فصلنامه (علمی – پژوهشی)

زیست شناسی تکوینی

سال دهم، شماره ۳، تابستان ۱۳۹۷

بررسی اثر میکوریز *Glomus mosseae* و براسینواستروئید بر مکانیسم فتوسنتز آنیسون (*Pimpinella anisum* L.) تحت شرایط تنش کادمیوم

سپیده حاج باقری[۱]، حسین عباسپور[۱*]، شکوفه انتشاری[۲]، علیرضا ایرانبخش[۳]

[۱] گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان، دامغان، ایران

[۲] گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، ایران

[۳] گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

[*] Email:Abbaspour75@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۱/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۲/۲۹

چکیده

عناصر سنگین از مهمترین آلاینده‌های محیطی هستند و سمیت آنها به دلایل اکولوژیکی، تکاملی، تغذیه‌ای و محیطی مشکل بزرگی به‌شمار می‌رود. بسیاری از تحقیقات نشان داده اند که تلقیح گیاهان با قارچ میکوریزی یا استفاده از هورمون براسینواستروئید مقاومت بسیاری از گیاهان را نسبت به فلزات سنگین افزایش می‌دهد. در این مطالعه تاثیر میکوریز *Glomus mosseae* و ۲۴-اپی‌براسینولید (10^{-6} میکرومولار) بر مکانیسم فتوسنتز و مقاومت گیاه دارویی آنیسون نسبت به تنش ناشی از کلرید کادمیوم (۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۸۰۰ ppm) مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت. نتایج نشان داد که کادمیوم باعث کاهش درصد آغشتگی میکوریزی ریشه، کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل و کاهش حدواسط‌های مسیر بیوسنتز کلروفیل شامل پروتوپورفیرین IX، منیزیم پروتوپورفیرین IX، پروتوکلروفیلید، کلروفیلید a و کلروفیلید b و کاهش کاروتنوئید در گیاه آنیسون شد. پیش تیمار گیاهان با براسینواستروئید، تلقیح گیاهان با قارچ میکوریز *Glomus mosseae* و اثر توام *Glomus mosseae*× براسینواستروئید باعث افزایش میزان این ترکیبات تحت غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm کلرید کادمیوم گردید. بنابراین می توان نتیجه گرفت که براسینواسترویید و قارچ میکوریزی در این غلظت‌ها بر مکانیسم فتوسنتز و مقاومت در این گیاه نقش مثبت داشته و باعث مقاومت این گیاه در برابر سمیت ناشی از کادمیوم در این گیاه می‌شود.

کلیدواژه‌ها: آنیسون، براسینواستروئید، کلرید کادمیوم، میکوریز *Glomus mosseae*.

مقدمه

گیاهان در طبیعت، در حضور دائمی یون‌های سمی فلز سنگین رشد کرده و آسیب ناشی از سمیت تجمعی آنها را تجربه می‌کنند. هنگامی که یون‌های فلزات سنگین در سطوح بالا در محیط وجود داشته باشند، بیش از اندازه توسط ریشه گیاه جذب و به اندام‌های

هوایی منتقل و انباشته می‌شود که منجر به صدمات متابولیسمی و کاهش فتوسنتز و رشد می‌شود. دشواری اصلی گیاه در محیط محتوی فلزات سنگین این است که اقدام به انباشتگی یون‌های سمی و کاهش غلظت کاتیون‌های ضروری مانند آهن، پتاسیم و منگنز می‌کند [۴۲]. در کل در بیشتر موارد، فلزات سنگین رشد را در گیاهان کاهش می‌دهند که شامل کلروز برگ، بافت مردگی، آسیب به پروتوپلاسم و غشاء سلول‌های گیاهی، کاهش در میزان جوانه‌زنی دانه و آسیب به سیستم فتوسنتز و در بعضی موارد باعث مرگ گیاه می‌شود [۴۱].

کادمیم با نشان Cd و عدد اتمی ٤٨، یکی از مهمترین فلزات سنگین سمی محسوب می‌شود. هوازدگی سنگ‌ها، آتش‌سوزی جنگل‌ها و آتش‌فشان‌ها، فعالیت‌های بشری مانند شیرابه‌های زباله‌های صنعتی، تولید کودهای فسفاته مصنوعی از منابع مهم منتشرکننده کادمیوم در محیط هستند. تجمع کادمیم در بافت‌های گیاهان سبب اختلال در تقسیم سلولی و عملکرد غشا، اختلال در فعالیت‌های آنزیمی، کاهش و توقف رشد ریشه، کاهش هدایت هیدرولیکی آب در ریشه، کلروز، مهار رشد و سرانجام مرگ سلول می‌شود [۲۴]. تجمع کادمیم در گیاهان سبب اختلال در تقسیم سلولی و عملکرد غشا، اختلال در فعالیت‌های آنزیمی، کاهش میزان کلروفیل، کاهش و توقف رشد ریشه، چوب پنبه‌ای شدن و صدمه به ساختمان خارجی و داخلی ریشه، کاهش هدایت هیدرولیکی آب در ریشه، کاهش سطح برگ و ماده خشک گیاه، کلروز و نکروز برگ، مهار رشد و حتی مرگ گیاه می‌شود [۳۵].

امروزه پژوهش‌های زیادی بر استفاده از تنظیم کننده‌های رشد یا قارچ‌های میکوریزی در کاهش اثرات ناشی از تنش‌های محیطی متمرکز شده‌اند. قارچ‌های میکوریزی وزیکولار آربوسکولار در بین میکروارگانیسم‌هایی که محیط ریزوسفر را اشغال می‌کنند منحصر به فرد هستند. در همزیستی‌های اندومیکوریز، قارچ‌های میکوریز نقش مهمی را در محافظت گیاهان میزبان در برابر سمیت فلزات سنگین بازی می‌کنند. میکوریز غلظت فلز را از طریق بی‌تحرکی فلز در ترکیبات دیواره سلولی هیف‌های خارجی، کلاته کردن فلز توسط ترکیبات ترشحی مانند گلومالین یا از طریق کده‌بندی فلزات درون سلول‌های قارچی تغییر می‌دهد. اثرات مفید میکوریز روی رشد در شرایط سمیت فلزات سنگین در گونه‌ها و خانواده‌های بسیاری گزارش شده است [۸,۴۳,۴۴]. قارچ‌های میکوریز رشد و فتوسنتز گیاهان میزبان را بواسطه تغذیه معدنی مناسب‌تر افزایش می‌دهند. میکوریز با جذب کربن جهت تامین نیاز خود و با در اختیار گذاشتن مواد غذایی به گیاه باعث رشد اندام سبزینه گیاه گردیده و درنتیجه کارایی فتوسنتز گیاه را افزایش می‌دهد. درگیاهان پاسخ به همزیستی قارچ‌های میکوریز باعث افزایش خالص ۵ تا ۲۰ درصد فعالیت فتوسنتز می‌گردد. در مجموع فتوسنتز خالص گیاهان میکوریزی بالاتر از گیاهان غیر میکوریزی است [۲۶].

از طرفی براسینواستروئیدها از گروه هورمون‌های استروئیدی و گروه جدیدی از تنظیم کننده‌های مهم رشد گیاهان هستند که توزیع وسیعی در سرتاسر سلسله گیاهی دارند. به‌دلیل اثرات چندگانه این هورمون‌ها، این ترکیبات به عنوان هورمون‌هایی با اثرات چندتایی یا پلیوتروپیک شناخته می‌شوند. اثرات فیزیولوژیک براسینواستروئیدها را می‌توان به دو بخش تقسیم نمود: ۱- اثرات در سطح سلول که شامل تقویت رشد طولی و تقسیم سلولی، اثر بر تعادل سایر

هورمون‌های گیاهی، اثر بر فعالیت آنزیم‌ها، تحریک سنتز پروتئین، افزایش فتوسنتز و انتقال مواد است و ۲- اثرات براسینواستروئیدها در سطح گیاه کامل که شامل تقویت رشد، افزایش باروری، افزایش تعداد، اندازه و کیفیت میوه، افزایش محصول و افزایش مقاومت به تنش‌های زیستی و غیرزیستی می‌باشد [۷]. براسینواستروئیدها در ایجاد مقاومت بر علیه تجمع فلزات سنگین تاثیر به‌سزایی دارند. Sharma و همکاران (۲۰۰۷) عامل افزایش رشد و فتوسنتز و کاهش سمیت فلز مس را در گیاهان خردل تاثیر براسینواستروئید بر غشاء سلولی، فرآیند جذب و انتقال و افزایش پروتئین‌های محلول می‌دانند [۴۰].

آنیسون یا بادیان رومی یا رازیانه رومی با اسم علمی *Pimpinella anisum* L. متعلق به تیره Apiaceae راسته Apiales، یکی از گیاهان دارویی شناخته شده است که دارای ترکیباتی چون اسانس، صمغ، ترکیبات قندی و روغن می‌باشد. اسانس آنیسون خاصیت ضدباکتریایی داشته و دارای اهمیت فوق‌العاده‌ای در صنایع دارویی می‌باشد [۱].

هدف از این مطالعه مقایسه نقش براسینواستروئید و *Glomus mosseae* در افزایش مقاومت آنیسون نسبت به تنش کلرید کادمیوم می باشد.

