

## تأثیر تلقیح قارچ مایکوریزا آربوسکولار و باکتری‌های محرک رشد بر میزان تحمل

### گاوزبان اروپایی (*Borago officinalis* L.) به سمیت کادمیوم

پریسا ثابتی<sup>۱</sup>، علیرضا یدوی<sup>۲\*</sup>، امین صالحی<sup>۳</sup>، رضا نقی‌ها<sup>۴</sup> و فاطمه ابراهیمی<sup>۵</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد آگرواکولوژی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه

یاسوج

۲- \* (نویسنده مسئول) دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج

۳- دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج

۴- دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج

۵- دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه

یاسوج

پست الکترونیک نویسنده مسئول: [Yadavi@yu.ac.ir](mailto:Yadavi@yu.ac.ir)

#### چکیده:

به منظور ارزیابی تلقیح قارچ مایکوریزا و باکتری‌های محرک رشد (جنس سودوموناس) بر میزان تحمل گاوزبان اروپایی (*Borago officinalis* L.) به سمیت کادمیوم آزمایشی در گلخانه‌ی پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه یاسوج در سال ۱۳۹۹ به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار و ۱۶ تیمار به اجرا در آمد. عامل اول شامل کاربرد کود زیستی در ۴ سطح (شاهد، کاربرد قارچ مایکوریزا، کاربرد باکتری محرک رشد و کاربرد توأم قارچ و باکتری) و سطوح مختلف غلظت کادمیوم در ۴ سطح (۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم کادمیوم در هر کیلوگرم خاک) بود. صفات مورد بررسی شامل درصد کلونیزاسیون ریشه، محتوای کادمیوم گیاه، برخی خصوصیات فیزیولوژیک و وزن خشک اندام هوایی گاوزبان اروپایی بود. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم نشت الکترولیت، محتوای پرولین و محتوای کادمیوم در اندام هوایی افزایش یافت. استفاده از قارچ مایکوریزا و باکتری نسبت به عدم کاربردشان مثبت ارزیابی شد، به طوری که در هر چهار سطح کادمیوم در صفات مورد بررسی، بیشترین میزان پرولین، کلروفیل و محتوای نسبی آب و همچنین کمترین نشت الکترولیت و غلظت کادمیوم اندام هوایی، از تیمار تلفیقی این دو کود زیستی به دست آمد. کاربرد کود زیستی سبب افزایش وزن خشک قسمت‌های هوایی گیاهان تلقیح شده نسبت به شاهد شد. نتایج نشان داد که در شرایط وجود ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم کادمیوم بر کیلوگرم در خاک کاربرد تلفیقی کودهای زیستی موجب کاهش ۲۱ و ۱۷ درصدی انتقال کادمیوم از ریشه به اندام هوایی گاوزبان شد. لذا استفاده از کودهای زیستی در مناطق آلوده به کادمیوم توصیه می‌شود.

**واژگان کلیدی:** پرولین، فلزات سنگین، کود زیستی، گیاه دارویی، نشت الکترولیت

مقدمه:

در سال‌های گذشته استفاده از داروهای گیاهی در سراسر جهان به‌طور چشمگیری افزایش یافته است، از این رو سلامت و کیفیت مواد خام گیاهان دارویی و محصولات فرآوری شده آن‌ها یکی از نگرانی‌های عمده سازمان بهداشت جهانی است (Basar et al., 2013). گاوزبان اروپایی از جمله این گیاهان دارویی می‌باشد که اهمیت فراوانی دارد. گاوزبان اروپایی گیاهی

این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.

## مجله فرایند و کارکرد گیاهی

علفی و یکساله از تیره گاوزبان با نام علمی *Borago officinalis L.* می‌باشد. این گیاه از دیرباز در طب سنتی ایران به عنوان آرام‌بخش، مرهم بافت‌های مخاطی، نرم‌کننده، خلط‌آور، کاهش‌دهنده تپش قلب، تقویت‌کننده، رفع عوارض زکام و سرماخوردگی، مورد استفاده قرار گرفته است. همچنین عصاره گل گاوزبان خاصیت ضد التهابی و ضد افسردگی دارد (Farhadi et al., 2012).

آلودگی‌های زیست‌محیطی، از جمله فلزات سنگین یکی از معیارهای کنترل کیفیت گیاهان دارویی و محصولات فرآوری شده آن‌ها می‌باشند و ممکن است با تحت تأثیر قرار دادن مسیر زیست‌ساختی متابولیت‌های ثانویه، موجب تغییرات چشمگیری در کمیت و کیفیت این محصولات شوند (Ali et al., 2018). همچنین امروزه با افزایش نیاز آبی و تقاضای بیشتر آب به منظور آبیاری در بخش کشاورزی، سبب افزایش روزافزون استفاده مجدد از پساب‌های تصفیه شده یا خام شهری و صنعتی در بسیاری از کشورهای جهان شده است. فلزات سنگین موجود در این گونه آب‌های نامتعارف یکی از منابع آلودگی آب، خاک و گیاه به‌شمار می‌روند (وطن‌پور و همکاران، ۱۴۰۰). سمیت فلزات سنگین در گیاهان سبب بروز اختلالاتی در گیاه شده که در نهایت ممکن است سبب کاهش رشد گیاه گردد (Jahan and Fujita, 2014). تجمع عناصر سنگین در خاک، به ویژه در زمین‌های کشاورزی، امری تدریجی بوده و غلظت عناصر می‌تواند به سطوحی برسد که امنیت غذایی بشر را تهدید نماید. کادمیوم به عنوان یک ماده سرطان‌زا در ایجاد اغلب سرطان‌ها شناخته شده است (Kaur and Jhanji, 2016).

کادمیوم به دلیل تحرک بالا و خاصیت آب دوستی به راحتی توسط ریشه گیاه جذب و از طریق آوند چوبی با کمک جریان تعرق به بخش‌های هوایی به‌خصوص برگ‌ها منتقل می‌گردد. با مطالعه اثر کادمیوم بر محتوای کلروفیل برگ گندم مشاهده شد، بیشترین محتوای کلروفیل a، b و کل از تیمار شاهد و کمترین آن‌ها از تیمار ۳۰۰ میکرومولار کادمیوم حاصل گردید (وطن‌پور و همکاران، ۱۴۰۰). مشخص شده است با افزایش کادمیوم میزان محتوای نسبی آب بافت کاهش می‌یابد. در سلول‌های برگ سمیت فلزات سنگین می‌تواند نفوذپذیری غشا پلاسمایی را تحت تأثیر قرار دهد که سبب کاهش در محتوای آب بافت می‌شود. به‌ویژه در مورد کادمیوم که تأثیر آن در برهم‌کنش با تعادل آبی گزارش شده است (نورائی و کفیل‌راده، ۱۳۹۰). تجمع پرولین و آمینواسیدهای آزاد در پاسخ به تنش کادمیوم دلیل مناسبی برای کاهش در میزان نسبی آب برگ و به‌وجود آوردن خشکی فیزیولوژیک در گیاه است (Barket et al., 2007). در تحقیقی روی گیاه پنیرک (*Malva sylvestris*) بیشترین درصد نشت الکترولیت (۹۷ درصد) از تیمار کاربرد کادمیوم و کمترین آن (۸۱ درصد) از تیمار شاهد به‌دست آمد (جعفرحدادیان و همکاران، ۱۳۹۹). در آزمایشی دیگر بر گیاه ریحان مشخص شد تنش کادمیوم وزن خشک بوته را نسبت به شاهد کاهش داد، به‌طوری‌که تیمار کادمیوم ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک کمترین میزان صفت ذکر شده را به خود اختصاص داد و حکایت از کاهش ۶۲/۸۲ درصدی وزن خشک بوته نسبت به شاهد داشت (اصغری و همکاران، ۱۳۹۹).

در سال‌های اخیر به‌منظور کاهش یا برداشت فلزات سنگین موجود در محیط آلوده، مطالعه بیولوژی ریزوسفر از جمله میکروارگانیسم‌های مفید خاکزی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. قارچ‌های میکوریزا آربوسکولار با داشتن شبکه میسلیومی گسترده و افزایش سطح، سرعت جذب آب و عناصر و همچنین توانایی سنتز آنزیم فسفاتاز، کارایی گیاهان را در جذب آب و عناصر غذایی به ویژه فسفر، نیتروژن و پتاسیم افزایش داده است و در نتیجه موجب بهبود رشد گیاهان می‌شوند. همچنین این قارچ‌ها می‌توانند تأثیرات عمده‌ای در جذب و پالایش فلزات سنگین داشته باشند (Gomes et al., 2013). همچنین

این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.

## مجله فرایند و کارکرد گیاهی

ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR<sup>1</sup>) با توجه به اهمیت و مقبولیت جهانی آن‌ها نقش بسیاری مفیدی را در جهت افزایش میزان عملکرد گیاهی و پالایش عناصر سنگین به کمک مکانیسم‌های مختلف در ناحیه ریزوسفری گیاه ایفا می‌کنند. در واقع این باکتری‌ها منابع بیولوژیکی نوین و ابزاری با پتانسیل بالا برای کلونیزاسیون ریشه و تحریک رشد و افزایش عملکرد کمی و کیفی در طیف وسیعی از گیاهان زراعی می‌باشند (Vurukonda et al., 2016). به‌گفته‌ی (Sun et al., 2020) در استفاده از باکتری‌ها برای خاک آلوده به فلزات سنگین، فرایندهای بیوشیمیایی از جمله تبادل مواد، تبدیل انرژی و ارتباطات اطلاعاتی، به طور مداوم در میان میکروبه‌ها، ریشه‌های گیاهان و محیط ریزوسفر انجام می‌شود.

تاکنون مطالعات مختلفی در دنیا با تأثیر تلقیح میکروبی در افزایش جذب فلزات سنگین در گیاهان مختلف بررسی شده است. اما در زمینه تأثیر مایه‌زنی میکروبی در ویژگی‌های فیزیولوژیکی گیاهان به‌ویژه گیاهان دارویی نظیر گیاه گاوزبان، در خاک‌های آلوده به فلز کادمیوم مطالعات چندانی انجام نشده است. لذا هدف از این بررسی تلقیح قارچ مایکوریزا آربوسکولار و باکتری محرک رشد بر میزان تحمل گاوزبان به سمیت کادمیوم بود. بر اساس این پژوهش مشخص خواهد شد چه مقدار کادمیوم توسط گاوزبان از خاک جذب می‌شود. در صورت جذب متوسط کادمیوم و عدم انتقال به گل، گاوزبان اروپایی را می‌تواند یک تصفیه‌کننده خاک معرفی کرد.

