University of Tehran Press

Iranian Journal of Field Crop Science

Online ISSN: 2423-8082

Homepage:https://ijfcs.ut.ac.ir/

Physiological and Biochemical Response of Corn (*Zea mays* L.) and Soybean (*Glycine max* L.) to Cadmium in Mixed Culture

Faezeh Zaefarian [1]✉ | Roghayeh Hasanpour[2] | Maryam Sadegh[3]

1. Corresponding Author, Department of Agronomy, Faculty of Crop Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran. Email: fa.zaefarian@sanru.ac.ir
2. Department of Agronomy, Faculty of Crop Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran. Email: r.hasanpour@sanru.ac.ir
3. Department of Agronomy, Faculty of Crop Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran. Email: m.sadegh@sanru.ac.ir

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:
Received: November 05, 2022
Received in revised form: January 02, 2023
Accepted: January 30, 2023
Published online: April 28, 2023

Keywords:
Chlorophyll,
corn and soybean mixed cultivation,
leaf,
proline,
soluble sugar,
starch.

ABSTRACT

This experiment was conducted in order to investigate the effect of cadmium on physiological characteristics and biochemical activities of corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.) in mono and mixed cultivation in the greenhouse of Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources as a factorial experiment in a completely randomized design with four replications. Cadmium concentrations included 0, 50, 100, 150, and 200 mg of cadmium per kg of soil. Planting ratios included mono cultivation of corn and soybean and mixed cultivation of corn and soybean with a ratio of 50: 50. The results showed that chlorophyll a and b decreased with increasing the level of cadmium in both mono and mixed cultures. In the concentration of 200 mg of cadmium per kg of soil, chlorophyll a in corn and soybean plants in mixed culture showed a decrease of 25.33 and 10.31%, respectively, compared to the no cadmium contamination. Also, the results showed that the main effects of cadmium and planting ratios on the relative water content of leaf and the amount of sugar content were significant at the probability level of 1%. However, the interaction of cadmium and planting ratios did not show any significant effect on these two mentioned traits. The relative water content of corn and soybean in mixed culture was higher than mono culture, so that the relative water content of corn and soybean leaves in mixed cultivation showed an increase of 5.26% and 7.31%, respectively, compared to pure cultivation. Corn plants in mono and mixed culture had higher relative leaf water content than soybeans. Corn and soybean leaves in mixed culture had less starch than pure culture. The reduction of leaf starch in corn and soybean mixed culture at the highest level of cadmium investigated was 54.58% and 78.73%, respectively. Compared to pure cultivation, mixed cultivation increased the amount of sugar content in corn and soybean leaves, which was 8.54% in corn and 7.91% in soybean. Also, increasing the concentration of cadmium in the soil increased the amount of proline in all planting ratios of both corn and soybean plants, so that the highest corn proline (0.961 µmol/g fresh weight) was observed at the highest cadmium level and the lowest corn proline (0.034 µmol/g fresh weight) was observed in the absence of cadmium contamination in the mixed culture. According to the results of this research, the mixed cultivation of corn and soybean using physiological and biochemical mechanisms can modify the negative effects caused by the stress of cadmium heavy metal.

Cite this article: Zaefarian, F., hasanpour, R., & Sadegh, M. (2023). The effect of plant diversity on physiological and biochemical properties of corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.) in cadmium contaminated soil. *Iranian Journal of Field Crop Science*, *54*(2), 179-189. DOI: 10.22059/ijfcs.2023.350645.654953.

© The Authors.
Publisher: University of Tehran Press.

DOI: http//doi.org/10.22059/ijfcs.2023.350645.654953

انتشارات دانشگاه تهران

علوم گیاهان زراعی ایران

Homepage:https://ijfcs.ut.ac.ir/

شاپا الکترونیکی: ۸۰۸۲-۲۴۲۳

پاسخ فیزیولوژیک و بیوشیمیایی ذرت (*Zea mays* L.) و سویا (*Glycine max* L.) به کادمیم در کشت مخلوط

فائزه زعفریان[۱]✉ | رقیه حسن‌پور[۲] | مریم صادق[۳]

۱. نویسنده مسئول، گروه زراعت، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران. رایانامه: fa.zaefarian@sanru.ac.ir

۲. گروه زراعت، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران. رایانامه: r.hasanpour@sanru.ac.ir

۳. گروه زراعت، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران. رایانامه: m.sadegh@sanru.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: مقالهٔ پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۸/۱۴

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۱۰/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۱۰

تاریخ انتشار: ۱۴۰۲/۰۲/۰۸

کلیدواژه‌ها:
برگ،
پرولین،
قند محلول،
کشت مخلوط سویا- ذرت،
کلروفیل،
نشاسته.

چکیده

پژوهش حاضر به‌منظور بررسی اثر کادمیم بر ویژگی‌های فیزیولوژی و فعالیت‌های بیوشیمیایی ذرت (*Zea mays* L.) و سویا (*Glycine max* L.) در کشت خالص و مخلوط انجام شد. این آزمایش در گلخانه دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با چهار تکرار اجرا شد. غلظت‌های کادمیم شامل ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک بود. نسبت‌های کاشت اعمال‌شده شامل کشت خالص ذرت و سویا و کشت مخلوط ذرت و سویا با نسبت ۵۰:۵۰ بود. نتایج نشان داد که کلروفیل a و b با افزایش کادمیم خاک در هر دو کشت خالص و مخلوط کاهش یافت. به‌گونه‌ای‌که کلروفیل a در بوته‌های ذرت و سویا در کشت مخلوط در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم کادمیم نسبت به عدم مصرف کادمیم، به‌ترتیب ۲۵/۳۳ و ۱۰/۳۱ درصد کاهش نشان دادند. هچنین نتایج نشان داد اثرات اصلی کادمیم و نسبت‌های کاشت بر محتوای نسبی آب برگ و میزان قند محلول برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود؛ اما برهمکنش کادمیم و نسبت‌های کاشت بر دو صفت مذکور اثر معنی‌داری نشان نداد. محتوای آب نسبی ذرت و سویا در کشت مخلوط بیشتر از تک کشتی بود؛ به‌طوری‌که محتوای نسبی آب برگ ذرت و سویا در کشت مخلوط نسبت به کشت خالص به‌ترتیب ۵/۲۶ و ۷/۳۱ درصد افزایش نشان داد. بوته‌های ذرت در کشت خالص و مخلوط در مقایسه با سویا میزان محتوای نسبی آب برگ بیشتری داشتند. برگ ذرت و سویا در کشت مخلوط نشاسته کمتری نسبت به کشت خالص داشتند؛ کاهش نشاسته برگ در کشت مخلوط ذرت و سویا در بالاترین سطح کادمیم مورد بررسی نسبت به عدم مصرف کادمیم به‌ترتیب ۵۴/۵۸ و ۷۸/۷۳ درصد بود. کشت مخلوط نسبت به کشت خالص باعث افزایش میزان قند محلول برگ ذرت و سویا شد که این افزایش در ذرت ۸/۵۴ درصد و در سویا ۷/۹۱ درصد بود. همچنین با افزایش غلظت کادمیم در خاک بر میزان پرولین در تمامی نسبت‌های کاشت دو گیاه ذرت و سویا افزوده شد. به‌طوری‌که در کشت مخلوط بیشترین پرولین ذرت (۰/۹۶۱ میکرومول بر گرم وزن تر) در بالاترین سطح کادمیم و کمترین پرولین ذرت (۰/۰۳۴ میکرومول بر گرم وزن تر) در عدم مصرف کادمیم مشاهده شد. باتوجه‌به نتایج پژوهش حاضر، کشت مخلوط ذرت و سویا با استفاده از سازوکارهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی موجب تعدیل اثرات منفی ناشی از تنش فلز سنگین کادمیم می‌شود.

