

## تأثیر تلقیح قارچ میکوریزا آربوسکولار و باکتری‌های محرک رشد بر میزان تحمل گاوزبان اروپایی (*Borago officinalis* L.) به سمیت کادمیوم

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

<sup>۱</sup> گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران

<sup>۲</sup> گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۶/۱۲، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۲/۰۹/۲۷)

### چکیده

به منظور ارزیابی تلقیح قارچ میکوریزا و باکتری‌های محرک رشد (جنس سودوموناس) بر میزان تحمل گاوزبان اروپایی (*Borago officinalis* L.) به سمیت کادمیوم آزمایشی در گلخانه پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه یاسوج در سال ۱۳۹۹ به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و ۱۶ تیمار به اجرا درآمد. عامل اول شامل کاربرد کود زیستی در چهار سطح (شاهد، کاربرد قارچ میکوریزا، کاربرد باکتری محرک رشد و کاربرد توأم قارچ و باکتری) و سطوح مختلف غلظت کادمیوم در چهار سطح (صفر، 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 میکوریزا 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

(Basar et al., 2013). گاوزبان اروپایی از جمله این گیاهان دارویی می‌باشد که اهمیت فراوانی دارد. گاوزبان اروپایی گیاهی علفی و یکساله از تیره گاوزبان با نام علمی *Borago officinalis* L. است. این گیاه از دیرباز در طب سنتی ایران به عنوان آرام‌بخش، مرهم بافت‌های مخاطی، نرم‌کننده،

در سال‌های گذشته استفاده از داروهای گیاهی در سراسر جهان به طور 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

برهم‌کنش با تعادل آبی گزارش شده است (نورایی و کفیل‌زاده، 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 (Barkat 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 ذکرشده 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 میکروارگانسیم‌های مفید خاکزی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. قارچ‌های مایکوریزا 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 ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR, Plant growth promoting rhizobacteria) 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 هستند (Vurukonda et al., 2016). به‌گفته Sun و همکاران (۲۰۲۰) در استفاده از باکتری‌ها برای خاک آلوده به فلزات سنگین،

خلط‌آور، کاهش‌دهنده تپش قلب، تقویت‌کننده، رفع عوارض زکام و سرماخوردگی، مورد استفاده قرار گرفته است. همچنین عصاره گل گاوزبان خاصیت ضدالتهابی و ضداسردگی 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 قراردادن 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 تصفیه‌شده یا خام شهری و صنعتی در بسیاری از کشورهای جهان شده است. فلزات سنگین موجود در این‌گونه 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 به‌دلیل 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 شد (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

فرایندهای بیوشیمیایی از جمله تبادل مواد، تبدیل انرژی و ارتباطات اطلاعاتی، به‌طور مداوم در میان میکروب‌ها، 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 کاملاً تصادفی با سه تکرار و ۱۶ تیمار اجرا شد. فاکتورهای آزمایشی شامل کاربرد کود زیستی در چهار 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 چهار سطح (صفر، 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 شد. قارچ مایکوریزا گونه *Funneliformis moseae* نیز از کلینیک گیاه‌پزشکی ارگانیک همدان تهیه شد. سوسپانسیون باکتریایی از مؤسسه تحقیقات

آب و خاک کرج، با جمعیت  $10^8$  واحد تشکیل‌دهنده کلونی بر میلی‌لیتر تهیه شد. 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 مرحله 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 نیترات کادمیوم به گلدان‌ها اضافه 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 بذره‌های گاوزبان اروپایی با هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت یک دقیقه ضدعفونی و پس از آن، بذره‌های مربوط به تیمارهای باکتری‌های محرک رشد (باکتری سودوموناسپوتیدا (*Pseudomonas putida*) + باکتری سودوموناس فلورسنس (*Pseudomonas fluorescens*) از طریق تلقیح بذر با این باکتری‌ها اعمال گردید و قارچ مایکوریزا آربوسکولار گونه *Funneliformis moseae* به‌میزان ۱۰ گرم برای هر گلدان (گلدان‌های حاوی مایکوریزا) در عمق ۵ سانتی‌متری با خاک قرار داده شد سپس یک سانتی‌متر خاک روی قارچ مایکوریزا قرار گرفته و تعداد ۱۰ بذر گاوزبان اروپایی در گلدان‌های مربوطه قرار گرفته سپس آبیاری شدند. همچنین در مرحله دو برگی سوسپانسیون باکتری‌های محرک رشد پای بوته‌ها اعمال گردید. پس از استقرار گیاهچه‌ها و در مرحله چهار برگی بوته‌ها در گلدان تنک و در نهایت پنج بوته در هر گلدان نگه داشته شدند.

