

## القای مقاومت به تنش کادمیوم در بذرهاى بدست آمده از بوته‌هاى نخودفرنگى تلقیح شده با باکتری سودوموناس فلورسنس

بهروز اسماعیل پور\*<sup>۱</sup>، فاطمه محمودی<sup>۲</sup>، رقیه نبی پور سنجد<sup>۱</sup>، حمیده فاطمی<sup>۱</sup>، موسی ترابی گیکلو<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup> گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی

<sup>۲</sup> گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۲۰، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۰/۰۳/۱۲)

### چکیده

به منظور ارزیابی اثرات تلقیح گیاه مادری با باکتری‌های محرک رشد گیاه بر شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه نخودفرنگی در شرایط تنش عنصر سنگین کادمیوم، آزمایشی به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار انجام گرفت. تیمارهای آزمایش شامل اعمال تنش کادمیوم در سه سطح (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کلرید کادمیوم) روی بذر حاصل از گیاهان تلقیح شده با باکتری سودوموناس فلورسنس (بدون تلقیح (شاهد)، تلقیح با باکتری محرک رشد سودوموناس فلورسنس سویه‌های P15، P25 و P32 بودند در این پژوهش شاخص‌های جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه نخودفرنگی، برخی از پارامترهای بیوشیمیایی شامل محتوای رنگیزه‌های فتوستزی گیاهچه، محتوای پروتئین محلول، قندهای محلول، پرولین و فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانتی پراکسیداز اندازه‌گیری شد. با افزایش تنش کادمیوم درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول و وزن خشک گیاهچه، شاخص طولی گیاهچه، محتوای کلروفیل کل و محتوای پروتئین و آنزیم آنتی‌اکسیدانتی پراکسیداز را به طور معنی‌داری کاهش داد و بیشترین کاهش در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم حاصل شد ولی تنش کادمیوم ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نسبت کلروفیل a به b و میزان پرولین را افزایش داد. درحالی‌که تلقیح گیاه مادری با باکتری‌های محرک رشد سودوموناس فلورسنس باعث افزایش شاخص‌های جوانه‌زنی، رشد، افزایش رنگیزه‌های فتوستزی، پروتئین، درصد قند محلول در گیاهچه حاصل از بذرهاى گیاهان مادری تلقیح شده با سویه‌های باکتری سودوموناس فلورسنس در شرایط تنش کادمیوم گردید و اثرات تخفیف دهنده‌گی سطوح بالای تنش کادمیوم در جوانه‌زنی و رشد گیاهچه در بذر حاصل از گیاهان تلقیح شده با باکتری سودوموناس فلورسنس سویه P32 بیشتر بود. نتایج این آزمایش نمایانگر آن است که تلقیح گیاهان مادری با باکتری محرک رشد سودوموناس فلورسنس با افزایش میزان رشد گیاهچه و افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز موجب کاهش معنی‌دار اثرات تنش کادمیوم در مرحله جوانه‌زنی و رشد گیاهچه نخودفرنگی گردید.

واژه‌های کلیدی: آنزیم، پرولین، رشد، کلروفیل، گیاهچه

### مقدمه

لگوم‌ها هست که به صورت پخته و خام مصرف می‌گردد. این سبزی، منبع خوبی برای تأمین پروتئین، ویتامین‌های گروه B و

نخودفرنگی (*Pisum sativum* L.) یک سبزی یک‌ساله از تیره

و گیاهچه‌های نیرومندتر می‌تواند در شرایط مواجهه با تنش‌های محیطی مفید و کارآمد واقع شود. بیش‌ترین درصد ظهور گیاهچه از توده‌های بذری باکیفیت بدست می‌آید و با کاهش کیفیت بذر این درصد افت پیدا می‌کند (Ghassemi-Golezani *et al.*, 2011). تغذیه گیاهان مادری، اثر قابل‌توجهی بر کیفیت بذر تولیدشده از آن دارد و ترکیب شیمیایی و نمود جوانه‌زنی بذر را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد (Guleria *et al.*, 2008).

امروزه در نظام‌های کشاورزی پایدار استفاده از کودهای بیولوژیک با منشأ باکتری، در افزایش باروری و حفظ حاصلخیزی خاک مورد توجه جدی قرار می‌گیرد. باکتری‌های افزایشنده رشد گیاه یا اصطلاحاً باکتری محرک رشد، به گروه وسیعی از باکتری‌های مفید خاکری اطلاق می‌شوند که در کنار گیاه به‌عنوان میزبان رشد می‌کنند (Abid *et al.*, 2015). باکتری‌های محرک رشد با استفاده از مکانیسم‌های تثبیت زیستی نیتروژن، افزایش جذب و فراهمی یا محلول‌کردن عناصر غذایی، تولید هورمون‌های رشد گیاهی، تولید انواع ویتامین‌ها، تولید سیدروفورهای کلاته‌کننده آهن و محلول ساختن فسفات، تحریک سبب کاهش اثرات تنش‌های محیطی از قبیل تنش عناصر سنگین و افزایش رشد گیاه در حالت مواجهه با چنین تنش‌هایی می‌گردد (Yazdani *et al.*, 2010). استفاده از کودهای بیولوژیک همراه با محلول بور در چهار هفته پس از کاشت تأثیر چشمگیری بر عملکرد و رشد لوبیا چشم‌بلبلی داشته است (Chatterjee and Bandyopadhyay, 2017). با توجه به مصرف بیش از حد کودهای شیمیایی و سموم دفع آفات حاوی کادمیوم، خطر تجمع و آسیب‌های ناشی از این عنصر سنگین در مزارع کشاورزی به‌صورت روزافزون احساس می‌شود، از سوی دیگر تلقیح گیاه مادری با باکتری‌های محرک با خواص محرک رشدی از قبیل دارابودن فعالیت آنزیم ACC دامیناز و توانایی تولید اکسین (بهادری و همکاران، ۱۳۹۵) می‌تواند نقش به‌سزایی در رشد گیاه و بهبود کیفیت بذرهای تولیدشده از آن و ایجاد مقاومت در برابر شرایط نامساعد محیطی ایفا کند. بنابراین، هدف از این پژوهش بررسی تأثیر تلقیح با باکتری‌های محرک رشد سودوموناس

ویتامین‌های K، C و فیبرهای محلول و نامحلول و عناصر آهن، مس، کلسیم، روی و منگنز است (مجنون حسینی، ۱۳۹۴).

با توجه به افزایش شدید نیاز به غذا در اثر رشد سریع جمعیت جهان و از سوی دیگر وقوع شرایط محیطی نامطلوب نظیر تنش عناصر سنگین، شوری و خشکی در خاک، نیاز به بررسی تمامی روش‌هایی هست که سبب افزایش تولید می‌گردند (Ghassemi-Golezani *et al.*, 2011). یکی از مهم‌ترین عوامل مؤثر در موفقیت تولید، استفاده از بذرهای باکیفیت بذر و مرغوب هست و بر این اساس توجه به تولید بذرهای برخوردار از جوانه‌زنی سریع و یکنواخت ضروری هست (George, 2009).

آلودگی با عناصر سنگین از جمله کادمیوم یکی از مخاطرات زیست‌محیطی است که سبب ایجاد چالش جدی در زندگی انسان شده است. کادمیوم یک عنصر فلزی متعلق به گروه دوم B جدول تناوبی با عدد اتمی ۴۸ و یکی از فلزات سنگین و سمی برای میکروارگانیسم‌ها، انسان، حیوانات و گیاهان بوده (Nazar *et al.*, 2012) که از طریق فعالیت‌های صنعتی، شهرسازی، استفاده طولانی‌مدت از کودهای فسفاته کشاورزی بشر در زمین‌های کشاورزی، کاربرد فاضلاب‌های شهری و آبیاری با آب‌های کم کیفیت به داخل هوا، آب و خاک انتشار می‌یابد (Aziz-Khan *et al.*, 2012). کادمیوم موجب کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی بذر، شاخص قدرت، وزن خشک گیاهچه، کاهش طول ریشه‌چه و ساقه‌چه می‌شود (Shahid *et al.*, 2016). کادمیوم باعث محدودنمودن جذب آب و مواد مغذی از طریق ریشه، کاهش غلظت دی‌اکسید کربن داخل سلولی، تغییر در نسبت کلروفیل، کاهش فتوسنتز خالص و در نتیجه موجب کاهش رشد گیاه می‌شوند (Singh and Kalamdhad, 2011). سطوح بالای این فلزات در گیاهان، منجر به ایجاد تنش اکسیداتیو و ایجاد رادیکال‌های آزاد اکسیژن مانند رادیکال ( $O_2$ ) و پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ ) و هیدروکسیل ( $OH\cdot$ ) می‌شود که منجر به آسیب‌های پراکسیداسیون لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شود (Huang *et al.*, 2014). تقویت رشد گیاه مادری به‌منظور تولید بذور با کیفیت بالاتر

فلورسنس P24، P25 و P32 در افزایش مقاومت گیاهچه های نخودفرنگی در شرایط تنش کادمیوم هست.

#### مواد و روش ها

این پژوهش در دو مرحله در مزرعه و آزمایشگاه اجرا شد. بذور نخودفرنگی مورد استفاده در این تحقیق از شرکت «گل آذین و باکتری های محرک رشد گیاهی از مؤسسه خاک و آب کرج تهیه شدند. ابتدا اثر تلقیح گیاه مادری با باکتری های محرک رشد سودوموناس فلورسنس شامل (بدون تلقیح، تلقیح با سویه های P24، P25 و P32) در تولید بذور نخودفرنگی در مزرعه ای در قالب طرح بلوک های کاملاً تصادفی در چهار تکرار شهرستان گرمی استان اردبیل صورت گرفت. برای این منظور بعد از آماده سازی زمین موردنظر بذور نخودفرنگی رقم *Rondo* به روش کپه ای در چهار بلوک کاشته شدند و هر بلوک شامل چهار کرت بود و در مجموع ۱۶ کرت در این آزمایش وجود داشت، هر کرت شامل چهار ردیف به طول ۱۰ متر بود که فاصله ردیف ها ۶۰ سانتی متر و فاصله بوته ها روی ردیف نیز ۳۰ سانتی متر بود. تیمارهای تلقیح با سویه های مختلف باکتری محرک رشد سودوموناس فلورسنس از دانشکده کشاورزی دانشگاه رفسنجان شش هفته بعد از کاشت برای تولید بذور مورد استفاده واقع شدند. برای اعمال تیمارهای کودهای بیولوژیک ۳ میلی لیتر از سوسپانسیون باکتری به وسیله سرنگ های ۱۰ سی سی به اطراف ریشه گیاه تزریق شد. برداشت نهایی بذرها در زمان رسیدگی کامل از دو خط وسط هر کرت پس از حذف نیم متر از بالا و پایین کرت به عنوان اثر حاشیه ای، صورت گرفت.