استناد: زعفریان، ف.، حسن‌پور، ر.، و صادق، م. (۱۴۰۲). تاثیر تنوع گیاهی بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ذرت (*Zea mays* L.) و سویا (*Glycine max* L.) در خاک آلوده با کادمیم. *علوم گیاهان زراعی ایران، ۵۴(۲)، ۱۷۹-۱۸۹*.
DOI: 10.22059/ijfcs.2023.350645.654953

© نویسندگان

ناشر: موسسه انتشارات دانشگاه تهران.

۱. مقدمه

در میان فلزات سنگین، کادمیم عنصر فلزی غیر ضروری بسیار سمی برای رشد و نمو است که می‌تواند به‌راحتی جذب و به قسمت‌های مختلف گیاه منتقل شود (Wu *et al*., 2020). سمیت کادمیم می‌تواند فرآیندهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاهان از جمله فتوسنتز، جذب مواد مغذی، تعادل آب، فعالیت بسیاری از آنزیم‌ها را تحت تاثیر قرار دهد و ضمن ایجاد تنش اکسیداتیو باعث کاهش رشد گیاهان شود (Chen *et al*., 2020). آلودگی کادمیم بسیار نگران‌کننده است؛ زیرا با تغییر در عملکردهای متابولیکی اولیه، کاهش جذب آب و مواد مغذی معدنی و ایجاد تغییر کلی در رشد اندام‌ها و به‌طور عمده در سیستم ریشه می‌تواند از رشد گیاه جلوگیری کند (Piacentini *et al*., 2020). عناصر سنگین نظیر سرب ساختار و عملکرد کلروپلاست‌ها را نیز از بین می‌برد و همچنین باعث کاهش محتوا و نسبت رنگدانه‌های فتوسنتزی و در نتیجه مهار بیوسنتز و تخریب کلروفیل می‌شود (Muratova *et al*., 2015). پژوهشگران گزارش کردند که با افزایش میزان کادمیم در خاک، میزان کلروفیل و سطح برگ ذرت به‌صورت معنی‌داری کاهش یافت (Biria *et al*., 2017). گیاهان با استفاده از سازوکارهایی شامل استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی، برون‌نشست کادمیم از طریق غشای پلاسما، محدودیت حرکت کادمیم به ریشه‌ها و همچنین جداسازی فلزات (Separation of heavy metals) در قسمت‌های غیر فعال متابولیکی مانند دیواره سلول‌های ریشه و واکوئل برگ (Kaya *et al*., 2020)، اتصال کادمیم به دیواره سلول، احتباس واکوئلی از طریق کلاته‌کردن توسط فیتوکلاتین‌ها در برابر آسیب‌های ناشی از کادمیم از خود دفاع می‌کنند (Guo *et al*., 2019). بر اساس توانایی جذب فلزات سنگین و حساسیت به آلودگی زیاد فلزات، Máthé-Gáspár & Anton (2005) ذرت را به‌عنوان یک جمع‌کننده و یک گیاه مقاوم در برابر فلزات سنگین به‌خصوص برای کادمیم گروه‌بندی کرده‌اند. طبق گزارش محققان، حبوباتی نظیر سویا (*Glycine max* (L.) Merrill)، می‌توانند فلزات سنگین را در بافت خود تجمع دهد و اثر متقابل آن با *B. japonicum* یک جنبه مهم تأثیرگذار بر رفتار سویا تحت تنش فلزات سنگین است (Bojinova *et al*., 1994).

استفاده از کشت مخلوط در گیاهانی که جهت استخراج گیاهی مد نظر گرفته می‌شوند، از اهمیت بالایی برخوردار است (Konkolewska *et al*., 2020)؛ پژوهشگران گزارش کردند استفاده از کشت مخلوط به‌عنوان یکی از روش‌های طبیعی پالایش خاک می‌تواند به افزایش راندمان گیاه‌پالایی کمک کند. در این مطالعه افزایش سه‌برابری جذب سرب در شاخساره ذرت در سیستم کشت مخلوط ذرت با شبدر سفید (*Trifolium repens*) در تراکم ۲۰ بوته در گلدان را نسبت به سیستم تک‌کشتی گزارش شد (Baghaie & Mahanpoor, 2018). در پژوهشی دیگر مشاهده شد که کرچک (*Ricinus communis* L.) باعث افزایش جذب کادمیم و روی در کشت مخلوط با یونجه (*Medicago sativa*) تحت تنش روی و کادمیم شد (Xiong *et al*., 2018).

باتوجه‌به این‌که استفاده از کشت مخلوط در خاک‌های آلوده بر جذب عناصر سنگین توسط گیاهان اثر می‌گذارد؛ لذا این پژوهش به‌منظور بررسی تاثیر کشت خالص و مخلوط ذرت و سویا روی تاثیرپذیری ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در خاک آلوده با کادمیم طراحی شد.

۲. روش‌شناسی پژوهش

پژوهش حاضر در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، در سال ۱۳۹۹ در شرایط گلخانه‌ای انجام شد. غلظت‌های کادمیم شامل ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک بود که به‌صورت نیترات کادمیم ۹۹٪ (Merck) $Cd(NO_3)_2$ درنظر گرفته شد. نسبت‌های کاشت اعمال‌شده در این پژوهش شامل کشت خالص ذرت و سویا و کشت مخلوط ذرت و سویا با نسبت ۵۰:۵۰ بود. برای هر گلدان مقدار پنج کیلوگرم خاک از مزرعه دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در نظر گرفته شد و بعد از هواخشک‌شدن خاک، تیمار کادمیم به گلدان‌های مورد نظر اضافه شد. جنس گلدان‌ها از نوع پلاستیکی با قطر دهانه ۲۵ سانتی‌متر و ارتفاع ۶۰ سانتی‌متر بود. مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک در آزمایشگاه اندازه‌گیری شد که نتایج در جدول ۱ ارائه شده است.

خاک‌های آلوده در گلدان‌های پنج کیلوگرمی به‌مدت یک‌ماه چندین مرتبه مرطوب و خشک شدند تا وضعیت شیمیایی آن تثبیت شود و به شرایط طبیعی نزدیک شوند (Shanbleh & Kharabsheh, 1996). تفاوت در نیترات تیمارهای آلوده و شاهد از

طریق کود اوره محاسبه و اعمال شد. پس از آماده‌سازی خاک، کشت در تاریخ ۲۷ خرداد انجام شد. تراکم گیاه ذرت و سویا در کشت منفرد چهار بوته و در کشت مخلوط ذرت و سویا از هر گیاه دو بوته در نظر گرفته شد.

