سایر خصوصیات ریشه به شرح زیر محاسبه گردید (اخوان و همکاران ۱۳۹۱):

تیمارهای زیر انجام شد: سه سطح کادمیوم (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر)، دو سطح تیمار باکتریایی (مایه-زنی باکتری *B. atrophaeus* 54-1 و عدم مایه‌زنی) و دو سطح اسید آمینه تریپتوفان (عدم کاربرد و کاربرد با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) (اعتصامی و همکاران ۲۰۰۹). پرلایت مورد استفاده در کشت هیدروپونیک با اتوکلاو استریل شده و بذور چاودار گندزدایی شده (به-مدت ۱۰ دقیقه در وایتکس ۲ درصد و سپس ۴۰ ثانیه در الکل ۷۰ درصد) پس از مایه‌زنی با باکتری در این بستر کشت شدند. محلول هوگلند برای آبیاری و تغذیه استفاده گردیده و پس از ظهور جوانه‌ها و یکسان سازی تعداد بوته‌ها در تمامی گلدانها (۷ روز پس از شروع آزمایش) تیمارهای عنوان شده با افزودن عنصر سنگین کادمیوم و تریپتوفان همراه با محلول هوگلند اعمال شدند. تنظیم رطوبت گلدانها به‌صورت وزنی و با ترازو با دقت بالا انجام شد. لازم به ذکر است که جهت جلوگیری از ورود

$$\text{رابطه (۱)} \quad \text{حجم ریشه (cm}^3\text{)} \div \text{وزن خشک ریشه (g)} = \text{چگالی بافت ریشه (g.cm}^{-3}\text{)}$$

$$\text{رابطه (۲)} \quad \text{طول ریشه (m)} \times 0.89 = \text{وزن ریشه (g)}$$

$$\text{رابطه (۳)} \quad \text{طول ریشه (cm)} \times \pi \times \text{حجم ریشه (cm}^3\text{)} = \text{سطح ریشه (cm}^2\text{)}$$

$$\text{رابطه (۴)} \quad \text{طول ریشه (m)} \times \pi \div \text{وزن تر ریشه (g)} \times 4 = \text{قطر ریشه (mm)}$$

$$\text{رابطه (۵)} \quad \text{طول ریشه (m)} \times \text{قطر ریشه (mm)} = \text{چگالی سطح ریشه (cm}^2\text{.cm}^{-3}\text{)}$$

از هضم با روش تر، غلظت کادمیوم در این بافت‌ها با دستگاه جذب اتمی مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. داده‌های به دست آمده از این تحقیق پس از آزمون نرمال بودن داده‌ها با استفاده از نرم افزار MSTATC تجزیه آماری شدند. مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

اندازه‌گیری وزن تر و خشک اندام‌های هوایی

برای این منظور اندام هوایی گیاه (ساقه، سنبله و برگ) در دمای ۶۰ تا ۷۰ درجه سانتی‌گراد در آون خشک شده و سپس با ترازوی دقیق توزین گردیدند.

اندازه‌گیری میزان کادمیوم در ریشه و اندام چاودار

برای این منظور مقدار ۰/۵ گرم ماده خشک کل ریشه و کل اندام هوایی به‌صورت جداگانه برداشت شده و پس

¹ Root tissue density

² Root length

³ Root surface

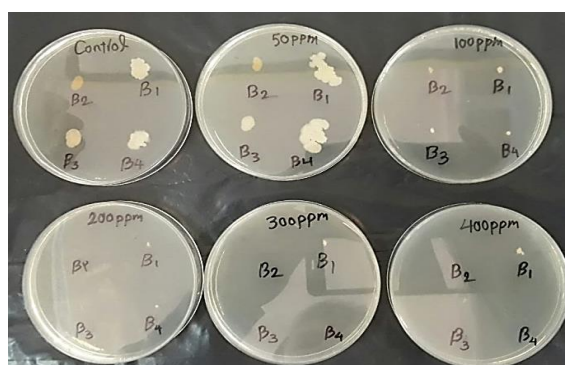
⁴ Root diameter

⁵ Root surface area density

نتایج و بحث

ارزیابی مقاومت به فلزات سنگین در باکتری‌های مورد استفاده

باکتری‌ها در غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر کادمیوم به خوبی رشد کردند. اما در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر کادمیوم رشد آنها بسیار کم شده و حتی در غلظت‌های ۳۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر این فلز، باکتری‌های مورد مطالعه نتوانستند رشد کنند (شکل ۱). بر اساس ارزیابی‌های چشمی از اشکال کلنی باکتری‌ها دو باکتری



شکل ۱- ارزیابی توانایی رشد باکتری‌ها مورد مطالعه در محیط کشت NA حاوی غلظت‌های مختلف کادمیوم (صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر کادمیوم). B1 باکتری 32-1 *B. simplex*، B2 باکتری 40-1 *B. simplex*، B3 باکتری 52-2 *B. simplex* و B4 باکتری 54-1 *B. atrophaeus* می‌باشد.

ارزیابی تولید اکسین توسط باکتری‌های منتخب در حضور ترشحات ریشه گیاه چاودار

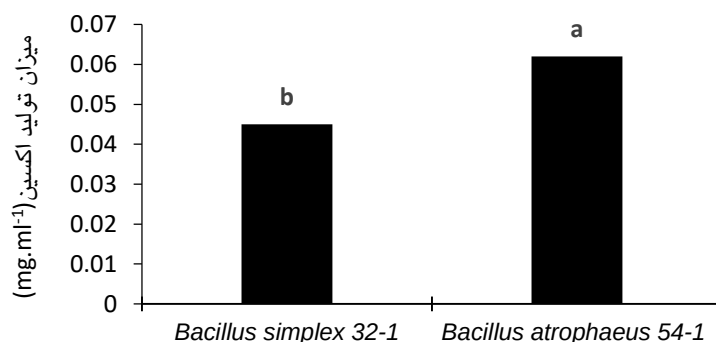
میزان تولید اکسین بطور معنی‌داری تحت تاثیر نوع باکتری و محیط کشت در سطح احتمال یک درصد قرار گرفت (جدول ۱). مقایسه میانگین تیمارهای آزمایشی نشان داد که بیشترین میزان اکسین در حضور باکتری 54-1 *B. atrophaeus* تولید گردید که نسبت به باکتری

32-1 *B. simplex* ۳۷/۷ درصد اکسین بیشتری را تولید کرد (شکل ۲). همچنین، در بین محیط‌های کشت، در محیط کشت شامل ترشحات ریشه چاودار به همراه تریپتوفان ۹۰/۶ درصد اکسین بیشتر نسبت به محیط کشت LB به همراه تریپتوفان تولید شد (شکل ۳).