### مواد و روش‌ها:

برای بررسی اثر تلقیح قارچ مایکوریزا آربوسکولار و باکتری محرک رشد بر گیاه گاوزبان اروپایی تحت تنش کادمیوم آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار و ۱۶ تیمار اجرا شد. فاکتورهای آزمایشی شامل کاربرد کود زیستی در ۴ سطح (شاهد بدون کاربرد کود زیستی، کاربرد قارچ مایکوریزا (گونه *Funneliformis moseae*)، کاربرد باکتری محرک رشد (باکتری سودوموناس پوتیدا (*Pseudomonas putida*) + باکتری سودوموناس فلورسنس (*Pseudomonas fluorescens*)) و کاربرد توأم قارچ و باکتری) و سطوح مختلف غلظت کادمیوم در ۴ سطح (۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم کادمیوم در هر کیلوگرم خاک) بود. برای هر واحد آزمایشی دو گلدان در نظر گرفته و در نهایت آزمایش با ۹۶ گلدان انجام شد. به‌منظور اجرای آزمایش بذر گاوزبان اروپایی از مرکز شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه گردید. قارچ مایکوریزا گونه *Funneliformis moseae* نیز از کلینیک گیاه‌پزشکی ارگانیک همدان تهیه شد. سوسپانسیون باکتریایی از موسسه تحقیقات آب و خاک کرج، با جمعیت  $10^8$  واحد تشکیل‌دهنده کلونی بر میلی‌لیتر تهیه گردید. ابتدا گلدان‌هایی به قطر ۲۰ سانتی‌متر تهیه و با ۴ کیلوگرم خاک از اختلاط خاک مزرعه با ماسه به نسبت ۳ به ۱ پر شدند. در مرحله‌ی آماده‌سازی خاک، نمونه‌هایی جهت مشخص نمودن خصوصیات خاک تهیه گردید. نتایج آزمون خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک در جدول (۱) ارائه شده است. پس از پر کردن گلدان‌ها تیمارهای غلظت‌های کادمیوم با استفاده از محلول نمک نترات کادمیوم به گلدان‌ها اضافه گردید و به مدت ۴۵ روز گلدان‌ها به صورت متناوب آب داده شدند (در حدی که آب از ته گلدان خارج نشود) تا در اثر خشک و تر شدن خاک کادمیوم به صورت یکنواخت با خاک داخل گلدان‌ها همگن شود. پس از طی شدن زمان مذکور ابتدا بذرهای گاوزبان اروپایی با هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت ۱ دقیقه ضدعفونی و پس از آن، بذرهای مربوط به تیمارهای باکتری‌های محرک رشد (باکتری سودوموناسپوتیدا (*Pseudomonas putida*) + باکتری سودوموناس فلورسنس (*Pseudomonas fluorescens*)) از طریق

<sup>1</sup> Plant growth promoting rhizobacteria

## مجله فرایند و کارکرد گیاهی

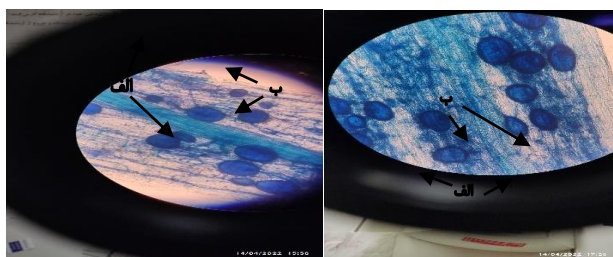
تلقیح بذر با این باکتری‌ها اعمال گردید و قارچ میکوریزا آربوسکولار گونه *Funneliformis moseae* به میزان ۱۰ گرم برای هر گلدان (گلدان‌های حاوی میکوریزا) در عمق ۵ سانتی متری با خاک قرار داده شد سپس یک سانتی متر خاک روی قارچ میکوریزا قرار گرفته و تعداد ۱۰ بذر گاوزبان اروپایی در گلدان‌های مربوطه قرار گرفته سپس آبیاری شدند. همچنین در مرحله ۲ برگی سوسپانسیون باکتری‌های محرک رشد پای بوته‌ها اعمال گردید. پس از استقرار گیاهچه‌ها و در مرحله چهارم برگی بوته‌ها در گلدان تنک و در نهایت پنج بوته در هر گلدان نگه داشته شدند.

جدول ۱- خصوصیات فیزیکو شیمیایی خاک محل آزمایش

اسیدیته	نیترژن	پتاسیم	فسفر	آهن	روی	مس	منگنز	کربن	شن	سیلت	رس	بافت خاک
(درصد)	(درصد)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	آلی (درصد)	(درصد)	(درصد)	(درصد)	
۷/۵	۰/۰۳	۱۱۲	۳/۱	۳/۲۰	۰/۳۶	۰/۶۰	۴/۴۰	۰/۱۹۵	۴۸	۱۸	۳۴	لوم سیلتی

### اندازه‌گیری درصد کلونیزاسیون ریشه

ریشه‌ها بعد از برداشت از خاک گلدان به دقت با آب شسته شده و برای مراحل بعدی آماده شدند. برای اندازه‌گیری درصد کلونیزاسیون، ۵۰ قطعه یک سانتی متری از ریشه‌های نازک انتخاب شدند سپس به لوله آزمایش انتقال و به آن KOH ۱۰ درصد اضافه و درون بن ماری با دمای ۹۵ درجه سلسیوس و به مدت نیم ساعت انتقال داده شد. پس از شفاف و شیشه‌ای شدن ریشه‌ها، جهت حذف اثر KOH با سرکه رقیق شسته شدند. ریشه‌های شفاف شده به مدت سه دقیقه داخل مخلوط سه درصد جوهر رنگی (ترجیحاً آبی یا مشکی) و سرکه خالص خانگی (اسید استیک ۵ درصد) جوشانده شدند (برای تهیه، ۵ میلی لیتر جوهر (جوهر خودنویس ایپلمات - حجم ۸۰ میلی لیتر) با سرکه سفید به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد). ریشه‌های رنگ گرفته از مرحله قبل با آبی که با چند قطره سرکه اسیدی شده یا با سرکه خالص شستشو شدند. از ریشه‌ها برش نازک تهیه و زیر میکروسکوپ مشاهده شدند. قطعات رنگ شده هیف قارچ درون و بیرون ریشه‌ها، وزیکول‌ها و آربوسکول‌ها (شکل ۱) نشان از کلونیزاسیون ریشه می‌باشد (Vierheilig et al., 1998).



شکل ۱- ساختارهای قارچ میکوریزای آربوسکولار-وزیکولار تلقیح شده با ریشه گاوزبان اروپایی، شکل ریشه رنگ آمیزی شده اجزای قارچ میکوریزا (الف) هیف و (ب) وزیکول را با میکروسکوپ مدل Olympus CX21 با بزرگنمایی ۴۰ نشان می‌دهد.

این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.

### اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیک

بعد از گذشت چهار هفته از سبز شدن و رشد بوته‌ها، نمونه‌گیری از یکی از واحدهای آزمایشی (یکی از دو گلدان) جهت اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیک صورت گرفت. به منظور جلوگیری از تغییر میزان پرولین و کلروفیل، نمونه‌ها پس از قرار گرفتن در ظرف حاوی یخ، به آزمایشگاه منتقل شده و تا زمان استفاده در دمای  $-40^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ (RWC)، از روش Mishra و Choudhuri (۱۹۹۹) استفاده شد. در نهایت مقدار محتوای آب نسبی برگ‌ها از رابطه ۱ محاسبه شد:

$$\text{رابطه ۱: } (FW - DW) / (SW - DW) \times 100 = \text{محتوای نسبی آب برگ (درصد)}$$

که در این رابطه FW: وزن تر برگ، DW: وزن خشک برگ و SW: وزن اشباع برگ می‌باشند.

جهت اندازه‌گیری نشت الکتروولت، از برگ‌های جوان توسعه‌یافته نمونه‌هایی به شکل دیسک دایره‌ای به اندازه یکسان تهیه شد. سپس نمونه‌ها در ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر و در دمای اتاق و جای تاریک قرار داده شد و بعد از گذشت ۲۴ ساعت هدایت الکتریکی هر نمونه با استفاده از EC متر اندازه‌گیری می‌شود (EC1). به منظور اندازه‌گیری میزان کل نشت الکتروولت در اثر مرگ سلول‌ها، لوله‌های آزمایش در حمام آبجوش با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ دقیقه قرار گرفته و پس از سرد شدن در دمای اتاق بعد از ۲۴ ساعت مجدداً هدایت الکتریکی نمونه‌ها اندازه‌گیری شد (EC2) (McKay, 1992).

$$\text{رابطه ۲) } (EC1/EC2) \times 100 = \text{درصد نشت الکتروولت}$$

رنگی‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل کل با روش Arnon (۱۹۴۹) و در سه طول موج ۴۷۰، ۶۴۶ و ۶۶۳ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر محاسبه شد. محتوای پرولین برگ نمونه‌ها با استفاده از روش Paquin و Le chasseur (۱۹۷۹) اندازه‌گیری شد و میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۵ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر قرائت گردید. جهت اندازه‌گیری کادمیوم در ریشه و اندام هوایی، نمونه‌های اندام هوایی و ریشه در پاکت‌های کاغذی به مدت ۲۴ ساعت درون آون با دمای ۷۵ درجه سلیوس خشک شده سپس به وسیله هاون‌های چینی پودر و از الک با مش ۲ میلی‌متری عبور داده شدند. یک گرم پودر از هر نمونه وزن و در کروسبیل ریخته و به کوره با حرارت ۲۵۰ درجه سلیوس انتقال یافت. پس از گذشت چند دقیقه به منظور خاکستر شدن نمونه‌ها حرارت کوره به ۵۵۰ درجه سلیوس افزایش یافت. پس از خنک شدن، ۵ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۲ نرمال به ازای هر گرم پودر گیاهی به نمونه‌ها اضافه و با میله شیشه‌ای حل شد. محتویات کروسبیل به ظرف‌های ۵۰ میلی‌لیتری انتقال یافت و به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد پس از تهیه عصاره گیاهی میزان کادمیوم به کمک دستگاه جذب اتمی مدل Hitachi Z 2300 اندازه‌گیری شد.

### نمونه‌گیری برای وزن خشک اندام هوایی

تعداد پنج بوته موجود در گلدان مختص به صفات مورفولوژیک جدا گردید و پس از شستشو با آب مقطر و خشک شدن در آون در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت، با ترازو وزن شدند و میانگین آن‌ها یادداشت گردید.

این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.

## مجله فرایند و کارکرد گیاهی

فاکتور انتقال کادمیوم از ریشه به اندام هوایی از رابطه ۳ محاسبه گردید (Jolly *et al.*, 2013):

رابطه (۳) غلظت کادمیوم در ریشه / غلظت کادمیوم در اندام هوایی = فاکتور انتقال از ریشه به اندام هوایی

شاخص تحمل به کادمیوم از رابطه ۴ محاسبه گردید (Lasat, 2002):

رابطه (۴) وزن خشک گیاه در خاک غیر آلوده / وزن خشک گیاه در خاک آلوده = شاخص تحمل

محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار SAS نسخه ۹/۱ و مقایسه میانگین ها به روش LSD در سطح احتمال خطای پنج درصد انجام گرفت.

### نتایج و بحث:

#### درصد کلونیزاسیون ریشه

بر اساس اطلاعات به دست آمده از جدول تجزیه واریانس (جدول ۲)، اثر کادمیوم و کودهای زیستی و برهم کنش آن ها بر درصد کلونیزاسیون ریشه در سطح احتمال خطای یک درصد معنی دار شد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین حاکی از آن است که با کاربرد کادمیوم ابتدا درصد کلونیزاسیون ریشه در سطح کاربرد ۲۵ میلی گرم کادمیوم در هر کیلوگرم خاک نسبت به تیمار عدم کاربرد کادمیوم افزایش یافت و سپس در سطوح کاربرد ۵۰ و ۷۵ میلی گرم کادمیوم در هر کیلوگرم خاک درصد کلونیزاسیون ریشه کاهش یافت.