جدول ۱. برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک

Soil texture	Cd	Pb	K	P	Organic carbon (%)	N (%)	EC ($dS\ m^{-1}$)	pH
	Available ($mg\ kg^{-1}$)							
Silty-Clay	0.032	0.67	221.16	9.5	2.1	0.25	0.52	7.42

در طول دوره رشد، آبیاری از طریق زیرگلدانی در زمان مورد نیاز صورت گرفت. همچنین کنترل علف‌های هرز به‌صورت دستی انجام شد؛ اما در این پژوهش ضرورتی به مبارزه با آفات وجود نداشت. نمونه‌برداری قبل از شروع مرحله گلدهی انجام شد. برای اندازه‌گیری کلروفیل نمونه‌هایی از آخرین برگ گسترش‌یافته گیاه انتخاب شد. سپس سنجش کلروفیل با روش Porra (2002) با اسپکتوفتومتر انجام شد. پس از استخراج کامل رنگدانه‌ها، میزان جذب محلول استخراج‌شده در سه طول موج ۶۶۵/۲، ۶۵۲/۴ و ۴۷۰ نانومتر به وسیله‌ی دستگاه اسپکتوفتومتر قرائت و ثبت شد. در نهایت با استفاده از روابط ۱ تا ۳، میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کارتنوئید محاسبه شد.

$$\text{Chl a (mg / ml)} = 16.72\ A_{665.2} - 9.16\ A_{652.4} \qquad \text{رابطه [۱]}$$

$$\text{Chl b (mg / ml)} = 34.09\ A_{652.4} - 15.28\ A_{665.2} \qquad \text{رابطه [۲]}$$

$$\text{Carotenoid (mg / ml)} = (1000\ A_{470} - 1/63\ ca - 104.96\ cb) / 221 \qquad \text{رابطه [۳]}$$

محتوای آب نسبی برگ (RWC) نیز از آخرین برگ توسعه‌یافته بوته اندازه‌گیری شد (Ritchie & Nguyen, 1990). میزان قندهای محلول برگ به روش تغییر داده‌شده Sheligl (1956) و میزان پرولین نیز از روش نین‌هیدین (Bates *et al*., 1973) تعیین شد.

در نهایت داده‌های حاصله مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ صورت گرفت. تجزیه واریانس در قالب طرح پایه کاملا تصادفی به‌صورت فاکتوریل انجام شد و روند تغییرات با کمک Excel رسم شدند. برای توصیف هر یک از صفات و پارامترها از معادلات خطی (رابطه ۱) و دوتکه‌ای (رابطه ۲) استفاده شد. که در آن y مقدار پیش‌بینی‌شده برای صفات مورد نظر، a مقدار ثابت در غلظت صفر کادمیم در خاک، x_0 نقطه چرخش بین دو فاز معادله و b_1 و b_2 شیب تغییرات صفات (کاهشی یا افزایشی) به‌ترتیب در فاز یک و دو معادله هستند.

$$y = b_1x + a \qquad \text{رابطه [۱]}$$

$$y = b_1x + a \quad \text{if} \quad x \le x_0 \quad \text{و} \quad y = (b_1x_0+a) + b_2(x-x_0) \quad \text{if} \quad x > x_0 \qquad \text{رابطه [۲]}$$

۳. یافته‌های پژوهش و بحث

۳-۱. رنگیزه‌های فتوسنتزی

تجزیه واریانس داده‌های به‌دست‌آمده نشان داد که اثر اصلی غلظت کادمیم و نسبت کاشت در میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید ذرت و سویا در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). همچنین برهمکنش غلظت کادمیم و نسبت کاشت در تمامی صفات مذکور در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۲).

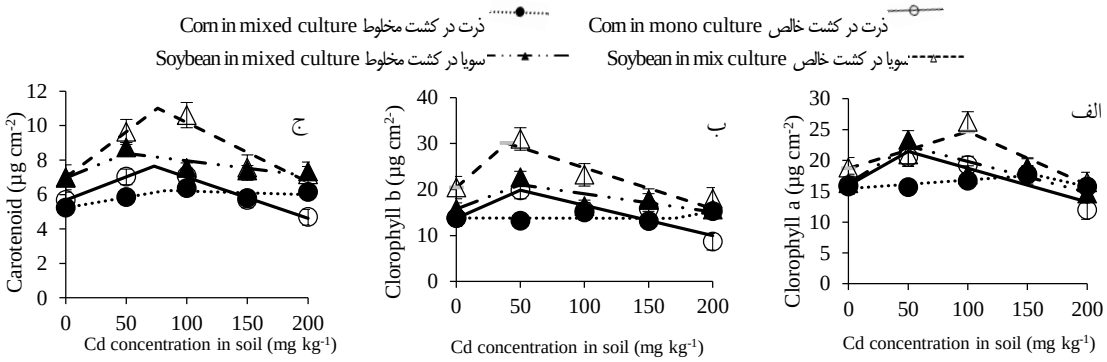
روند تغییرات کلروفیل a ذرت و سویا در سطوح کادمیم در هر دو کشت خالص و مخلوط به‌صورت غیر خطی و دوتکه‌ای بود (شکل ۱-الف). در کشت مخلوط کلروفیل a بوته‌های ذرت ابتدا با افزایش غلظت کادمیم خاک از صفر تا ۱۵۷/۳۴ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک با شیب ۰/۰۱۴۱ افزایش یافت و با افزایش غلظت کادمیم از ۱۵۷/۳۴ تا ۲۰۰

میلی‌گرم در کیلوگرم خاک، با شیب ۰/۰۴۴۰- کاهش یافت؛ در مجموع کلروفیل a در ۲۰۰ میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک نسبت به عدم مصرف کادمیم ۲۵/۲۳ درصد کاهش نشان داد (شکل ۱-الف و جدول ۳). درحالی‌که کلروفیل a در بوته‌های سویا در کشت مخلوط ابتدا با افزایش غلظت کادمیم خاک از صفر تا ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم با شیب ۰/۱۲۱۲ افزایش و سپس با شیب ۰/۰۵۰۱- کاهش یافت؛ کلروفیل a در بوته‌های سویا در کشت مخلوط در ۲۰۰ میلی‌گرم کادمیم نسبت به عدم مصرف کادمیم ۱۰/۳۱ درصد کاهش نشان داد (شکل ۱-الف و جدول ۳). نتایج نشان داد در بین نسبت‌های مختلف کاشت، کشت خالص سویا دارای بیشترین میزان کلروفیل a بود که در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک به حداکثر میزان خود (۲۴/۶۹ میکروگرم بر سانتی‌متر مربع) رسید.