بررسی تأثیر تنش کادمیوم در سه سطح (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر) بر کیفیت بذرهاى نخودفرنگی حاصل از تلقیح گیاهان مادری با باکتری های محرک رشد سودوموناس فلورسنس شامل (بدون تلقیح و تلقیح با سویه های P24، P25 و P32) یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار در آزمایشگاه فیزیولوژی پس از برداشت گروه علوم باغبانی دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۳۹۸ انجام شد.

در این آزمایش در هر تکرار تعداد ۵۰ عدد بذر پس از ۱۰ دقیقه ضدعفونی سطحی با محلول یک درصد هیپوکلریت سدیم و چند مرحله شستشو با آب مقطر در پتری دیش کشت شدند و ۴ میلی لیتر از غلظت های کادمیوم به پتری دیش اضافه گردید. آنگاه نمونه ها به ژرمیناتوری با دمای ۲۰ درجه سانتی گراد در شرایط ۱۶ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی منتقل شد. تعداد بذور جوانه زده به صورت روزانه تا ۱۳ روز شمارش گردید. ظهور ریشه چه به اندازه ۲ میلی متر به عنوان معیار جوانه زنی بذرها محسوب می شد. سرعت جوانه زنی با استفاده از فرمول Ellis و Roberts (۱۹۸۱) محاسبه شد. وزن خشک گیاهچه پس از قرارگرفتن در آونی با دمای ۸۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت با استفاده از ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ اندازه گیری شد. شاخص طولی با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (جوادی و همکاران، ۱۳۹۵).

(cm-) × جوانه زنی استاندارد (%) = شاخص طولی قدرت میانگین طول گیاهچه

برای اندازه گیری محتوای کلروفیل برگ های گیاهچه ۲۰ روزه نخودفرنگی از قطعات ۰/۲ گرمی از جوان ترین برگ های کاملاً توسعه یافته و با اضافه کردن ۱۰ میلی لیتر استون ۸۰ درصد در هاون چینی ساییده شدند (Arnon, 1949). در نهایت حجم محلول با استون ۸۰ درصد به حجم ۲/۵ میلی متر رسانده شد. محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰ دور سانتریفیوژ گردید و پس از صاف کردن با کاغذ صافی جذب نوری محلول رویی در طول موج های ۴۷۰، ۶۴۵ و ۶۶۳ توسط اسپکتروفتومتر خوانده شد. سپس، به منظور محاسبه مقادیر کلروفیل های a و b و کلروفیل کل از رابطه های زیر استفاده شد:

$$\text{Chl. a} = [12.7(\text{A663}) - 2.69(\text{A645})] \times V/W$$

$$\text{Chl. b} = [22.9(\text{A645}) - 4.68(\text{A663})] \times V/W$$

$$\text{Total Chl} = [20.2(\text{A645}) + 8.02(\text{A663})] \times V/W$$

در روابط فوق، V = حجم محلول صاف شده (محلول فوقانی حاصل از سانتریفیوژ)، W = A = وزن تر نمونه برحسب گرم، Chl.a = کلروفیل a، Chl.b = کلروفیل b و Chl.total = کلروفیل کل هست.

در ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتیفیوژ شد و محلول رویی آن برای اندازه‌گیری آنزیم مورد استفاده قرار گرفت (Mac-Adam *et al.*, 1992). برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز حجم مساوی از بافر آب‌اکسیژنه (۲۲۵ میلی‌مولار) و بافر گایاکول (۴۵ میلی‌مولار) مقدار ۱۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی اضافه شد و منحنی تغییرات جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل جنوای ۶۷۰۵ در طول یک دقیقه ثبت شد. فعالیت آنزیمی با استفاده از فرمول قانون بیر لامبرت و با ضریب خاموشی گایاکول پراکسیداز  $26/6 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$  برحسب میکرومول بر گرم وزن تر بر دقیقه محاسبه شد (Chance and Maehly, 1955).

در این پژوهش داده‌های بدست‌آمده از آزمایش تأثیر تنش کادمیوم (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بر کیفیت بذرها حاصل از گیاه مادری تلقیح‌شده با باکتری محرک رشد سودوموناس فلورسنس شامل (بدون تلقیح، P24، P25 و P32) به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 تجزیه شد و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد صورت گرفت و رسم شکل‌ها توسط برنامه Excel انجام پذیرفت.

### نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس تأثیر تنش کادمیوم و تغذیه گیاه مادری بر شاخص‌های جوانه‌زنی نخودفرنگی نشان داد که تنش کادمیوم و تلقیح گیاه مادری با باکتری‌های سودوموناس فلورسنس و اثر متقابل این دو فاکتور به‌طور معنی‌داری درصد و سرعت جوانه‌زنی، وزن خشک و طول گیاهچه، شاخص طولی گیاهچه را تحت تأثیر قرار داد (جدول ۱).

#### درصد و سرعت جوانه‌زنی: مقایسه میانگین اثرات متقابل

تنش کادمیوم و تغذیه با باکتری‌های سودوموناس فلورسنس بر درصد و سرعت جوانه‌زنی بذر نخودفرنگی (شکل ۳-۱) نشان داد که با افزایش شدت تنش کادمیوم از درصد و سرعت

اندازه‌گیری مقدار پرولین با استفاده از معرف نین‌هیدرین بر اساس روش پیشنهادی Bates و همکاران (۱۹۷۳) انجام گرفت. برای این منظور ۰/۵ گرم از جوان‌ترین برگ‌ها را همراه با ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید ۳٪ در یک هاون چینی به‌مدت ۳ دقیقه سائیده و محلول هموژنیزه شده توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۲ صاف‌شده و با دو میلی‌لیتر از آن را با ۲ میلی‌لیتر نین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال خالص در یک لوله‌آزمایش ریخته شده و لوله‌ها به‌مدت یک ساعت در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد بن‌ماری قرار گرفتند. پس از سرد شدن به محلول واکنش ۴ میلی‌لیتر تولوئن اضافه گردیده و به‌مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه ورتکس گردید. پس از تشکیل دو فاز جداگانه، فاز رنگی بالایی با دقت جدا و مقدار جذب در دستگاه اسپکتروفوتومتر با طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد و مقدار پرولین برحسب میکروگرم بر گرم وزن تر با استفاده از منحنی استاندارد آن بدست آمد (Bates *et al.*, 1973).

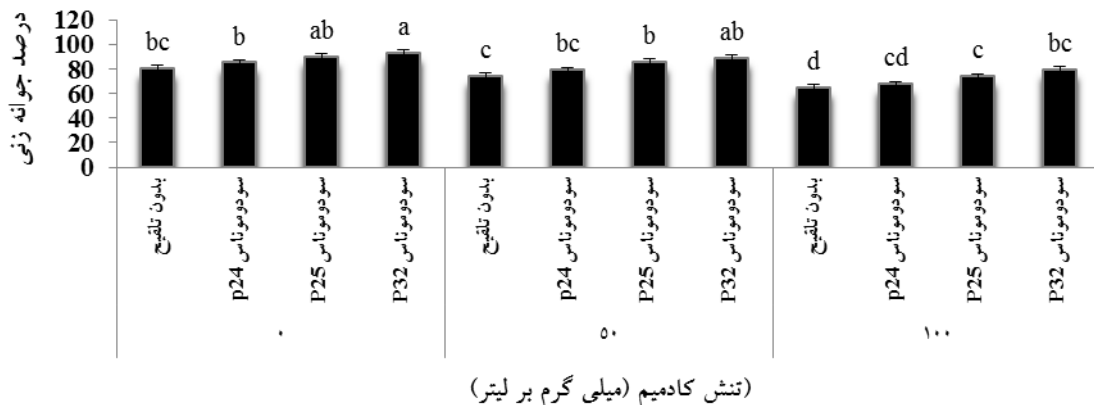
برای اندازه‌گیری محتوی کربوهیدرات، ابتدا ۰/۱ گرم نمونه برگگی با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد در هاون چینی کاملاً سائیده شد و به‌مدت ۱۰ دقیقه در بن‌ماری با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس عصاره الکلی حاوی قندهای محلول و قسمت پایینی همراه با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد دوباره برای تکرار عصاره‌گیری به بن‌ماری منتقل شد. عصاره بدست‌آمده به‌مدت ۱۰ دقیقه در سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتیفیوژ گردید. در مرحله بعد، ۳ میلی‌لیتر از محلول آنترن به ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره اضافه شد و به‌مدت ۲۰ دقیقه در بن‌ماری ۱۰۰ درجه قرار گرفت و مقدار قند محلول با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتری در طول موج ۶۲۵ نانومتر اندازه‌گیری شد و با استفاده از گلوکز خالص منحنی استاندارد مربوط به میزان قندهای احیا محاسبه شد (Irigoyen *et al.*, 1992).

برای استخراج عصاره پروتئینی، مقدار ۰/۲ گرم از بافت تازه گیاه را در هاون چینی کاملاً سائیده شد، سپس یک میلی‌لیتر از بافر تریس اسید کلریدریک، ۰/۰۵ مولار با  $\text{pH}=7/5$  به آن اضافه گردید، آنگاه همگنای بدست‌آمده به‌مدت ۲۰ دقیقه

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس تأثیر تنش کادمیوم و تلقیح گیاه مادری با سویه‌های باکتری سودوموناس فلورسنس بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه نخودفرنگی

منابع تغییرات	درجه آزادی	درصد جوانه‌زنی	میانگین مربعات		
			وزن خشک گیاهچه	طول گیاهچه	شاخص طولی
تنش کادمیوم	۲	۵۳۶/۳**	۰/۰۴**	۰/۰۰۶**	۴/۴۳**
تلقیح با باکتری	۳	۱۳۷/۴۱**	۰/۰۱**	۰/۰۱۳**	۱/۱۳**
تنش × تلقیح با باکتری	۶	۸/۹۳**	۰/۰۰۰۷**	۰/۰۰۲۷**	۰/۰۷**
اشتباه آزمایشی	۲۹	۰/۴	۰/۰۰۰۰۳	۰/۰۰۰۰۱	۰/۰۰۳
ضریب تغییرات (%)		۱/۲۸	۱/۳۸	۱۲/۴	۱/۰۷

ns و \*\* و \*\*\* به ترتیب معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۵ درصد، ۱ درصد و عدم تفاوت معنی‌دار است.