**اندازه‌گیری درصد کلونیزاسیون ریشه:** ریشه‌ها بعد از برداشت از خاک گلدان به‌دقت با آب شسته شده و برای مراحل بعدی آماده شدند. برای اندازه‌گیری درصد کلونیزاسیون، ۵۰ قطعه یک سانتی‌متری از ریشه‌های نازک انتخاب شدند سپس به لوله آزمایش انتقال و به آن KOH ۱۰ درصد اضافه و درون بن‌ماری با دمای ۹۵ درجه سلسیوس و

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی شیمیایی خاک محل آزمایش

pH	پتاسیم	فسفر	آهن	روی	مس	منگنز	شکل ۱- ساختارهای قارچ میکوریزی آربوسکولار- و زیکولار تلقیح شده با ریشه گاوزبان اروپایی، شکل ریشه رنگ آمیزی شده اجزای خاک				
							نیترژن	کربن آلی	شن		
(ppm)							(درصد)				
۷/۵	۱۱۲	۳/۱	۳/۲۰	۰/۳۶	۰/۶۰	۴/۴۰	۰/۰۳	۰/۱۹۵	۴۸	۱۸	۳۴



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

Choudhuri (۱۹۹۹) استفاده شد. در نهایت مقدار محتوای آب نسبی برگ‌ها از رابطه ۱ محاسبه شد:

$$RWC(\%) = (FW - DW) / (SW - DW) \times 100$$

در این رابطه Fw: وزن تر برگ، DW: وزن خشک برگ و SW: وزن اشباع برگ هستند.

جهت اندازه‌گیری نشت الکترولیت، 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 الکترولیت 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).

رابطه ۲:

$$EC(\%) = (EC1/EC2) \times 100$$

رنگی‌های فتوستتزی شامل کلروفیل کل با روش Arnon (۱۹۴۹) و در سه طول‌موج ۴۷۰، ۶۴۶ و ۶۶۳ نانومتر با استفاده

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 میلی‌لیتر جوهر (جوهر خودنویس ایپلمات - حجم ۸۰ میلی‌لیتر) با سرکه سفید به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد). ریشه‌های رنگ‌گرفته 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 رنگ‌شده هیف قارچ درون و بیرون ریشه‌ها، و زیکول‌ها و آربوسکول‌ها (شکل ۱) نشان از کلونیزاسیون ریشه است (Vierheilig et al., 1998).

اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیک: بعد از گذشت چهار هفته از سبزشدن 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 ۴۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ (RWC)، از روش Mishra و

محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ و مقایسه میانگین‌ها 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 برهم‌کنش آن‌ها بر درصد کلونیزاسیون ریشه در سطح احتمال خطای یک درصد معنی‌دار شد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین حاکی از آن است که با کاربرد کادمیوم ابتدا درصد کلونیزاسیون ریشه در سطح کاربرد ۲۵ میلی‌گرم کادمیوم در هر کیلوگرم خاک نسبت به تیمار عدم کاربرد کادمیوم افزایش یافت و سپس در سطوح کاربرد ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم 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 میلی‌گرم 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 میلی‌گرم 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 است (Audet and Charest, 2006). در پژوهشی گزارش شده است در چهار گونه گیاه (*Linum usitatissimum*، *Hordeum vulgare* و *Sorghum bicolor*) تلقیح‌شده 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 می‌یابد و بعد از آن محدود می‌شود. زیرا همزیستی با

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 طول‌موج ۵۱۵ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر خوانده شد.

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 کروسیبل ریخته و به کوره با حرارت ۲۵۰ درجه سلیوس انتقال یافت. پس از گذشت چند دقیقه به‌منظور خاکسترشدن نمونه‌ها حرارت کوره به ۵۵۰ درجه سلیوس افزایش یافت. پس از خنک‌شدن، ۵ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۲ نرمال به ازای هر گرم پودر گیاهی به نمونه‌ها اضافه و با میله شیشه‌ای حل شد. محتویات کروسیبل 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 و پس از شستشو با آب مقطر و خشک‌شدن در آون در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت، با ترازو وزن شدند و میانگین آن‌ها یادداشت شد.