در هر چهار سطح کادمیوم کاربرد کودهای زیستی درصد کلونیزاسیون ریشه را نسبت به تیمار شاهد (عدم کاربرد کودهای زیستی) افزایش دادند و بیشترین این صفت از سطح ۲۵ میلی گرم کادمیوم در هر کیلوگرم خاک و تیمار کاربرد تلفیقی کودهای زیستی (مایکوریزا+باکتری) با میانگین ۷۸ درصد و کمترین آن نیز با میانگین ۰/۶۶ درصد از سطح ۷۵ میلی گرم کادمیوم در هر کیلوگرم خاک و عدم کاربرد کودهای زیستی حاصل شد (شکل ۲).

افزایش درصد کلونیزاسیون ریشه با افزایش غلظت کادمیوم بیانگر افزایش وابستگی و ترجیح گیاه جهت برقراری همزیستی در شرایط تنش فلزی می باشد (Audet and Charest, 2006). در پژوهشی گزارش شده است در چهار گونه گیاه (*Hordeum vulgare*, *Linum usitatissimum*, *Sorghum bicolor* و *Matricaria recutita*) تلقیح شده با قارچ مایکوریزا آربوسکولار کلونیزاسیون ریشه با افزایش سطح کادمیوم تا غلظت مشخصی، افزایش و سپس کاهش یافت (Rask *et al.*, 2019). به عبارت بهتر، همزیستی تا آستانه مشخصی از غلظت کادمیوم توسط قارچ مایکوریزا آربوسکولار گسترش می یابد و بعد از آن محدود می شود. زیرا همزیستی با قارچ مایکوریزا آربوسکولار وابسته به فتوسنتز گیاه است و کاهش درصد کلونیزاسیون ریشه در اثر فلزات سنگین می تواند به علت ممانعت از رشد و گسترش هیف در خاک باشد. کاهش درصد کلونیزاسیون، کاهش در تراکم اسپورها و حتی حذف کلونیزاسیون در اثر تجمع برخی فلزات سنگین می باشد (Lenoir *et al.*, 2016). در نتیجه، در بالاترین غلظت کادمیوم، از یک طرف به دلیل کاهش سهم فتوسنتزی قارچ و از طرف دیگر برای حفاظت گیاه میزبان از غلظت بالای کادمیوم، کلونیزاسیون ریشه کاهش می یابد. گسترش همزیستی تابع شرایط گیاه میزبان می باشد و در شرایط نامساعد برای گیاه، کلونیزاسیون کاهش می یابد (Zhang *et al.*, 2015).

کلونیزاسیون ریشه یکی از مهم ترین شاخص های همزیستی گیاهان زراعی با قارچ های مایکوریزا آربوسکولار است. همزیستی مایکوریزایی می تواند با توسعه سامانه ریشه ای گیاه و افزایش مقدار و کیفیت ترشحات ریشه ای سبب بهبود

این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.

## مجله فرایند و کارکرد گیاهی

وضعیت جذب آب و عناصر غذایی به ویژه فسفر در گیاه شود که در نتیجه درصد کلونیزاسیون ریشه افزایش می یابد (محمدی فرد و مقدم، ۱۳۹۹).

باکتری های محرک رشد از طریق سازوکارهایی شامل تولید فاکتورهای رشدی، ممکن است موجب افزایش جوانه زنی اسپور قارچی، رشد میسیلیومی، انشعابات و درصد کلونیزاسیون ریشه شوند (Frey- Klett et al., 2007). افزایش پذیرش مایکوریزا توسط سلول های ریشه های کلونیزه شده با باکتری، افزایش طول لوله تندش اسپورهای جوانه زده، جهت دهی به حرکت لوله تندش به سمت ریشه های کلونیزه شده با باکتری بر اساس مواد مترشحه از ریشه انجام می پذیرد و کاربرد همزمان قارچ مایکوریزا آربوسکولار و باکتری های محرک رشد گیاه، یکی از استراتژی های مؤثر بر افزایش اثرات هر دو عامل است (Cavender et al., 2003). محققین در بررسی خصوصیات ریشه و شاخص کلونی زایی لوبیا چشم بلبلی و ذرت با کاربرد قارچ مایکوریزا مشاهده نمودند که بیشترین طول ریشه لوبیا، شمار گره در ریشه لوبیا و شاخص کلونی زایی ریشه لوبیا در تیمار کشت مخلوط همزمان با قارچ آربوسکولار مایکوریزا و باکتری مزوریویوم بود (مرزبان و همکاران، ۱۳۹۳).

جدول ۱- نتایج حاصل از تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر کادمیوم و کود زیستی بر برخی از صفات مورد بررسی در گاو زبان اروپایی

منابع تغییرات	درجه آزادی	کلونیزاسیون ریشه	کادمیوم ریشه	کادمیوم اندام هوایی	فاکتور انتقال کادمیوم	محتوای کلروفیل کل برگ	محتوای نسبی آب برگ	نشت الکترولیت	محتوای پرولین برگ	وزن خشک اندام هوایی
تکرار	۲	۲۰/۲۵	۲۵۹/۵۰	۷۱/۴۸	۰/۰۰۳	۰/۰۰۰۲	۱۴/۵۰	۱/۵۰	۰/۴۷	۰/۰۸
کادمیوم	۳	۲۳۳۷/۲۵**	۹۵۷۱۴/۴۰**	۸۳۸۲۶/۸۶**	۱/۳۷**	۰/۰۴**	۲۶۰۴۳۹**	۲۰۴۴/۵۳**	۴۰/۲۰**	۱۲/۹۱**
کود زیستی	۳	۶۴۱۷/۱۳**	۱۰۱۵۷/۱۱**	۸۳۴۹/۰۸**	۰/۰۹**	۰/۰۵**	۵۷۴/۲۱**	۵۱۸/۷۹**	۱۲/۱۳**	۱/۶۹**
کادمیوم×کود زیستی	۹	۲۲۱/۶۳**	۱۹۴۳/۲۳**	۱۴۷۷/۷۹**	۰/۰۳**	۰/۰۰۰۲ <sup>NS</sup>	۴۲/۰۹**	۴۶/۵۶**	۱/۰۹**	۰/۱۸**
خطا	۳۰	۱۴/۰۹	۲۰۳/۸۱	۱۲۳/۴۲	۰/۰۱	۰/۰۰۰۱	۱۰/۹۶	۱۲/۹۶	۰/۰۴	۰/۰۴
ضریب تغییرات (درصد)	-	۱۰/۱۸	۱۲/۶۷	۱۳/۲۹	۱۸/۳۵	۳/۳۲	۴/۳۱	۸/۰۹	۳/۸۸	۱۲/۳۳

NS، \* و \*\* به ترتیب عدم وجود اختلاف معنی دار، معنی داری در سطح احتمال خطای ۵ درصد و ۱ درصد را نشان می دهد.

### محتوای کادمیوم در ریشه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده ها نشان داد که برهم کنش کادمیوم با کود زیستی در سطح احتمال خطای یک درصد بر محتوای کادمیوم ریشه در گاو زبان اروپایی معنی دار گردید (جدول ۲). نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده ها بیانگر افزایش محتوای کادمیوم ریشه با افزایش سطوح کادمیوم در گاو زبان می باشد و کاربرد کودهای زیستی به خصوص به صورت تلفیقی موجب کاهش محتوای کادمیوم ریشه گردید. تیمار کاربرد ۷۵ میلی گرم کادمیوم در هر کیلوگرم خاک + عدم کاربرد کودهای زیستی با میانگین ۳۰۹ میلی گرم بر گرم از بیشترین محتوای کادمیوم ریشه و تیمار عدم کاربرد کادمیوم + کاربرد تلفیقی کودهای زیستی با میانگین ۱/۶۷ میلی گرم بر گرم از کمترین محتوای کادمیوم برخوردار بود (شکل ۳).

این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.

### محتوای کادمیوم در اندام هوایی

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد برهم‌کنش کادمیوم و کودهای زیستی بر محتوای کادمیوم در اندام هوایی در سطح احتمال خطای یک درصد معنی‌دار شد. بیشترین محتوای کادمیوم اندام هوایی (۲۷۵/۰۰ میلی‌گرم بر گرم) از تیمار کاربرد ۷۵ میلی‌گرم کادمیوم در هر کیلوگرم خاک + عدم کاربرد کودهای زیستی به دست آمد که با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری نشان داد. در سطوح عدم کاربرد کادمیوم و عدم کاربرد کودهای زیستی هیچگونه کادمیومی در اندام هوایی مشاهده نشد (شکل ۴). پتانسیل سمیت فلزات سنگین در محیط، بستگی به غلظت آن‌ها در محلول خاک دارد. هرچه غلظت فلز در فاز محلول بیشتر باشد جذب آن توسط گیاه بیشتر خواهد بود. تجمع کادمیوم به میزان زیاد در ریشه‌ها می‌تواند یک نکته مثبت تلقی شود، چون این امر احتمالاً مانعی برای بخش‌هایی از گیاه است که انتقال بیشتر آن به اندام‌های هوایی و استفاده غذایی دارد. به احتمال زیاد یکی از مهم‌ترین دلایل تجمع بیشتر کادمیوم در ریشه گیاهان مورد بررسی در این پژوهش در مقایسه با اندام هوایی گاوزبان، ورود این عنصر در فضای آپوپلاستی ریشه است که به راحتی به همراه محلول غذایی و بدون مواجه شدن با سد حلقه کاسپاری تا نزدیکی لایه آندودرم در عمق بافت ریشه نفوذ می‌کند و با شستشوی سطحی نیز برطرف نمی‌شود (اصغری و همکاران، ۱۳۹۹).

خوشبختانه ریشه گیاه گاوزبان مورد استفاده قرار نمی‌گیرد و توانایی این گیاه در کنترل ورود مقادیر زیادی از کادمیوم از طریق ریشه به اندام هوایی می‌تواند به‌عنوان نکته مثبت عملکرد این گیاه در شرایط آلوده تلقی شود. هر چند که مقادیر انتقال یافته به بخش هوایی در این گیاه نیز قابل توجه بوده و مضرات زیادی دارد. در گیاهان اصولاً انتقال یون‌ها از طریق غشای سلولی توسط پروتئین‌هایی به نام حمل‌کننده‌های یونی میانجی‌گری می‌شود که انتقال‌دهنده یک یون خاص بوده و به‌صورت اختصاصی عمل می‌کنند. قسمت اعظم این یون‌ها به‌طور فیزیکی جذب دیواره سلولی می‌شوند (آقائی و همکاران، ۱۳۹۸). یکی دیگر از دلایل افزایش میزان کادمیوم در ریشه گیاهان مورد تحقیق ممکن است تجمع آن‌ها در واکوئل‌ها باشد. تجمع این عناصر در واکوئل‌های سلولی مانع انتقال آن‌ها به قسمت‌های هوایی شده و به‌همین دلیل مقدار این عنصر در ریشه بیشتر از اندام هوایی است.