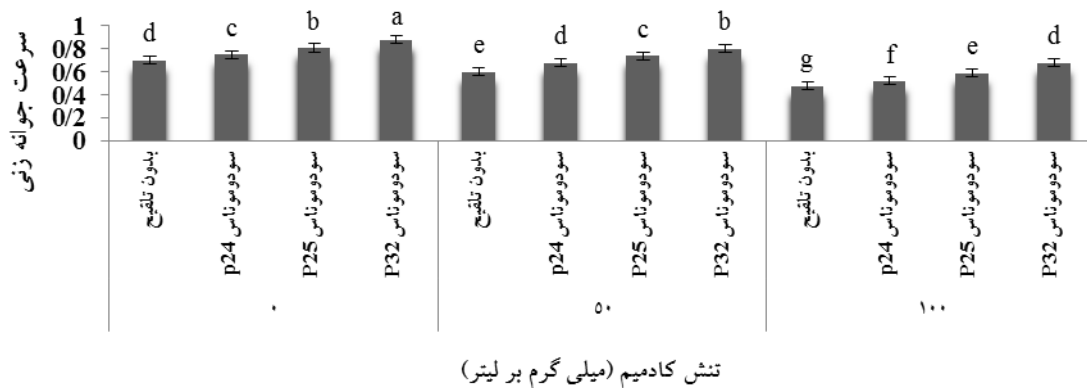
(تنش کادمیم (میلی گرم بر لیتر)

شکل ۱- تأثیر تلقیح گیاه مادری با سویه‌های باکتری سودوموناس فلورسنس بر درصد جوانه‌زنی بذر نخودفرنگی در شرایط تنش کادمیوم حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار احتمال ۵ درصد در آزمون دانکن است.

مادری تلقیح‌نشده حاصل شد. در تنش کادمیوم ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیز بیشترین درصد (۷۹/۶۶ درصد) و سرعت جوانه‌زنی (۰/۶۸) در بذر حاصل از گیاهان تلقیح‌شده با باکتری سودوموناس فلورسنس P32 و کمترین درصد (۶۴/۶۶) و سرعت جوانه‌زنی (۰/۴۸) در بذر حاصل از گیاهان مادری تلقیح بدست‌آمد (شکل‌های ۱ و ۲).

**وزن خشک و طول گیاهچه:** نتایج تجزیه واریانس تأثیر تنش کادمیوم و تلقیح گیاه مادری با باکتری‌های محرک رشد بر وزن خشک و طول گیاهچه نخودفرنگی نشان داد که تنش کادمیوم و تلقیح گیاه مادری و اثر متقابل این دو فاکتور بر وزن خشک و طول گیاهچه نخودفرنگی در سطح احتمال یک

جوانه‌زنی بذر نخودفرنگی کاسته شده و بیشترین درصد (۹۳ درصد) و سرعت جوانه‌زنی (۰/۸۹) در بذر گیاهان نخودفرنگی تلقیح‌شده با باکتری سودوموناس فلورسنس P32 در شرایط بدون تنش کادمیوم و کمترین درصد (۶۴/۶۶) و سرعت جوانه‌زنی (۰/۴۸) نیز در بذر گیاهان بدون تیمار تلقیح با باکتری در تنش کادمیوم با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر حاصل شد (شکل‌های ۱ و ۲). در شرایط تنش کادمیوم ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نیز بیشترین جوانه‌زنی (۸۸/۶۶ درصد) و سرعت جوانه‌زنی (۰/۸) در بذره‌های حاصل از گیاهان تلقیح‌شده با باکتری سودوموناس فلورسنس P32 و کمترین درصد (۷۴ درصد) و سرعت جوانه‌زنی (۰/۶) در بذر حاصل از گیاهان



شکل ۲- تأثیر تلقیح گیاه مادری با سویه‌های باکتری سودوموناس فلورسنس بر سرعت جوانه‌زنی بذر نخودفرنگی در شرایط تنش کادمیم حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار سطح احتمال ۵ درصد در آزمون دانکن است.

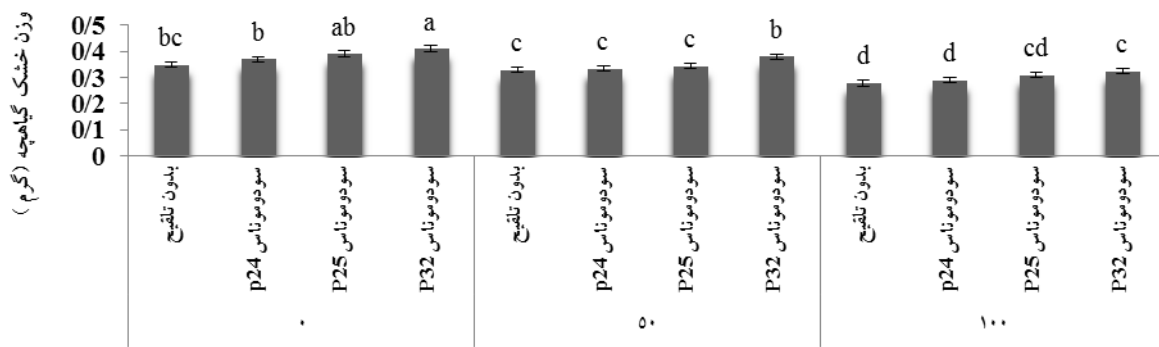
باکتری محرک رشد سودوموناس فلورسنس و اثر متقابل این دو فاکتور تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر شاخص طولی گیاهچه نخودفرنگی داشتند. مقایسه میانگین اثرات تیمارها بر شاخص طولی نخودفرنگی نشان داد که با افزایش میزان تنش کادمیم شاخص طولی گیاهچه نخودفرنگی کاهش می‌یابد و بیشترین مقدار برای این شاخص (۲۶۶/۹۱) در گیاهچه حاصل از بذر گیاهان تلقیح‌شده با باکتری سودوموناس فلورسنس P32 در شرایط بدون تنش کادمیم و کمترین مقدار برای شاخص وزنی (۱۴۸/۷۱) نیز در گیاهچه حاصل از بذر گیاهان مادری تلقیح‌نشده با باکتری در تیمار تنش کادمیم با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر حاصل شد (شکل ۵). در شرایط تنش کادمیم ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نیز بیشترین شاخص طولی (۲۳۸/۳۹) در گیاهچه‌های بدست‌آمده از بذر گیاهان تلقیح‌شده با باکتری‌های سودوموناس فلورسنس P32 حاصل شد که با گیاهان تلقیح‌شده با باکتری‌های سودوموناس فلورسنس P15 و P25 تفاوت معنی‌داری نداشتند و کمترین شاخص طولی (۱۹۱/۶۶) در گیاهچه حاصل از بذر گیاهان مادری تلقیح‌نشده حاصل شد. در تنش کادمیم ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیز بیشترین شاخص طولی (۱۹۹/۱۵) در گیاهچه تولیدشده از بذر گیاهان تلقیح‌شده با باکتری سودوموناس فلورسنس P32 و کمترین شاخص طولی گیاهچه (۱۴۸/۷۱) در بذر گیاهان مادری تلقیح‌نشده حاصل شد (شکل ۵).

نتایج این پژوهش بیانگر آن است که تنش کادمیم

درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین اثرات تیمارهای آزمایش بر وزن خشک گیاهچه نخودفرنگی نشان داد که با افزایش شدت تنش کادمیم وزن خشک و طول گیاهچه نخودفرنگی کاهش یافته و بیشترین وزن خشک (۰/۴۱ گرم) و طول (۲/۸۷ سانتی‌متر) گیاهچه نخودفرنگی به‌ترتیب از بذر گیاهان تلقیح‌شده با باکتری سودوموناس فلورسنس P25 و P32 در شرایط بدون تنش کادمیم و کمترین وزن خشک (۰/۲۸ گرم) و طول (۲/۳ سانتی‌متر) گیاهچه نیز در بذر گیاهان مادری تلقیح‌نشده با باکتری در تیمار تنش کادمیم با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر حاصل شد (شکل‌های ۳ و ۴). در شرایط تنش کادمیم ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نیز بیشترین وزن خشک گیاهچه (۰/۴۲۵ گرم) و طول گیاهچه (۲/۶۸ سانتی‌متر) در بذرهای گیاهان تلقیح‌شده با باکتری‌های سودوموناس فلورسنس P32 حاصل شد و کمترین وزن خشک (۰/۳۳ گرم) و طول گیاهچه (۲/۵۹ سانتی‌متر) در بذر حاصل از گیاهان مادری تلقیح‌نشده حاصل شد. در تنش کادمیم ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیز بیشترین وزن خشک (۰/۲۵ گرم) و طول گیاهچه (۲/۵ سانتی‌متر) حاصل از بذر گیاهان تلقیح‌شده با باکتری سودوموناس فلورسنس P32 و کمترین وزن خشک گیاهچه (۰/۲۸ گرم) و طول گیاهچه (۲/۳ سانتی‌متر) بذر حاصل از گیاهان مادری تلقیح‌نشده بدست آمد (شکل‌های ۳ و ۴).

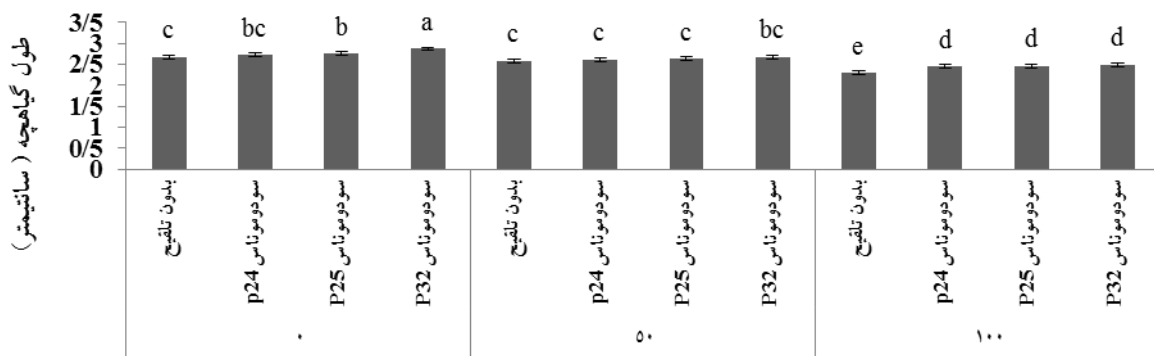
شاخص طولی قدرت گیاهچه: نتایج تجزیه واریانس در

جدول ۱ نشان می‌دهد که تنش کادمیم و تلقیح گیاه مادری با



تنش کادمیوم (میلی گرم در لیتر)

شکل ۳- تأثیر تلقیح گیاه مادری با سویه های باکتری سودوموناس فلورسنس بر وزن خشک گیاهچه نخودفرنگی در شرایط تنش کادمیوم حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم تفاوت معنی دار سطح احتمال ۵ درصد در آزمون دانکن است.