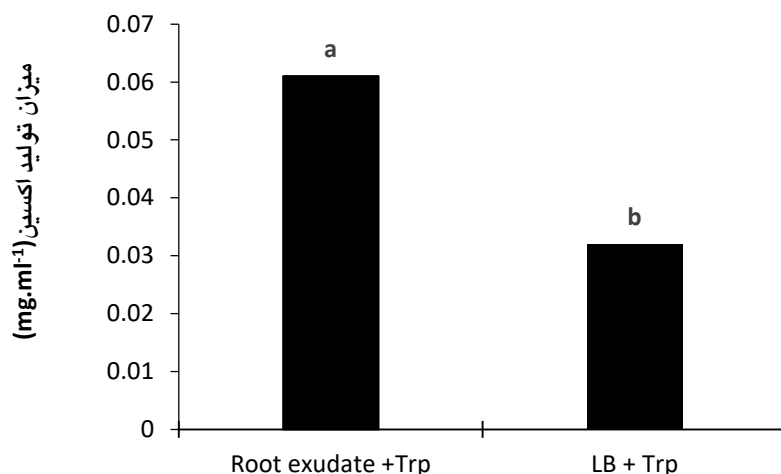
جدول ۱- تجزیه واریانس اثر سویه‌های مختلف باکتری *باسیلوس* و محیط کشت بر میزان تولید اکسین

میانگین مربعات		منابع تغییر
میزان اکسین	درجه آزادی	
۰/۰۰۱**	۲	سویه ی باکتری
۰/۰۰۳**	۱	محیط کشت
۰/۰۰۲ ^{ns}	۲	باکتری × محیط کشت
۰/۰۰۰۱	۱۲	خطا
۲۵/۲		ضریب تغییرات (%)

** معنی‌دار در سطح یک درصد، * معنی‌دار در سطح پنج درصد و ^{ns} غیر معنی‌دار می باشد.



شکل ۲- میزان تولید اکسین توسط باکتری‌های *B. simplex* 32-1 و *B. atrophaeus* 54-1 در حضور تریپتوفان با غلظت ۵ میلی‌مولار

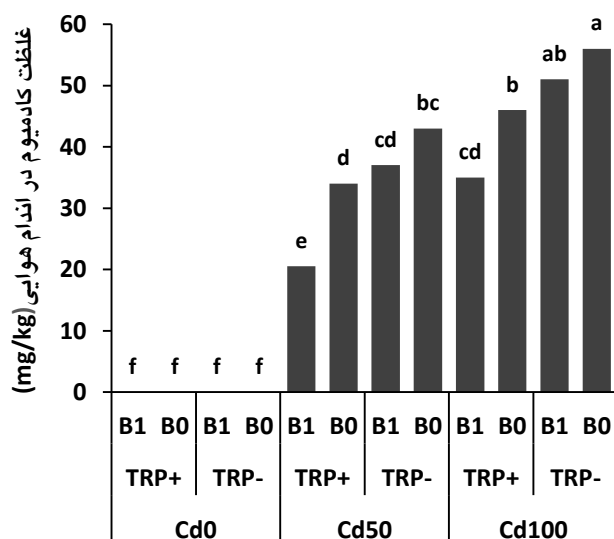


شکل ۳- میزان تولید اکسین باکتریایی در محیط کشت‌های مختلف در حضور تریپتوفان با غلظت ۵ میلی‌مولار

تریپتوفان طبیعی به نظر می‌رسد. بر طبق نظر محققان ۱۰ تا ۴۰ درصد تولیدات فتوسنتزی گیاه، به صورت ترشحات ریشه، از ریشه گیاه دفع می‌گردد که این مواد بخوبی می‌توانند رشد باکتری را حمایت کنند و بواسطه وجود این ترشحات، محیط ریزوسفر گیاهان در خاک یکی از غنی‌ترین محیط‌ها برای رشد میکروب‌های خاک به شمار می‌رود (مو ۲۰۱۳). نتایج این مطالعه نشان داد که اگر چه ترشحات ریشه چاودار بخوبی می‌تواند موجبات رشد باکتری‌ها را فراهم کند اما تولید اکسین زمانی مشاهده گردید که تریپتوفان در اختیار باکتری قرار گرفت و به همین دلیل احتمال اینکه تریپتوفان در

ارزیابی انجام شده در خصوص توانایی تولید اکسین توسط باکتری‌های مورد مطالعه نشان داد که اکسین در محیط کشت LB زمانی تولید می‌شود که تریپتوفان به آن افزوده گردد. هیچکدام از باکتری‌ها قادر نبودند در محیط کشت LB فاقد تریپتوفان اکسین تولید کنند (شکل ۲). نتیجه مشابهی نیز در محیط ترشحات ریشه به‌عنوان شبیه سازی شرایط واقعی به دست آمد و اکسین زمانی توسط باکتری‌ها تولید شد که تریپتوفان در اختیار آنها قرار گرفت (شکل ۲). از آنجایی که تریپتوفان در اغلب موارد پیش ماده ساخت اکسین می‌باشد (احمد و کیبرت ۲۰۱۴). بنابراین، عدم تولید آن در شرایط بدون

صفر کاربرد آن، صفر بوده و کادمیوم در ریشه و اندام هوایی مشاهده نشد. در سطح ۵۰ میلی گرم بر لیتر کادمیوم، اگر چه غلظت کادمیوم در ریشه در تیمارهای آزمایشی تغییرات معنی داری را نشان نداد ولی غلظت کادمیوم در اندام هوایی چاودار به طرز محسوسی در تیمار تریپتوفان به همراه مایه زنی باکتریایی در مقایسه با سایر تیمارها کاهش یافت. در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر کادمیوم، بیشترین میزان کادمیوم در ریشه در تیمارهای باکتریایی مشاهده گردید که در حضور تریپتوفان نسبت به عدم حضور آن این میزان زیادتیر شده بود. نظیر آنچه که در سطح ۵۰ میلی گرم بر لیتر کادمیوم در اندام هوایی چاودار مشاهده شد، کمترین میزان کادمیوم در این غلظت از کادمیوم در تیمار مایه زنی باکتری به همراه کاربرد تریپتوفان اتفاق افتاد.