مواد و روش کار

بذور مربوط به گیاه دارویی آنیسون (*Pimpinella anisum* L.) از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه، توسط هیپوکلرید سدیم ۱۰٪ سترون و ۳ بار با آب مقطر شستشو و برای کاشت آماده گردیدند. تیمارهای اعمال شده شامل: کلرید کادمیم در چهار سطح ۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۸۰۰ ppm، میکوریز *Glomus mosseae* و براسینواستروئید 10^{-6} میکرومولار بود.

برای تلقیح گیاه با میکوریز در ظروف پتری دیش ۵ گرم از خاک بیولوژیک حاوی اسپور گونه‌های میکوریزی *Glomus mosseae* استفاده شد. خاک با آب مقطر استریل، مرطوب گردید و جهت جوانه‌زنی در ژرمیناتور با شرایط نوری ۱۶:۸ ساعت و دمای ۲±۱۶ و ۲±۲۳ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. بذور به مدت چهار هفته به منظور جوانه‌زنی در شرایط مذکور رشد کردند و پس از چهار هفته که گیاهان کاملا جوانه زده و کمی رشد کرده بودند، به گلدان منتقل شدند.

کشت گیاهان در گلدان‌های پلاستیکی با قطر ۱۶ و ارتفاع ۱۵ سانتی‌متر با مخلوط پرلیت و کوکوپیت انجام شد. جهت تیمارهای میکوریزی در هر گلدان بر روی سطح پرلیت و کوکوپیت ۵۰ گرم خاک حاوی اسپور میکوریز در عمق ۵ سانتی‌متر ریخته شد و گیاهک‌های جوانه‌زده بر روی آن قرار گرفت تا ریشه‌های بذر در تماس با اسپور قارچ‌ها قرار گیرند. برای هر تیمار ۳ گلدان به عنوان ۳ تکرار و در مجموع ۴۸ گلدان در نظر گرفته شد و در هر گلدان ۱۰ بذر به عنوان ۱۰ نمونه کاشته شد. گیاهان در گلخانه با شرایط نوری ۱۴:۱۰ ساعت و دمای ۲±۱۷ و ۲±۲۴ درجه سانتی‌گراد و شدت نور ۱۱۰۰۰ کیلولوکس و رطوبت ۶۰ درصد قرار گرفتند. برای آبیاری گلدان‌ها از آب مقطر و محلول غذایی Long Ashton به میزان مورد نیاز استفاده شد [۱۸].

محلول 10^{-6} میکرومولار ۲۴- اپی‌براسینولید (MW=480/7) از Sigma (USA) تهیه شد و تیمارهای براسینواستروئید پس از ۱۵۰ روز از آغاز جوانه زنی بذر و رشد چهارمین برگ اعمال شدند و برگ‌های گیاهان با محلول 10^{-6} میکرومولار ۲۴- اپی براسینولید مجموعا ۳ بار و هر ۷۲ ساعت یکبار در

ابتدای فاز نوری اسپری شدند. سه روز پس از اعمال آخرین تیمار براسینواستروئید، تیمارهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۸۰۰ ppm کلرید کادمیم نمک کلرید کادمیوم ($CaCl_2$ 2, $1/2H_2O$) با وزن مولکولی ۲۲۸/۳٤ ۳ بار و هر ۷۲ ساعت یکبار اعمال گردید و گیاهان کنترل نیز با آب مقطر آبیاری شدند. گیاهان ٤۸ ساعت پس از آخرین تیمار کادمیم برداشت شدند.

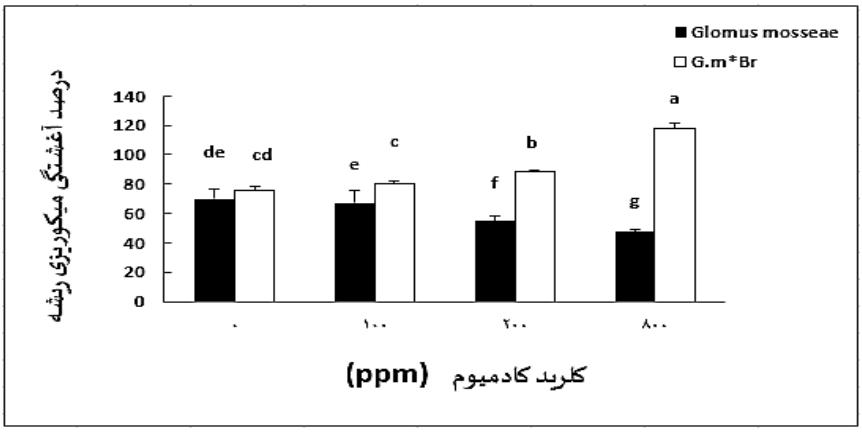
اندازه‌گیری درصد آغشتگی میکوریزی ریشه: از روش Rajapakes و Miler استفاده شد[۳۴].

اندازه‌گیری میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی: برای سنجش میزان کلروفیل و کاروتنوئید از روش Porra و همکاران (۱۹۸۹) و ساختارهای تشکیل دهنده کلروفیل از روش Yang و همکاران (۱۹۹۸) استفاده شد [۳۱,۴۸].

آنالیزهای آماری در این پژوهش با ۳ تکرار در طرح فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی انجام گردید. پس از انجام آزمایشات ذکر شده، داده‌های حاصل از هر آزمایش با نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۱۵ و MSTAT-C آنالیز شدند. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel صورت پذیرفت.

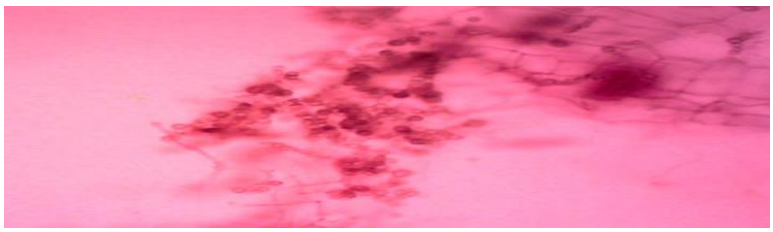
نتایج

میزان آغشتگی میکوریزی ریشه: کلرید کادمیم باعث کاهش معنی‌دار درصد آغشتگی میکوریزی در غلظت ۲۰۰ و ۸۰۰ ppm کلرید کادمیم شد و تیمار براسینواستروئید باعث افزایش معنی‌دار درصد آغشتگی میکوریزی گردید. بیشترین درصد آغشتگی میکوریزی مربوط به تیمار براسینواستروئید و کمترین آن مربوط به تیمار ۸۰۰ ppm کلرید کادمیم بود (نمودار ۳-۱).



نمودار ۱- بررسی میزان آغشتگی میکوریزی ریشه با ***Glomus mosseae*** و در تیمار توام ***Glomus mosseae*** براسینواستروئید تحت تنش کلرید کادمیم

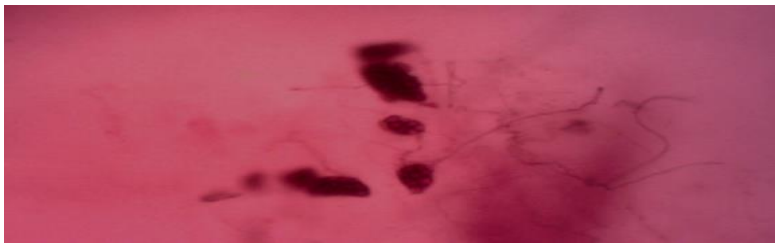
تصویر ۱: کنترل **(with Enlarge10)**



تصویر ۲: آغشتگی میکوریزی ریشه با ***Glomus mosseae*** **(with Enlarge10)**

تصویر ۳: آغشتگی میکوریزی ریشه در تیمار ***Glomus mosseae***–براسینواستروئید **(with Enlarge10)**

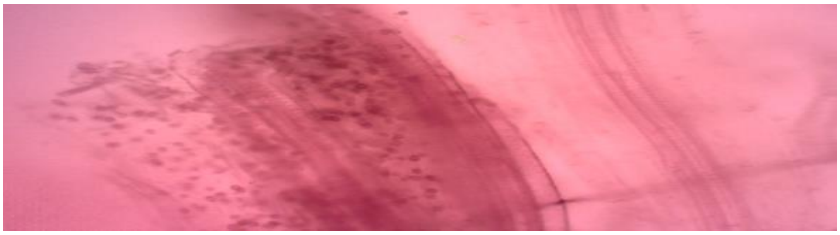
تصویر ٤: آغشتگی میکوریزی ریشه در تیمار ***Glomus mosseae***–کادمیوم ۱۰۰ **ppm (with Enlarge10)**



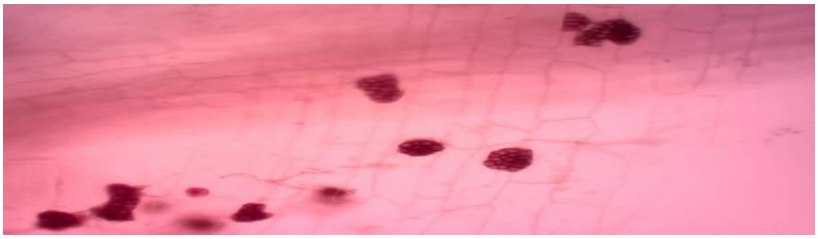
تصویر ٥: آغشتگی میکوریزی ریشه در تیمار ***Glomus mosseae***–کادمیوم ۲۰۰ **ppm (with Enlarge10)**