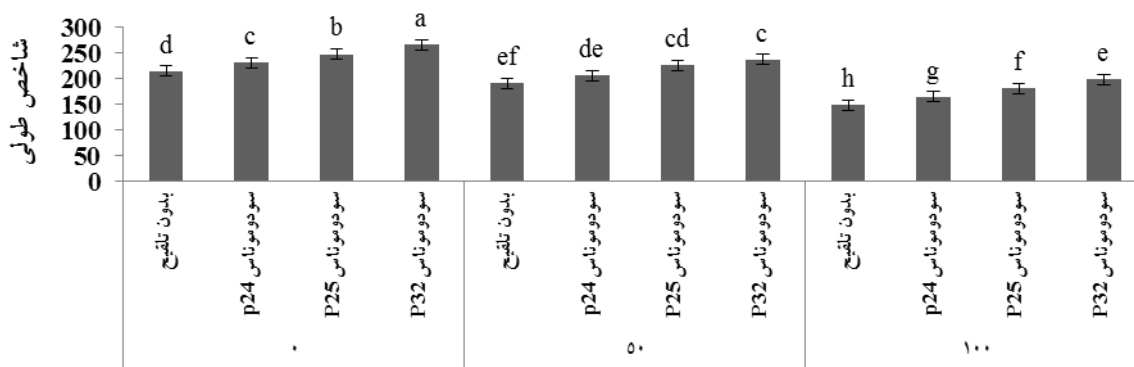


تنش کادمیوم (میلی گرم بر لیتر)

شکل ۴- تأثیر تلقیح گیاه مادری با سویه های باکتری سودوموناس فلورسنس بر طول گیاهچه نخودفرنگی در شرایط تنش کادمیوم حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم تفاوت معنی دار سطح احتمال ۵ درصد در آزمون دانکن است.

رشد ریشه چه و ساقه چه نسبت به جوانه زنی به افزایش غلظت کادمیوم حساسیت بیشتری نشان دادند (Tao et al., 2015). Bhardwaj و همکاران (۲۰۰۹) گزارش دادند که غلظت بالای کادمیوم (۳ گرم بر کیلوگرم خاک) سبب ممانعت از جوانه زنی در گیاه لوبیا در مقایسه با شاهد گردید. همچنین کاربرد غلظت های مختلف کادمیوم (صفر، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰ و ۸۰ میلی گرم کلرید کادمیوم در خاک) صفات مورفولوژیکی گیاه همیشه بهار را کاهش داد و کوتاه ترین طول ساقه همراه با کاربرد ۸۰ میلی گرم کلرید کادمیوم در کیلوگرم خاک مشاهده شد (Mashayekhi et al., 2014). وجود فلزات سنگین در محیط جوانه زنی به دلیل نفوذ سریع به داخل بذر

جوانه زنی و شاخص های رشد گیاهچه نخودفرنگی را کاهش داد و تلقیح گیاه مادری با باکتری های محرک رشد سودوموناس فلورسنس باعث تقویت بنیه بذر حاصله در مقابل اثرات نامطلوب تنش کادمیوم شد. نتایج سایر پژوهش ها نیز مؤید یافته های این پژوهش است. Salarizadeh و همکاران (۲۰۱۶) دریافتند که کاربرد سطوح مختلف کادمیوم (صفر، ۱۵۰، ۳۰۰، ۴۵۰، ۶۰۰، ۷۵۰ و ۱۰۵۰ میکرومولار) باعث کاهش جوانه زنی، رشد ریشه و بخش هوایی و محتوای کلروفیل در دو رقم زیره (*Cuminum cyminum*) شد. در آزمایشی دیگر سطوح مختلف کادمیوم (صفر، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۸، ۱/۶ و ۳/۲ میلی مولار) رشد و جوانه زنی شش گیاه لگوم را کاهش داد و



تنش کادمیم ( میلی گرم در لیتر )

شکل ۵- تأثیر تلقیح گیاه مادری با سویه‌های باکتری سودوموناس فلورسنس بر شاخص طولی گیاهچه نخودفرنگی در شرایط تنش کادمیوم حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی در سطح احتمال ۵ درصد در آزمون دانکن است.

رشد سبب بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی در مقایسه با تیمار شاهد شدند. طول شدن ریشه‌چه تحت تیمار با کودهای بیولوژیک می‌تواند به این دلیل باشد که بذور بدست‌آمده از گیاه مادری تیمار شده با این کودها به علت داشتن وزن بیشتر از سرعت جوانه‌زنی بالاتری نسبت به سایر تیمارها برخوردار بوده و در مقایسه با بذور دیگر زمان بیشتری برای رشد داشته‌اند (Omrani et al., 2016). خصوصیات جوانه‌زنی بذرها تحت تأثیر شرایط محیطی پایه مادری قرار می‌گیرد (Mottaghi et al., 2011). تأثیر مثبت ریزوباکتریایی محرک رشد در بهبود صفات مرتبط با جوانه‌زنی و بنیه بذر گیاه دارویی و صنعتی استبرق در تلقیح با سودوموناس پوتیدا سویه ۱۶۹ و ترکیب سودوموناس فلورسنس + ازتوباکتر گزارش شد (بهمنی و همکاران، ۱۳۹۳). تأثیر تلقیح بذر با باکتری‌های آزوسپریلوم و ازتوباکتر در افزایش سرعت جوانه‌زنی و وزن خشک گیاهچه را می‌توان با تولید هورمون‌های جیبرلین و اکسین توسط این باکتری‌ها مرتبط دانست ( Yazdani et al., 2010; Amiri et al., 2010). تلقیح با باکتری‌های محرک رشد تحمل گیاه به فلز سنگین را افزایش داده و سبب بهبود جذب مواد مغذی و افزایش زیست‌توده گیاه می‌شوند (Ullah et al., 2015).

بررسی تأثیر تنش کادمیوم و تلقیح گیاه مادری بر شاخص‌های بیوشیمیایی گیاهچه نخودفرنگی: نتایج تجزیه واریانس تلقیح گیاه مادری و بر شاخص‌های بیوشیمیایی

همراه با آب از طریق تأثیر بر فرایندهای فیزیولوژیکی مهم از جمله تنفس و ممانعت از تقسیم سلول‌ها، سبب اختلال در رشد گیاهچه می‌شود (Marquez-Garcia et al., 2012). کاهش جوانه‌زنی و توسعه گیاهچه تحت سمیت کادمیوم، به دلیل کاهش انتقال مواد اندوخته‌ای از آندوسپرم به جنین است (Groppa et al., 2008). کادمیوم فعالیت برخی آنزیم‌ها در لپه و آندوسپرم اثر می‌گذارد و باعث اختلال در متابولیسم کربوهیدرات‌ها می‌شود و زمانی که فعالیت آنزیم آمیلاز تحت تأثیر کادمیوم کاهش می‌یابد، ارسال مواد غذایی به ریشه‌های اولیه و در نتیجه طول گیاهچه کاهش می‌یابد (Kabir et al., 2008). دلیل دیگر برای کاهش جوانه‌زنی در اثر فلزات سنگین به‌ویژه کادمیوم می‌تواند به علت تجمع آن‌ها در سلول و در نتیجه تمایل ترکیبی آن با گروه سولفیدریل پروتئین‌ها بوده که این می‌تواند باعث کاهش در سنتز و تولید پروتئین‌های ساختمانی و مورد نیاز در فرایندهای رشد و تقسیم سلولی و جوانه‌زنی شود (Siddhu and Ali Khan, 2012).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تیمار شاهد به علت کمبود مواد غذایی گیاه مادری دارای بذرها با بنیه کم‌تری بود به طوری که در برابر تنش کادمیوم مقاومت کمتری را نسبت به بذرها بدست‌آمده از گیاهان مادری تیمار شده با باکتری‌های محرک رشد نشان داد و از میزان جوانه‌زنی و رشد اولیه کم‌تری برخوردار بود (جوادی و همکاران، ۱۳۹۵). باکتری‌های محرک

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس تأثیر تنش کادمیوم و تلقیح گیاه مادری بر شاخص‌های بیوشیمیایی گیاهچه نخودفرنگی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	پرولین	قند محلول	پروتئین
تنش کادمیوم	۲	۰/۰۵**	۰/۰۵**	۰/۲۱**	۰/۰۵**	۰/۰۵**	۰/۰۵**
تلقیح گیاه مادری	۳	۰/۰۱**	۰/۰۱**	۰/۰۵**	۰/۰۴**	۰/۰۱**	۰/۰۱**
تنش × تلقیح	۶	۰/۰۰۰۹**	۰/۰۰۰۰۴**	۰/۰۰۰۳**	۰/۰۰۰۰۹**	۰/۰۰۰۰۸**	۰/۰۰۰۰۸*
اشتباه آزمایشی	۲۹	۰/۰۰۰۰۴	۰/۰۰۰۰۴	۰/۰۰۰۰۱**	۰/۰۰۰۰۳	۰/۰۰۰۰۴	۰/۰۰۰۰۳
ضریب تغییرات (%)		۲/۴۰	۴/۱۵	۳/۰۵	۱/۲۵	۱/۸۵	۱/۱۱
							۲/۴۶

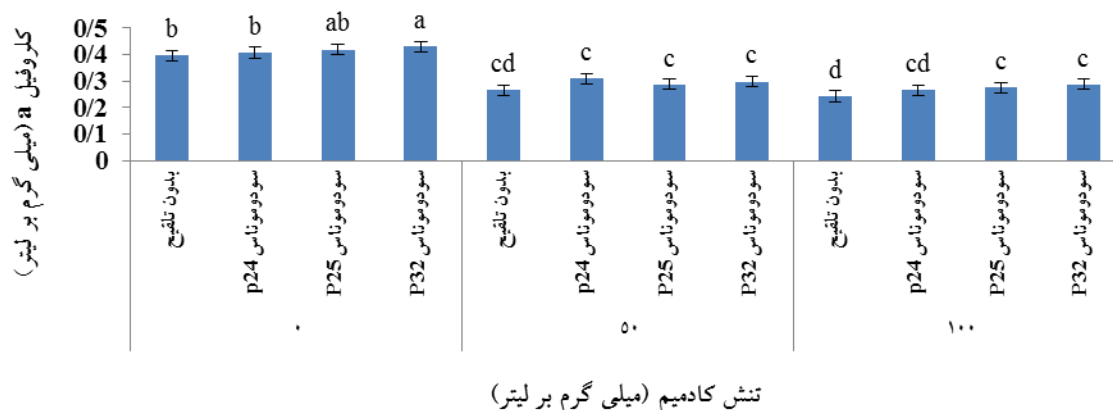
\*, \*\*, ns به ترتیب معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۵ درصد، ۱ درصد و عدم تفاوت معنی‌دار است.

2011)، آسیب و تخریب لیپیدهای غشاء کلروپلاستی در اثر ایجاد تنش اکسیداتیو و تقابل بین کادمیوم با گروه‌های SH- و یا القاء تغییرات در کلروپلاست‌ها باشد ( Ahmed et al., 2012). بیش‌تر بودن کلروفیل‌ها و کاروتنوئید در تیمار باکتری‌ها نسبت به تیمار شاهد، احتمالاً به دلیل کاهش قابل توجه سمیت فلزات سنگین و جلوگیری از تشکیل رادیکال‌های آزاد در تجزیه کلروفیل و تخریب کلروپلاست هست ( Wani et al., 2008).