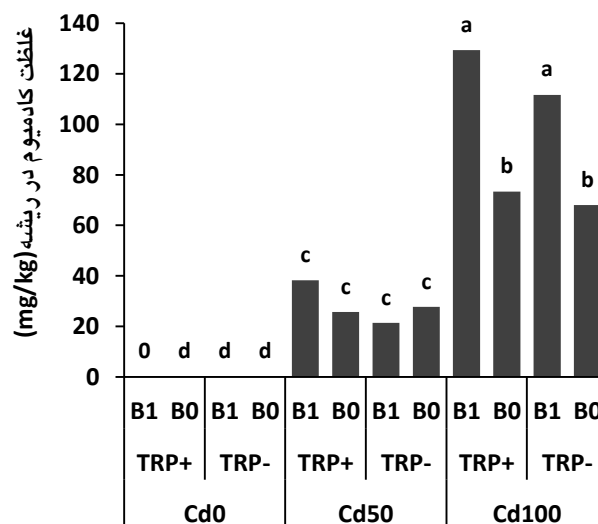


ترشحات ریشه چاودار وجود نداشته باشد، بالا می باشد، که همسو با نتیجه مطالعات کاوازاکی و همکاران (کاوازاکی و همکاران ۲۰۱۶) مبنی بر عدم ترشح تریپتوفان از ریشه گیاه می باشد. با استناد به یافته های این بخش باکتری 54-1 *B. atrophaeus* جهت انجام آزمون گلخانه ای انتخاب شد.

مطالعات گلخانه ای

تجمع کادمیوم در ریشه و ساقه

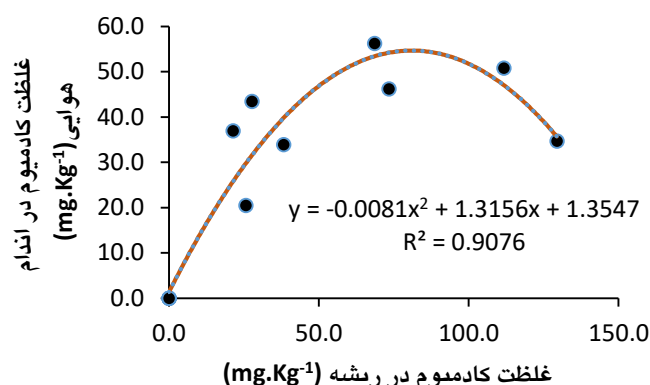
نتایج تجزیه واریانس داده ها نشان داد که تاثیر تیمارهای آزمایشی بر میزان جذب و تجمع کادمیوم در ریشه و ساقه معنی دار هستند (جدول ۲). بر اساس نتایج مقایسات میانگین (شکل ۴) با توجه به هیدروپونیک بودن کشت و استفاده از مواد خالص غلظت کادمیوم در سطح



شکل ۴- تاثیر تیمارهای آزمایشی بر روند تجمع کادمیوم در ریشه و اندام هوایی چاودار. Cd0، Cd50 و Cd100 به ترتیب بیانگر غلظت های صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر کادمیوم، (Trp+) و (Trp-) به ترتیب بیانگر غلظت صفر و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر تریپتوفان، B0 تیمار بدون مایه زنی باکتریایی و B1 باکتری (54-1 *B. atrophaeus*) می باشد. میانگین های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف آماری معنادار هستند.

می توانست ۹۰ درصد از تغییرات به وجود آمده در غلظت کادمیوم در اندام هوایی گیاه چاودار را با توجه به غلظت آن در ریشه توجیه نماید.

نتایج بررسی در شکل ۵ نشان داد که همبستگی بالایی میان جذب و تجمع کادمیوم در ریشه با میزان آن در ساقه وجود دارد. این رابطه از نوع درجه دوم بوده و



شکل ۵- رابطه رگرسیونی بین غلظت کادمیوم در ریشه با غلظت آن در ساقه گیاه چاودار

مقایسه با شرایط کنترلی این آزمایش باشد (۱/۸ برابر). متحرک سازی فلز سنگین در محیط، جذب از طریق ریشه، بارگیری در آوند چوبی، انتقال از ریشه به ساقه و در نهایت ترسیب درون سلولی مجموعه‌ای از فرآیندها در تجمع فلزات سنگین در گیاهان می‌باشند. فلزات ابتدا در سطح ریشه جذب شده و از طریق مسیرهای آپوپلاستیک (انتشار غیرفعال) و سیمپلاستیک (انتقال فعال در برابر شیب‌های بالقوه الکتروشیمیایی و غلظت در غشای پلاسما) به داخل ریشه نفوذ پیدا می‌کنند. مسیر سیمپلاستیک راه متداول جذب فلزات سنگین و وابسته به انرژی بوده که توسط حامل‌های یون فلزی صورت می‌گیرد. یون‌های فلزات سنگین پس از ورود به سلول‌های ریشه می‌توانند با کلاتوره‌های مختلف، مانند اسیدهای آلی، تشکیل کمپلکس داده و به اشکال کربنات، سولفات و فسفات ترسیب یافته و پس از آن در فضای خارج سلول (فضای آپوپلاستیک) یا فضاهای داخل سلولی (مانند واکوئل‌ها) بی‌حرکت شوند (کلمن و همکاران ۲۰۱۶). هورمون‌های گیاهی به عنوان پیام رسان‌های شیمیایی با تنظیمات بسیار پیچیده به گیاهان اجازه می‌دهند تا در طول رشد، انعطاف پذیری رشدی را حفظ کنند و از طریق مکانیسم‌های متعددی قادرند جذب، انتقال و ترسیب فلز سنگین در واکوئل بواسطه نقششان در تولید لیگاندهای فیتوکلاتین و متالوتیونین بر روند جذب فلز سنگین در گیاه پالایی تأثیر گذار باشند (کلمن و همکاران ۲۰۱۶). علاوه بر این ممانعت از ساخت کامل دیواره کاسپارین در سلول‌های ریشه و تغییر جریانات رایج ریشه از