تصویر ٦: آغشتگی میکوریزی ریشه در تیمار ***Glomus mosseae***–کادمیوم ۸۰۰ **ppm**

تصویر ۷: آغشتگی میکوریزی ریشه در تیمار ***Glomus mosseae***– براسینواستروئید–کادمیوم ۱۰۰ **ppm (with Enlarge10)**



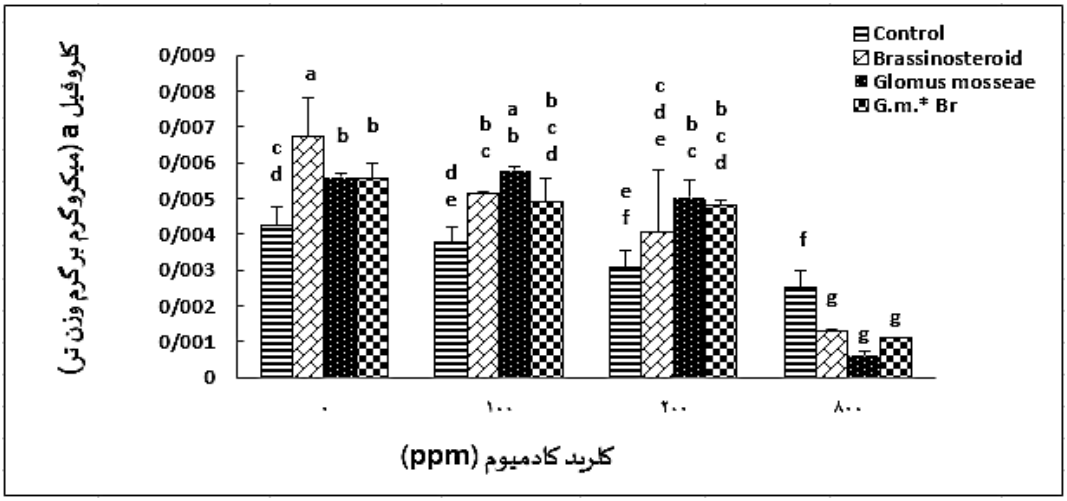
تصویر ۸: آغشتگی میکوریزی ریشه در تیمار ***Glomus mosseae***– براسینواستروئید–کادمیوم ۲۰۰ **ppm (with Enlarge10)**



تصویر ۹: آغشتگی میکوریزی ریشه در تیمار ***Glomus mosseae***–براسینواستروئید–کادمیوم ۸۰۰ **ppm (with Enlarge10)**

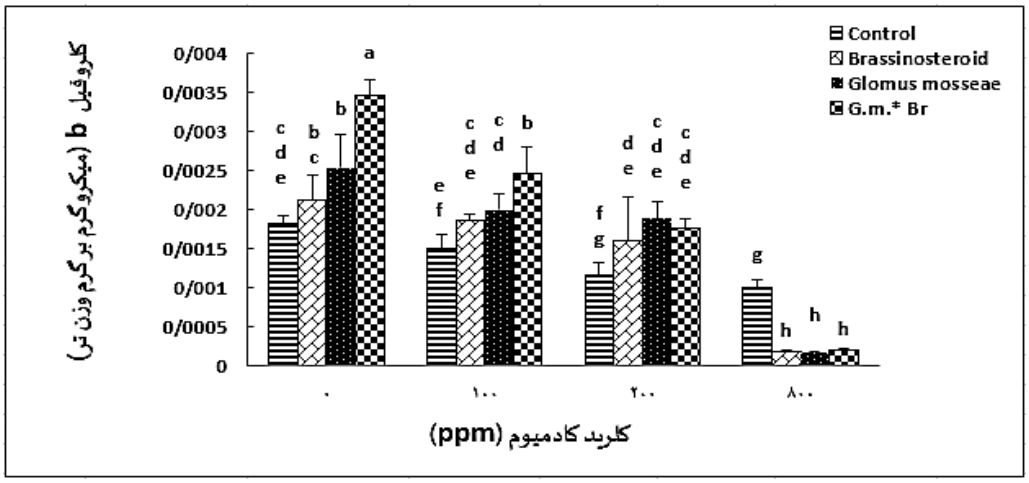
کلروفیل a: تیمار ۲۰۰ و ۸۰۰ ppm کلرید کادمیم باعث کاهش معنی‌دار میزان کلروفیل **a** شد. تیمار براسینواستروئید، میکوریز×براسینواستروئید و تلقیح گیاهان با میکوریز *Glomus mosseae* باعث افزایش میزان کلروفیل **a** در گیاهان فاقد کادمیم شد. تیمار متقابل براسینواستروئید و غلظت ۱۰۰ ppm کلرید کادمیم باعث افزایش و تیمار متقابل براسینواستروئید و غلظت ۸۰۰ ppm کلرید کادمیم باعث کاهش معنی‌دار میزان کلروفیل **a** گردید.

تیمار متقابل میکوریز و غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm کلرید کادمیم باعث افزایش و تیمار متقابل میکوریز و غلظت ۸۰۰ ppm کلرید کادمیم باعث کاهش معنی‌دار میزان این رنگیزه گردید. تیمار متقابل میکوریز×براسینواستروئید و غلظت ۲۰۰ ppm کلرید کادمیم باعث افزایش و تیمار متقابل میکوریز × براسینواستروئید و غلظت ۸۰۰ ppm کلرید کادمیم باعث کاهش معنی‌دار میزان کلروفیل **a** گردید (نمودار ۲).



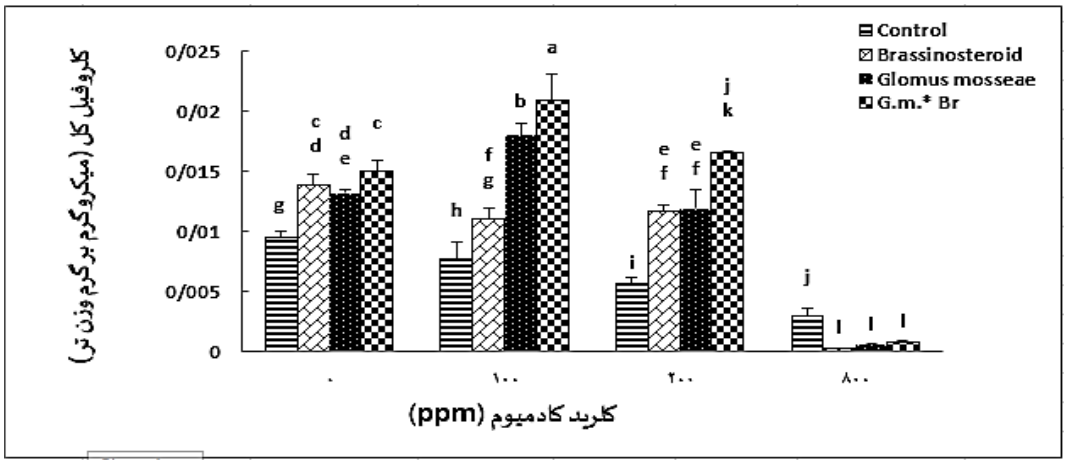
نمودار ۲- اثر متقابل میکوریز، براسینواستروئید و تنش کادمیوم بر میزان کلروفیل a

کلروفیل b: کلرید کادمیم باعث کاهش معنی‌دار میزان کلروفیل **b** شد. تیمار میکوریز × براسینواستروئید و تلقیح گیاهان با میکوریز *Glomus mosseae* باعث افزایش میزان کلروفیل **b** در گیاهان فاقد کادمیم شد. تیمار متقابل براسینواستروئید، میکوریز و میکوریز × براسینواستروئید و غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm کلرید کادمیم باعث افزایش و تیمار متقابل براسینواستروئید، میکوریز و میکوریز×براسینواستروئید و غلظت ۸۰۰ ppm کلرید کادمیم باعث کاهش معنی‌دار میزان کلروفیل **b** گردید (نمودار ۳).