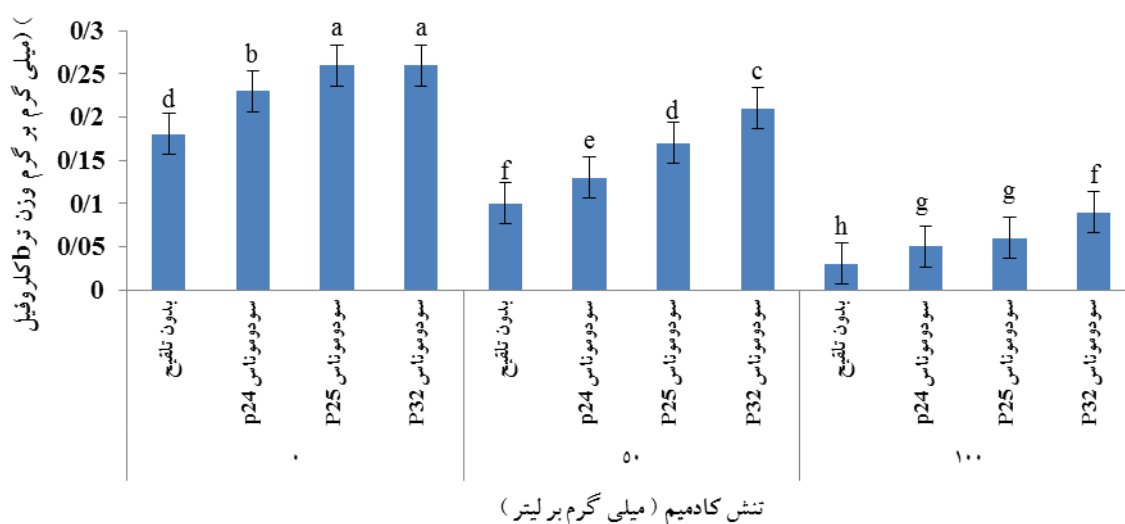
نسبت کلروفیل a/b که معمولاً شاخص تنش در نظر گرفته می‌شود، در گیاهانی که در معرض غلظت‌های زیاد فلزها قرار دارند، کاهش می‌یابد (Borowiak et al., 2015). در بررسی حاضر این نسبت در غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر کادمیوم نسبت به شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت و حتی در مقایسه با غلظت‌های بیشتر از این مقدار، بسیار کمتر بود که بیان‌کننده افزایش کمتر کلروفیل a در غلظت‌های کمتر از ۲۰۰ میلی‌گرم کادمیوم است. افزایش شدید این نسبت در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم نشان‌دهنده کاهش کمتر کلروفیل a در برابر کلروفیل b است. در حقیقت کاهش شدید میزان کلروفیل b در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر کادمیوم و تیمارهای بدون تلقیح با باکتری سودوموناس سبب افزایش شدید در نسبت کلروفیل a/b شد. (شکل ۹). کلروفیل b برای شکل‌گیری صحیح کمپلکس‌های جمع‌آوری‌کننده نور در کلروپلاست‌های گیاهان عالی ضروری است (Biswal et al., 2012). افزایش این نسبت در گیاهچه‌های لوبیا معرض غلظت‌های مختلف کادمیوم،

گیاهچه نخودفرنگی تأثیر تنش کادمیوم نشان داد که تأثیر تنش کادمیوم و تلقیح گیاه مادری با سویه‌های باکتری‌های محرک رشد بر میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل، پرولین، پروتئین، قند محلول، فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی پراکسیداز در گیاهچه نخودفرنگی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). اثر متقابل تنش کادمیوم و باکتری‌های محرک رشد برای صفات کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، پرولین و فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی پراکسیداز معنی‌دار شد (جدول ۲).

مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارهای آزمایش نشان داد که با افزایش شدت تنش کادمیوم از میزان کلروفیل a و b کاسته شده و کمترین مقدار کلروفیل a، b و کل (۰/۲۴، ۰/۰۳ و ۰/۲۷۳ میلی‌گرم برگرم وزن تازه) نیز در گیاهان شاهد در تیمار تنش کادمیوم با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر و در گیاهچه حاصل از بذر گیاهان مادری تلقیح‌نشده با باکتری بدست آمد درحالی‌که بیشترین مقدار کلروفیل a، b و کل (۰/۴۴، ۰/۲۶ و ۰/۶۹ میلی‌گرم برگرم وزن تازه) در گیاهان در شرایط بدون تنش کادمیوم و تلقیح‌شده با باکتری سودوموناس فلورسنس P32 حاصل شد (شکل‌های ۶، ۷ و ۸). کاهش مقدار رنگیزه‌های گیاهی کلروفیل a، b در اثر تنش کادمیوم در گیاهانی مانند خردل (Ahmed et al., 2012) و باقلا (Siddiqui et al., 2012)، گزارش شده است. اثر کادمیوم بر کاهش کلروفیل می‌تواند به تداخل یون‌های فلزهای سنگین با بیوستز کلروفیل با جانشینی آن‌ها با یون منیزیم یا ممانعت مستقیم مراحل آنزیمی دخیل در بیوستز کلروفیل ( Pourraut et al.,



شکل ۶- تأثیر تلقیح گیاه مادری با سویه‌های باکتری سودوموناس فلورسنس بر میزان کلروفیل a گیاهچه نخودفرنگی در شرایط تنش کادمیم، حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار سطح احتمال ۵ درصد در آزمون دانکن است.

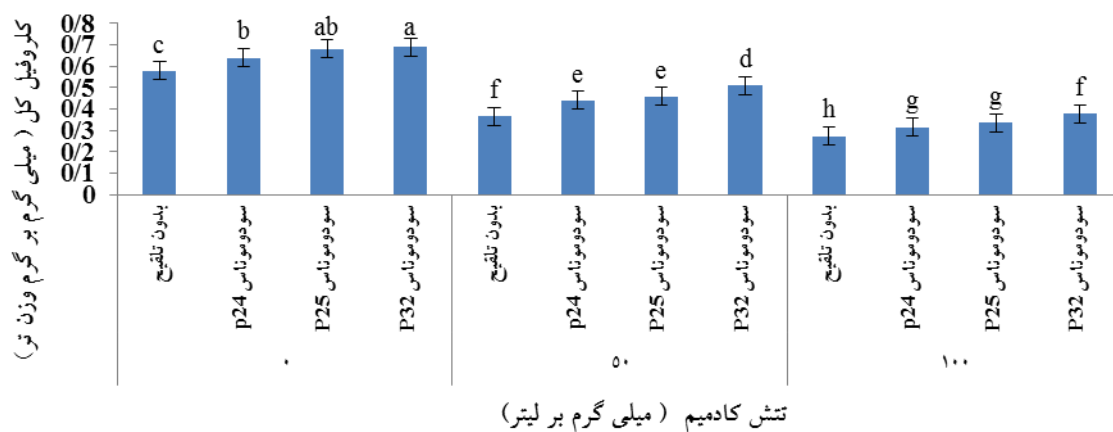


شکل ۷- تأثیر تلقیح گیاه مادری با سویه‌های باکتری سودوموناس فلورسنس بر میزان کلروفیل b گیاهچه نخودفرنگی در شرایط تنش کادمیم، حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار سطح احتمال ۵ درصد در آزمون دانکن است.

فلورسنس P32 در تیمار بدون تنش کادمیم تولید شد (شکل ۱۰). در شرایط بدون تنش کادمیم، بیشترین غلظت پرولین (۰/۱۹ میکروگرم بر گرم وزن تر) در گیاهچه حاصل از بذرها گیاهان مادری تلقیح‌نشده تولید شد و کمترین محتوی پرولین برگ (۰/۱ میکروگرم بر گرم وزن تر) در گیاهچه بدست‌آمده از بذر گیاهان تلقیح‌شده با باکتری سودوموناس فلورسنس P32 تولید شد. در شرایط تنش کادمیم ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نیز بیشترین میزان پرولین (۰/۳۶ میکروگرم بر گرم وزن تازه) در گیاهچه‌های حاصل از بذر گیاهان تلقیح‌شده با باکتری

مس و سرب نیز گزارش شده است (Zengin and Munzuroglu, 2005).

با افزایش شدت تنش کادمیم میزان پرولین گیاهچه نخودفرنگی افزایش یافته و بیشترین غلظت پرولین (۰/۳۵ میکروگرم بر گرم وزن تر) در بالاترین سطح تنش کادمیم یعنی ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر کادمیم در گیاهچه حاصل از بذر گیاهان تلقیح‌شده با باکتری سودوموناس فلورسنس P32 حاصل شد و کمترین محتوی پرولین برگ (۰/۱ میکروگرم بر گرم وزن تر) در بذر گیاهان تلقیح‌شده با باکتری سودوموناس



شکل ۸- تأثیر تلقیح گیاه مادری با سویه‌های باکتری سودوموناس فلورسنس بر میزان کلروفیل کل گیاهچه نخودفرنگی در شرایط تنش کادمیوم، حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار سطح احتمال ۵ درصد در آزمون دانکن است.

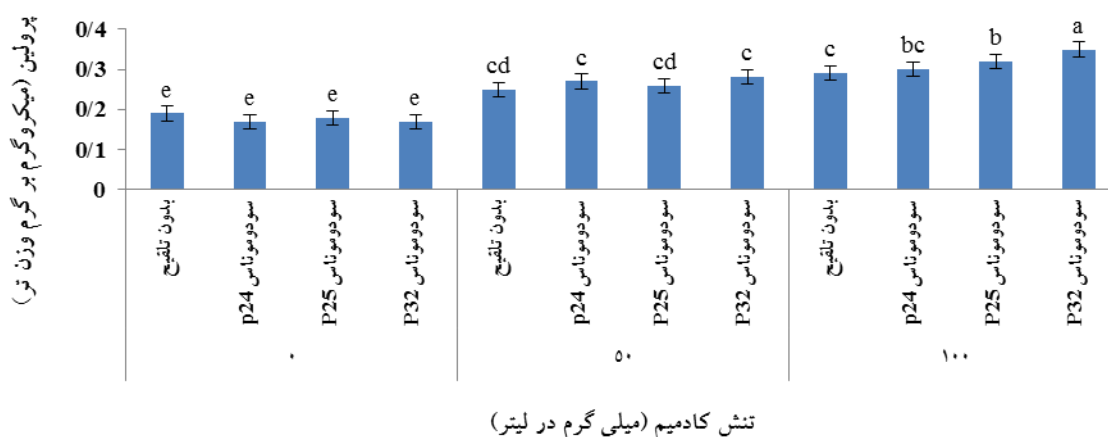


شکل ۹- تأثیر تلقیح گیاه مادری با سویه‌های باکتری سودوموناس فلورسنس بر نسبت کلروفیل a/b در گیاهچه نخودفرنگی در شرایط تنش کادمیوم، حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار سطح احتمال ۵ درصد در آزمون دانکن است.