جدول ۲. تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایشی بر صفات اندازه‌گیری‌شده ذرت و سویا

S.O.V	df	Chlorophyll a	Chlorophyll b	Carotenoid	Relative water content	Leaf solution sugar	Leaf starch	Proline
Cd	4	84.08**	123.14**	10.69**	347.93**	1728.26**	1279.11**	1.29**
Planting ratios	3	57.78**	267.91**	30.01**	1250.12**	713.16**	886.32**	0.11**
Cd×Planting ratios	12	20.87**	33.45**	2.21**	92.39^{ns}	2.94^{ns}	6.11**	0.03**
Error	60	3.44	8.84	0.34	65.82	2.16	2.13	0.0005
CV (٪)		10.34	17.38	8.33	9.84	4.12	6.21	7.26

** و ^{ns}؛ به‌ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد و عدم معنی‌داری را نشان می‌دهند.



شکل ۱. تأثیر کادمیم و نسبت کاشت بر روند تغییرات کلروفیل a (الف)، کلروفیل b (ب) و کارتنوئیدها (ج) ذرت و سویا

نتایج روند تغییرات کلروفیل b ذرت و سویا در سیستم‌های کاشت (کشت خالص ذرت، کشت خالص سویا، کشت مخلوط ذرت و سویا) حاکی از آن بود که این تغییرات در برابر غلظت کادمیم خاک از نوع غیر خطی و به‌صورت دوتکه‌ای بود (شکل ۱-ب و جدول ۳). در کشت مخلوط، کلروفیل b ذرت از صفر تا ۱۷۰/۳۹ میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک با شیب ۰/۰۰۰۶- کاهش یافت و در ادامه با شیب ۰/۰۵۲۴ افزایش نشان داد؛ به‌گونه‌ای‌که در بالاترین سطح کادمیم نسبت به سطح صفر آن حدود ۱۰/۷۵ درصد افزایش یافت (شکل ۱-ب و جدول ۳).

همچنین شکل ۱-ب نشان می‌دهد در کشت مخلوط، کلروفیل b سویا ابتدا از تیمار صفر تا ۵۰ میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم افزایش و سپس در ادامه کاهش یافت و میزان کاهش کلروفیل b سویا در تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم نسبت به شاهد ۱/۲۰ درصد بود. باتوجه‌به نتایج، میزان کاروتنوئید ذرت در کشت مخلوط تحت تاثیر سطوح کادمیم قرار نگرفت (شکل ۱-ج)، اما در کشت خالص میزان کاروتنوئید به‌صورت غیر خطی و دوتکه‌ای ابتدا از صفر تا ۵۰ میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک با شیب ۰/۲۳۱۰ واحد افزایش و سپس از ۵۰ تا ۲۰۰ میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم با شیب ۰/۱۲۰۶ واحد کاهش یافت (شکل ۱-ج و جدول ۳). اما روند تغییرات کاروتنوئید سویا در برابر افزایش غلظت کادمیم خاک در هر دو نوع سیستم کشت خالص و مخلوط از نوع غیر

خطی و به‌صورت دوتکه‌ای بود. میزان کاروتنوئید سویا در تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم کادمیم نسبت به عدم مصرف کادمیم به‌ترتیب در کشت خالص و مخلوط حدود ۲/۲۸ و ۵/۳۲ درصد افزایش یافت (شکل ۱–ج).

جدول ۳. معادله مناسب توصیف‌کننده اثر کادمیم و نسبت کاشت بر رنگدانه‌های فتوسنتزی ذرت و سویا

Traits name	Corn in mono culture	Corn in mixed culture	Soybean in mono culture	Soybean in mixed culture
Chlorophyll a	y = 0.1092x +15.9 if x≤50 y =-0.0546x +21.43 if x> 50 CV=7.49 R^2 = 0.87 p=0.0199	y = 0.0141x +15.41 if x≤157.34 y =-0.0440x +17.63 ifx>157.34 R^2 = 0.88 p=0.018 CV=2.08	y = 0.0601x + 18.68 if x≤ 100 y =-0.0658x +24.69 if x> 100 R^2 = 0.90 p=0.0134 CV=5.77	y = 0.1212x + 16.29 if x≤ 50 y =-0.0501x +22.35 if x> 50 CV=8.093 p=0.0134 R^2 =0.82
Chlorophyll b	y = 0.1215x +13.76 if x≤ 50 y =-0.0659x +19.83 if > 50 R^2= 0.85 p=0.0265 CV=11.43	y =- 0.0006x+13.80 if x≤170.39 y =0.0524x +13.70 if x>170.39 R^2 = 0.98 p=0.0012 CV=4.11	y = 0.2446x +20.4 if x≤ 39.63 y =-0.0892x +39.63 if x>39.63 R^2 = 0.86 p=0.0236 CV=9.97	y = 0.1057x +15.77 if x≤ 50 y =-0.0395x +21.05 if x> 50 R^2 = 0.69 p=0.0803 CV=8.86
Carotenoid	y = 0.2310x + 29.73 if x≤ 50 y =-0.1206x +41.28 if x> 50 R^2 = 0.87 p=0.0194 CV=8.78	-	y=0.6120x + 39.20 if x≤27.29 y=-0.1312x +52.92 if x>27.29 R^2 = 0.91 p=0.0122 CV=6.23	y = 0.2771x + 32.05 if x≤ 50 y =-0.0897x +45.91 if x> 50 R^2 = 0.77 *p*=0.050 CV=8.40