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

رابطه ۳:

فاکتور انتقال از ریشه به اندام هوایی = غلظت کادمیوم در اندام هوایی / غلظت کادمیوم در ریشه

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

رابطه ۴:

شاخص تحمل = وزن خشک گیاه در خاک غیرآلوده / وزن خشک گیاه در خاک آلوده

جدول ۲- نتایج حاصل از تجزیه واریانس اثر کادمیوم و کود زیستی بر برخی از صفات مورد بررسی در گاو زبان اروپایی

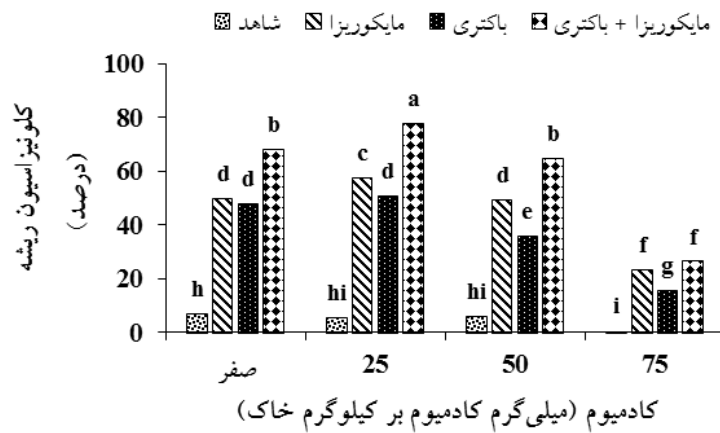
میانگین مربعات				درجه آزادی	منابع تغییرات
فاکتور انتقال کادمیوم	کادمیوم اندام هوایی	کادمیوم ریشه	کلونیزاسیون ریشه		
۰/۰۰۳	۷۱/۴۸	۲۵۹/۵۰	۲۰/۲۵	۲	تکرار
۱/۳۷**	۸۳۸۲۶/۸۶**	۹۵۷۱۴/۴۰**	۲۳۳۷/۲۵**	۳	کادمیوم
۰/۰۹**	۸۳۴۹/۰۸**	۱۰۱۵۷/۱۱**	۶۴۱۷/۱۳**	۳	کود زیستی
۰/۰۳**	۱۴۷۷/۷۹**	۱۹۴۳/۲۳**	۲۲۱/۶۳**	۹	کادمیوم × کود زیستی
۰/۰۱	۱۲۳/۴۲	۲۰۳/۸۱	۱۴/۰۹	۳۰	خطا
۱۸/۳۵	۱۳/۲۹	۱۲/۶۷	۱۰/۱۸	-	ضریب تغییرات (%)

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

ادامه جدول ۲-

میانگین مربعات					درجه آزادی	منابع تغییرات
وزن خشک محتوای پرولین برگ	محتوای برگ	نشت الکترولیت	محتوای نسبی آب برگ	محتوای کلروفیل کل برگ		
۰/۰۸	۰/۴۷	۱/۵۰	۱۴/۵۰	۰/۰۰۰۲	۲	تکرار
۱۲/۹۱**	۴۰/۲۰**	۲۰۴۴/۵۳**	۲۶۰۴/۳۹**	۰/۰۴**	۳	کادمیوم
۱/۶۹**	۱۲/۱۳**	۵۱۸/۷۹**	۵۷۴/۲۱**	۰/۰۵**	۳	کود زیستی
۰/۱۸**	۱/۰۹**	۴۶/۵۶**	۴۲/۰۹**	۰/۰۰۰۲ <sup>ns</sup>	۹	کادمیوم × کود زیستی
۰/۰۴	۰/۰۴	۱۲/۹۶	۱۰/۹۶	۰/۰۰۰۱	۳۰	خطا
۱۲/۳۳	۳/۸۸	۸/۰۹	۴/۳۱	۳/۳۲	-	ضریب تغییرات (%)

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



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

آربوسکولار مایکوریزا و باکتری مزوریوبیوم بود (مرزبان و همکاران، ۱۳۹۳).