مولکول دفاعی آنتی‌اکسیداتیو و مولکول پیام‌رسان در طول تنش ایفاء می‌کند (Ashraf et al., 2017). افزایش پرولین در گیاهان سبب محافظت از آنزیم‌های سیتوزول و ساختارهای سلولی می‌شود (Zhang et al., 2010). تولید بیشتر پرولین در تیمار باکتری نسبت به تیمار شاهد احتمالاً به دلیل تولید هورمون آبسزیک اسید توسط این میکروارگانیسم‌ها است، زیرا این هورمون تولید اسیدهای آمینه به‌ویژه پرولین را افزایش داده و سازش با تنش را بهبود می‌بخشد (Ashraf et al., 2017).

نتایج تجزیه واریانس در جدول ۲ نشان می‌دهد که اثر تنش کادمیوم و تلقیح گیاه مادری با باکتری‌های محرک رشد گیاهی و اثر متقابل این دو فاکتور برای فعالیت آنزیم پراکسیداز در

P32 حاصل شد و کمترین میزان پرولین آزاد برگ (۰/۲۵) میکروگرم بر گرم وزن تازه) در گیاهچه‌های حاصل از بذر گیاهان مادری تلقیح‌نشده حاصل شد. در تنش کادمیوم ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیز بیشترین میزان پرولین (۰/۳۵) میکروگرم بر گرم وزن تازه) در بذر حاصل از گیاهان تلقیح‌شده با باکتری سودوموناس فلورسنس P32 حاصل شد و کمترین میزان پرولین (۰/۲۹) میکروگرم بر گرم وزن تازه) در گیاهچه‌های حاصل از بذر گیاهان مادری تلقیح‌نشده بدست آمد (شکل ۱۰). به‌طور کلی اسید آمینه پرولین به‌عنوان یک ماده اسمزی، برای خنثی کردن اثر تنش فلزات سنگین در گیاه تجمع می‌یابد، علاوه بر این، پرولین سه نقش مهم را به‌عنوان کلاته‌کننده فلز،

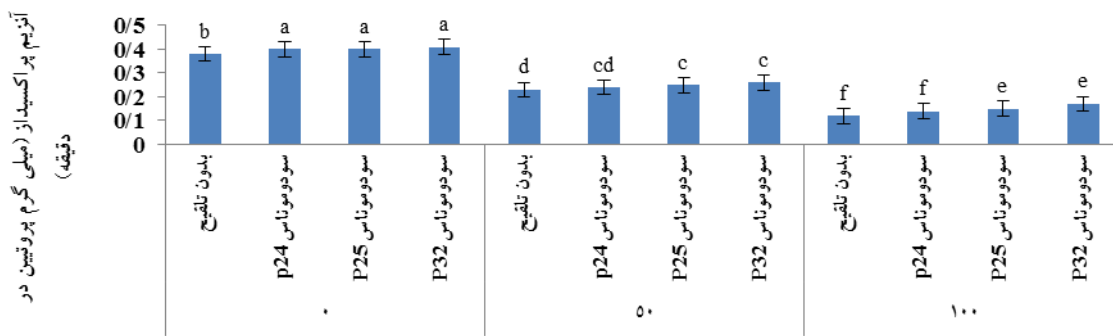


شکل ۱۰- تأثیر تلقیح گیاه مادری با سویه های باکتری سودوموناس فلورسنس بر میزان پروتئین گیاهچه نخودفرنگی در شرایط تنش کادمیم حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم تفاوت معنی در سطح احتمال ۵ درصد در آزمون دانکن است.

آزاد اکسیژن، به سلول های گیاهی آسیب وارد کرده و موجب پراکسیداسیون چربی های غشایی می شود. (Maleki *et al.*, 2017). باکتری های محرک رشد از طریق افزایش برخی آنزیم ها مانند آنزیم های آنتی اکسیدان در کاهش خسارت های ناشی از گونه های فعال و تنش اکسیداتیو در گیاهان تحت تنش مؤثرند (Saravanakumar *et al.*, 2010). از جمله این سیستم های دفاعی، فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان مانند پراکسیداز است، پراکسیدازها نقش بسیار مهمی در پاسخ به انواع تنش ها داشته و مسئول حذف مقادیر اضافی پراکسید هیدروژن هستند. آنزیم پراکسیداز اثر تخریب یون های سوپراکسید را دفع می کند (Pandey *et al.*, 2009). به طور کلی باکتری سودوموناس فلورسنس به عنوان یک کاتابولیسیم عمل می کند، علاوه بر این فعالیت آنزیم هایی مانند پراکسیداز و کاتالاز را افزایش می دهد (Bianco and Defez, 2009). احتمالاً تولید متابولیت ها توسط باکتری های محرک رشد از جمله هورمون های محرک رشد نقش ویژه ای در تحریک و بیان پروتئین های آنزیم های آنتی اکسیدان ایفاء می کند. افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان پراکسیداز در شرایط تنش در اثر تلقیح با باکتری در بذور بادام زمینی گزارش شده است (Kishore *et al.*, 2006).

با افزایش شدت تنش کادمیم میزان پروتئین گیاهچه نخودفرنگی کاهش یافته و بیشترین غلظت پروتئین (۰/۶۸ میلی گرم بر گرم) در گیاهچه حاصل از بذر گیاهان تلقیح شده با

سطح احتمال یک درصد معنی دار بود. مقایسه میانگین نشان داد که با افزایش میزان کادمیم، فعالیت آنزیم آنتی اکسیدان پراکسیداز کاهش یافت و بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز (۰/۴۱ میکرومول بر دقیقه بر میلی گرم پروتئین) در گیاهچه نخودفرنگی حاصل از بذر گیاهان تلقیح شده با باکتری های محرک رشد سودوموناس فلورسنس P32 در شرایط بدون تنش کادمیم حاصل شد و کمترین میزان فعالیت این آنزیم در گیاهان تلقیح نشده در تنش ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر کادمیم حاصل شد (شکل ۱۱). در شرایط تنش کادمیم ۵۰ میلی گرم بر لیتر نیز بیشترین میزان فعالیت آنزیم (۰/۲۶ میکرومول بر گرم وزن تر بر دقیقه بر میلی گرم پروتئین) در گیاهچه های حاصل از بذور گیاهان تلقیح شده با باکتری P32 حاصل شد و کمترین میزان فعالیت این آنزیم (۰/۲۳ میکرومول بر گرم وزن تر بر دقیقه) در گیاهچه های حاصل از بذر گیاهان مادری تلقیح نشده حاصل شد. در تنش کادمیم ۱۰۰ میلی گرم در لیتر نیز بیشترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز (۰/۱۷ میکرومول بر گرم وزن تر بر دقیقه) در گیاهچه حاصل از بذر گیاهان تلقیح شده با باکتری سودوموناس فلورسنس P32 حاصل شد و کمترین فعالیت آن (۰/۱۲ میکرومول بر گرم وزن تر بر دقیقه) بذر حاصل از گیاهان مادری تلقیح نشده بدست آمد. بر اثر تنش فلزات سنگین، سیستم های دفاعی گیاهان در پاسخ به تنش، اکسیژن های رادیکالی فعال تولید می کنند که این رادیکال های



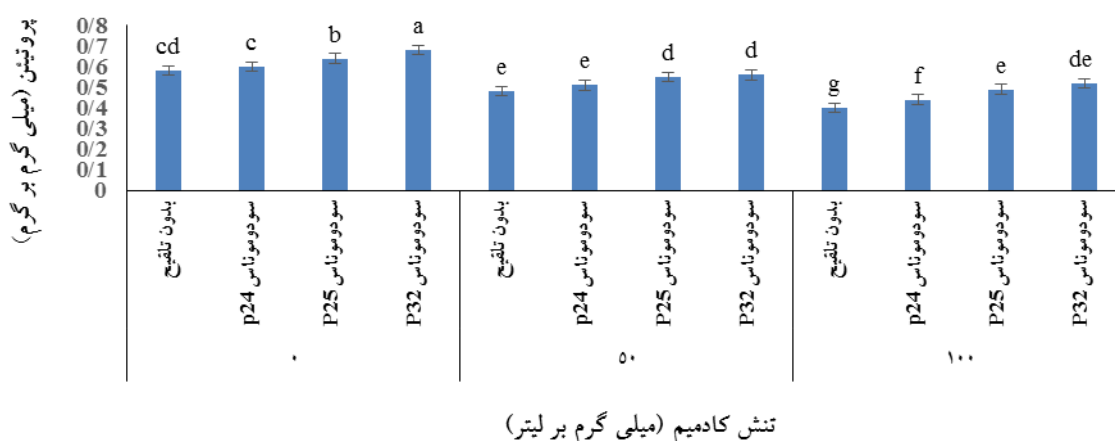
تنش کادمیوم (میلی گرم در لیتر)

شکل ۱۱- تأثیر تلقیح گیاه مادری با سویه های باکتری سودوموناس فلورسنس بر فعالیت آنزیم پراکسیداز گیاهچه نخودفرنگی در شرایط تنش کادمیوم، حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم تفاوت معنی دار سطح احتمال ۵ درصد در آزمون دانکن است.