در بیشتر گیاهان میزان انباشت کادمیوم در ریشه بیشتر از اندام‌های هوایی است. برخی از پژوهشگران معتقدند که به دلیل سمیت کادمیوم برای سیتوسول در فرم آزاد، سلول‌های گیاهی تلاش می‌کنند با استفاده از راهکارهایی نظیر اتصال آن به دیواره سلولی، ذخیره نمودن در واکوئل و کلاته نمودن توسط فیتوکلاتین این عنصر را در ریشه تثبیت نموده و بدین شکل از سمیت آن بکاهند. برآیند این عمل انتقال کم کادمیوم به بخش‌های فوقانی خواهد بود (Gong et al., 2003).

در پژوهش روی گیاه گندم مشخص شد در مقادیر کم کادمیوم میزان این عنصر در ریشه بیشتر از اندام‌های هوایی بود. اما با بیشتر شدن میزان این عنصر در محیط مقدار بیشتری از کادمیوم به اندام‌های هوایی انتقال یافته و میزان بیشتری از این عنصر در بخش‌های فوقانی گیاهچه‌های گندم تجمع یافت که حکایت از عدم توانایی گیاهچه‌های گندم در ممانعت از انتقال به اندام‌های فوقانی داشت (صارمی‌راد و همکاران، ۱۳۹۳). قارچ‌های میکوریزا می‌توانند اثرات منفی ناشی از سمیت فلزات سنگین را از طریق افزایش جذب عناصر غذایی (به ویژه فسفر) و توسعه رشد گیاه، جای گذاری فلزات سنگین در داخل میسلیوم برون ریشه‌ای و یا اتصال آن‌ها را به گلومالین تولید شده توسط قارچ‌های میکوریزا تعدیل نمایند (محمدی‌فرد و

این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.



مقدم، ۱۳۹۹). به علاوه، این قارچ‌ها بر جذب و میزان تجمع کادمیم در اندام‌های مختلف گیاهی تأثیرگذار می‌باشند. هرچند اثرات آن‌ها ممکن است بسته به غلظت کادمیم موجود در خاک، نوع گونه گیاهی و قارچ همزیست متفاوت باشد. تحقیقات نشان داده است که همزیستی مایکوریزایی می‌تواند باعث کاهش غلظت فلزات سنگین در اندام هوایی گیاهان شود (Hu *et al.*, 2014).

در مطالعه رستمی و همکاران (۱۳۹۸) در اثر تلقیح با قارچ مایکوریزا صرف نظر از سطح کادمیم، غلظت کادمیم در ریشه گیاهان تلقیح شده آفتابگردان و گلرنگ در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده به ترتیب ۳۱ و ۱۲ درصد کاهش ولی در اندام هوایی آن‌ها به ترتیب ۶۸ و ۶ درصد افزایش یافت. طی تحقیقی پژوهشگران نشان دادند که بذر برنج تلقیح شده با جدایه‌های باکتریایی متحمل کادمیم باعث کاهش جذب کادمیم در اندام هوایی گیاه شد (Jan *et al.*, 2019). در پژوهشی دیگر گیاه کلزا را با ۴ نوع باکتری مقاوم به کادمیم که قابلیت تولید اکسین یا سیدروفور داشتند، تلقیح کرده و مشاهده کردند که باکتری‌ها گیاه را در برابر اثرات بازدارندگی کادمیم محافظت نمودند (Dell'Amico *et al.*, 2008).

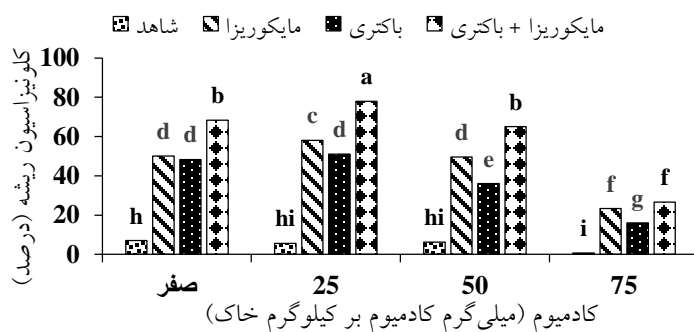
### فاکتور انتقال کادمیم

برهم‌کنش کادمیم و کودهای زیستی بر فاکتور انتقال کادمیم در سطح احتمال خطای یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). نتایج شکل ۵ نشان از افزایش فاکتور انتقال کادمیم از ریشه به اندام هوایی در اثر افزایش غلظت کادمیم دارد. بیشترین فاکتور انتقال کادمیم از ریشه به اندام هوایی با میانگین  $0/89$  از تیمارهای ۷۵ میلی‌گرم کادمیم در هر کیلوگرم خاک + عدم کاربرد کودهای زیستی و ۷۵ میلی‌گرم کادمیم در هر کیلوگرم خاک + کاربرد تلفیقی کودهای زیستی به دست آمد که با تیمارهای ۷۵ میلی‌گرم کادمیم در هر کیلوگرم خاک + کاربرد مایکوریزا و باکتری به‌تنهایی و همچنین ۵۰ میلی‌گرم کادمیم در هر کیلوگرم خاک + کاربرد مایکوریزا اختلاف معنی‌داری نشان ندادند. در تیمار عدم کاربرد کادمیم نیز فقط در شرایط عدم کاربرد کودهای زیستی فاکتور انتقال کادمیم مشاهده شد و در تیمار عدم کاربرد کادمیم به‌همراه کاربرد کودهای زیستی به‌تنهایی و تلفیقی هیچگونه کادمیمی از ریشه به اندام هوایی انتقال نیافت (شکل ۵). گزارش شده است که با افزایش سطح کادمیم در خاک، غلظت این عنصر سمی در اندام‌های گیاهی (اندام هوایی و ریشه) به طور معنی‌داری افزایش یافت (Motesarezadeh *et al.*, 2010). بر این اساس کادمیم توانایی قابل ملاحظه‌ای در انتقال از ریشه به اندام هوایی نشان داد. به‌طور کلی گونه‌های گیاهی حذف‌کننده (Excluders) فاکتور انتقال کمتر از یک داشته در حالی که گیاهان انباشتگر (Accumulators) و بیش انباشت‌گر (Hyperaccumulators) دارای فاکتور انتقال بیشتر از یک هستند (Gomes *et al.*, 2013). پس با توجه به نمودار فاکتور انتقال کادمیم از ریشه به اندام هوایی گاو زبان مشخص شد که این گیاه، یک گیاه حذف‌کننده است. فاکتور انتقال شاخصی است که تحت تأثیر محتوای کادمیم ریشه و اندام هوایی تغییر می‌کند. به‌گونه‌ای که این شاخص با محتوای کادمیم ریشه رابطه مستقیم و با محتوای کادمیم اندام هوایی رابطه عکس دارد. فاکتور انتقال کمتر از یک و کاهش آن با افزایش غلظت کادمیم در مقایسه با شاهد، نشان می‌دهد ساز و کار تجمع کادمیم بیشتر در ریشه‌ها نسبت به انتقال آن به شاخساره‌ها اتفاق افتاده است. غیرپویایی فلزهای سمی توسط تراوش‌های رایزوسفری، رسوب در گرانول‌های پلی‌فسفات، واکوئل‌ها و وزیکول‌ها، جذب سطحی در دیواره یاخته‌ای اندام‌های قارچی از طریق حضور کیتین، ملانین و یا کی‌لیت کردن در اندام‌های قارچی توسط گلو مالین، صورت می‌گیرد (Jan *et al.*, 2019). پس به نظر می‌رسد در بالاترین

این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.

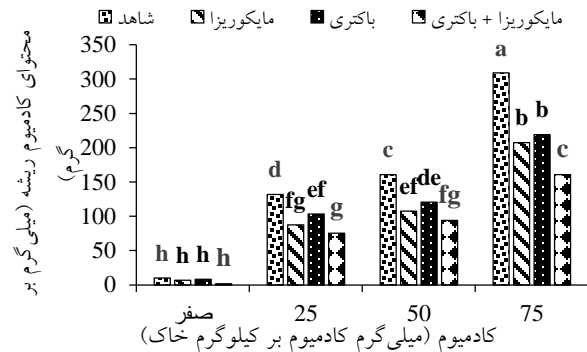
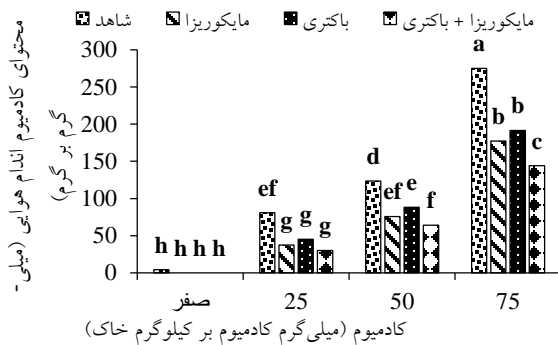
## مجله فرایند و کارکرد گیاهی

سطح کادمیوم (۷۵ میلی گرم کادمیوم در هر کیلوگرم خاک) مایکوریزا با جذب بیشتر در اندام‌ها قارچی خود موجب کاهش فاکتور انتقال کادمیوم از ریشه به اندام هوایی شده است.



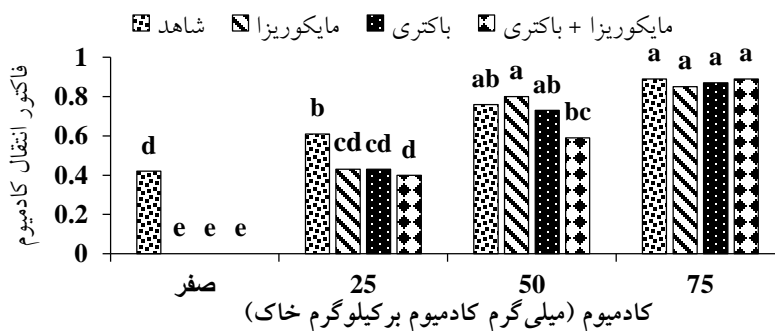
شکل ۲- مقایسه میانگین برهمکنش کادمیوم و کود زیستی برای کلونیزاسیون ریشه. میانگین‌ها با حداقل یک حرف مشترک نشان‌دهنده عدم تفاوت آماری براساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.

این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.



شکل ۴- مقایسه میانگین برهم کنش کادمیوم و کودزیستی بر محتوای کادمیوم اندام هوایی. میانگین‌ها با حداقل یک حرف مشترک نشان‌دهنده عدم تفاوت آماری براساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.

شکل ۳- مقایسه میانگین برهم کنش کادمیوم و کودزیستی بر محتوای کادمیوم ریشه. میانگین‌ها با حداقل یک حرف مشترک نشان‌دهنده عدم تفاوت آماری براساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.



شکل ۵- مقایسه میانگین برهم کنش کادمیوم و کود زیستی برای فاکتور انتقال کادمیوم. میانگین‌ها با حداقل یک حرف مشترک نشان‌دهنده عدم تفاوت آماری براساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.