وانگ و همکاران (۲۰۱۸) کاهش ۱۲ تا ۳۲ درصدی کادمیوم در اندام هوایی گندم و همچنین کاهش ۱۵ تا ۲۸ درصدی کاهش دسترسی کادمیوم در خاک ریزوسفری را توسط تلقیح باکتری‌های *Ralstonia eutropha* Q2-8 و *Exiguobacterium aurantiacum* Q3-11 گزارش کرده‌اند. جان و همکاران (۲۰۱۹) برای کاهش تجمع کادمیوم در برنج از باکتری‌های *Exiguobacterium indicum* SA22 و *Enterobacter ludwigii* SAK5 استفاده کردند. احمد و کیرت (۲۰۱۹) گزارش کرده‌اند که از *Rhizobium*، *Bradyrhizobium*، *Pseudomonas* و *Stenopothomonas acidaminiphila* می‌توان در کاهش تجمع فلز در گیاهان استفاده کرد. نتایج این تحقیق نیز نشان داد که در سطح کادمیوم ۵۰ میلی‌گرم در لیتر تیمارهای تلقیح باکتریایی، تریپتوفان، باکتری به همراه تریپتوفان به ترتیب تجمع کادمیوم در گیاه چاودار را ۱۴ درصد، ۲۱ درصد و ۵۳ درصد کاهش دادند. این مقادیر در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر کادمیوم به ترتیب برابر بودند با ۹، ۱۸ و ۳۷ درصد. صرف‌نظر از سایر مکانیسم‌های احتمالی مقاومت به فلزات سنگین در باکتری‌ها، بر طبق نتایج کریمی و همکاران (۲۰۱۹) باکتری *B. atrophaeus* 54-1 یک باکتری بیوفیلمی بوده و قادر به تولید بیوفیلم در ریزوسفر گیاهان حین فرآیند کلنیزاسیون ریشه گیاه می‌باشد. بنابراین، می‌تواند فلز را در سطح ریشه جمع نموده و مانع ورود آن به داخل گیاه گردد که می‌تواند بیانگر توجیه کادمیوم زیاد ریشه در

جریان سیمپلاستی به نفع جریان آپوپلاستی از اثرات هورمون اکسین می‌باشد (سرگین و ایوانو ۱۹۹۷). هورمون اکسین از پیش ماده تریتوفان توسط گیاه و باکتری تولید می‌شود. بنابراین، افزایش کادمیوم ریشه در اثر کاربرد تریتوفان و تریتوفان به همراه باکتری می‌تواند ناشی از این امر نیز باشد.

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر خصوصیات ریشه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها در جدول ۱ نشان داد که اثر متقابل کادمیوم×تریتوفان×باکتری بر ۹ ویژگی بررسی شده ریشه در این مطالعه شامل حجم ریشه، وزن تر ریشه، درصد رطوبت وزنی ریشه، سطح ریشه، قطر ریشه و چگالی ریشه در سطح احتمال یک درصد و بر چگالی بافت ریشه، وزن خشک ریشه و طول ریشه در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین‌ها تأثیر تیمارها بر ویژگی‌های ریشه در جدول ۳ نشان داده شده است. با توجه به اینکه تیمار کاربرد تلفیقی تریتوفان بعلاوه مایه‌زنی باکتریایی بیشترین میزان تجمع کادمیوم را دارا بود، بررسی داده‌ها نشان داد که بیشترین میزان درصد رطوبت وزنی ریشه، قطر ریشه و چگالی سطح ریشه در این تیمار مشاهده گردید. اگرچه این تیمار بر چگالی بافت ریشه در غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر کادمیوم تأثیر معنی‌داری نداشت. ولی در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم بیشترین مقدار این صفت مربوط به این تیمار بود. سطح ریشه در این تیمار نسبت به تیمار کنترل در غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر کادمیوم کاهش یافته بود ولی در تیمار ۱۰۰ کادمیوم روند افزایشی را نشان داد. طول ریشه در این تیمار نسبت به تیمار کنترل در سطح ۵۰ میلی‌گرم در لیتر کادمیوم کاهش یافته ولی در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر کادمیوم بر این ویژگی بی‌تأثیر بود. هرچند وزن تر و وزن خشک ریشه در این تیمار در تمامی سطوح کادمیوم نسبت به تیمار کنترلی هر سطح روندی کاهش را نشان داد، اما حجم ریشه در این تیمار در سطح ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر کادمیوم افزایش چشمگیری داشت (جدول ۳).

همبستگی میان صفات ریشه با تجمع کادمیوم در آن بررسی روابط بین ویژگی‌های ریشه با میزان کادمیوم انباشت شده در ریشه نشان داد (شکل ۶) که همبستگی بالایی میان آنها وجود دارد. این همبستگی خطی نبوده و به‌صورت توابع درجه دوم می‌باشد. کمترین ضریب همبستگی بین میزان کادمیوم با درصد رطوبت وزنی ریشه و قطر ریشه به ترتیب با مقادیر ۰/۴ و ۰/۴۲ بود و بیشترین همبستگی با خصوصیات سطح ریشه و چگالی سطح ریشه با مقادیر یکسان ۰/۸۷ مشاهده گردید.

ریشه‌ها نقشی حیاتی در جذب آب و مواد غذایی دارند و اولین نقطه برخورد گیاه با عنصر سنگین در خاک به شمار می‌روند. بنابراین اطلاع از رفتار ریشه و خصوصیات آن می‌تواند در زمینه جذب و تجمع فلزات سنگین موثر باشند، نه تنها در گزینش گیاه مناسب و اصلاح آن جهت کشت در زمین‌های آلوده به کادمیوم مهم به شمار می‌روند بلکه می‌تواند در تبیین مدل‌های کارآمد برای پیش‌بینی رفتار جذب گیاهان نیز مورد استفاده قرار گیرند. نتیجه قرار گرفتن گیاه در معرض تنش‌های مختلف محیطی مانند فلزات سنگین بروز اختلالات متابولیسمی و کاهش رشد قسمت‌های مختلف گیاه مانند ریشه گیاه خواهد بود (بگوم و همکاران ۲۰۱۹). اثرات تنش فلزات سنگین همچون تنش خشکی در سه مرحله بروز خواهند یافت که مرحله نخست در سطح ارگانیزمی بر بیومس و آلومتری ریشه گیاه خواهد بود، چرا که حفظ و توسعه ریشه نیازمند سرمایه‌گذاری متابولیکی بوده و می‌تواند بالغ بر ۵۰ درصد از مواد فتوسنتزی را مصرف کند (لامبرز و همکاران ۲۰۰۲). با کاهش میزان فتوسنتز و کاهش سهم ریشه از آسیمیلات‌ها، وزن تر و خشک ریشه نیز کاهش پیدا خواهد کرد (کرون و ویسر ۲۰۰۳) و نهایتاً موجب کاهش وزن خشک و تر ریشه خواهد شد، لذا کاهش ۲۵ درصدی وزن خشک ریشه تک بوته چاودار در این مطالعه (از ۰/۸۶ گرم به مقدار متوسط ۰/۶۴ گرم) در تیمارهای آلوده به کادمیوم دور از انتظار نخواهد بود. بروز تنش کادمیوم در گیاه چاودار وزن تر ریشه تک بوته چاودار در این