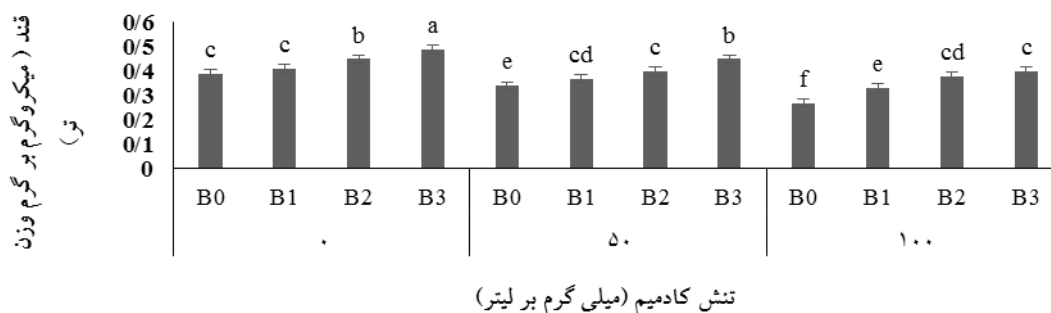
افزایش میزان کادمیوم درصد قند محلول گیاهچه نخودفرنگی افزایش یافته و بیشترین میزان قند محلول (۰/۴۹ میکروگرم بر گرم) در گیاهچه های نخودفرنگی حاصل از بذر گیاهان مادری تلقیح شده با باکتری سودوموناس فلورسنس P32 در شرایط بدون تنش کادمیوم و کمترین میزان این شاخص (۰/۲۷ میکروگرم بر گرم) در گیاهچه های نخودفرنگی حاصل از بذر گیاهان مادری تلقیح نشده با باکتری در تیمار ۱۰۰ میلی گرم در لیتر کادمیوم حاصل شد (شکل ۱۳). در شرایط تنش کادمیوم ۵۰ میلی گرم بر لیتر نیز بیشترین میزان قند (۰/۴ میکروگرم بر گرم) در گیاهچه های حاصل از بذرهاى گیاهان تلقیح شده با باکتری P32 حاصل شد و کمترین میزان قند (۰/۳۴ میکروگرم بر گرم) در گیاهچه های حاصل از بذر گیاهان مادری تلقیح نشده حاصل شد. در تنش کادمیوم ۱۰۰ میلی گرم در لیتر نیز بیشترین میزان قند (۰/۴ میکروگرم بر گرم) در بذر حاصل از گیاهان تلقیح شده با باکتری P32 حاصل شد و کمترین میزان قند (۰/۲۷ میکروگرم بر گرم) بذر حاصل از گیاهان مادری تلقیح نشده بدست آمد (شکل ۱۲). افزایش میزان کربوهیدرات در گیاه نشان دهنده کاهش میزان آب در سلول ها هست و کاهش میزان آب نیز عامل مهمی در کاهش رشد گیاه بشمار می رود (Arora et al., 2016). بسیاری از فلزات سنگین فعالیت پروتئین های کانالی آب را در گیاهان تغییر می دهند، روزنه های برگ را می بندند و در نتیجه جریان آب در گیاه را متوقف می سازند. در شرایط تنش، افزایش کربوهیدرات های محلول به

باکتری P32 در شرایط بدون تنش کادمیوم حاصل شد و کمترین محتوی پروتئین برگ (۰/۴ میلی گرم بر گرم) در گیاهچه تولید شده از بذر حاصل از گیاهان تلقیح نشده در تیمار تنش کادمیوم ۱۰۰ میلی گرم در لیتر تولید شد (شکل ۱۲). در شرایط تنش کادمیوم ۵۰ میلی گرم بر لیتر نیز بیشترین میزان پروتئین (۰/۵۶ میلی گرم بر گرم) در گیاهچه های حاصل از بذرهاى گیاهان و تلقیح شده با باکتری P32 حاصل شد و کمترین میزان پروتئین برگ (۰/۴۸ میلی گرم بر گرم) در گیاهچه های حاصل از بذر گیاهان مادری تلقیح نشده حاصل شد. در تنش کادمیوم ۱۰۰ میلی گرم در لیتر نیز بیشترین مقدار پروتئین (۰/۵۲ میلی گرم بر گرم) در گیاهچه حاصل از بذر گیاهان تلقیح شده با باکتری P32 حاصل شد و کمترین میزان این صفت (۰/۴ میلی گرم بر گرم) در گیاهچه های حاصل از بذر گیاهان مادری تلقیح نشده بدست آمد (شکل ۱۲). کاهش محتوای پروتئین محلول بر اثر کاربرد فلز کادمیوم در مطالعات Irfan و همکاران (۲۰۱۳) در گیاه نخود ایرانی و Bhardwaj و همکاران (۲۰۰۹) در گیاه لوبیا هم خوانی دارد. افزایش غلظت فلزات سنگین موجب تولید رادیکال های فعال اکسیژن و ایجاد تنش اکسیداتیو در گیاه (Ullah et al., 2015)، پراکسیداسیون لیپیدها و تشکیل مالون دالدهید می شود که موجب اکسیداسیون پروتئین ها، تغییرات آمینواسیدها و شکسته شدن زنجیره های پپتیدی می گردد (جوادی و همکاران، ۱۳۹۵).

مقایسه میانگین اثرات تیمارها (شکل ۱۳) نشان داد که با



شکل ۱۲- تأثیر تلقیح گیاه مادری با سویه‌های باکتری سودوموناس فلورسنس بر میزان پروتئین گیاهچه نخودفرنگی در شرایط تنش کادمیم، حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار سطح احتمال ۵ درصد در آزمون دانکن است.



شکل ۱۳- تأثیر تلقیح گیاه مادری با سویه‌های باکتری سودوموناس فلورسنس بر میزان قند گیاهچه نخودفرنگی در شرایط تنش کادمیم، حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار سطح احتمال ۵ درصد در آزمون دانکن است.

گردید و کمترین میزان جوانه‌زنی و رشد گیاهچه در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر کادمیم حاصل شد. کادمیم باعث کاهش فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدان پراکسیداز در گیاهچه‌های نخودفرنگی شد و میزان پرولین را در این گیاهچه‌ها افزایش داد. نتایج این آزمایش نشان داد که بذور بدست‌آمده از گیاه مادری تیمار شده با باکتری سودوموناس فلورسنس به علت داشتن وزن و ذخایر بیشتر در شرایط تنش کادمیم درصد و سرعت جوانه‌زنی و رشد گیاهچه بیشتری داشتند. تیمار با باکتری‌ها به دلیل کاهش قابل‌توجه سمیت فلزات سنگین و جلوگیری از تشکیل رادیکال‌های آزاد در تجزیه کلروفیل سبب بالاتر بودن کلروفیل‌ها و کاروتنوئید در نسبت به تیمار شاهد شد. همچنین تیمار گیاه مادری با باکتری سودوموناس باعث تولید

حفظ متابولیسم پایه مطلوب کمک می‌کند (Nikalje and Suprasanna, 2018). بیوسنتز بیش‌تر کلروفیل و فتوسنتز در برگ گیاهان تیمار شده با باکتری‌های محرک رشد (Adediran et al., 2015)، در افزایش محتوی کربوهیدرات در گیاهچه توجیه‌پذیر است زیرا در گیاهان تلقیح‌شده با باکتری‌ها افزایش سطح هورمون‌های گیاهی مانند سیتوکینین و جیبرلین نیز در افزایش محتوای قند گیاه دخیل هست (Belimove et al., 2015).

#### نتیجه‌گیری

به‌طورکلی نتایج این پژوهش نشان داد که تنش کادمیم باعث کاهش شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه در نخودفرنگی

بیشتر اسیدآمینه پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند پراکسیداز نسبت به تیمار شاهد درجهت خنثی‌کردن اثر تنش فلز شد. احتمالاً تولید متابولیت‌ها توسط باکتری‌های محرک رشد نقش ویژه‌ای در تحریک و بیان پروتئین‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان ایفاء می‌کند. همچنین بیوستتزی بیش‌تر کلروفیل و فتوستتزی باعث افزایش محتوی کربوهیدرات در گیاهچه حاصل از بذر گیاهان تیمار شده با باکتری‌های محرک رشد شد که این امر به افزایش کربوهیدرات‌های محلول به حفظ متابولیسم پایه گیاه در شرایط تنش کادمیوم کمک می‌کند.

## منابع

بهادری، س.، اسماعیل‌پور، ب.، سلطانی طولارود، ع.، ا.، حیدری، م.، خرم‌دل، س.، عباس‌زاده دهجی، پ. و شیخ‌زاده مصدق، پ. (۱۳۹۵) تأثیر پیش‌تیمار بذر با باکتری‌های محرک رشد بر رشد رویشی، صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی گیاه بامیه (*Abelmoschus esculentus* L.) تحت تنش دمای پایین. مجله دانش آب و خاک ۲۶: ۱۰۴-۹۳.

بهمنی، م.، جلالی، غ.، اصغرزاده، ا. و طبری کوچکسرای، م. (۱۳۹۳) اثرات تلقیح ریزوباکتریایی محرک رشد گیاهی بر برخی ویژگی‌های جوانه‌زنی و بنیه بذر استبرق. نشریه زیست‌شناسی خاک ۲: ۸۷-۷۹.

جوادی، ا.، خماری، س.، اسماعیل‌پور، ب. و اصغری، ع. (۱۳۹۵) القای تحمل شوری در بذرهاى تولیدشده از بوته‌های گوجه‌فرنگی محلول‌پاشی شده با ۲۴- اپی‌براسینولید و نانو اکسید روی. فرایند و کارکرد گیاهی ۷: ۱۲۰-۱۰۳.

مجنون حسینی، ن. (۱۳۹۴) زراعت و تولید حبوبات. انتشارات جهاد دانشگاهی تهران.

- Abid, U., Sun, H., Muhammad, F., Hussain, M., Shah, F. and Xiyan, Y. (2015) Phytoremediation of heavy metals assisted by plant growth promoting (PGP) bacteria. *Environmental and Experimental Botany* 117: 28-40.
- Adediran, G. A., Ngwenya, B. T., Mosselmans, J. F. W., Heal, K. V. and Harvie, B. A. (2015) Mechanism behind bacteria induced plant growth promotion and Zn accumulation in *Brassica juncea*. *Journal of Hazardious Materials* 283: 490-499.
- Ahmad, P., Ozturk, M. and Gucl, S. (2012) Oxidative damage and antioxidants induced by heavy metal stress in two cultivars of mustard plants. *Fresenius Environmental Bulletin* 21: 2953-2961.
- Amiri, M. B., Rezvani Moghaddam, P., Fallahi, J. and Yazdani, R. (2010) Effects of different levels of applied nitrogen on mother plant, drought stress and seed priming with bacteria on germination indexes in wheat cv. Sayonz. *The First National of Environmental Stresses in Agricultural Sciences* 27-28 (In Farsi).
- Arnon, D. I. (1949) Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology* 24: 1.
- Arora, K., Sharma, S. and Monti, A. (2016) Bio-remediation of Pb and Cd polluted soils by switch grass: A case study in India. *International Journal of Phytoremediation* 18: 704-709.
- Ashraf, M. A., Hussain, I., Rasheed, R., Iqbal, M., Riaz, M. and Arif, M. S. (2017) Advances in microbe-assisted reclamation of heavy metal contaminated soils over the last decade: A review. *Journal of Environmental Management* 198: 132-143.
- Aziz-Khan, H., Ziaf, Kh., Amjad, M. and Iqbal, Q. (2012) Exogenous application of polyamine improves germination and early seedling growth of hot pepper. *Childhood Journal Agriculture Research* 72: 429-433.
- Bates, L. S., Walderen, R. D. and Taere, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.
- Belimove, A. A., Puhalsky, I. V., Safronova, V. I., Shaposhnikov, A. I., Vishnyakova, M. A. and Semenova, E. V. (2015) Role of plant genotype and soil conditions in symbiotic plant-microbe interactions for adaptation of plants to cadmium polluted soils. *Water and Air and Soil Pollution* 226: 1-15.
- Bhardwaj, P., Chaturvedi, A. K. and Prasad, P. (2009) Effect of enhanced lead and cadmium in soil on physiological and biochemical attributes of *Phaseolus vulgaris* L. *Nature and Science* 7: 63-66.
- Bianco, C. and Defez, R. (2009) *Medicago truncatula* improves salt tolerance when nodulated by an indole3-acetic acidoverproducing *Sinorhizobium meliloti* strain. *Journal of Experimental Botany* 60: 3097-3107.
- Biswal, A. K., Pattanayak, G. K., Pandey, S. S., Leelavathi, S., Reddy, V. S., Govindjee, and Tripathy, B. C. (2012) Light intensity-dependent modulation of chlorophyll b biosynthesis and photosynthesis by overexpression of chlorophyllide a oxygenase in tobacco. *Plant Physiology* 159: 433-449.