#### محتوای کلروفیل کل برگ

اطلاعات به دست آمده از جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) بیانگر معنی دار بودن اثر کادمیوم و کودهای زیستی در سطح احتمال خطای یک درصد و غیر معنی دار بودن برهم کنش این دو فاکتور بر محتوای کلروفیل کل برگ بود. مقایسه میانگین اثر اصلی کادمیوم (جدول ۳) حاکی از کاهش محتوای کلروفیل کل برگ با افزایش شدت تنش بود به طوری که کمترین میزان این صفت (۰/۳۴ میلی گرم بر گرم بافت تر برگ) از تیمار کاربرد ۷۵ میلی گرم کادمیوم در هر کیلوگرم خاک و بیشترین میزان (۰/۴۸ میلی گرم بر گرم بافت تر برگ)، از عدم کاربرد کودهای زیستی به دست آمد که با یکدیگر اختلاف ۱۱/۴۴ درصدی نشان دادند. مقایسه میانگین اثر اصلی کودهای زیستی (جدول ۳) نشان داد بین سطوح کود زیستی بیشترین محتوای کلروفیل کل برگ (۰/۴۸ میلی گرم بر گرم بافت تر برگ) از تیمار کاربرد تلفیقی کود زیستی (مایکوریزا+باکتری) به دست آمد که تفاوت معنی داری با سایر تیمارها داشت و کمترین میزان نیز (۰/۳۲ درصد) از تیمار عدم کاربرد کود زیستی به دست آمد. عناصر سنگین و به ویژه کادمیوم با تأثیر بر میزان فتوسنتز و کاهش میزان کلروفیل در گیاه باعث کاهش عملکرد گیاه شده و اثرات منفی و مخرب را در گیاه بجای می‌گذارند. فتوسنتز به کادمیوم حساس بوده و کادمیوم، کلروفیل و آنزیم‌های دخیل

در تثبیت CO<sub>2</sub> را تحت تأثیر قرار می دهد (Chaffei et al., 2003). تحت تأثیر کادمیوم مقدار کلروفیل کل در گیاه کاهش می یابد و اولین نشانه واضح سمیت کادمیوم در گیاهان کلروز برگ هاست. همچنین غلظت های بالای کادمیوم در بافت برگ به طور غیرمستقیم از طریق اختلال در فرایند متابولیک گیاه و پیری زودرس بر روی محتوای کلروفیل تأثیر می گذارد (Baryla et al., 2001). کاهش رنگیزه های فتوسنتزی گیاهان تحت تنش کادمیوم را می توان به اثر بازدارندگی این فلز سنگین بر جذب منیزیم، منگنز، کلسیم و آهن در اثر تجمع کادمیوم در بافت های گیاهی و همچنین مهار آنزیم های گروه سولفیدریل دخیل در مسیر بیوسنتز رنگیزه ها نسبت داد (شیخزاده و همکاران، ۱۴۰۱). کادمیوم از طریق جایگزینی با اتم منیزیم مرکزی، مولکول کلروفیل را غیرفعال می کند. علاوه بر این کادمیوم آنزیم کلروفیلاز را که آنزیم تجزیه کننده کلروفیل است فعال می کند و سنتز آنزیم های بیوسنتز کلروفیل از جمله ۵-آمینولاولینیک اسید و ترکیب پروتوکلروفیلاید ردوکتاز را کاهش می دهد. همچنین، تنش کادمیوم با افزایش میزان گونه های فعال اکسیژن در گیاهان موجب کاهش رنگدانه های فتوسنتزی می شود. گونه های فعال اکسیژن به عنوان عامل مخرب رنگدانه ها و دیگر ماکرومولکول های زیستی در گیاهان عمل می کنند (Ali et al., 2018). نتایج پژوهشی روی گیاه دارویی ماریتغال (*Silybum marianum*) نشان داد کادمیوم در غلظت ۳۰۰ میکرومولار، اثر چندانی بر کلروفیل a و کلروفیل کل و کاروتنوئید نداشته، اما توانسته است میزان کلروفیل b را همچون غلظت ۶۰۰ و ۹۰۰ میکرومولار کاهش دهد (پورتبیزی و همکاران، ۱۳۹۷). در شرایطی که گیاهان در معرض تنش کادمیوم قرار می گیرند در صورت بالا بودن میزان کلروفیل در گیاهان همزیست با قارچ مایکوریزا در مقایسه با گیاهان شاهد، می توان به این نتیجه رسید که احتمالاً به علت وجود رابطه مثبت بین غلظت فسفر و مقدار کلروفیل کل در گیاهان مایکوریزایی نقش قارچ مایکوریزا در فراهم نمودن فسفر مورد نیاز گیاه به عنوان عامل انرژی در طی فتوسنتز تأیید می شود (Demir, 2004). یکی از فاکتورهای مهم حفظ ظرفیت فتوسنتزی در گیاهان، غلظت کلروفیل می باشد. به واسطه شرکت نیتروژن در ساختار کلروفیل، ارتباط مثبت و معنی داری بین نیتروژن برگ و مقدار کلروفیل وجود دارد و کودهای به کار رفته در این تحقیق به شکل های مختلف با افزایش نیتروژن در دسترس گیاه، باعث افزایش کلروفیل شده اند.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر سطوح کادمیوم و کودهای زیستی برای محتوای کلروفیل کل برگ

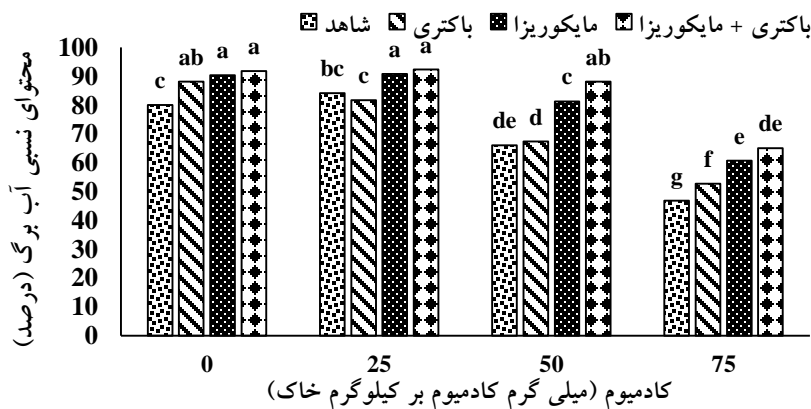
کادمیوم (میلی گرم کادمیوم بر کیلوگرم خاک)	محتوای کلروفیل کل برگ (میلی گرم بر گرم بافت تر برگ)
صفر	۰/۴۸ <sup>a</sup>
۲۵	۰/۴۲ <sup>b</sup>
۵۰	۰/۳۸ <sup>c</sup>
۷۵	۰/۳۴ <sup>d</sup>
کودهای زیستی	
شاهد	۰/۳۲ <sup>d</sup>
مایکوریزا	۰/۳۹ <sup>c</sup>
باکتری	۰/۴۳ <sup>b</sup>
مایکوریزا + باکتری	۰/۴۸ <sup>a</sup>

میانگین ها با حداقل یک حرف مشترک نشان دهنده عدم تفاوت آماری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد می باشد.

## محتوای نسبی آب برگ

اطلاعات به دست آمده از جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) بیانگر معنی دار بودن اثر کادمیوم و کودهای زیستی در سطح احتمال خطای یک درصد بر محتوای نسبی آب برگ گاوزبان بود. افزایش غلظت کادمیوم در خاک سبب کاهش معنی دار محتوای نسبی آب برگ گاوزبان اروپایی شد. تیمار عدم کاربرد کادمیوم+کاربرد تلفیقی کودهای زیستی از بیشترین محتوای نسبی آب برگ (۹۶/۴۶ درصد) و کاربرد ۷۵ میلی گرم کادمیوم در هر کیلوگرم خاک+عدم کاربرد کودهای زیستی از کمترین محتوای نسبی آب برگ (۵۹/۸۲ درصد) برخوردار بودند (شکل ۶).

محتوای نسبی آب برگ، شاخص مطلوبی برای بیان میزان وضعیت آب در گیاهان است و وضعیت مناسبی از تعادل بین میزان عرضه نسبی آب برگ و میزان تعرق در برگ را نشان می دهد. محتوای نسبی آب برگ، یکی از ویژگی های مؤثر در تداوم رشد گیاهان تحت شرایط تنش است و مقدار بالاتر آن، می تواند عامل استمرار رشد در شرایط تنش باشد. بنابراین چنانچه محتوای نسبی آب برگ زیاد باشد گیاه آماس سلولی خود را حفظ کرده و رشد آن تداوم می یابد (Gomes et al., 2013). مشخص شده است با افزایش کادمیوم میزان محتوای نسبی آب بافت کاهش می یابد. در سلول های برگ سمیت فلزات سنگین می تواند نفوذپذیری غشا پلاسمایی را تحت تأثیر قرار دهد که سبب کاهش در محتوای آب بافت می شود. به ویژه در مورد کادمیوم که تأثیر آن در برهم کنش با تعادل آبی گزارش شده است (نورائی و کفیل راده، ۱۳۹۰). در مطالعه مشخص شد محتوای نسبی آب برگ گیاه تاتوره در سطوح ۱۵۰ و ۲۲۵ میلی گرم بر لیتر کادمیوم اختلاف معنی داری با نمونه شاهد نشان داد و با افزایش غلظت کادمیوم محتوای نسبی آب برگ کاهش یافت (شیرخانی و همکاران، ۱۳۹۸). مطالعات نشان داده است که قارچ های میکوریزا باعث کاهش تولید اتیلن شده و با توسعه سامانه ریشه ای گیاه، باعث بهبود جذب آب و ظرفیت نگهداری آب در خاک های آلوده به فلزات سنگین می شوند (محمدی فرد و مقدم، ۱۳۹۹) که در نتیجه موجب بهبود محتوای نسبی آب برگ می شوند.



شکل ۶- مقایسه میانگین برهم کنش کادمیوم و کود زیستی برای محتوای نسبی آب برگ. میانگین ها با حداقل یک حرف مشترک نشان دهنده عدم تفاوت آماری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد می باشد.

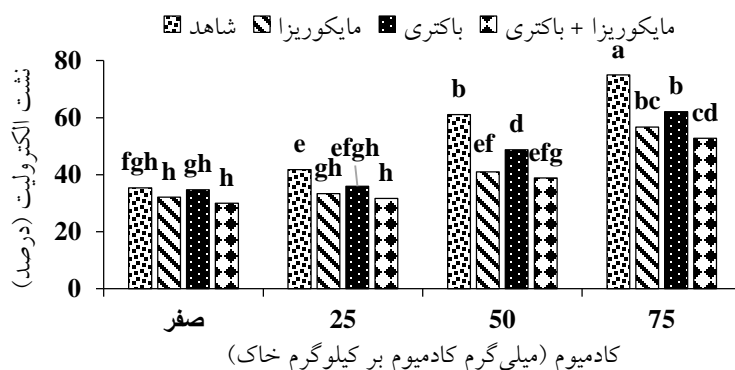
## نشت الکترولیت

برهم کنش کادمیوم و کودهای زیستی بر نشت الکترولیت گاوزبان اروپایی در سطح احتمال خطای یک درصد معنی دار گردید (جدول ۲). با افزایش سطح کادمیوم خاک، نشت الکترولیت به طور معنی داری افزایش یافت. با مشاهده نتایج مقایسه میانگین (شکل ۷) بیشترین میزان نشت الکترولیت (۷۴/۹۶ درصد) مربوط به تیمار آلودگی با ۷۵ میلی گرم کادمیوم در هر کیلوگرم

خاک+شاهد بود. در حالی که کمترین مقدار (۲۹/۹۹ درصد) آن در عدم آلودگی و کاربرد تلفیقی کودهای زیستی مشاهده شد، کودهای زیستی توانستند تأثیری مثبت در بهبود این صفت در سطوح بالای تنش داشته باشند.