مطالعه را از ۹/۲۹ گرم به ۵/۵۸ گرم در سطح ۵۰ میلی-گرم در لیتر کادمیوم و ۴/۳۰ گرم در سطح ۱۰۰ میلی-گرم در لیتر کادمیوم کاهش داد. در نتیجه این تغییرات حجم ریشه تک بوته چاودار در این مطالعه از $5/75 \text{ gr.cm}^{-3}$ به رقم ۳/۵۰ در سطح ۵۰ میلی-گرم در لیتر کادمیوم و ۱/۸۸ در سطح ۱۰۰ میلی-گرم در لیتر کادمیوم کاهش یافت. دومین تغییر حاصل از اختلالات متابولیسمی در سطح اندامی بر قطر ریشه‌های ریز، طول ریشه، سطح ویژه ریشه و چگالی بافت ریشه خواهد بود. بر اساس نتایج این مطالعه درصد رطوبت وزنی ریشه که بیانگر شادابی و فعال بودن ریشه‌هاست، در شرایط تنش کادمیوم نسبت به تیمار کنترل ۲/۵ برابر کاهش یافت. چگالی بافت ریشه در شرایط تنش کادمیوم افزایش یافت و در سطح ۱۰۰ میلی-گرم در لیتر به میزان ۲/۴ برابر تیمار شاهد رسید. طول ریشه، سطح ریشه، چگالی سطح ریشه و قطر ریشه نیز در تیمارهای آلوده به کادمیوم به‌طور چشمگیری کاهش پیدا نمودند (جدول ۳). سومین مورد از تغییرات در سطح سلولی و بافتی بوده و مربوط به قطر آوندهای چوبی و ریشه‌ها است که در این مطالعه به دلیل محدودیت امکانات بررسی نگردیدند. بااین‌حال تغییرات در قطر آوندهای چوبی یکی از دلایل تغییرات در چگالی بافتی ریشه عنوان گردیده است (اسپری و همکاران ۲۰۰۳).

به‌طورکلی در شرایط تنش چندین خصوصیت مورفولوژیکی برای بخش‌های ریزودرشت ریشه گزارش شده است که منجر به افزایش تولید می‌گردد. به نظر می‌رسد خصوصیات کلیدی در این زمینه خصوصیات هستند که بر طول کل و میزان سطح ریشه تأثیر گذارند و شامل قطر ریشه، چگالی بافت ریشه، طول ویژه ریشه و سطح ویژه ریشه می‌باشند. در این ارتباط قطر ریشه

و چگالی بافت ریشه کنترل‌کننده طول و سطح سیستم ریشه‌ای برای مقدار مشخصی از زی‌توده اختصاص داده شده به ریشه می‌باشد (فورت و همکاران ۲۰۱۳) که مبنای معادلات استفاده شده در بخش مواد و روش‌ها قرار گرفته و تأثیر آنها نیز اعمال گردیده است. تیمارهای آزمایشی توانستند بر این صفات تأثیر داشته باشند و شدت این اثر و روند آن وابسته به غلظت کادمیوم بود. در آزمایش حاضر (جدول ۳)، چگالی بافت ریشه در تیمارهای مایه‌زنی شده با باکتری نسبت به شاهد بدون مایه‌زنی در تیمار ۵۰ میلی-گرم در لیتر کادمیوم افزایشی بوده و در شرایط کادمیوم ۱۰۰ میلی-گرم در لیتر این روند کاهشی بوده که می‌تواند گویای اتخاذ تدابیر متفاوت بسته به غلظت فلز و نهایتاً شدت تنش باشد. به‌عبارت‌دیگر، باکتری می‌تواند در شرایط سخت تنش باعث افزایش حجم در واحد بیومس ریشه گردند. دانشمندان علوم کشاورزی معتقدند که کمیت زیاد ریشه الزاماً به معنی فعالیت بیشتر ریشه نیست و آن چیزی که باعث تشدید فعالیت ریشه می‌گردد وجود ریشه‌های ریز می‌باشد (بیروست و همکاران ۲۰۰۳) که اثر تیمارهای آزمایشی از این لحاظ را می‌توان در خصوصیات مانند قطر ریشه، چگالی سطح ریشه و سطح ریشه در غلظت‌های مختلف کادمیوم مشاهده کرد (جدول ۳).

علی‌رغم عدم بررسی تغییرات فراساختاری و بافتی تیمارهای این مطالعه، مطالعات انجام شده توسط سایر محققان بیانگر اعمال تغییرات مذکور در تیمارهای بیولوژیکی هستند به‌عنوان مثال *Bacillus pumilus* INR7 قادر به افزایش رسوب لیگنین در بافت اپیدرمی ارزن است که درواقع نوعی پاسخ دفاعی گیاه به پاتوژن *Sclerospora graminicola* است (واشرون و همکاران ۲۰۱۳).

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر تیمارهای (کادمیوم، باکتری، تریپتوفان و اثرات متقابل آنها) بر خصوصیات مختلف ریشه چاودار

منابع تغییر	درجه آزادی	چگالی بافت	حجم	وزن تازه	وزن خشک	میانگین مربعات			
						رطوبت وزنی	طول	سطح	قطر
باکتری	۱	۰/۰۲۸**	۲/۷۵۵**	۶/۳۴۱**	۰/۰۰۳ ^{ns}	۱۹۸۴۵۶**	۰/۰۰۲۲ ^{ns}	۱/۳۲*	۱/۲۹**
تریپتوفان	۱	۰/۰۱۰**	۲/۲۹۷**	۵/۴۵۹**	۰/۲۶۰**	۴۷۲۴۰**	۰/۲۰۵**	۸/۳۶**	۲/۳۰**
کادمیوم	۲	۰/۱۲۶**	۶۲/۹۲**	۹۶/۲۹۴**	۰/۴۱۲**	۵۸۸۲۴۲**	۰/۳۲۶**	۷۰/۲**	۳/۵۷**
تریپتوفان × باکتری	۱	۰/۰۱۶**	۶/۰۹۲**	۳۱/۵۳۶**	۰/۰۰۰ ^{ns}	۵۶۸۸۴۹**	۰/۰۰۰ ^{ns}	۲/۷۳**	۳/۱۸**
کادمیوم × باکتری	۲	۰/۰۲۵**	۰/۸۷۶ ^{ns}	۴/۳۱۲**	۰/۰۱۱*	۷۱۰۸۳**	۰/۰۰۸**	۰/۱۵۲ ^{ns}	۰/۵۹۶**
تریپتوفان × کادمیوم	۲	۰/۰۰۴ ^{ns}	۲/۲۱۸**	۱/۴۱۸ ^{ns}	۰/۰۱۴**	۸۵۶۹۱**	۰/۰۱۱**	۱/۶۸**	۰/۵۵۲**
کادمیوم × تریپتوفان × باکتری	۲	۰/۰۰۵*	۳/۸۸۹**	۷/۶۸۸**	۰/۰۰۹*	۵۸۰۷۷**	۰/۰۰۷*	۱/۹۸**	۰/۲۲۷**
ضریب تغییرات (%)		۱۹	۲۸	۲۳	۲۱	۲۷	۲۱	۲۶	۲۱