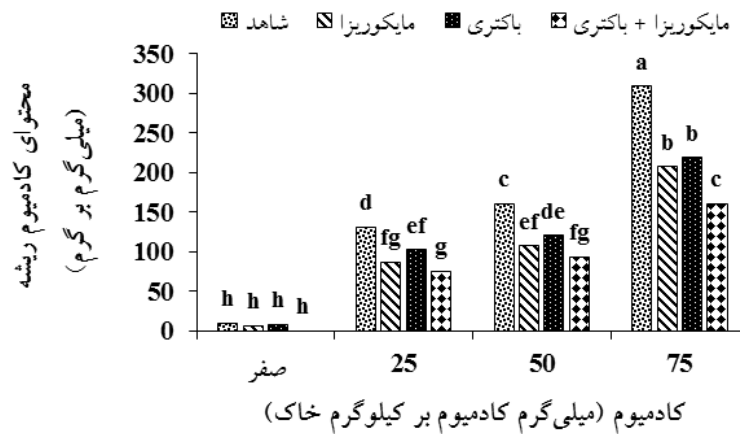
**محتوای کادمیوم در ریشه:** نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که برهم‌کنش کادمیوم با کود زیستی در سطح احتمال خطای یک درصد بر محتوای کادمیوم ریشه در گاوزبان اروپایی معنی‌دار شد (جدول ۲). نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها بیانگر افزایش محتوای کادمیوم ریشه با افزایش سطوح کادمیوم در گاوزبان می‌باشد و کاربرد کودهای زیستی به‌خصوص به صورت تلفیقی موجب کاهش محتوای کادمیوم ریشه گردید. تیمار کاربرد ۷۵ میلی‌گرم کادمیوم در هر کیلوگرم خاک + عدم کاربرد کودهای زیستی با میانگین ۳۰۹ میلی‌گرم بر گرم از بیشترین محتوای کادمیوم ریشه و تیمار عدم کاربرد کادمیوم + کاربرد تلفیقی کودهای زیستی با میانگین ۱/۶۷ میلی‌گرم بر گرم از کم‌ترین محتوای کادمیوم برخوردار بود (شکل ۳).

**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. هر چه غلظت فلز در فاز محلول بیشتر باشد جذب آن توسط گیاه بیشتر خواهد بود. تجمع کادمیوم به‌میزان 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

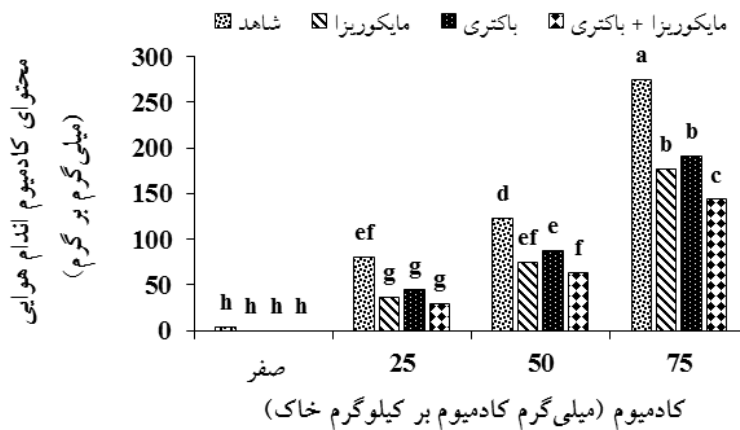
قارچ مایکوریزا آربوسکولار وابسته به فتوستتیز گیاه است و کاهش درصد کلونیزاسیون ریشه در اثر فلزات سنگین می‌تواند به علت ممانعت از رشد و گسترش هیف در خاک باشد. کاهش درصد کلونیزاسیون، کاهش در تراکم اسپورها و حتی حذف کلونیزاسیون در اثر تجمع برخی فلزات سنگین می‌باشد (Lenoir *et al.*, 2016). در نتیجه، در بالاترین غلظت کادمیوم، از یک طرف به دلیل کاهش سهم فتوستتیزی قارچ و از طرف دیگر برای حفاظت گیاه میزبان از غلظت بالای کادمیوم، کلونیزاسیون ریشه کاهش می‌یابد. گسترش همزیستی تابع شرایط گیاه میزبان است و در شرایط نامساعد برای گیاه، کلونیزاسیون کاهش می‌یابد (Zhang *et al.*, 2015).