یکی دیگر از آسیب‌های که فلزات سنگین به گیاه وارد می‌کند را می‌توان تخریب ساختار غشاء به علت پراکسیداسیون لیپیدی نام برد. غلظت بالای کادمیوم منجر به تخریب غشای سلول گیاهان می‌شود، که افزایش نشت یونی را به دنبال خواهد داشت (Kaur and Jhanji, 2016). همین امر می‌تواند دلیلی بر کاهش شاخص پایداری غشاء در این تحقیق باشد. نتایج نشان می‌دهد که نشت یون‌ها همراه با افزایش غلظت کادمیوم افزایش می‌یابد که این نشانگر آن است که ساختار و عملکرد غشای پلاسمایی سریعاً توسط فلزات سنگین تحت تأثیر قرار می‌گیرد. به هر حال چنین آسیبی ناشی از مکانیسم‌های مختلف شامل اکسیداسیون توسط گونه‌های فعال شده اکسیژن و یا تغییرات در نفوذپذیری است که ممکن است در مهار فعالیت  $H^+$ -ATPase غشای پلاسمایی شرکت کند که احتمالاً آن هم تغییر در ترکیب و سیالیت چربی‌ها را در پی دارد (Hatata *et al.*, 2008).

در پژوهشی که روی گیاه گشنیز صورت گرفت، نتایج حاکی از این بود که همزیستی با قارچ میکوریزا در شرایط تنش کادمیوم باعث بهبود پایداری غشاء در این گیاه شد (محمدی فر و مقدم، ۱۳۹۹) که نتایج پژوهش حاضر با آن مطابقت دارد. به بیان آن‌ها قارچ‌های میکوریزا از طریق کلات کردن فلزات سنگین در میسلیم‌های خارجی باعث افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش فلزات سنگین و کاهش درصد نشت الکترولیت می‌شوند. پژوهش حاضر نشان داد که تلقیح با قارچ میکوریزا یا باکتری از طریق بهبود خصوصیات فیزیولوژیک، سبب کاهش نشت الکترولیت برگ شد. ریزجانداران از طریق جذب عناصر غذایی و حفظ تثبیت دی‌اکسیدکربن (کنترل هدایت روزنه‌ای) سبب پایداری غشای سلول در شرایط تنش (Han and Lee, 2005) شده، بنابراین سبب کاهش نشت الکترولیت در گاوزبان می‌گردد. گزارش شده که قارچ میکوریزا آربوسکولار با بهبود جذب عناصر غذایی، دسترسی بهتر و سریع‌تر به رطوبت و تنظیم اسمزی تا حدودی از عوارض تنش خشکی می‌کاهد (Wu *et al.*, 2015). از سوی دیگر محققان گزارش کردند که استفاده از قارچ میکوریزا با جذب عناصر غذایی و افزایش ظرفیت تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سبب افزایش پایداری و کاهش نفوذپذیری غشای پلاسمایی گیاهان میزبان می‌شود (Dar *et al.*, 2018).



شکل ۷- مقایسه میانگین برهم کنش کادمیوم و کود زیستی برای نشت الکترولیت برگ. میانگین‌ها با حداقل یک حرف مشترک نشان‌دهنده عدم تفاوت آماری براساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.

## محتوای پرولین برگ

اطلاعات حاصل از جدول تجزیه واریانس (جدول ۲)، حاکی از تأثیر معنی‌دار کادمیوم و کودهای زیستی و برهم‌کنش این دو فاکتور در سطح احتمال خطای یک درصد بر محتوای پرولین برگ گاوزبان اروپایی بود. مقایسه میانگین برهم‌کنش فاکتورهای مورد مطالعه (شکل ۸) نشان داد که با افزایش سطوح تنش کادمیوم، محتوای پرولین برگ به طور معنی‌داری افزایش یافت. کاربرد تلفیقی کودهای زیستی نیز در مقایسه با شاهد (بدون کود زیستی) تأثیر معنی‌داری در افزایش این صفت نشان داد. از تیمار کاربرد ۷۵ میلی‌گرم کادمیوم در هر کیلوگرم خاک + کاربرد تلفیقی کودهای زیستی بیشترین محتوای پرولین برگ (۹/۹۴ میکرومول بر گرم بافت تر برگ) و از تیمار عدم کاربرد کادمیوم + عدم کاربرد کودهای زیستی کمترین آن (۳/۱۰ میکرومول بر گرم بافت تر برگ) حاصل گردید که بین آن‌ها اختلاف ۶۸/۸۱ درصدی وجود داشت (شکل ۸).

تولید پرولین یکی از سازوکارهای مهم سمیت‌زدایی فلزات سنگین سمی در بیشتر گیاهان است و تجمع پرولین در گیاهچه‌های قرار گرفته در معرض تنش فلزات سنگی از جمله کادمیوم موجب کاهش آسیب به غشا و پروتئین‌ها می‌شود. زمانی که گیاهان در معرض تنش‌های غیرزیستی قرار می‌گیرند، میزان پرولین آن‌ها افزایش می‌یابد تا ساختارهای سلولی و آنزیمی را در برابر فاکتورهای تنش‌زا حفاظت نماید (Abraham et al., 2003). نتایج نشان داده است که ارتباط مثبتی بین تجمع پرولین و مقدار پاداکساینده بافت وجود دارد؛ به‌طوری‌که مقدار رادیکال آزاد در نتیجه تنش‌های مختلف افزایش می‌یابد و باعث تجمع پرولین در بافت گیاهی می‌شود (Zhang et al., 2009). در آزمایشی بر گیاه گاوزبان اروپایی مشخص گردید تحت تنش کادمیوم مقدار پرولین گیاهچه‌ها با افزایش غلظت کادمیوم به‌طور معناداری افزایش یافت؛ به‌طوری‌که بیشترین میانگین محتوای پرولین گیاهچه‌ها در شرایط تنش ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر کادمیوم (۲/۴ میکرومول بر گرم وزن خشک) مشاهده شد که به‌طور معناداری بیشتر از شرایط بدون تنش بود (محمودی و همکاران، ۱۳۹۸). مصرف کودهای آلی، زیستی و شیمیایی با فراهمی عناصر غذایی مورد نیاز گیاه، شرایط مناسبی جهت رشد گیاه فراهم آورده و لذا می‌توانند افزایش میزان پرولین تولیدی در برگ را در پی داشته باشد. برخی از محققین بر این باورند که مایکوریزا باعث افزایش پرولین در برگ گیاهان میزبان می‌شود و دلیل این امر را این‌گونه بیان می‌کنند که این ترکیبات با تجمع در سلول، باعث کاهش پتانسیل آبی برگ شده و گیاه را از صدمات تنش محافظت می‌کنند (رستمی و همکاران، ۱۳۹۸). محققان گزارش کردند که تلقیح گیاهان با ریزجانداران مفید خاکزی سبب افزایش املاح سازگار از جمله پرولین می‌گردد (محمدی فرد و مقدم، ۱۳۹۹).

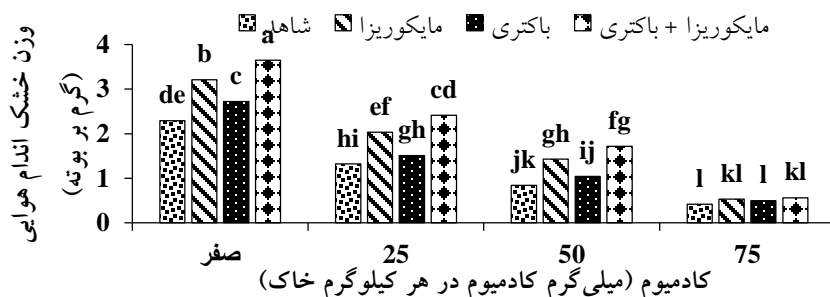


شکل ۸- مقایسه میانگین برهم‌کنش کادمیوم و کود زیستی برای محتوای پرولین برگ. میانگین‌ها با حداقل یک حرف مشترک نشان‌دهنده عدم تفاوت آماری براساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.

## وزن خشک اندام هوایی در بوته

نتایج تجزیه واریانس نشان از معنی‌داری اثر کادمیوم و کودهای زیستی و برهم‌کنش آن‌ها بر وزن خشک اندام هوایی گاوزبان اروپایی در سطح احتمال خطای یک درصد دارد (جدول ۲). تنش کادمیوم موجب کاهش وزن خشک اندام هوایی در گاوزبان اروپایی شد و کاربرد کودهای زیستی به‌صورت تلفیقی نیز اثر مثبتی بر آن داشت و موجب افزایش آن شد. بیشترین وزن خشک اندام هوایی با میانگین ۳/۶۵ گرم بر بوته از تیمار عدم کاربرد کادمیوم + کاربرد تلفیقی کودهای زیستی حاصل شد که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داد و از تیمار کاربرد ۷۵ میلی‌گرم کادمیوم در هر کیلوگرم خاک + عدم کاربرد کودهای زیستی کمترین آن با میانگین ۰/۴۲ گرم بر بوته حاصل گردید که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان داد (شکل ۹).

کادمیوم از تقسیم و رشد سلول‌های منطقه مریستمی جلوگیری می‌کند. کاهش در وزن ممکن است در ارتباط با سمیت کلرید کادمیوم باشد. بدین‌صورت که این ماده سمی می‌تواند مکانیسم‌های فیزیولوژیکی نرمال را مختل کرده و در نهایت از این طریق اثرات منفی بر زیست توده داشته باشد (Shah et al., 2008). کاهش وزن خشک به جهت اختلال در فرآیند فتوسنتز، تنفس و متابولیسم نیتروژن در اثر غلظت‌های سمی کادمیوم رخ می‌دهد (Shanker et al., 2005). مطالعه‌ی آفائی و همکاران (۱۳۹۸) بر گیاه ریحان نشان داد که تنش غلظت بالای کادمیوم موجب کاهش وزن خشک نسبت به گیاه شاهد در تمام تیمارها به‌جز تیمار ۲ میلی‌مولار شد. به‌طوری‌که در تیمار ۸ میلی‌مولار، وزن خشک اندام هوایی ۷۷ درصد و وزن خشک ریشه ۷۵ درصد نسبت به شاهد کاهش نشان داد. در آزمایشی بیان شد ویژگی‌های سامانه ریشه اثری است ولی می‌تواند توسط فاکتورهای محیطی تحت تاثیر قرار گیرد. مواد تنظیم‌کننده رشد مانند اکسین، اتیلن و سیتوکینین به عنوان یکی از فاکتورهای متغیر محیطی می‌تواند تغییراتی در ویژگی مورفولوژیک ریشه ایجاد کنند. ترشح مواد تنظیم‌کننده رشد گیاه و تولید هورمون‌های محرک رشد توسط کودهای زیستی، باعث تحریک توسعه و گسترش ریشه و در نتیجه اثرات مثبت بر وزن خشک این اندام می‌گردد (محمودزاده و همکاران، ۱۳۹۴). در بررسی اثر قارچ‌های میکوریزا روی گیاه نخود فرنگی در خاک‌های آلوده به عنصر کادمیم پژوهشگران نشان دادند که با افزایش کادمیم در خاک، زیست‌توده و رشد ریشه گیاه کاهش یافت ولی در حضور قارچ‌های میکوریزا فلز کادمیم نتوانست اثر منفی معنی‌داری بر زیست‌توده گیاه داشته باشد (Becerril et al., 2002). افزایش وزن خشک گیاهان میکوریزایی را می‌توان به توان بالای جذب و انتقال عناصر غذایی نظیر فسفر به کمک هیف‌های بیرونی قارچ نسبت داد (Jankong et al., 2008).