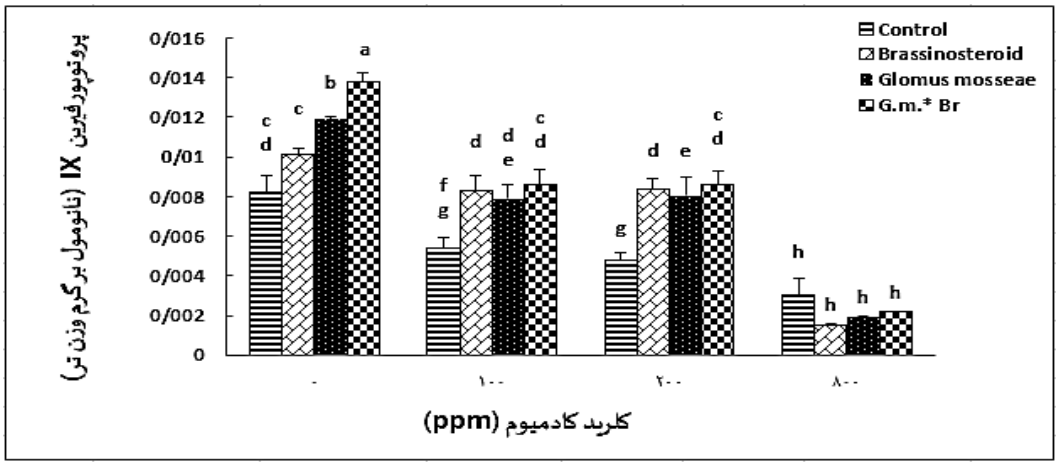
نمودار۳- اثر متقابل میکوریز، براسینواستروئید و تنش کادمیوم بر میزان کلروفیل b

کلروفیل کل: کلرید کادمیم باعث کاهش معنی‌دار میزان کلروفیل کل شد. تیمار براسینواستروئید، میکوریز × براسینواستروئید و تلقیح گیاهان با میکوریز *Glomus mosseae* باعث افزایش میزان کلروفیل کل در گیاهان فاقد کادمیم شد. تیمار متقابل براسینواستروئید، میکوریز و میکوریز×براسینواستروئید و غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm کلرید کادمیم باعث افزایش و تیمار متقابل براسینواستروئید، میکوریز و میکوریز × براسینواستروئید و غلظت ۸۰۰ ppm کلرید کادمیم باعث کاهش معنی‌دار میزان کلروفیل کل گردید (نمودار ٤).



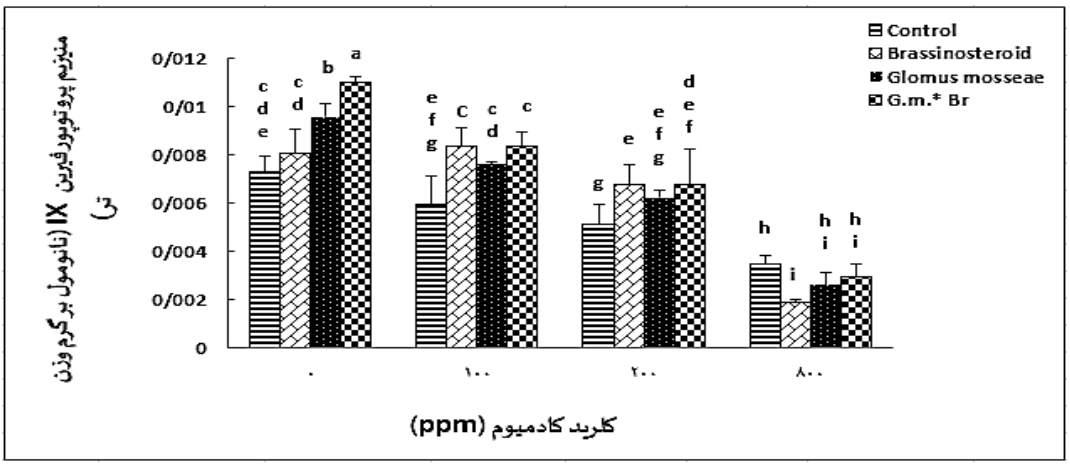
نمودار ٤- اثر متقابل میکوریز، براسینواستروئید و تنش کادمیوم بر میزان کلروفیل کل

پروتوپورفیرین IX: کلرید کادمیم باعث کاهش معنی‌دار میزان پروتوپورفیرین IX شد. تیمار میکوریز × براسینواستروئید و تلقیح گیاهان با میکوریز *Glomus mosseae* باعث افزایش میزان پروتوپورفیرین IX در گیاهان فاقد کادمیم شد. تیمار متقابل براسینواستروئید، میکوریز و میکوریز × براسینواستروئید و غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm کلرید کادمیم باعث افزایش میزان پروتوپورفیرین IX گردید (نمودار ۵).



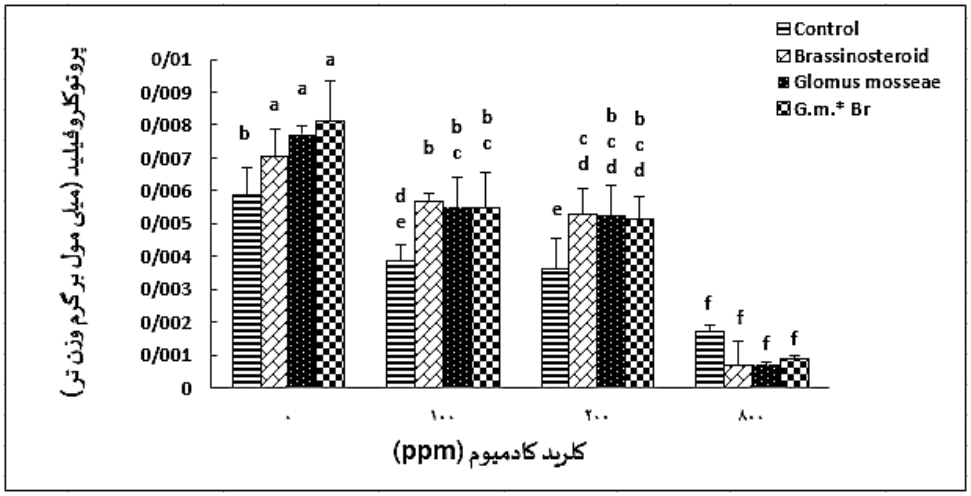
نمودار ۵ – اثر متقابل میکوریز، براسینواستروئید و تنش کادمیوم بر میزان پروتوپورفیرین IX

منیزیم پروتوپورفیرین IX: کلرید کادمیم باعث کاهش معنی‌دار میزان منیزیم پروتوپورفیرین IX شد. تیمار میکوریز × براسینواستروئید و تلقیح گیاهان با میکوریز *Glomus mosseae* باعث افزایش میزان منیزیم پروتوپورفیرین IX در گیاهان فاقد کادمیم شد. تیمار براسینواستروئید و غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm کلرید کادمیم باعث افزایش و تیمار براسینواستروئید و غلظت ۸۰۰ ppm کلرید کادمیم باعث کاهش معنی‌دار میزان منیزیم پروتوپورفیرین IX گردید. تیمار میکوریز و غلظت ۱۰۰ ppm کلرید کادمیم باعث افزایش میزان منیزیم پروتوپورفیرین IX گردید و تیمار متقابل میکوریز × براسینواستروئید و غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm کلرید کادمیم باعث افزایش میزان منیزیم پروتوپورفیرین IX گردید (نمودار ٦).



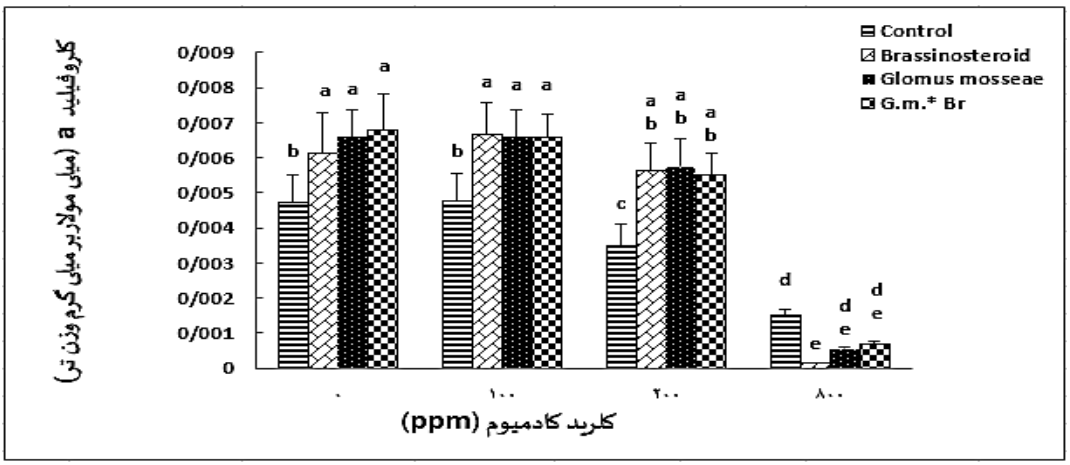
نمودار ٦- اثر متقابل میکوریز، براسینواستروئید و تنش کادمیوم بر میزان منیزیم پروتوپورفیرین IX

پروتوکلروفیلید: کلرید کادمیم باعث کاهش معنی‌دار میزان پروتوکلروفیلید شد. تیمار براسینواستروئید، میکوریز × براسینواستروئید و تلقیح گیاهان با میکوریز *Glomus mosseae* باعث افزایش میزان پروتوکلروفیلید در گیاهان فاقد کادمیم شد. تیمار متقابل براسینواستروئید، میکوریز و *Glomus mosseae* × براسینواستروئید و غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm کلرید کادمیم باعث افزایش میزان پروتوکلروفیلید گردید (نمودار ۷).