محتوای کلروفیل برگ معمولاً در گیاهانی که تحت تنش رشد می‌کنند کاهش می‌یابد و بنابراین می‌تواند به‌عنوان شاخص مهمی در شرایط تنش مورد استفاده قرار گیرد (Pompeu *et al*., 2017). مشابه این مطالعه در گیاه برنج رقم BRRI dhan54 تحت تنش کادمیم (۱ و ۲ میلی‌مولار) کلروفیل a، کلروفیل b و کارتنوئید در مقایسه با گیاهان شاهد کاهش نشان دادند (Bhuyan *et al*., 2020). به‌نظر می‌رسد یکی از دلایل کاهش میزان کلروفیل جانشین‌شدن فلزات سنگین به جای Mg مرکزی کلروفیل باشد که این جانشینی سبب کاهش دریافت نور به‌وسیله کلروفیل شده و منجر به زردی برگ‌ها و در نهایت کاهش فتوسنتز می‌شود (Sharma & Agrawel, 2006). مهمترین دلیل اختلال در بیوسنتز کلروفیل توسط کادمیم، اختلال در فعالیت آنزیمی است که در تثبیت CO_2 نقش دارد (Ur Rahm *et al*., 2020). حضور فلزات سنگین در منطقه ریزوسفر و ورود آن‌ها به گیاه بر فرآیندهای مهمی نظیر انتقال آب، فسفریلاسیون اکسیداتیو میتوکندری، فتوسنتز و مقدار کلروفیل اثر منفی می‌گذارد (Vitoria *et al*., 2005). مشابه با نتایج این مطالعه محققان نتیجه گرفتند که غلظت پایین کادمیم تولید کلروفیل را در گیاه تحریک می‌کند و غلظت بالاتر آن مانع از سنتز کلروفیل می‌شود (Rostami *et al*., 2015). کاهش کلروفیل در غلظت‌های بالای فلز ممکن است در اثر تولید بیش از حد H_2O_2 یا تسریع در تخریب کلروفیل توسط آنزیم کلروفیلاز ایجاد شود (Faizan *et al*., 2021). درحالی‌که کاهش‌نیافتن محتوای کلروفیل در غلظت‌های پایین عناصر سنگین را می‌توان به مکانیسم‌های دفاعی مختلف که در مقابل تنش فلزات توسط گیاه به کار گرفته می‌شود نسبت داد (Rostami *et al*., 2015). بوته‌های سویای مورد استفاده در آزمایش حاضر از گیاهان لگومینه می‌باشد که نیتروژن خاک را تثبیت می‌کنند و از این لحاظ سویا و ذرت با هم متفاوت هستند. احتمال می‌رود سویا از طریق تفاوت در تثبیت نیتروژن، محتوای کلروفیل و کارتنوئیدی بالاتری نسبت به ذرت نشان دهد (Hassanpour *et al*., 2014). کارتنوئیدها نیز به‌دلیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی به‌عنوان مهارکننده‌های گیاهی برای کاهش سطوح بالای گونه‌های اکسیژن فعال شناخته شدند (Doga, 2019). البته کاهش محتوای کاروتنوئید ممکن است مربوط به تولید شدید گونه‌های فعال اکسیژن باشد (Nikolic *et al*., 2015). در کل کاروتنوئیدها کمتر تحت تاثیر فلزات سنگین قرار می‌گیرند (Chehregani Rad *et al*., 2016).

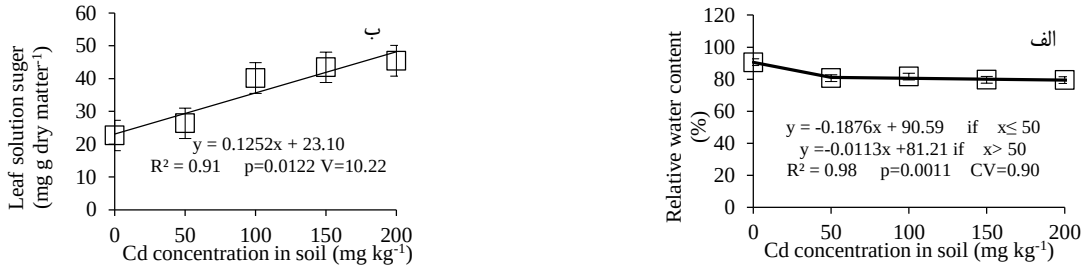
۲–۳. محتوای نسبی آب برگ، قند محلول برگ، نشاسته برگ، پرولین

جدول تجزیه واریانس اثر کادمیم و نسبت‌های کاشت بر محتوای نسبی آب برگ و میزان قند محلول برگ (جدول ۲) نشان می‌دهد که اثرات اصلی کادمیم و نسبت‌های کاشت بر محتوای نسبی آب برگ و میزان قند محلول برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. اما برهمکنش کادمیم و نسبت‌های کاشت بر دو صفت مذکور اثر معنی‌داری نشان نداد (جدول ۲). درحالی‌که، اثر اصلی کادمیم و نسبت‌های کاشت و همچنین برهمکنش کادمیم و نسبت‌های کاشت بر نشاسته برگ و پرولین معنی‌دار بود (جدول ۲).

باتوجه‌به اثر اصلی محتوای نسبی آب برگ در برابر افزایش غلظت کادمیم خاک (شکل ۲–الف)، محتوای نسبی آب برگ با روند غیر خطی و تکه‌ای ابتدا از صفر تا ۵۰ میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک با شیب ۰/۱۸۷۶– و سپس از ۵۰ تا ۲۰۰ میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک با شیب ۰/۰۱۱۳– واحد کاهش یافت، به‌طور کلی محتوای نسبی آب برگ در بالاترین سطح کادمیم نسبت به سطح شاهد (سطح صفر کادمیم) حدود ۱۲/۳۰ درصد کاهش نشان داد (شکل ۲–الف). باتوجه‌به نتایج، محتوای نسبی آب

برگ با افزایش سطوح فلز سنگین کادمیم کاهش یافت (شکل ۲-الف). همچنین شکل ۳-الف نشان می‌دهد بوته‌های ذرت در کشت خالص و مخلوط در مقایسه با سویا میزان محتوای نسبی آب برگ بیشتری داشتند و محتوای نسبی آب برگ ذرت در کشت مخلوط نسبت به کشت خالص ۵/۲۶ درصد افزایش نشان داد؛ برعکس محتوای نسبی آب برگ سویا در کشت مخلوط نسبت به کشت خالص ۷/۳۱ درصد کاهش نشان داد. فلزات سنگین در گیاه با کاهش اندازه و تعداد سلول‌های نگهبان روزنه موجب کاهش انتقال آب به برگ‌ها و کاهش سطح برگ شده و با آسیب به دیواره سلولی و در نتیجه اختلال در سرعت تعرق برگ و بروز تغییرات فراساختاری در اندامک‌های سلول، محتوای نسبی آب برگ را کاهش می‌دهد (Cenkci *et al*., 2010). همچنین نتایج نشان داد که محتوای نسبی آب برگ ذرت در کشت مخلوط بیشتر از کشت خالص بود (شکل ۳-الف)؛ زیرا کشت مخلوط از طریق افزایش بهره‌وری منابع، باعث افزایش محتوای نسبی آب برگ می‌شود (Tayei Samirmi *et al*., 2008). کاهش در محتوای نسبی آب برگ ممکن است به‌دلیل بسته‌شدن روزنه‌ها در اثر تنش فلزات سنگین باشد (Alzahrani *et al*., 2020)؛ همچنین کادمیم با کاهش هدایت روزنه‌ای، نرخ تعرق و محتوای نسبی آب برگ، و با تاثیر بر نفوذپذیری غشای سلولی سبب تنش در گیاهان می‌شود (Shanying *et al*., 2017).

شکل ۲-ب نشان داد میزان کل قند محلول برگ با افزایش سطوح کادمیم به صورت خطی با شیب ۰/۱۲۵۲ واحد افزایش یافت و این افزایش قند محلول برگ در بالاترین سطح تیمار کادمیم مورد مطالعه نسبت به شاهد (سطح عدم مصرف کادمیم) حدود ۱۰۰/۳۵ درصد بود. باتوجه‌به شکل ۳-ب کشت مخلوط نسبت به کشت خالص باعث افزایش میزان قند محلول برگ ذرت و سویا شد که این افزایش در ذرت ۸/۵۴ درصد و در سویا ۷/۹۱ درصد بود.