شکل ۹- مقایسه میانگین برهم‌کنش کادمیوم و کود زیستی برای وزن خشک اندام هوایی در گاوزبان اروپایی. میانگین‌ها با حداقل یک حرف مشترک نشان‌دهنده عدم تفاوت آماری براساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.



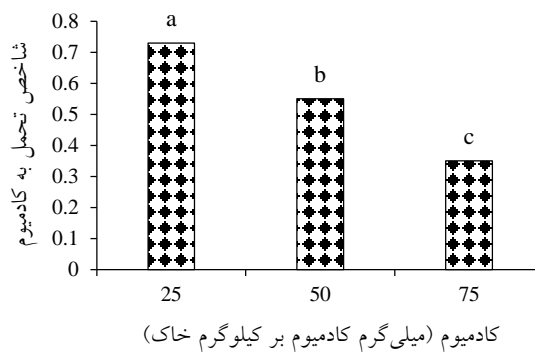
## شاخص تحمل به کادمیوم

نتایج جدول ۴ حاکی از آن است که اثر اصلی کادمیوم بر شاخص تحمل به کادمیوم گاوزبان اروپایی در سطح احتمال خطای یک درصد معنی دار شد، اما اثر اصلی کودهای زیستی و برهم کنش آن‌ها معنی دار نشد. با افزایش سطوح کادمیوم از شاخص تحمل کاسته شد. بیشترین شاخص تحمل با میانگین ۰/۷۳ از سطح ۲۵ میلی گرم کادمیوم در هر کیلوگرم خاک حاصل شد که با سطوح ۵۰ و ۷۵ میلی گرم کادمیوم در هر کیلوگرم خاک، ۲۴/۶۵ و ۴۹/۳۱ درصد اختلاف داشت (شکل ۱۰). طبق نظر اکثر پژوهشگران بهترین شاخص برای گزینش گیاهانی که تحمل بیشتری به تنش‌های محیطی دارند، شاخص تحمل به تنش (STI) است، زیرا قادر است گیاهانی را که در شرایط تنش محیطی از عملکرد مطلوبی برخوردار هستند را شناسایی کند. مطالعه حاضر نشان داد که براساس شاخص STI که مقادیر زیاد آن نشان‌دهنده تحمل گیاه به تنش است، گیاه گاوزبان اروپایی در سطح ۲۵ میلی گرم کادمیوم در هر کیلوگرم خاک از تحمل بیشتری برخوردار بود.

جدول ۴- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر کادمیوم و کود زیستی بر شاخص تحمل به تنش کادمیوم در گاوزبان اروپایی

منابع تغییرات	درجه آزادی	شاخص تحمل به تنش
تکرار	۲	۰/۰۰۲
کادمیوم	۲	۰/۳۷**
کود زیستی	۳	۰/۰۰۲ <sup>ns</sup>
کادمیوم×کود زیستی	۶	۰/۰۰۳ <sup>ns</sup>
خطا	۲۲	۰/۰۰۱
ضریب تغییرات (درصد)		۶/۷۶

<sup>ns</sup> و \*\* به ترتیب عدم وجود اختلاف معنی دار و معنی داری در سطح احتمال خطای ۱ درصد



شکل ۱۰- مقایسه میانگین اثر سطوح کادمیوم بر شاخص تحمل به تنش در گاوزبان اروپایی. میانگین‌ها با حداقل یک حرف مشترک نشان‌دهنده عدم تفاوت آماری براساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.

<sup>2</sup> Stress Tolerance Index

## نتیجه گیری کلی:

بر اساس نتایج این آزمایش مشخص گردید که با افزایش سطوح کادمیوم، صفاتی نظیر محتوای کادمیوم ریشه و اندام هوایی، فاکتور انتقال، نشت الکترولیت، محتوای کاروتنوئید برگ، محتوای پرولین برگ افزایش یافتند و تلقیح گیاه دارویی گاوزبان اروپایی با قارچ میکوریزا آربوسکولار و باکتری شرایط را برای گیاه مساعدتر کرد. اثر تنش کادمیوم نشان دهنده اثر منفی کادمیوم بر درصد کلونیزاسیون ریشه بود اما کاربرد کودهای زیستی با توجه به اثرات مثبتی مانند تولید انواع آنزیم های تجزیه کننده مواد آلی و تعاملات مثبت با میکروب های دیگر موجب بهبود شرایط برای ریزجانداران می شوند و صفات مورد بررسی را افزایش دادند. همچنین مشخص شد با توجه به این که فاکتور انتقال کادمیوم از ریشه به اندام هوایی گاوزبان اروپایی کم تر از یک بود این گیاه جزء گیاهان حذف کننده کادمیوم می باشد. وجود کودهای زیستی سبب کاهش جذب این عناصر توسط گیاه و انباشتگی آن ها در اندام هوایی گردیده است. بر اساس نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر می توان گفت کادمیوم مانع از رشد گاوزبان اروپایی نشد اما اثرات مخرب آن در صفات فیزیولوژیک نمایان و باعث کاهش وزن خشک اندام هوایی گردید که با کاربرد کودهای زیستی می توان از شدت خسارت های وارده کم کرد.

## منابع:

- اصغری، محسن، معصومی زواریان، ابوالفضل، و یوسفی راد، مجتبی. (۱۳۹۹). بررسی اثر سلدیم نیتروپروپوساید در کاهش سمیت ناشی از کادمیوم در گیاه ریحان (*Ocimum basilicum L.*). *تنش های محیطی در علوم زراعی*، ۱۳(۳)، ۱۰۱۸-۱۰۰۹. <https://doi.org/10.22077/escs.2020.2272.1582>
- آقائی، کیوان، راه خسروانی، بهاره، مغاللو، لیلا، و قطبی، علی اکبر. (۱۳۹۸). بررسی اثر تجمع کادمیوم بر برخی ویژگی های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی در گیاه ریحان (*Ocimum basilicum L.*). *فرآیند و کارکرد گیاهی*، ۸(۳۳)، ۱۲۲-۱۰۷.
- جعفر حدادیان، الهام، ذوفن، پرژک، و شفیع، محمد. (۱۳۹۹). اثر کلرید سلدیم روی تعدیل تنش کادمیوم، سیستم آنتی اکسیدانی و جذب و تجمع کادمیوم در گیاه پنیرک. *زیست شناسی گیاهی ایران*، ۱۲(۴۶)، ۷۶-۵۹. <http://doi.org/10.22108/IJPB.2021.122156.1204>
- رستمی، رامین، دانشور، ماشاالله، اسماعیلی، احمد، و زاهدی، مرتضی. (۱۳۹۸). تأثیر قارچ میکوریزا بر پارامترهای رشدی و فیزیولوژیکی آفتابگردان و گلرنگ تحت تنش کادمیم. *فرآیند و کارکرد گیاهی*، ۸(۳۰)، ۲۰۵-۱۹۵.
- شیخ زاده، پریسا، زارع، ناصر، و ابوطالبی، شهربانو. (۱۴۰۱). تأثیر تنش کادمیوم بر رنگیزه های فتوسنتزی و متابولیت های ثانویه گاوزبان اروپایی (*Brago officinalis L.*). *تنش های محیطی در علوم زراعی*، ۱۵(۴)، ۱۱۶۰-۱۱۴۵. <https://doi.org/10.22077/escs.2021.4245.1996>
- شیرخانی، زهره، چهرگانی راد، عبدالکریم، غلامی، منصور، و محسن زاده، فریبا. (۱۳۹۸). پاسخ های مرفولوژیکی و فیزیولوژیکی تاتوره (*Datura stramonium L.*) به سمیت کادمیوم. *فرآیند و کارکرد گیاهی*، ۸(۲۲)، ۱۳۵-۱۲۱.
- صارمی راد، بابک، اسفندیاری، عزت اله، شکرپور، مجید، سفالیان، امید، آوانس، ا، و موسوی، سید بهمن. (۱۳۹۳). اثر کادمیوم روی برخی از ویژگی های ریخت شناسی و فیزیولوژیکی گندم در مرحله گیاهچه ای. *مجله پژوهش های گیاهی (مجله زیست شناسی ایران)*، ۲۷(۱)، ۱۱-۱. <http://doi.org/20.1001.1.23832592.1393.27.1.1.9>

محمدی فرد، فریبا، و مقدم، محمد. (۱۳۹۹). تأثیر مایه زنی قارچ های میکوریزا بر ویژگی های رشدی، پایداری غشاء، محتوای نسبی آب برگ و جذب عناصر گشیز تحت تنش کادمیوم. نشریه زیست شناسی خاک، ۱۸(۱)، ۲۵-۴۰.  
<http://doi.org/10.22092/SBJ.2020.121882>

محمودی، فاطمه، شیخ زاده مصدق، پریسا، زارع، ناصر، و اسماعیل پور، بهروز. (۱۳۹۸). بهبود جوانه زنی بذر، رشد و ویژگی های بیوشیمیایی گیاهچه های گاوزبان اروپایی (*Brago officinalis L.*). در شرایط تنش کادمیوم با استفاده از پیش تیمار بذر. زیست شناسی گیاهی ایران، ۱۱(۳۹)، ۲۳-۴۲. <http://doi.org/10.22108/IJPB.2019.111889.1104>

مرزبان، زهرا، عامریان، محمدرضا. و ممرآبادی، مجتبی. ۱۳۹۳. بررسی خصوصیات ریشه و شاخص کلونی زایی لوبیا چشم بلبل (*Vigna unguiculata L.*) و ذرت (*Zea mays L.*) تحت مصرف باکتری مزوریزوبیوم و قارچ آریسکولار میکوریزا در کشت مخلوط. نشریه مدیریت خاک و تولید پایدار، ۲(۴)، ۱۶۹-۱۸۵.  
<http://doi.org/20.1001.1.23221267.1393.4.2.9.5>

نورائی، حمید. و کفیل زاده، فرشید. (۱۳۹۰). تأثیر سمیت کادمیوم بر رشد، قندهای محلول، رنگیزه های فتوسنتزی و برخی آنزیم ها در گلرنگ. مجله زیست شناسی ایران، ۱۰(۲۴)، ۸۵۸-۸۶۷.