ادامه جدول ۲-

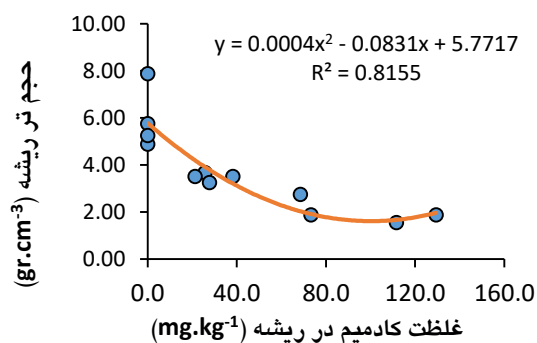
منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		غلظت کادمیوم در ریشه	غلظت کادمیوم در اندام هوایی
باکتری	۱	۲۸۰/۹**	۵۶/۴ ^{ns}
تریپتوفان	۱	۸۰۸/۴**	۲۷۶/۱*
کادمیوم	۲	۱۱۶۹۷/۴**	۸۷۵۷/۸**
تریپتوفان × باکتری	۱	۱۷/۹۷ ^{ns}	۳۸/۹۱ ^{ns}
کادمیوم × باکتری	۲	۱۳۴/۴**	۲۰۸/۴*
تریپتوفان × کادمیوم	۲	۸۲۱/۷**	۲۳۷/۷**
کادمیوم × تریپتوفان × باکتری	۲	۴۲/۵*	۱۰۲/۲ ^{ns}
ضریب تغییرات (%)		۱۱	۱۷

جدول ۳- تاثیر تیمارهای آزمایشی بر میانگین صفات مورد مطالعه در غلظت‌های مختلف صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم

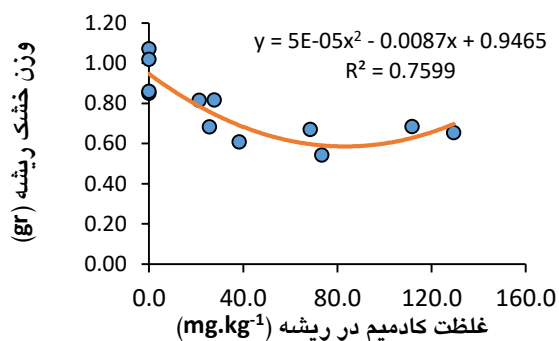
بر لیتر کادمیوم

کادمیوم (mg.L ⁻¹)	تریپتوفان (mg.L ⁻¹)	باکتری	چگالی بافت ریشه (g.cm ⁻³)	وزن خشک ریشه (g)	وزن تر ریشه (g)	حجم تر ریشه (cm ³)	رطوبت وزنی ریشه (%)	قطر ریشه (mm)	سطح ریشه (cm ² . cm ⁻³)	چگالی ریشه (cm ² . cm ⁻³)	طول ریشه (cm)
صفر	۱۰۰	تلقیح	۰/۱۳ ^g	۱/۰۲ ^a	۸/۹۳ ^a	۷/۸۷ ^a	۹۹۳ ^a	۳/۹۵ ^a	۹/۳۸ ^a	۷/۳۸ ^{bc}	۷۵ ^b
		عدم تلقیح	۰/۲۱ ^{def}	۱/۰۷ ^a	۵/۴۲ ^c	۵/۲۵ ^{bc}	۶۷۶ ^{cd}	۳/۳۲ ^{bc}	۷/۹۹ ^b	۶/۸۴ ^c	۷۶ ^b
	صفر	تلقیح	۰/۱۷ ^{fg}	۰/۸۶ ^b	۶/۶۶ ^b	۴/۸۷ ^c	۴۰۷ ^{fg}	۲/۶۹ ^{ef}	۸/۰۴ ^b	۷/۹۳ ^b	۹۵ ^a
		عدم تلقیح	۰/۱۵ ^{fg}	۰/۸۵ ^b	۹/۲۹ ^a	۵/۷۵ ^b	۷۷۳ ^{bc}	۳/۵۳ ^b	۱۰/۰۷ ^a	۹/۴۶ ^a	۹۱ ^a
۵۰	۱۰۰	تلقیح	۰/۲۵ ^{cd}	۰/۸۲ ^b	۳/۳۰ ^{de}	۳/۲۵ ^{de}	۸۱۹ ^b	۳/۶۳ ^b	۶/۱۵ ^c	۴/۸۶ ^{de}	۵۴ ^{de}
		عدم تلقیح	۰/۲۳ ^{cde}	۰/۸۱ ^b	۴/۰۸ ^d	۳/۵۰ ^{de}	۵۱۸ ^{ef}	۲/۹۶ ^{de}	۵/۶۸ ^c	۵/۲۹ ^d	۶۱ ^{cd}
	صفر	تلقیح	۰/۱۹ ^{efg}	۰/۶۸ ^c	۴/۱۹ ^d	۳/۶۷ ^d	۴۰۲ ^{fg}	۲/۶۸ ^{ef}	۶/۰۹ ^c	۵/۶۴ ^d	۷۲ ^b
		عدم تلقیح	۰/۱۷ ^{fg}	۰/۶۱ ^{cd}	۵/۵۸ ^c	۳/۵۰ ^{de}	۳۰۲ ^g	۲/۳۹ ^f	۵/۴۸ ^c	۵/۴۴ ^d	۷۳ ^b
۱۰۰	۱۰۰	تلقیح	۰/۲۵ ^{cd}	۰/۶۷ ^{cd}	۲/۷۴ ^e	۲/۷۵ ^e	۵۵۷ ^{de}	۳/۰۶ ^{cd}	۵/۶۸ ^c	۳/۶۹ ^f	۵۸ ^{cd}
		عدم تلقیح	۰/۴۵ ^a	۰/۶۸ ^c	۲/۷۸ ^e	۱/۵۵ ^f	۱۳۵ ^h	۱/۸۲ ^g	۲/۷۵ ^e	۳/۲۷ ^f	۴۸ ^e
	صفر	تلقیح	۰/۲۹ ^c	۰/۵۴ ^e	۱/۲۷ ^f	۱/۸۷ ^f	۳۱۱ ^g	۲/۴۱ ^f	۴/۵۹ ^d	۳/۴۴ ^f	۶۱ ^c
		عدم تلقیح	۰/۳۶ ^b	۰/۶۵ ^{cd}	۴/۳۰ ^d	۱/۸۷ ^f	۳۱۲ ^g	۲/۴۲ ^f	۴/۵۰ ^d	۴/۵۳ ^e	۵۹ ^{cd}