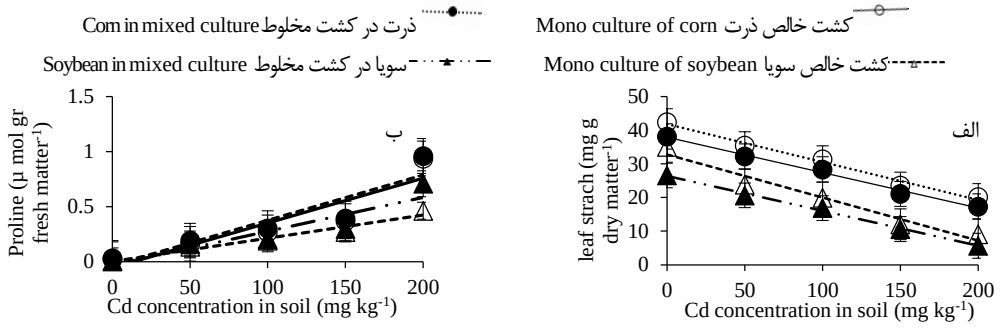
شکل ۲. اثر اصلی سطوح کادمیم بر روند تغییرات محتوای نسبی آب برگ (الف) و میزان قند محلول برگ (ب) ذرت و سویا.

شکل ۳. اثر اصلی نسبت‌های کاشت بر روند تغییرات محتوای نسبی آب (الف) و قند برگ (ب) ذرت و سویا.

نتایج رگرسیونی برهمکنش اثر تیمار کادمیم و نوع کشت بر میزان نشاسته برگ نشان می‌دهد در هر دو سیستم کشت خالص و مخلوط، میزان نشاسته برگ ذرت و سویا با روند خطی کاهش یافت (شکل ۴-الف). باتوجه‌به شکل ۴-الف میزان نشاسته برگ در کشت مخلوط نسبت به خالص با شیب کمتری کاهش یافت، اما به‌طور کلی برگ ذرت و سویا در کشت مخلوط نشاسته کمتری نسبت به کشت خالص داشتند و کاهش نشاسته برگ در کشت مخلوط ذرت و سویا در بالاترین سطح کادمیم مورد بررسی نسبت به عدم مصرف کادمیم به‌ترتیب ۵۴/۵۸ و ۷۸/۷۳ درصد بود (شکل ۴-الف و جدول ۴). مشابه با نتایج این مطالعه Noorani *et al*. (2009) که به بررسی سمیت مس (شاهد)، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار سولفات مس) بر رشد و تحمل گیاه

آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) رقم‌های‌سان–۳۳ پرداخته بودند، گزارش کردند که کاهش نشاسته در اندام‌های هوایی، متناسب با شدت تنش در محیط رشد، معنی‌دار بود. به‌عبارتی کاهش نشاسته در اندام‌های هوایی و ریشه گیاه در اثر تنش می‌تواند به‌دلیل تجزیه‌شدن آن به قندهای ساده‌تر و در نتیجه، تجمع قندهای محلول در سلول باشد. همچنین ممکن است تنش حاصل از مقدار زیاد فلزات سنگین، فعالیت آنزیم‌هایی را که در ساخته‌شدن نشاسته نقش دارند، مختل و از سنتز نشاسته، جلوگیری کند (Alaoui *et al*., 2004). باتوجه‌به روند تغییرات قند و نشاسته در این مطالعه می‌توان استنباط کرد که نشاسته ذخیره‌شده در گیاه جهت تنظیم اسمزی به فرم‌های دیگر شکسته شده که موجب افزایش میزان قند و کاهش نشاسته در اثر تنش کادمیم شد (Sarshad *et al*., 2020).

روند تغییرات پرولین در برابر غلظت کادمیم خاک و نظام کشت بیانگر پاسخ خطی پرولین نسبت به افزایش غلظت عنصر سنگین کادمیم در خاک بود (شکل ۴–ب). با افزایش میزان کادمیم در خاک بر میزان پرولین در کشت خالص و مخلوط دو گیاه ذرت و سویا افزوده شد. در کشت مخلوط بیشترین پرولین ذرت (۰/۹۶۱ میکرومول بر گرم وزن تر) در بالاترین سطح کادمیم و کمترین پرولین ذرت (۰/۰۳۴ میکرومول بر گرم وزن تر) در عدم مصرف کادمیم مشاهده شد (جدول ۴).



شکل ٤. تأثیر کادمیم و نسبت کاشت بر روند تغییرات نشاسته (الف) و پرولین (ب) ذرت و سویا

به نظر می‌رسد افزایش مقدار پرولین تحت تنش کادمیم در این آزمایش را می‌توان به ویژگی اسمولیتی و آنتی‌اکسیدانی آن در شرایط تنش نسبت داد (Raeesi Sadati & Jahanbakhsh Godekahriz, 2016). در مطالعات متعددی گزارش شده پرولین در گیاهان تحت شرایط نامطلوب رشد مانند تنش فلزات سنگین تجمع می‌یابد. به عنوان مثال افزایش میزان پرولین برگ در گیاه لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) تحت تنش کادمیم در مطالعه Semida *et al*. (2015) مشاهده شد (Semida *et al*., 2015). در مطالعه دیگری مشخص شد که در مرحله گلدهی خردل هندی (*Brassica juncea* L.) با افزایش غلظت کادمیم (تـا ۴۵۰ میکرومول) میزان پرولین افزایش یافت؛ اما در غلظت‌های ۷۵۰ و ۹۰۰ میکرومولار کادمیم، میزان این اسیدآمینه کاهش پیدا کرد (John *et al*., 2009). پرولین یک آمینواسید است که به‌صورت معمول در شرایط وجود یک استرس در گیاه تجمع می‌یابد (Ahamed & Siddiqui, 2007) و در طول تنش به‌عنوان کلاته‌کننده فلز، مولکول دفاعی آنتی‌اکسیداتیو و مولکول پیام‌رسان نقش ایفا می‌کند (Hayat *et al*., 2012). محتوای پرولین، هموستاز گونه‌های فعال اکسیژن را در سلول‌های ریشه و شاخساره حفظ کرده و در نتیجه از گیاهان در برابر تنش‌های مختلف محافظت می‌کند (Rahman *et al*., 2021).

افزایش محتوای پرولین می‌تواند از گیاهان در برابر آسیب اکسیداتیو محافظت کرده و در شرایط تنش‌زا به‌عنوان یک مکانیسم دفاعی عمل کند (Mokarram-Kashtiban *et al*., 2019) که با نتایج Azmat & Khan (2011) همخوانی ندارد. همچنین برخی پژوهش‌های انجام‌شده در مورد تجمع پرولین در تنش فلزات سنگین نشان داده‌اند که میزان این اسیدآمینه در شرایط تنش، به غلظت فلز و مرحله رشد گیاه بستگی دارد و میزان پرولین باتوجه‌به این دو عامل می‌تواند افزایش یا کاهش یابد (Rostami *et al*., 2015). البته کاهش میزان پرولین در اندام‌های گیاهی احتمالاً نتیجه کاهش بیوسنتز یا تسریع فعالیت پروتئاز

یـا فرآیندهای کاتابولیکی می‌باشد (Zengin & Munzuroglu, 2005). به‌هرحال نتایج این مطالعه نشان داد که گیاهان مورد آزمایش از استراتژی تجمع پرولین در تحمل به تنش استفاده می‌کنند.