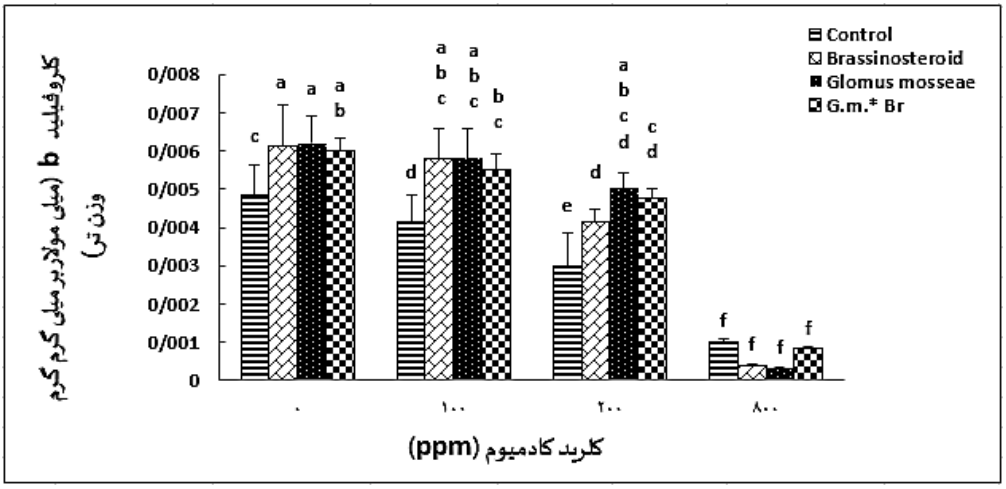
نمودار ۷- اثر متقابل میکوریز، براسینواستروئید و تنش کادمیوم بر میزان پروتوکلروفیلید

کلروفیلید a: کلرید کادمیم باعث کاهش معنی‌دار میزان کلروفیلید ***a*** شد. تیمار براسینواستروئید، میکوریز × براسینواستروئید و تلقیح گیاهان با میکوریز *Glomus mosseae* باعث افزایش میزان کلروفیلید ***a*** در گیاهان فاقد کادمیم شد. تیمار براسینواستروئید و غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm کلرید کادمیم باعث افزایش و تیمار براسینواستروئید و غلظت ۸۰۰ ppm کلرید کادمیم باعث کاهش معنی‌دار میزان کلروفیلید ***a*** گردید. تیمار میکوریز و *Glomus mosseae* × براسینواستروئید و غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm کلرید کادمیم باعث افزایش میزان کلروفیلید ***a*** گردید (نمودار ۸).



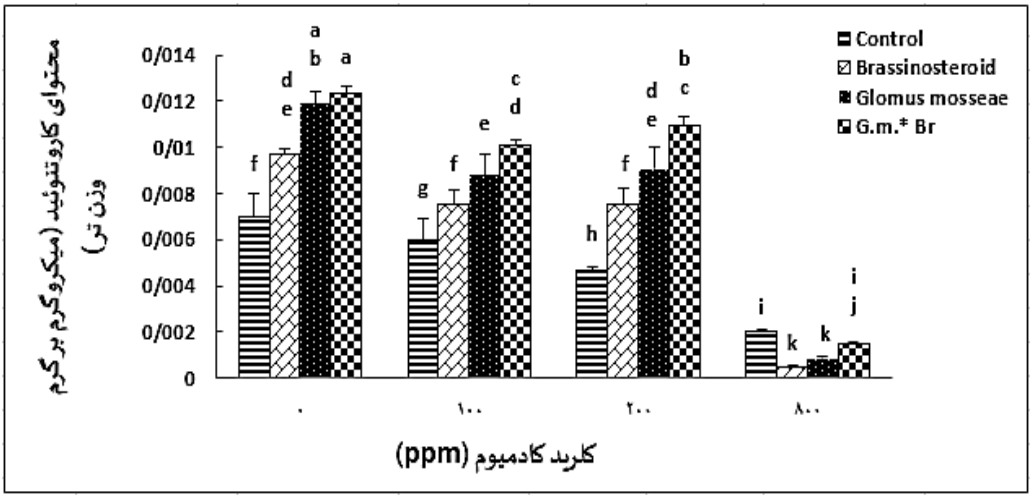
نمودار ۸- اثر متقابل میکوریز، براسینواستروئید و تنش کادمیوم بر میزان کلروفیلید a

کلروفیلید b: کلرید کادمیم باعث کاهش معنی‌دار میزان کلروفیلید **b** شد. تیمار براسینواستروئید، میکوریز × براسینواستروئید و تلقیح گیاهان با میکوریز *Glomus mosseae* باعث افزایش میزان کلروفیلید **b** در گیاهان فاقد کادمیم شد. تیمار متقابل براسینواستروئید، میکوریز و *Glomus mosseae* × براسینواستروئید و غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm کلرید کادمیم باعث افزایش میزان کلروفیلید **b** گردید (نمودار ۹).



نمودار ۹- اثر متقابل میکوریز، براسینواستروئید و تنش کادمیوم بر میزان کلروفیلید b

کاروتنوئید: کلرید کادمیم باعث کاهش معنی‌دار میزان کاروتنوئید شد. تیمار براسینواستروئید، میکوریز × براسینواستروئید و تلقیح گیاهان با میکوریز *Glomus mosseae* باعث افزایش میزان کاروتنوئید در گیاهان فاقد کادمیم شد. تیمار براسینواستروئید و میکوریز و غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm کلرید کادمیم باعث افزایش و تیمار متقابل براسینواستروئید و میکوریز و غلظت ۸۰۰ ppm کلرید کادمیم باعث کاهش معنی‌دار میزان کاروتنوئید گردید. تیمار متقابل *Glomus mosseae*× براسینواستروئید و غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm کلرید کادمیم باعث افزایش میزان کاروتنوئید گردید (نمودار ۱۰).



نمودار ۱۰- اثر متقابل میکوریز، براسینواستروئید و تنش کادمیوم بر میزان کاروتنوئید

بحث

یکی از شاخص‌های مهم فعالیت قارچ میکوریزی، میزان کلنیزاسیون سیستم ریشه‌ای توسط این قارچ‌ها می‌باشد که بوسیله عوامل مختلفی از جمله خصوصیات ظاهری و ساختمانی سیستم ریشه‌ای، مقدار و کیفیت ترشحات ریشه‌ای، مصرف کودهای شیمیایی فسفره و غلظت‌های بالای عناصر سنگین تحت تاثیر قرار می‌گیرد[۲] . بطور کلی اثرات منفی غلظت‌های بالای فلزات سنگین بر روی کلنیزاسیون با قارچ میکوریز در سیستم ریشه‌ای گیاهان مشاهده شده است. به عنوان مثال گزارش شده است اسپورهای قارچ *Glomus intraradices* در غلظت ۱ میلی‌مولار کادمیم یا ۱۰ میلی‌مولار روی جوانه نمی‌زنند [۳۰].

در این پژوهش سمیت کادمیم درصد آغشتگی میکوریزی ریشه گیاه آنیسون را با قارچ *Glomus mosseae* کاهش داد. در اجتماعات میکوریزی، قارچ به‌طور کامل به رشد گیاه و تولید مواد غذایی در گیاه میزبان وابسته است. بنابراین هر عاملی که بر تولید کربوهیدرات و انتقال آن به ریشه‌ها تاثیر بگذارد می‌تواند بر مقدار آغشتگی موثر باشد. از آنجا که تنش فلز سنگین رشد گیاه را کاهش می‌دهد، می‌تواند باعث کاهش آغشتگی میکوریزی نیز شود [۴]. در گزارش-هایی مشابه، در گیاه گندم تلقیح شده با *Glomus intraradices* [۲۱] و گیاه *Cajanus cajan* تلقیح شده با *Glomus mosseae* **[۱۱]** تحت سمیت کادمیم آغشتگی میکوریزی ریشه کاهش پیدا کرد.

هورمون‌های گیاهی نقش بسیار مهمی در همزیستی میکوریزی بازی می‌کنند. هورمون‌های گیاهی یا فیتوهورمون‌ها در مسیرهای سیگنالینگ و تنظیم این همزیستی در مراحل مختلف رشد و نمو گیاه دخالت دارند [۲۳]. در این پژوهش، براسینواستروئید بر آغشتگی میکوریزی در شرایط کنترل و سمیت کادمیم نقش تحریک کننده داشت. در زمینه مکانیسم عمل براسینواستروئید در همزیستی میکوریزی گزارشات کمی در دسترس است اما در اغلب موارد نقش مثبت این هورمون گزارش شده است. برخی آزمایشات نشان می‌دهد که هورمون براسینواستروئید، جیبرلین و سیتوکینین برای مراحل اولیه آغشتگی میکوریزی ریشه مورد نیاز هستند و در مراحل بعدی همزیستی نقش چندانی ندارند [۱۵].