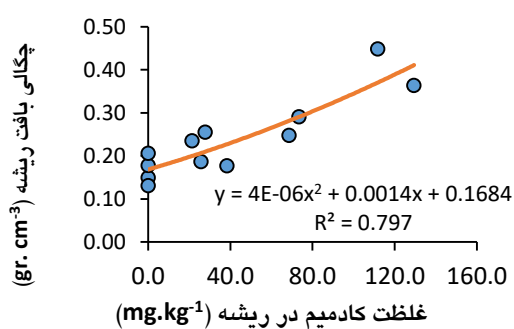
میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف آماری معنادار هستند.



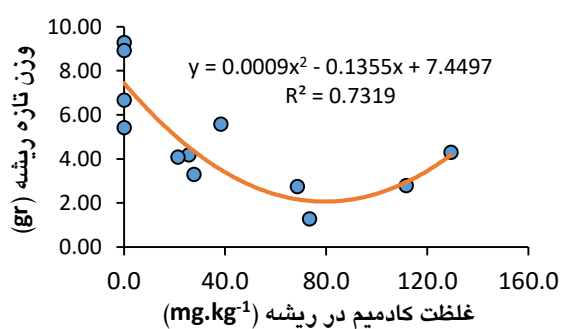
A



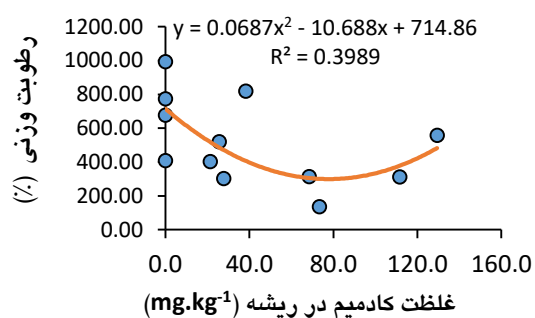
B



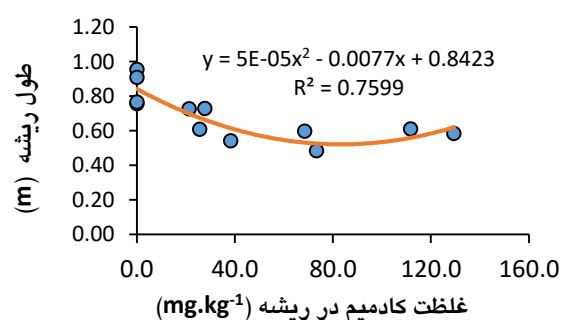
C



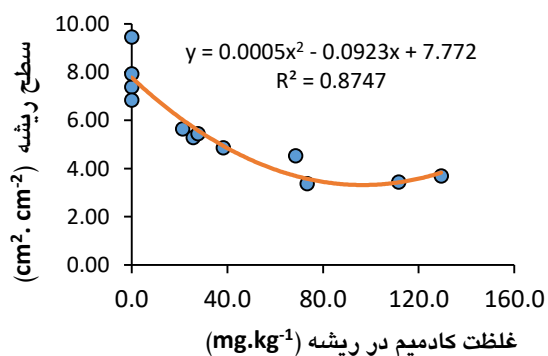
D



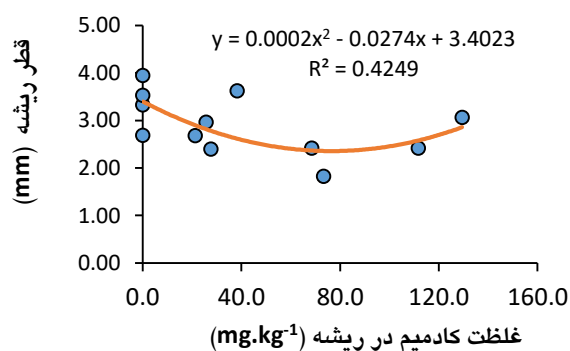
E



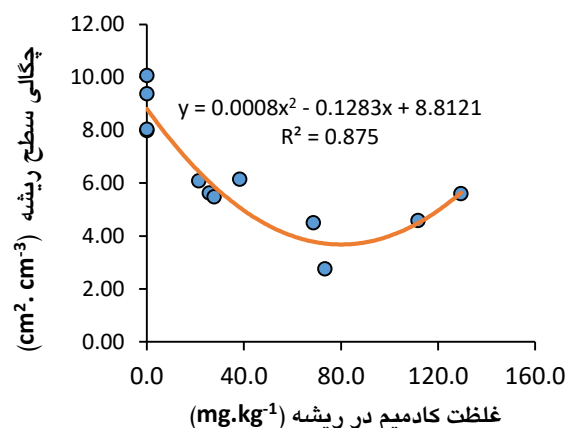
F



G



H



L

شکل ۶- روابط رگرسیونی بین غلظت کادمیم در ریشه با خصوصیات حجمی ریشه (A)، وزن خشک ریشه (B)، چگالی بافت ریشه (C)، وزن تازه ریشه (D)، درصد رطوبت وزنی ریشه (E)، طول ریشه (F)، سطح ریشه (G)، قطر ریشه (H) و چگالی سطح ریشه (L) در گیاه چاودار.