- Borowiak, K., Gasecka, M., Mleczek, M., Dabrowski, J., Chadzinikolau, T., Magdziak, Z., Golinski, P., Rutkowski, P. and Kozubik, T. (2015) Photosynthetic activity in relation to chlorophylls, carbohydrates, phenolics and growth of a hybrid *Salix purpurea* × *triandra* × *viminalis* 2 at various Zn concentrations. *Acta Physiologiae Plantarum* 37: 155.
- Chance, B. and Maehly, A. (1955) Assay of catalases and peroxidases. *Methods of Biochemical Analysis* 1: 357-424.
- Chatterjee, R. and Bandyopadhyay, S. (2017) Effect of boron, molybdenum and biofertilizers on growth and yield of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) in acid soil of eastern Himalayan region. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences* 16: 332-336.
- Ellis, R. H. and Roberts, E. H. (1981) The quantification of aging and survival in orthodox seeds. *Seed Science Technology* 9: 373-409.
- George, R. A. T. (2009) *Vegetable seed production*. 3<sup>rd</sup> Ed. CABI Publishing.
- Ghassemi-Golezani, K., Tajbakhsh, Z. and Raey, Y. (2011) Seed development and quality in maize cultivars. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 39: 178.
- Groppa, M. D., Zawoznik, M. S., Tomaro, M. L. and Benavides, M. P. (2008) Inhibition of root and polyamine metabolism in sunflower (*Helianthus annuus*) seedlings under cadmium and copper stress. *Biological Trace Element Research* 126: 246-256.
- Guleria, S., Sharma, S., Gill, B. S. and Munshi, S. K. (2008) Distribution and biochemical composition of large and small seeds of soybean (*Glycine max* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture* 88: 269-272.
- Huang, Z., Pan, X. D., Wu, P. G., Han J. L. and Chen, Q. (2014) Heavy metals in vegetables and the health risk to population in Zhejiang, China. *Food Control* 36: 248-252.
- Irfan, M., Hayat, S. H., Ahmad, A. and Alyemeni, M. N. (2013) Soil cadmium enrichment manifestations. *Isabgol (Plantago ovata* Forsk). *Agronomy Journal (Pajouhesh and Sazandegi)* 93: 8-18.
- Irigoyen, J., Einerich, D. and Sanchez-Diaz, M. (1992) Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia Plantarum* 84: 55-60.
- Kabir, M., Iqbal, M. Z., Shafiq, M. and Farooqi, Z. R. (2008) Reduction in germination and seedling growth of *Thespesia populnea* L. caused by lead and cadmium treatments. *Pakistan Journal of Botany* 40: 2419-2426.
- Kishore, G., Pande, S. and Podile, A. (2006) *Pseudomonas aeruginosa* GSE 18 inhibits the cell wall degrading enzymes of *Aspergillus niger* and activates defence-related enzymes of groundnut in control of collar rot disease. *Australasian Plant Pathology* 35: 259-263.
- Mac-Adam, J. W., Nelson, C. J. and Sharp, R. E. (1992) Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fescue. *Plant Physiology* 99: 872-878.
- Maleki, M., Ghorbanpour, M. and Kariman, K. (2017) Physiological and antioxidative responses of medicinal plants exposed to heavy metals stress. *Plant Genetics* 11: 247-254.
- Marquez-Garcia, B., Fernandez-Recamales, M. A. and Cordoba, F. (2012) Effects of cadmium on phenolic composition and antioxidant activities of *Erica andevalensis*. *Journal of Botany* 2012: 6.
- Mashayekhi, H. R., Baghaei, A. H. and Gmaryan, M. (2014) Effects of cadmium on somemorphological parameters of marigold (*Calendula officinalis*). *The National Conference of Medicinal Plants* 5.
- Mottaghi, S., Najafi Noori, M., Hamidi, A., Shirani Rad, A. and Qushchi, P. (2011) The impact of late planting native plants on the vigor of spring varieties of canola (*Brassica napus* L.) with standard germination test. *Seed Science and Technology* 1: 147-158 (In Farsi).
- Nazar, R., Iqbal, N., Masood, A., Khan, M. I. R., Syeed, S. and Khan, N. A. (2012) Cadmium toxicity in plants and role of mineral nutrients in its alleviation. *American Journal of Plant Sciences* 3: 1476-1489.
- Nikalje, G. C. and Suprasanna, P. (2018) Coping with metal toxicity-cues from halophytes. *Frontiers in Plant Science* 9: 777.
- Omrani, B. and Fallah, S. (2016) Effect of organic and inorganic fertilizers on seed yield, yield components and oil quality of purslane (*Portulaca oleracea* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 32 (4), Under Press, (In Farsi).
- Pandey, N., Pathak, G. C., Pandey, D. K. and Pandey, R. (2009) Heavy metals, Co, Ni, Cu, Zn and Cd, produce oxidative damage and evoke differential antioxidant responses in spinach. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 21: 103-111.
- Pourraut, B., Shahid, M., Dumat, C., Winterton, P. and Pinelli, E. (2011) Lead uptake, toxicity and detoxification in plants. *Review on Environmental Contamination and Toxicology* 213: 113-136.
- Salarizadeh, S., Kavousi, H. R. and Pourseyadi, S. (2016) Effect of cadmium on germination characters and biochemical parameters of two iranian ecotypes of cumin (*Cuminum cyminum* L.). *Journal of Medicinal Plants and By-Products* 1: 15-22.
- Saravanakumar, D., Kavino, M., Raguchander, T., Subbian, P. and Samiyappan, R. (2010) Plant growth promoting bacteria enhance water stress resistance in green gram plants. *Plant Physiology* 33: 203-209.
- Shahid, M., Dumat, C., Khalid, S., Niazi, N. K. and Antunes, P. M. C. (2016) Cadmium bioavailability, uptake, toxicity and detoxification in soil-plant system. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 1-65.

- Siddiqui, M. H., Al-Wahaibi, M. H. and Ali, H. M. (2012) Effect of calcium and potassium on antioxidant system of *Vicia faba* L. under cadmium stress. *International Journal of Molecular Sciences* 13: 6604-6619.
- Siddhu, G. and Ali Khan, M. A. (2012) Effects of cadmium on growth and metabolism of *Phaseolus mungo*. *Journal of Environmental Biology* 33: 173-179.
- Singh, J. and Kalamdhad, A. S. (2011) Effects of heavy metals on soil, plants, human health and aquatic life. *International Journal of Research in Chemistry and Environment* 1: 15-21.
- Tao, L., Guo, M. and Ren, J. (2015) Effects of cadmium on seed germination, coleoptile growth and root elongation of six pulses. *Poland Journal of Environmental Study* 24: 295-299.
- Ullah, A., Mushtaq, H., Ali, H., Munis, M. F. H., Javed, M. T. and Chaudhary, H. J. (2015) Diazotrophs-assisted phytoremediation of heavy metals: A novel approach. *Environmental Science and Pollution Research* 22: 2505-2514.
- Wani, P. A., Khan, M. S. and Zaidi, A. (2008) Chromium reducing and plant growth promoting Mesorhizobium improves chickpea growth in chromium amended soil. *Biotechnology Letters* 30: 159-163.
- Yazdani, R., Rezvani Moghaddam, P., Koocheki, A., Amiri, M. B., Fallahi, J. and Dayhimfar, R. (2010) Effects of seed nourished by different levels of nitrogen, different biofertilizers and drought stress on germination indices and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum*) cv. Sayonz. *Agroecology* 2: 266-276 (In Farsi).
- Zengin, F. K. and Munzuroglu, O. (2005) Effect of some heavy metals on content of chlorophyll, proline and some antioxidant chemicals in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 47: 157-164.
- Zhang, H. H., Tang, M. and Zheng, 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: 306-311.

## Induction of resistance to Cadmium stress in seeds produced from pea plants inoculated by *Pseudomonas bacteium*

Behrooz esmaelpour,<sup>1</sup> Fatemeh Mahmoudi<sup>2</sup>, Roghayeh Nabipour Sanjid <sup>1</sup>, Hamideh Fatemi<sup>1</sup>,  
Mousa Torabi-Giglou<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Horticultural science department, faculty of Agricultural science, Mohaghegh Ardabili university

<sup>2</sup> Agronomy and plant breeding department, faculty of Agricultural science, Mohaghegh Ardabili university

(Received: 09/01/2021, Accepted: 02/06/2021)

### Abstract

In order to evaluate the effect of Inoculation of pea (*Pisum sativum* L.) mother plants by plant growth promoting rhizobacteria on seed germination and seedling growth traits under Cadmium stress, a factorial experiment based on completely randomized design with four replications was conducted. Experimental treatments included cadmium stress (0, 50 and 100 mg/l CdCl<sub>2</sub>) on pea seeds produced from mother plants inoculated by *Pseudomonas fluorescense* plant growth promoting rhizobacteria strains p15, p25, p32 and without inoculation. Through this experiment, traits such as seed germination and seedling growth characteristics, some biochemical parameters including proline, protein and soluble solid content, photosynthetic pigments content and peroxidase antioxidant enzyme were measured. Results indicated that with increase of cadmium stress, germination percentage and rate, seedling length and dry weight, seedling length index, chlorophyll a, b and total chlorophyll, and soluble solid and protein content of seedlings and peroxidase antioxidant enzyme activity decreased significantly and the highest reduction was occurred at 100 mg/l concentration of cadmium, but cadmium stress increased proline content of seedling and the chlorophyll a/b ratio whereas content of leaves were increased. Meanwhile inoculation of pea plants by *Pseudomonas fluorescense* bacterial strains led to increases in seed germination and seedling growth parameters, photosynthetic pigments, proline, protein and soluble solid contents as well as peroxidase antioxidant enzyme activity under cadmium stress condition. Results indicated that *Pseudomonas fluorescense* p32 strain had the the highest ameliorated effects on pea seed germination and seedling growth under higher cadmium stress condition. In general the results of this investigation revealed that inoculation of mother plans by *Pseudomonas fluorescense* plant growth promoting rhizobacteria strains significantly alleviated the detrimental effects of cadmium stress on pea plants via increase in plant hormones responsible in seed germination and seedling growth traits and peroxidase enzyme activity.

**Key words:** Chlorophyll, Enzyme, Growth, Proline, Seedling

Corresponding author, Email: behsmaiel@yahoo.com