جدول ٤. معادله مناسب توصیف‌کننده اثر کادمیم و نسبت کاشت در نشاسته و پرولین ذرت و سویا

Traits name	Corn in mono culture	Corn in mixed culture	Soybean in mono culture	Soybean in mixed culture
Leaf starch	y = -0.1127x + 41.86 R^2 = 0.99 p=0.0006 CV=3.73	y = -0.1054x + 37.96 R^2 = 0.99 p=0.0003 CV=3.29	y = -0.1277x + 32.77 R^2 = 0.96 p=0.0036 CV=12.08	y = -0.1038x + 26.45 R^2 = 1 p=0.0001 CV=3.75
Leaf proline	y = 0.0041x -0.05 R^2 = 0.84 p=0.0290 CV=46.36	y = 0.0041x -0.03 R^2 = 0.85 p=0.0269 CV=42.42	y = 0.0021x +0.0028 R^2 = 0.96 p=0.0039 CV=19.23	y = 0.0031x -0.03 p=0.0248 R^2= 0.85 CV=41.81

۴. نتیجه‌گیری

به‌طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که که با افزایش کادمیم خاک در هر دو کشت خالص و مخلوط رنگدانه‌های فتوسنتزی ذرت و سویا کاهش یافت. بوته‌های ذرت در کشت خالص و مخلوط در مقایسه با سویا میزان محتوای نسبی آب برگ بیشتری داشتند. همچنین با افزایش غلظت کادمیم در خاک در هر دو کشت خالص و مخلوط بر میزان کل قند محلول برگ و پرولین دو گیاه ذرت و سویا افزوده شد. باتوجه‌به نتایج پژوهش حاضر، می‌توان اذعان داشت که کشت مخلوط ذرت و سویا با استفاده از سازوکارهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی موجب تعدیل اثرات منفی ناشی از تنش فلز سنگین کادمیم می‌شود.

۵. سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از همکاری‌های معاونت پژوهشی و فن‌آوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در اجرای این پروژه تحقیقاتی با کد مصوب ۰۱-۱۳۹۹-۰۱ به‌واسطه حمایت‌های مالی اعلام می‌دارند.

۶. منابع

Ahamed, M., & Siddiqui, M.K. (2007). Low level lead exposure and oxidative stress. *Clinica Chimica Acta*, *383*(1-2), 57-64.

Alaoui, B., Genet, P., Dunand, F.V., Toussaint, M.L., Epron, D., & Badot, P.M. (2004). Effect of copper on growth in cucumber plants (*Cucumis sativus*) and its relationship with carbohydrate accumulation and changes in ion contents. *Plant Science*, *166*(5), 1213-1218.

Alzahrani, Y., Alharby, H.F., Hakeem, K.R., & Alsamadany, H. (2020). Modulating effect of EDTA and SDS on growth, biochemical parameters and antioxidant defense system of *Dahlia variabilis* grown under cadmium and lead-induced stress. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, *48*(2), 906-923.

Azmat, R., & Khan, N. (2011). Nitrogen metabolism as a bio indicator of Cu stress in *Vigna radiata*. *Pakistan Journal of Botany*, *43*(1), 515-520.

Baghaie, A.H., & Mahanpoor, K. (2018). Lead phyto-remediation by corn (Maxima CV.) and white clover in mono culture and mixed culture system in a Pb polluted soil. *Iranian Journal of Health and Environment*, *11*(1), 75-84. (In Persian)

Bates, I.S, Waldern, R.P., & Tear, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, *39*, 205-207.

Bhuyan, M.H.M.B., Parvin, K., Mohsin, S.M., Mahmud, I.A., Hasanuzzaman, M., & Fujita, M. (2020). Modulation of cadmium tolerance in rice: insight into vanillic acid-induced upregulation of antioxidant defense and glyoxalase systems. *Plants*, *9*(2), 188-208.

Biria, M., Moezzi, A.A., & Amerikhah, H. (2017). Effect of sugarcane bagasse made biochar on maize plant growth, grown in lead and cadmium contaminated soil. *Journal of Water and Soil*, *31*(2), 609-626.

Bojinova, P., Georgiev, B., Krasteva, V., Chuldjian, H., & Stanislavova, L. (1994). Investigation about the heavy metal pollution in soils and agricultural crops in the region of nonferrous metal works 'D. Blagoev'. *Soil Science, Agrochemistry and Ecology*, *4*(6), 32-40.

Cenkci, S., Cioerci, I.H., Yildiz, M., Oezay, C., Bozdao, A., & Terzi, H. (2010). Lead contamination reduces chlorophyll biosynthesis and genomic template stability in *Brassica rapa* L. *Environmental Experimental Botany*, *67*(3), 467-470.

Chehregani Rad, A., Khorzaman, N., Lari Yazdi, H., & Shirkhani, Z. (2016). Changes in growth characteristics and physiological indices in Zn-stressed *Phaseolus vulgaris* plants on hydroponic medium. *Journal of Developmental Biology*, *8*(2), 31-39. (In Persian)

Chen, J., Wang, X., Zhang, W., Zhang, S., & Zhao, F.J. (2020). Protein phosphatase 2A alleviates cadmium toxicity by modulating ethylene production in *Arabidopsis thaliana*. *Plant and Cell Physiology*, *43*(4), 1008-1022.

Dogan, M. (2019). Effect of cadmium, chromium, and lead on micropropagation and physio-biochemical parameters of *Bacopa monnieri* (L.) Wettst. cultured in vitro. *Rendiconti Lincei. Scienze Fisiche e Naturali*, *30*(3), 351-366.

Faizan, M., Faraz, A., Mir, A.R., & Hayat, S. (2021). Role of zinc oxide nanoparticles in countering negative effects generated by cadmium in *Lycopersicon esculentum*. *Journal of Plant Growth Regulation*, *40*(1), 101-115.

Guo, B., Liu, C., Liang, Y., Li, N., & Fu, Q. (2019). Salicylic acid signals plant defence against cadmium toxicity. *International Journal of Molecular Sciences*, *20*(12), 2960-2978.

Hassanpour, A., Zahedi, M., & Khoshgoftarmanesh, A.H. (2014). Effects of companion crops (bean, soybean and mungbean) on uptake of cadmium from soil by corn and sunflower as the main crops. *Journal of Water and Soil Science (Science and Technology of Agriculture and Natural Resources)*, *18*(68), 227-242. (In Persian)

Hayat, S.H., Hayat, Q., Alyemeni, M.N., Shafi Wani, A., Pichtel, J., & Aqil Ahmad, A. (2012). Role of proline under changing environments. *Plant and Behavior*, *7*(11), 1456-1466.

John, R., Ahmad, P., Gadgil, K., & Sharma, S. (2009). Heavy metal toxicity: Effect on plant growth, biochemical parameters and metal accumulation by *Brassica juncea* L. *International Journal of Plant Production*, *3*(3), 65-76.