مهار رشد گیاه توسط عوامل محیطی را نمی‌توان تنها به یک فرآیند فیزیولوژیکی خاص نسبت داد اما پدیده فیزیولوژیکی غالب، فتوسنتز است. محققان میزان کلروفیل برگ را یکی از مهم‌ترین شاخص‌های نشان‌دهنده تنش‌های محیطی وارد بر گیاه از جمله تنش فلزات سنگین دانستند و معتقدند مقدار کلروفیل در گیاهان تحت تنش فلزات سنگین کاهش می‌یابد و باعث کاهش جذب نور توسط گیاه می‌شود. کلروزگی در گیاهان معمولا به‌عنوان یکی از علائم اصلی سمیت فلزات سنگین مطرح شده است [۳۹]. در مجموع تجزیه کلروفیل‌ها و کاروتنوئید پاسخ عمومی به تنش می‌باشد و به طور اختصاصی در پاسخ به غلظت‌های افزایش یافته فلزات سنگین نیز مشاهده شده است. فلزات سنگین با کاهش چشمگیر فتوسنتز و انتقال تولیدات فتوسنتزی رشد گیاه را به شدت کاهش می‌دهند. اثر انفرادی فلز سنگین در کاهش فتوسنتز برای گونه‌ها و حتی کولتیوارها می‌تواند اختصاصی باشد. طبق گزارش Vassilev و همکاران در سال ۲۰۰۷ فلزات روی (۵۰۰ میکرومولار)، کادمیوم (۵۰ میکرومولار) و مس (۲۰ میکرومولار) منجر به کاهش رنگیزه‌های کلروفیل a، b و کاروتنوئید در گیاهان لوبیا، خیار و کاهو می‌شوند [۴۵].

در این پژوهش نیز مانند بسیاری از تحقیقات دیگر با کاربرد کلرید کادمیم کاهش میزان کلروفیل (کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل)، حدواسط‌های مسیر بیوسنتز کلروفیل (پروتوپورفیرین IX، منیزیم پروتوپورفیرین IX، پروتوکلروفیلید، کلروفیلید a و کلروفیلید b) و کاروتنوئید در گیاه دارویی آنیسون مشاهده شد. بررسی‌های مختلف نشان داده است که کادمیوم سبب کاهش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاهان عالی می‌شود. کادمیم با کاهش فتوسنتز و انتقال تولیدات فتوسنتزی، رشد گیاه را به شدت کاهش داده و در این تحقیق نیز کاهش چشمگیر مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی و رشد گیاهان آنیسون تحت تیمار با کلرید کادمیوم مشاهده شد. در گزارشی مشابه، کادمیم در گیاهان لوبیا باعث کاهش رشد، محتوای کلروفیل، سرعت فتوسنتز خالص، هدایت روزنه‌ای و غلظت CO_2 داخل سلولی گردید [۴۷]. در گیاه گندم محتوای کلروفیل و سرعت فتوسنتز [۶] و در پنبه کلروفیل a، کلروفیل b، سرعت فتوسنتز، سرعت انتقال الکترون و هدایت روزنه‌ای [۲۵] تحت سمیت کادمیم کاهش پیدا کرد. در *Vigna unguiculata*، کادمیم باعث کاهش میزان کلروفیل و کاروتنوئید گردید [۴۶].

جانشینی اتم مرکزی کلروفیل، منیزیم توسط کادمیوم یکی از علل مهم آسیب به گیاهان تحت تنش ناشی از این فلز و کاهش میزان کلروفیل و کاروتنوئید می‌باشد [۲۷,۳۸]. همچنین کاهش مقدار کلروفیل در گیاه تیمارشده با کادمیوم می‌تواند به علت فعالیت آنزیم‌های تخریب‌کننده کلروفیل باشد. اولین آنزیم در مسیر بیوسنتز کلروفیل، گلوتامات لیگاز است. کاهش میزان کلروفیل می‌تواند به دلیل فعالیت بیشتر آنزیم کلروفیلاز در شرایط تنش نیز باشد. از طرف دیگر در هنگام تنش غلظت مواد تنظیم کننده رشد از جمله اسید آبسیزیک، اتیلن و اکسین افزایش می‌یابد و این موجب تحریک فعالیت کلروفیلاز می‌شوند [۳۷]. کادمیوم همچنین می‌تواند بیوسنتز کلروفیل را با مهار آنزیم پروتوکلروفیلید ردوکتاز مهار کند یا با مهار آنزیم‌های واقع در کمپلکس شکست آب در محل اکسید کننده فتوسیستم II، انتقال الکترون فتوسنتزی را مهار کرده و بدین ترتیب از اثر برانگیختگی کلروفیل و در نتیجه زنجیره واکنش‌های انتقال الکترون ممانعت می‌نماید. نشان داده شده که کادمیوم آنزیم δ-آمینو لوولینیک-اسیددهیدراتاز، آنزیم مسیر بیوسنتز کلروفیل در برگ‌های تربچه [۳۸] و سویا [۱۴] را مهار می‌کند. δ-آمینولوولینیک‌اسید که یک حد واسط مهم در مسیر بیوسنتز کلروفیل می‌باشد از ترکیبات پنج کربنه مثل گلوتامات یا ۲-اگزوگلوتارات سنتز می شود [۲۷].

همچنین اغلب محققین اشاره دارند به اینکه کاهش میزان کلروفیل گیاهان در معرض فلز سنگین کادمیوم به‌دلیل بازدارندگی مراحل مختلف سنتز کلروفیل است. این موضوع در ارتباط با گیاه گندم به اثبات رسیده است [۵۱]. همان‌طور که اشاره گردید در این تحقیق میزان ترکیبات حدواسط مسیر بیوسنتز کلروفیل نیز با تنش کادمیوم کاهش پیدا کرد. بررسی ها نشان داده است که مراحل اولیه بیوسنتز کلروفیل از جمله سنتز ۵ – آمینو لوولینیک اسید و فعالیت آنزیم ۵ – آمینو لوولینیک اسید دهیدراتاز که تبدیل سنتز ۵ – آمینو لوولینیک اسید را به پورفوبیلینوژن کاتالیز می‌کند، از حساس‌ترین مراحل بیوسنتز کلروفیل نسبت به فلزات سنگین محسوب می‌شود. فلزات سنگین به شدت باعث مهار فعالیت ۵ – آمینو لوولینیک اسید دهیدراتاز و کاهش تجمع کلروفیل می گردند و ایجاد اختلال در مراحل مختلف سنتز کلروفیل بوسیله فلزات سنگین از دلایل اصلی کاهش محتوای کلروفیل در گیاهان تحت

تیمار عناصر سنگین است [۳۳]. گزارش شده است که جیوه میزان پروتوپورفیرین IX، منیزیم پروتوپورفیرین، پروتوکلروفیلید، کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل را در گیاه *Pennisetum typhoideum* کاهش می‌دهد [۳۲]. یکی از اثرات بازدارنده کادمیوم در سنتز کلروفیل جلوگیری از فعالیت آنزیم‌های مسیر بیوسنتز کلروفیل و در نتیجه محدودیت دسترسی ترکیبات حدواسط مسیر بیوسنتز کلروفیل می باشد. در گزارشی مشابه با پژوهش در حال حاضر، کادمیوم باعث کاهش فعالیت ۵ – آمینو لوولینیک اسید دهیدراتاز و سنتز سنتز ۵ – آمینو لوولینیک اسید در گیاه ذرت شد [۱۹]. در گزارشی دیگر کاهش فعالیت ۵ – آمینو لوولینیک اسید دهیدراتاز تحت تنش کادمیوم در تربچه گزارش شد [۲۸].

وجود کادمیوم در سلول‌های برگ باعث کاهش میزان کاروتنوئیدها می‌شود که در این تحقیق هم این اثر مشاهده شد. نتایج این تحقیق با نتایج دیگر محققان همخوانی داشت [۲۲]. یکی از علل کاهش کاروتنوئیدها تحت سمیت کادمیم تخریب بتا کاروتن و تشکیل زآگزانتین می‌باشد [۲۰]. در گزارشی مشابه، فلز سنگین کادمیم باعث کاهش میزان کلروفیل و کاروتنوئید در گوجه‌فرنگی [۱۷] و *Hordeum vulgare* [۱۳] می‌شود.

در این پژوهش کلروفیل a، b، کل، حدواسط‌های مسیر بیوسنتز کلروفیل و کاروتنوئیدها تحت تاثیر تیمار براسینواستروئید، تلقیح میکوریزی و در تیمار توام براسینواستروئید با میکوریز *Glomus mosseae* به تنهایی و در غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm کلرید کادمیم به گونه معنی‌داری افزایش و در غلظت ۸۰۰ ppm کلرید کادمیم کاهش چشمگیری داشت که نقش هورمون و میکوریز را در مقاومت گیاه آنیسون به تنهایی و در غلظت‌های پایین کلرید کادمیم نشان می‌دهد اما در غلظت ۸۰۰ ppm کلرید کادمیم، تنش ناشی از سمیت کادمیم غالب بود و رنگیزه‌های فتوسنتزی و رشد گیاه به شدت کاهش پیدا کرد.