وطن پور، زهرا، متفکر آزاد، روح اله، جهان بخش، سداب، موافقی، علی، و سبزی، محسن. (۱۴۰۰). بررسی تأثیر کاربرد باکتری های ازتوباکتر کروکوکوم و سودوموناس پوتیدا بر رنگیزه های فتوسنتزی و عملکرد گندم در شرایط تنش کادمیوم. نشر های محیطی در علوم زراعی، ۱۴(۴)، ۱۱۶۱-۱۱۴۷. <https://doi.org/10.22077/escs.2020.3512.1869>

- Abraham, E., Rigo, G., Szekely, G., Nagy, R., Koncz, C., & Szabados, L. (2003). Light-dependent induction of proline biosynthesis by abscisic acid and salt stress is inhibited by brassinosteroid in *Arabidopsis*. *Plant Molecular Biology*, 51(3), 363-372. <https://doi.org/10.1023/a:1022043000516>
- Ali, B., Gill, R.A., Yang, S., Gill, M.B., Ali, S., & Rafiq, M.T. (2018). Hydrogen sulfide alleviates cadmium-induced morpho-physiological and ultrastructural changes in *Brassica napus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 151, 50-60. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.08.027>
- Arnon, D. E. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenol oxidase (*Beta vulgaris*). *Plant Physiology*, 24, 1-15. <https://doi.org/10.1104/pp.24.1.1>
- Audet, P., & Charest, C. (2006). Effects of AM colonization on 'wild tobacco' grown in zinc contaminated soil. *Mycorrhiza*, 16 (4), 277-283. <https://doi.org/10.1007/s00572-006-0045-x>
- Barket, A., Indu, R., Shamsul, H.T., & Aqil, A. (2007). Effect of 4-cl-indul-3-acetic acid on seed germination of *cicer arietinum* exposed to cadmium. *Acta Botanica Croatica*, 66, 57-65.
- Baryla, A.P., Carrier, F., Franck, C., Coulomb, C., & Sahut, M. (2001). Havaux, Leaf chlorosis in oilseed rape plants (*Brassica napus*) grown on cadmium-polluted soil: causes and consequences for photosynthesis and growth. *Journal of Planta*, 212, 696-709. <https://doi.org/10.1007/s004250000439>
- Basar, S.N., Rani, S., Farah, S.A., & Zaman, R. (2013). Review on *Borago officinalis*: A Wonder Herb. *International Journal of Biological & Pharmaceutical Research*, 4, 582-587.
- Becerril, F.R., Calantzis Turnau, C., Caussanel, J.P., Belimov, A.A., Gianinazzi, S., Strasser, R.J., & Pearson, V.G. (2002). Cadmium accumulation and buffering of cadmium induced stress by arbuscular mycorrhiza in three *Pisum sativum L.* genotypes. *Journal of Experimental Botany*, 53 (371), 1177-1185. <https://doi.org/10.1093/jexbot/53.371.1177>

- Cavender, N.D., Atiyeh, R.M., & Knee, M. (2003). Vermicompost stimulates mycorrhizal colonization of roots of *Sorghum bicolor* at the expense of plant growth. *Pedobiologia*, 47(1), 85-89. <https://doi.org/10.1078/0031-4056-00172>
- Chaffei, C., Gouia, H., & Ghorbel, M.H. (2003). Nitrogen metabolism in tomato plants under cadmium stress. *Journal of Plant Nutrition*, 26,1617-1634. <https://doi.org/10.1081/PLN-120022372>
- Dell'Amico, E., Cavalca, L., & Andreoni, V. (2008). Improvement of Brassica napus growth under cadmium stress by cadmium-resistant rhizobacteria. *Soil Biology and Biochemistry*, 40, 74-84.
- Demir, S. (2004). Influence of arbuscular mycorrhiza on some physiological growth parameters of pepper. *Turkish Journal Biology*, 28, 85-90. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.06.024>
- Farhadi, R., Balashahri, M.S., Gholami Tilebeni, H., & Sadeghi, M.A. (2012). Pharmacology of Borage (*Borago officinalis* L.) medicinal plant. *International Journal of Agronomy and Plant Production*, 3(2), 73-77.
- Frey- Klett, P., Garbaye, J., & Tarkka, M. (2007). The mycorrhiza helper bacteria revisited. *New phytologist*, 176(1), 22-36. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02191.x>
- Gomes, M. P., Marques, T. C. L. S., Nogueirol, R. C., Soares, C. R. F. S., & Siqueira, J. O. (2013). Arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobia in the remediation of heavy metal contaminated soils: A review. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44(3), 651-664. <https://doi.org/10.1590/s1517-83822013000300001>
- Gong, J., David, A., & Julian, I. (2003). Long-distance root-to-shoot transport of phytochelatin and cadmium in Arabidopsis. *PNAS*, 100, 10118-10123. <https://doi.org/10.1073/pnas.1734072100>
- Hatata, M., & Adel Abdel-Aal, E. (2008). "Oxidative stress and antioxidant defense mechanisms in response to Cadmium", Treatments American-Eurasian. *Journal of Agricultural and Environmental Science*, 4 (6), 655-669.
- Jahan, M., & Fujita, K. (2014). Arbuscular mycorrhizal fungi enhance the growth and tolerance to cadmium stress of aeroponically grown lettuce plants. *Journal of plant interactions*, 9(1), 802-811. <https://doi.org/10.1080/15226514.2023.2212792>
- Jan, M., Shah, G., Masood, S., Shinwari, K.I., Hameed, R., Rha, E.S., & Jamil, M. (2019). Bacillus Cereus Enhanced Phytoremediation Ability of Rice Seedlings under Cadmium Toxicity. *BioMed Research International*, 1-12. <https://doi.org/10.1155/2019/8134651>
- Jankong, P., & Visoottiviset, P. (2008). Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation on plants growing on arsenic contaminated soil. *Chemosphere*, 72, 1092-1097. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.03.040>
- Jolly, Y.N., Islam, A., & Akbar, S. (2013). Transfer of metals from soil to vegetables and possible health risk assessment. *Springer plus*, 2, 385-397.
- Kaur, N., & Jhanji, S. (2016). Effect of soil cadmium on growth, photosynthesis and quality of *Raphanus sativus* and *Lactuca sativa*. *Journal of Environmental Biology*, 37(5), 993-997.
- Lasat, M.M. (2002). Phytoextraction of toxic metals – A review of biological mechanism. *Journal of Environmental Quality*, 31, 109-120.
- Lenoir, I., Fontaine, J., & Sahraoui, A.L.H. (2016). Arbuscular mycorrhizal fungal responses to abiotic stresses: a review. *Phytochemistry*, 123, 4–15. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2016.01.002>
- McKay, H.M. (1992). Electrolyte leakage from fine roots of conifer seedlings; a rapid index of plant vitality following cold storage. *Canadian Journal of Forest Research*, 22, 1371-1377. <https://doi.org/10.1139/x92-182>
- Mishra, A., & Choudhuri, M. A. (1999). Effects of salicylic acid on heavy metal-induced membrane deterioration mediated by lipoxygenase in rice. *Biology Plant*, 42, 409-415. <https://doi.org/10.1023/A:1002469303670>
- Motesharezadeh, B., G.R. Savaghebi-Firoozabadi, H. Mirseyed Hosseini., & Alikhani, H.A. (2010). Study of the enhanced phytoextraction of cadmium in a calcareous soil. *International Journal of Environmental Research*, 4, 525-532. <https://doi.org/10.22059/ijer.2010.239>

- Paquin, R., & Le chasseur, P. (1979). Observation sur une method dosage Labrie dans lesde plants. *Canadian Journal of Botany*, 57,1851-1854.
- Rask, K.A., Johansen, J.L., Kjoller, R., & Ekelund, F. (2019). Differences in arbuscular mycorrhizal colonization influence cadmium uptake in plants. *Environmental and Experimental Botany*, 162, 223-229. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.02.022>.
- Shah, F.R., Ahmad, N., Masood, K.R., & Zahid, D.M. (2008). The influence of cadmium and chromium on the biomass production of shisham (*Dalbergia sissoo* ROXB.) seedlings. *Pakistan Journal of Botany*, 40, 1341-1348.
- Shanker, A., Cervantes, C., Loza-Tavera, H., & Avudainayagam, S., (2005). Chromium toxicity in plants. *International Environmental Science and Development*, 31, 63-68.
- Sun, L., Cao, X., Tan, C., Deng, Y., & Bai, J. (2020). Analysis of the effect of cadmium stress on root exudates of *Sedum plumbizincicola* based on metabolomics. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 205, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111152>
- Vurukonda, S.S., Vardharajula, S., Shrivastava, M., & Skz, A. (2016). Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. *Microbiological Research*, 184, 13–24. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.12.003>
- Wu, Z., Zhao, X., Sun, X., Tan, Q., Tang, Y., Nie, Z., Qu, C., Chen, Z., & Hu, C. (2015). Antioxidant enzyme systems and the ascorbate-glutathione cycle as contributing factors to cadmium accumulation and tolerance in two oilseed rape cultivars (*Brassica napus* L.) under moderate cadmium stress. *Chemosphere*, 138, 526-536. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.06.080>
- Zhang, F., Zhang, H., Wang, G., Xu L., & Shen, Z. (2009). Cadmium-induced accumulation of hydrogen peroxide in the leaf apoplast of *Phaseolus aureus* and *Vicia sativa* and the roles of different antioxidant enzymes. *Journal of Hazardous Materials*, 168(1), 76-84. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.02.002>
- Zhang, X., Chen, B., & Ohtomo R. (2015). Mycorrhizal effects on growth, P uptake and Cd tolerance of the host plant vary among different AM fungal species. *Soil Science and Plant Nutrition*, 61(2), 359-368. <https://doi.org/10.1080/00380768.2014.985578>

### **The effect of inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi and growth-promoting bacteria on the tolerance of European borage (*Borago officinalis* L.) to cadmium toxicity**

- 1- Agroecology M.Sc. Student, Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Yasouj
- 2- \*(Corresponding Author) Assoc. Prof., Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Yasouj,
- 3- Assoc. Prof., Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Yasouj,
- 4- Assoc. Prof., Dept. of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Yasouj
- 5- Ph.D Student of crop physiology, Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Yasouj,

Corresponding Author Email: [Yadavi@yu.ac.ir](mailto:Yadavi@yu.ac.ir)

#### **Abstract:**

In order to evaluate the inoculation of mycorrhizal and growth-promoting bacteria (*Pseudomonas* genus) on the tolerance of European borage to cadmium toxicity, a factorial experiment was performed in the form of a completely randomized design with 3 replications in the research greenhouse of the Agriculture Faculty of Yasouj University in 2019. The experimental factors include the application of biological fertilizer at 4 levels (control, application of mycorrhiza,

application of growth-stimulating bacteria and combined application of mycorrhiza and bacteria) and 4 levels of cadmium concentration (0, 25, 50 and 75 mg cadmium per kg soil). The investigated traits were included root colonization percentage, plant cadmium content, some physiological characteristics and shoot dry weight of European borage. The results showed that with the increase in cadmium concentration, electrolyte leakage, proline content and cadmium content of aerial organs increased. The use of mycorrhiza and bacteria was evaluated positively compared to their non-use, so that in all four levels of cadmium, the highest proline, chlorophyll and relative water content, as well as the lowest electrolyte leakage and shoot cadmium concentration, were obtained from the combined two biofertilizers. Application of biofertilizer increased the dry weight of the aerial parts of inoculated plants compared to the control. The results showed that in the presence of 25 and 50 mg/kg of cadmium, the combined application of biofertilizers reduced 21% and 17% of cadmium transfer from roots to shoots of borage. Therefore, it is recommended to use biological fertilizers in areas contaminated with cadmium.

**Keywords: Bio-fertilizer, Electrolyte leakage, Heavy metal, Medicinal plant, Proline**