نتیجه‌گیری کلی

نتیجه این مطالعه نشان داد که کاربرد تریپتوفان و باکتری *B. atrophaeus* می‌توانند باعث کاهش انتقال کادمیم به اندام هوایی و افزایش تجمع آن در ریشه گیاه چاودار شوند. نتیجه تلفیق کاربرد این دو عامل نتیجه بهتری را نسبت به هر یک از آنها در پی داشت. مطالعه روابط بین ویژگی‌های ریشه گیاه چاودار و تجمع کادمیم در ریشه گیاه نشان داد که بین آنها ارتباط وجود دارد و تیمارهای مورد مطالعه توانستند با اثر بر این ویژگی‌های روند جذب کادمیم را متاثر سازند. برای

مطالعات آتی پیشنهاد می‌گردد از باکتری‌های مختلف، غلظت‌های مختلف تریپتوفان و سایر گیاهان در این خصوص به‌ویژه در شرایط مزرعه‌ای استفاده گردد.

سپاسگزاری

به این وسیله از همکاری صمیمانه آزمایشگاه‌های شیمی، حاصلخیزی و بیولوژی خاک دانشگاه مراغه که مساعدت‌های صمیمانه‌ای در انجام کارهای آزمایشگاهی این مطالعه داشتند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع مورد استفاده

- Abedi T and Mojiri A. 2020. Cadmium uptake by wheat (*Triticum aestivum* L.): An overview. *Plants*, 9: 1-14.
- 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.
- Akhavan S, Shabanpour M and Isfahani M. 2012. The effect of soil density and texture on the growth of roots and shoots of wheat. *Journal of Water and Soil (Agricultural Science and Technology)*, 26: 735-727. (In Persian)
- Begum N, Hu Z, Cai Q and Lou L. 2019. Influence of PGPB inoculation on HSP70 and HMA3 gene expression in switch grass under Cadmium stress. *Plants*, 8: 504-8018.
- Clemens S and Ma JF. 2016. Toxic heavy metal and metalloid accumulation in crop plants and foods. *Annual Review of Plant Biology*, 67:489-512.
- 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 Sciences*, 20:3412.

- Desouza R, Ambrosini A and Passaglia LMP. 2015. Growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. *Genetics and Molecular Biology*, 38:S1415– 475738420150053.
- Etesami H, Alikhani HA and Akbari AA. 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.
- Farooq H, Asghar HN, Khan MY, Saleem M and Zahir ZA. 2015. Auxin-mediated growth of rice in cadmium-contaminated soil. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 39:272-276.
- Fasani E, Manara A, Martini F, Furini A and Dalcorsio G. 2018. The potential of genetic engineering of plants for the remediation of soils contaminated with heavy metals. *Plant, Cell and Environment*, 41:1201–1232.
- Jan R, Khan MA, Asaf S, Lubna N, Lee IJ and Kim KM. 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.
- Karimi E, Aliasgharzad N, Neyshabouri MR and Esfandiyari E. 2019. Isolation, molecular identification and assessing plant growth promoting activities of biofilm forming bacteria from gramineae rhizosphere in north west of Iran. *Journal of Soil Applied Research*, 7 (2): 28-14. (In Persian).
- Kawasaki A, Donn S, Ryan PR, Mathesius U, Devilla R and Jones A. 2016. Microbiome and exudates of the root and rhizosphere of *Brachypodium distachyon*, a model for wheat. *Plos One*, 11(10): e0164533.
- Khanna K, Jamwal VL, Gandhi SG, 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.
- Kroon H and Visser EJW. 2003. *Root Ecology*. Springer – Verlag berlin. 397 pages.
- Lambers H, Atkin OK and Millenaar FF. 2002. Respiratory patterns in roots in relation to their functioning. Pp. 521–552. In: Waisel Y, Eshel A and Kafkaki K (eds). *Plant Roots*. Marcel Dekker. New York.
- Liphadzi MS, Kirkham MB and Paulsen GM. 2006. Auxin-enhanced root growth for phytoremediation of sewage-sludge amended soil. *Environmental Technology*, 27:695-704
- Moe LA. 2013. Amino acids in the rhizosphere: From plants to microbes. *American Journal of Botany*, 100: 1692–1705.
- 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.
- Ostonen U, Tsepp PU and Biel C. 2007. Specific root length as an indicator of environmental change. *Plant Biosystems*, 141 (3): 426-442.
- Rajkumar M, Ma Y and Freitas H. 2013. Improvement of Ni phytostabilization by inoculation of Ni resistant *Bacillus megaterium* SR28C. *Journal of Environmental Management*, 128: 973–980.
- Rehman MZU, Zafar M, Waris AA, Rizwan M, Ali S, Sabir M, Usman M, Ayub MA and Ahmad. Z. 2020. Residual effects of frequently available organic amendments on cadmium bioavailability and accumulation in wheat. *Chemosphere*, 244:125548.
- Seregin IV and Ivanov VB. 1997. Histochemical investigation of cadmium and lead distribution in plants. *Russian Journal of Plant Physiology*, 44(6): 791-796.
- Sperry JS, Stiller V and Hacke UG. 2003. Xylem hydraulics and soil- plant-atmosphere continuum opportunities and unresolved issues. *Agronomy Journal*, 95:1362–70.
- Srivastava S, Chiappetta A and Beatrice M. 2013. Identification and profiling of arsenic stress-induced miRNAs in *Brassica juncea*. *Environmental and Experimental Botany*, 64:303-315.
- Stroinski A, Chadzinikolau T, Gizewska K and Zielezinska M. 2010. ABA or cadmium induced phytochelatins synthesis in potato tubers. *Plant Biology*, 54:117-120.

- Vacheron J, Desbrosses G, Bouffaud ML, Touraine B, Moenne-Loccoz Y, Muller D, Legendre L, Wisniewski-Dye F and Prigent-Combaret C. 2013. Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. *Frontiers in Plant Science*, 356 (4): 1-19.
- 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.
- Vitale J, Adam B and Vitale P. 2020. Economics of wheat breeding strategies: focusing on Oklahoma hard red winter wheat. *Agronomy*, 10:238.
- Wang XH, Wang Q, Nie ZW, He LH and Sheng XF. 2018. *Ralstonia eutropha* Q2-8 reduces wheat plant above-ground tissue cadmium and arsenic uptake and increases the expression of the plant root cell wall organization and biosynthesis-related proteins. *Environmental Pollution*, 242:1488–1499.
- Yan A, Wang Y, Tan SN, Mohd YML, Ghosh S and Chen Z. 2020. Phytoremediation: a promising approach for revegetation of heavy metal-polluted land. *Frontier in Plant Science*, 11:359.
- Yuan H and Huang X. 2016. Inhibition of root meristem growth by cadmium involves nitric oxide-mediated repression of auxin accumulation and signaling in Arabidopsis. *Plant Cell and Environment*, 39:120-135.