بررسی‌ها نشان داده است که اپی‌براسینولید با تنظیم متابولیسم قند و تقویت بیان ژن‌های کدکننده آنزیم‌های مربوطه، موجب افزایش فتوسنتز می‌شود . همچنین گزارش شده است که اپی‌براسینولید با افزایش فعالیت آنزیم روبیسکو موجب افزایش کارایی تثبیت کربن، با افزایش فعالیت سایر آنزیم‌های چرخه کلوین باعث افزایش سرعت بازسازی ریبولوزبیس‌فسفات و با افزایش محتوی کلروفیل نیز بر فعالیت فتوسنتز می‌افزاید [۴۹,۵۲]. افزایش کاروتنوئیدها در تیمار ۲٤– اپی‌براسینولید نیز در این پژوهش احتمالا به نقش این هورمون در تحریک بیوسنتز کاروتنوئید در برابر تنش‌ها بر می‌گردد که با افزایش سنتز کاروتنوئیدها توانسته در شرایط سمیت کلرید کادمیم مقدار این رنگدانه را افزایش دهد. یکی از دلایل دیگر این مسئله احتمالا مربوط به فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی است که تحت تاثیر براسینواستروئید فعال شده‌اند و این آنزیم‌ها از تخریب و یا تجزیه کاروتنوئیدها و سایر رنگدانه‌های فتوسنتزی جلوگیری کرده‌اند. کاربرد براسینواستروئید بر محتوی کلروفیل در گیاه *Brassica juncea* که در معرض تنش فلز سنگین کادمیم [۱۶] و فلز نیکل [۳] قرار داشتند، افزوده‌است. Ogweno و همکاران (۲۰۰۸) مشاهده کرده‌اند که پیش تیمار گیاهان گوجه‌فرنگی با ۲٤–اپی‌براسینولید بطور معنی‌داری بازدارندگی دمای بالا بر روی فتوسنتز شامل کاهش سرعت خالص فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای و سرعت کربوکسیلاسیون روبیسکو را تخفیف می‌دهد [۲۹].

قارچ میکوریز با جذب کربن جهت تامین نیاز خود و با در اختیار گذاشتن مواد غذایی به گیاه باعث رشد اندام سبزینه گیاه گردیده و متعاقبا گیاه با افزایش جذب کربن و فتوسنتز باعث تامین هیدرات‌های کربن مورد نیاز قارچ می‌شود. در قارچ‌های میکوریز کربن گرفته شده از گیاه به گلیکولیپیدها تبدیل می‌شود که مکانیسمی برای ذخیره این مواد در قارچ‌هاست. گیاهان می‌توانند سرعت فتوسنتز را افزایش دهند تا نیازهای همزیست میکروبی را تامین کند. این عمل از طریق افزایش سطح برگ در گیاهان جوان و افزایش مقدار تثبیت Co_2 به ازای واحد وزن برگ انجام می‌گیرد. در مورد بررسی اثر قارچ میکوریز *Glomus mosseae* بر میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی نتایج نشان داد که تلقیح گیاهان با قارچ میکوریز باعث افزایش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی و حدواسط‌های مسیر بیوسنتز کلروفیل تحت غلظت‌های پایین کلرید کادمیم می‌گردد. در تیمار توام گیاهان با قارچ میکوریز و براسینواستروئید نیز افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی مشاهده شد. از آنجا که میکوریزها به جذب منیزیم در گیاه کمک می‌کنند می‌توانند سنتز کلروفیل را در گیاه افزایش دهند. همچنین افزایش مقدار کلروفیل می‌تواند ناشی از کاهش غلظت کادمیم در اندام‌های هوایی گیاهان میکوریزی نسبت به گیاهان غیرمیکوریزی باشد یعنی میکوریزی شدن سمیت کادمیم را در سنتز کلروفیل کاهش می‌دهد[۱۲]. از طرفی در مورد بالا بودن میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی در گیاهان آنیسون همزیست با قارچ در مقایسه با گیاهان شاهد می‌توان اینچنین توجیه کرد که احتمالا به علت وجود رابطه مثبت بین غلظت فسفر و مقدار رنگدانه‌های فتوسنتزی در گیاهان میکوریزی نقش قارچ میکوریز در فراهم نمودن فسفر مورد نیاز گیاه به عنوان حامل انرژی در طی فتوسنتز تایید می‌شود. افزایش میزان کلروفیل در گیاه آنیسون یکی از مکانیسم‌های مقاومتی این گیاه در شرایط سمیت کلرید کادمیم است که بطور غیرمستقیم بوسیله قارچ میکوریز همزیست اعمال می‌شود. در گزارشی مشابه افزایش میزان کلروفیل a و کلروفیل b در گیاهان کرفس تلقیح شده با *Glomus macrocarpum* تحت سمیت کادمیم مشاهده گردید [۳۶]. در گیاه ذرت تلقیح شده با*Glomus etunicatum* تحت تنش سرما افزایش سرعت فتوسنتز، تعرق خالص و غلظت کلروفیل a، b و کل گزارش شد [۵۳]. در گیاهان میکوریزی *Jatropha curcas* L. تحت تنش شوری نیز میزان کلروفیل بیشتری در مقایسه با گیاهان غیرمیکوریزی وجود دارد[۵] . در گزارشی مشابه انتشاری و حاج‌باقری در سال ۲۰۱۱ افزایش میزان کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید را در گیاه ریحان سبز تلقیح شده با قارچ میکوریز در مقایسه با گیاهان غیر میکوریزی در شرایط تنش شوری گزارش دادند [۹]. این تحقیق و تحقیقات مشابه نشان می‌دهد که گیاهان میکوریزی در شرایط سمیت کلرید کادمیوم، رشد بهتری نسبت به گیاهان تلقیح نشده نشان می‌دهند.

اثر سینرژیک قارچ میکوریز و براسینواستروئید اگزوژن در افزایش میزان کلروفیل و کاروتنوئید تحت سمیت کلرید کادمیم نیز در این گیاه مشاهده شد. در گزارشی افزایش میزان کلروفیل در گیاه توت فرنگی تلقیح شده با *Glomus mosseae* و تحت تیمار با سالیسیلیک اسید تحت تنش شوری مشاهده گردید [۵۰].

نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر، اهمیت براسینواستروئید و تلقیح میکوریزی را در کاهش اثرات مخرب فلز سنگین کادمیم بر رنگیزه‌های

فتوسنتزی در آنیسون نشان می‌دهد.

منابع

[۱] امیدبیگی، ر. ۱۳۸۵. تولید و فرآوری گیاهان دارویی. جلد ۳، انتشارات آستان قدس رضوی. ۳۹۷ صفحه.

[2] Al-Karaki G.N. 2000, Growth of mycorrhizal tomato and mineral acquisition under salt stress. Mycorrhiza Journal, 10:51-54.

[3] Alam M.M., Hayat S,. Ali, B., Ahmad A. 2007, Effect of 28 homobrassinolide treatment on nickel toxicity in *Brassica juncea*. Photosynthetica, 45: 139–142.

[4] Asghari H.R. 2008, Vesicular_arbuscular (VA) mycorrhizae improve salinity tolerance in pre-inoculation subterranean clover (*Trifolium subterraneum*) seedling. International Journal of Plant Production, 2(3): 243-256.

[5] Ashwani K., Satyawati SH., Saroj M. 2010, Influence of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi and salinity on seedling growth, solute accumulation and mycorrhizal dependency of *Jatropha curcas* L. Journal of Plant Growth Regulation, 29(3): 297-306.

[6] Bheemareddy V.S. 2013, Impact of Cadmium Phytotoxicity on Photosynthetic Rate and Chlorophyll Content in Triticum aestivum L. DWR 225 Variety. Middle-East Journal of Scientific Research, 17 (9): 1209-1212.

[7] Chandler J.W., Cole M., Flier A., Werr W. 2009, BIM1, a bHLH protein involved in brassinosteroid signaling, controls *Arabidopsis* embryonic pattering via interaction with dornroschen and dornroschen-like. Plant Molecular Biology, 69: 57-68.

[8] Colla G., Rouphael Y., Cardaleri M., Tullio M., Mario Rivera C., Rea E. 2008, Alleviation of salt stress by arbuscular mycorrhizal in zucchini plants grown at low and high phosphorus concentration. Boil Fertile Soils Journal, 44: 501-509.

[9] Enteshari SH., Delavar K. 2011, Enhancing effect of Methyl jasmonate on antioxidative capacity of *Bunium persicum* under Cadmium stress. Planta Medica, 77 – 89.

[10] Enteshari. SH., Hajbagheri. S. 2011, The effects of mycorrhizal fungi on some physiological characteristics and in salt stressed *Ocimum basilicum* L. Journal of Plant Physiology, (4): 215-222.

[11] Garg N. Bhandari P. 2012, Influence of cadmium stress and arbuscular mycorrhizal fungi on nodule senescence in *Cajanus cajan* (L.) Millsp. *International Journal of Phytoremediation*, 14(1): 62-74.

[12] Giri B., Mukerji K.G. 2004, Mycorrhizal inoculants alleviates salt stress in *Sesbania aegyptiaca* and *Sesbania grandiflora* under field conditions: evidence for reduced sodium and improved magnesium uptake. Mycorrhiza, 14:307-312.

[13] Gubrelay U., Agnihotri K., Singh G., Kaur R., Sharma R. 2013, Effect of heavy metal Cd on some physiological and biochemical parameters of Barley (*Hordeum vulgare* L.). International Journal of Agriculture and Crop Sciences, 5 (22): 2743-2751.