Kaya, C., Akram, N.A, Surucu, A., & Ashraf, M. (2019). Alleviating effect of nitric oxide on oxidative stress and antioxidant defence system in pepper (*Capsicum annuum* L.) plants exposed to cadmium and lead toxicity applied separately or in combination. *Scientia Horticulturae*, *255*, 52-60.

Konkolewska, A., Piechalak, A., Ciszewska, L., Antos-Krzemińska, N., Skrzypczak, T., Hanć, A., Sitko, K., Małkowski, E., Barałkiewicz, D., & Małecka, A. (2020). Combined use of companion planting and PGPR for the assisted phytoextraction of trace metals (Zn, Pb, Cd). *Environmental Science and Pollution Research*, *27*, 3809-13825.

Máthé-Gáspár, G., & Anton, A. (2005). Phytoremediation study: Factors influencing heavy metal uptake of plants. *Acta Biologica Szegediensis*, *49*(1-2), 69-70.

Mokarram-Kashtiban, S., Hosseini, S.M., Tabari Kouchaksaraei, M., & Younesi, H. (2019). Biochar improves the morphological, physiological and biochemical properties of white willow seedlings in heavy metal-contaminated soil. *Journal of Biological Sciences*, *71*(2), 281-291.

Muratova, A., Lyubun, Y., German, K., & Turkovskaya, O. (2015). Effect of cadmium stress and inoculation with a heavy-metal-resistant bacterium on the growth and enzyme activity of *Sorghum bicolor*. *Environmental Science and Pollution Research*, *22*(20), 16098-16109.

Nikolic, N.P, Borisev, M.K, Pajevic, S.P, Arsenov, D.D, Zupunski, M.D, Orlovic, S.S., & Pilipovic, A.R. (2015). Photosynthetic response and tolerance of three willow species to cadmium exposure in hydroponic culture. *Archives of Biological Science Belgrade*, *67*(4), 1411-1420.

Noorani Azad, H., Chobineh, D., Hajbagheri, M.R., & Kafilzadeh, F. (2009). The study of Cu toxicity on growth and tolerance of sunflower (*Helianthus annuus* L.) Hi Sun -33 cultivars. *Iranian Journal of Biological Sciences*, *2*, 67-74. (In Persian)

Piacentini, D., Corpas, F.J., D'Angeli, S., Altamura, M.M., & Falasca, G. (2020). Cadmium and arsenic-induced-stress differentially modulates Arabidopsis root architecture, peroxisome distribution, enzymatic activities and their nitric oxide content. *Plant Physiology and Biochemistry*, *148*, 312-323.

Pompeu, G.B., Vilhena, M.B., Gratao, P.L., Carvalho, R.F., Rossi, M.L., Martinelli, A.P., & Azevedo, R.A. (2017). Abscisic acid-deficient sit tomato mutant responses to cadmium-induced stress. *Protoplasma*, *254*(2), 771-783.

Porra, R.J .(2002). The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b. *Photosynthesis Research*, *73*, 149-156.

Raeesi Sadati, S.Y., & Jahanbakhsh Godekahriz, S. (2016). The effect of cadmium chloride and mercuric on carbohydrate, total protein and proline, lysine and methionine amino acids and some of enzymes in two wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.). *Jouranal of Plant Process and Function*, *9*(16), 143-156. (In Persian)

Rahman, S., Xuebin, Q., Zhao, Z., Du, Z., Imtiaz, M., Mehmood, F., Hongfei, L., Hussain, B., & Ashraf, M.N. (2021). Alleviatory effects of silicon on the morphology, physiology, and antioxidative mechanisms of wheat (*Triticum aestivum* L.) roots under cadmium stress in acidic nutrient solutions. *Scientific Reports*, *11*, 1958-1969.

Ritchie, S.W., & Nguyen, H.T. (1990). Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop Science*, *30*(1), 105-111.

Rostami, M., Karamian, R., & Joulaei, Z. (2015). Effect of different heavy metals on physiological traits of saffron (*Crocus sativus* L.). *Saffron Agronomy and Technology*, *3*(2), 83-96. (In Persian)

Sarshad, A., Talei, D., Torabi, M., Rafiei, F., & Nejatkhah, P. (2020). Effect of irrigation cut at different stages of growth on yield, yield components and grain quality of different cultivars of sorghum seeds. *Scientific Journal of Crop Physiology*, *12*(45), 61-149. (In Persian)

Semida, W.M., Rady, M.M., Abd El-Mageed, T.A., Howladar, S.M., & Abdelhamid, M.T. (2015). Alleviation of cadmium toxicity in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants by the exogenous application of salicylic acid. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, *90*(1), 83-91.

Shanbleh, A., & Kharabsheh, A. (1996). Stabilization of Cd, Ni and Pb in soil using natural zeolite. *Journal of Hazardous Material*, *45*(11), 207-217.

Shanying, H.E., Xiaoe, Y., Zhenli, H.E., & Baligar, V.C. (2017). Morphological and physiological responses of plants to cadmium toxicity: A review. *Pedosphere*, *27*(3), 421-438.

Sharma, R.K., & Agrawel, M. (2006). Single and combined effects of cadmium and zinc on carrots: Uptake and bioaccumulation. *Journal of Plant Nutrition*, *29*(10), 1791-1804.

Sheligl, H.Q. (1986). Die verwertung orgngischer souren durch chlorella lincht. *Planta Journal*, 47-51.

Tayei Samirmi, J., Ghanbari, A., & Jokar, M. (2008). Mixed culture a sterategy to increase water use efficiency. The 1th International Conference on Water Crisis. Zabol University, Iran.

Ur Rahman, S.H., Qi, X., Zhang, Z., Ashraf, M.N., Du, Z., Zhong, Y.L., Mehmood, F.U., Rahman, S., & Shehzad, M. (2020). The effect of silicon foliar and root application on growth, physiology, and antioxidant enzyme activity of wheat plants under cadmium toxicity. *Applied Ecology and Environmental Research*, *18*(2), 3349-3371.

Vitoria, A.P, Cunha, M.D., & Azevedo, R.A. (2005). Ultra structural changes of radish leaf exposed to cadmium. *Environmental and Experimental Botany*, *58*(1-3), 47-52.

Wu, Q., Huang, L., Su, N., Shabala, L., Wang, H., Huang, X., Wen, R., Yu, M., Cui, J., & Shabala, S. (2020). Calcium-dependent hydrogen peroxide mediates hydrogen-rich water-reduced cadmium uptake in plant roots. *Plant Physiology*, *183*(3), 1331-1344.

Xiong, P.P., He, C.Q., Oh, K., Chen, X., Liang, X., Liu, X., Cheng, X., Wu, C.L., & Shi, Z.C. (2018). *Medicago sativa* L. enhances the phytoextraction of cadmium and zinc by *Ricinus communis* L. on contaminated land in situ. *Ecological Engineering*, *116*, 61-66.

Zengin, F.K., & Munzuroglu, O. (2005). Effects 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*(2), 157-164.