[14] Guillermo O., Karina B., Alcira B., Maria L. 2007, Cadmium induced oxidative stress in soybean plants also by the accumulation of δ-aminolevulinic acid. BioMetals, 20: 841-851

[15] Hanlon M.T., Coenen C. 2011, Genetic evidence for auxin involvement in arbuscular mycorrhizal initiation. New Phytologist, 189:701–709.

[16] Hayat A., Ahmad T. 2007, Salicylic acid. A plant hormone, salicylic acid: biosynthesis, metabolism and physiological role in plants.

[17] Hediji H., Djebali W., Cabasson C., Maucourt M., Baldet P., Bertrand A., Boulila Zoghlami L., Deborde C., Moing A., Brouquisse R., Chaïbi W., Gallusci P. 2010, Effects of long-term cadmium exposure on growth and metabolomic profile of tomato plants. *Ecotoxicology* and *Environmental* Safety, 73(8): 1965-1974.

[18] Hewitt E.J. 1966, Sand and water culture methods used in the study of plant nutrition. Tech. Commun. 22, Commonwealth Bureaux of Hort. and Plantation Crops, East Malling, England.

[19] Jain A., Poling M.D., Karthikeyan A.S., Blakeslee J.J., Peer W.A., Titapiwatanakun B., Murphy A.S., Raghothama K.G. 2007,

Differential effects of sucrose and auxin on localized phosphate deficiency-induced modulation of different traits of root system architecture in Arabidopsis. Plant Physiol, 144:232-247.

[20] Jaleel C.A., Manivannan P., Kishorekumar A., Sankar B., Gopi R., Somasundaram R., Panneerselvam R. 2007, Alterations in osmoregulation, antioxidant enzymes and indole alkaloid levels in Catharanthus roseus exposed to water deficit. Colloids and Surfaces Biointerfaces, 59(2): 150–157.

[21] Jamalabad KH., Khara J. 2008, The effect of arbuscular mycorrhizal fungi *Glomus intraradices* on some growth and physiological parameters in wheat (cv.AZAR2) plants under cadmium toxicity. Iranian Journal of Biology, 21(2): 216-230.

[22] Jeliazkova E., Craker L.E., Xing B.S. 2003, Seed germination of anise, caraway, and fennel in heavy metal contaminated solutions. Journal Herbs Spices Med,10: 83-93.

[23] Jutta L.M. 2000, Hormonal Balance in Plants during Colonization by Mycorrhizal Fungi. Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function, 263-285.

[24] Liu G.Y., Zhang Y.X., Chai T.Y. 2011, Phytochelatin synthase of Thlaspi caerulescens enhanced tolerance and accumulation of heavy metals when expressed in yeast and tobacco. Plant Cell Reports, 30: 1067–1076.

[25] Liu L., Sun H., Chen J., Zhang Y., Li D., Li C. 2014, Effects of cadmium (Cd) on seedling growth traits and photosynthesis parameters in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). Plant Omics Journal, 7(4): 284-290.

[26] Martin F., Tuskan G.A., Difasio S.P., Lammers P., Newcombe G., podia G.K. 2004, Symbiotic sequencing for the *Populus mesocosm*. New Phytologist, 161: 330-335.

[27] Meeta J., Monika P., Priyanka G., Rekha G. 2007, Effect of cadmium on chlorophyll biosynthesis and enzymes of nitrogen assimilation in greening maize leaf segments: Role of 2-oxoglutarate. India Journal of Experimental Biology, 45: 385-389.

[28] Morsch V.M., Schetinger M.R.C., Martins A.F., Rocha J.B.T. 2002. Effects of cadmium, lead, mercury and zinc on δ-aminolevulinic acid dehydratase activity from radish leaves, Biology Plant, 45:85-89.

[29] Ogweno J.O., Song X.S., Shi K., Hu W.H., Mao W.H., Zhou Y.H., Yu J.Q., Nogues S. 2008, Brassinosteroids alleviate heat-induced inhibition of photosynthesis by increasing carboxylation efficiency and enhancing antioxidant systems in *Lycopersicon esculentum*. Journal of Plant Growth Regulation, 27:49-57.

[30] Pawlowska T., Charvat I. 2004, Heavy-metal stress and developmental patterns of arbuscular mycorrhizal fungi. Applied and Environmental Microbiology, 70: 6643-6649.

[31] Porra R.J., Thompson W.A., Kreidemann P.E. 1989, Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. Biochimica et Biophysica Acta, 975: 384–394.

[32] Prasad D.D.K., Prasad A.R.K. 1990, Porphyrin metabolism in lead and mercury *treated bajra (*Pennisetum typhoideum*)* seedlings. Journal of Biosciences, 15(4):271-279**.**

[33] Prasad M.N.V., Freitas H.M.D. 2003, Metal hyperaccumulation in plants—Biodiversity prospecting for phytoremediation technology. Electron Journal Biotechnol, 93(1):285–321.

[34] Rajapakes G., Miler J. 1992, Methods of studying VAM root colonization and related root physical properties. Methods in microbiology, V:24.ISBN:0-12-521524.

[35] Romero-Puertas M.C., Palma J.M., Gomez M., del Rio L.A., Sandalio L.M. 2002, Cadmium causes the oxidative modification of proteins in pea plants. Plant Cell Environ, 25: 677–686.

[36] Rupam, K., and Bhatnagar, A.K. 2007, Attenuation of cadmium toxicity in mycorrhizal celery (Apium graveolens L.). World Journal of Microbiology and Biotechnology, 23: 1083-1089.

[37] Sanita L., Gabbrielli R.1999, Response to Cadmium in higher plants-review. Environmental and Experimental Botany, 41: 105-130.

[38] Saxena D.K., Saiful-Arfeen M. 2009, Effect of Cu and Cd on oxidative enzymes and chlorophyll content of Moss *Racomitrium crispulum*. Taiwania, 54: 365-374.

[39] Shaibur M., imamul S.M., Huq N., Kawai S. 2008, Effect of pH on on Arsenic Toxicity in Barley Grown in Water Culture. Soil Science & Plant Nutrient, 54: 9-25.

[40] Sharma P., Bhardwaj R., Arora N., Arora K. 2007, Effect of 28-homobrassinolide on growth, zinc metal uptake and antioxidative enzyme activities in *Brassica juncea* L. seedlings. Brazilian Journal of Plant Physiology, 19(3): 203-210.

[41] Silva S. 2012, Aluminium Toxicity Targets in Plants. A review. Journal of Botany, 10: 1-8.

[42] Tangahu B.V., Abdullah S.R., Basri H., Idris M., Anuar M., Mukhlisim M. 2011, A review on heavy metals (As, Pb and Hg) uptake by plants through phytoremediation. International Journal of Chemical Engineering, 1-31.

[43] Turk M.A., Assaf T.A., Hameed K.M., Al-Tawaha A.M. 2006, Significance of mycorrhizae. World Journal of Agricultural Sciences, 2(1): 16-20.

[44] Upadhyaya H., Panda S.K., Bhattacharjee M.K., Dutta S. 2010, Role of arbuscular mycorrhiza in heavy metal tolerance in plants: Prospects for phytoremidiation. Journal of Phytology, 2(7): 16-27.

[45] Vassilev A., Koleva L., Berova M., Stoeva N.2007, Development of a plant test system for evaluation of the toxicity of metal contaminated soils. I. sensitivity of plant species to heavy metal stress. Journal of Central European Agriculture, 8(2): 135-140.

[46] Vijayaragavan M., Prabhakar C., Sureshkumar J., Natarajan A., Vijayarengan P., Sharavan S. 2011, Toxic effect of cadmium on seed germination growth and biochemical content of cowpea (*Vigna unguiculata* L.). Journal Rankings on Multidisciplinary, 1(5): 01-06.

[47] Xue Z.C., Gao H.Y., Zhang L.T. 2013, Effects of cadmium on growth, photosynthetic rate and chlorophyll content in leaves of soybean seedlings. Biologia Plantarum, 57: 587-590.

[48] Yang C.M., Chang K.W., Yin M.H., Huang H.M. 1998, Methods for the determination of the chlorophylls and their derivatives. Taiwania, 43(2): 116-122.

[49] Yu J.L., Huang Y.H., Zhou S.F., Nogues, S. 2004, A role of brassinosteroids in the regulation of photosynthesis in *Cucumis sativus*. Journal of Experimental Botany, 55: 1134-1135.

[50] Yuan Y. 2009, Effects of Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Salicylic Acid on Salt Tolerance of Strawberry (*Fragaria×ananassa Duch*) Plants. Scientia Agricultura Sinica, 42(5): 1590-1594.

[51] Zengin F.K., Munzuroglu O. 2006, Toxic effects of cadmium (Cdþþ) on metabolism of sunflower (Helianthus annuus L.) seedlings. Acta Agriculture, 56: 224–229.

[52] Zhang M., Zhai Z., Tian, X. Duan, L. Li Z. 2008, Brassinolide alleviated the adverse effect of water deficits on photosynthesis and the antioxidant of soybean (*Glycine max* L.). Plant Growth Regulation, 56: 257-264.

[53] Zhu X., Song F., Xu H. 2010, Influence of arbuscular mycorrhiza on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activity of maize plants under temperature stress. Mycorrhiza, 20(5): 325-329.