کلونیزاسیون ریشه یکی از مهم‌ترین شاخص‌های همزیستی گیاهان زراعی با قارچ‌های مایکوریزا آربوسکولار است. همزیستی مایکوریزایی می‌تواند با توسعه سامانه ریشه‌ای گیاه و افزایش مقدار و کیفیت ترشحات ریشه‌ای سبب بهبود وضعیت جذب آب و عناصر غذایی به‌ویژه فسفر در گیاه شود که در نتیجه درصد کلونیزاسیون ریشه افزایش می‌یابد (محمدی‌فرد و مقدم، ۱۳۹۹).

باکتری‌های محرک رشد از طریق سازوکارهایی شامل تولید فاکتورهای رشدی، ممکن است موجب افزایش جوانه‌زنی اسپور قارچی، رشد میسیلیومی، انشعابات و درصد کلونیزاسیون ریشه شوند (Frey-Klett *et al.*, 2007). افزایش پذیرش مایکوریزا توسط سلول‌های ریشه‌های کلونیزه‌شده با باکتری، افزایش طول لوله تندش اسپورهای جوانه‌زده، جهت‌دهی به حرکت لوله تندش به سمت ریشه‌های کلونیزه شده با باکتری بر اساس مواد مترشحه از ریشه انجام می‌پذیرد و کاربرد همزمان قارچ مایکوریزا آربوسکولار و باکتری‌های محرک رشد گیاه، یکی از استراتژی‌های مؤثر بر افزایش اثرات هر دو عامل است (Cavender *et al.*, 2003). محققین در بررسی خصوصیات ریشه و شاخص کلونی‌زایی لوبیا چشم‌بلبلی و ذرت با کاربرد قارچ مایکوریزا مشاهده نمودند که بیش‌ترین طول ریشه لوبیا، شمار گره در ریشه لوبیا و شاخص کلونی‌زایی ریشه لوبیا در تیمار کشت مخلوط همزمان با قارچ



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 است.



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 است.

میانجی‌گری می‌شود که انتقال‌دهنده یک یون خاص بوده و به‌صورت اختصاصی عمل می‌کنند. قسمت اعظم این یون‌ها به‌طور فیزیکی جذب دیواره سلولی می‌شوند (آقایی 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

است که به راحتی به‌همراه 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



کادمیوم که قابلیت تولید اکسین یا سیدروفور داشتند، تلقیح کرده و مشاهده کردند که باکتری‌ها گیاه را در برابر اثرات بازدارندگی کادمیوم محافظت نمودند (Dell'Amico *et al.*, 2008).

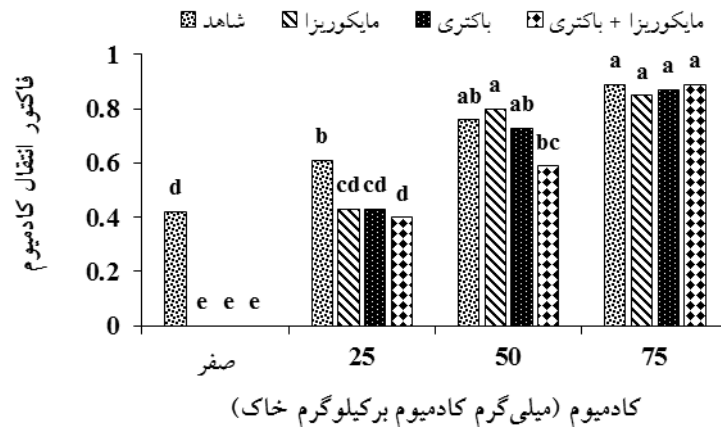
#### فاکتور انتقال کادمیوم: برهم‌کنش کادمیوم و کودهای

زیستی بر فاکتور انتقال کادمیوم در سطح احتمال خطای یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). نتایج شکل ۵ نشان از افزایش فاکتور انتقال کادمیوم از ریشه به اندام هوایی در اثر افزایش غلظت کادمیوم دارد. بیشترین فاکتور انتقال کادمیوم از ریشه به اندام هوایی با میانگین ۰/۸۹ از تیمارهای ۷۵ میلی‌گرم کادمیوم در هر کیلوگرم خاک + عدم کاربرد کودهای زیستی و ۷۵ میلی‌گرم کادمیوم در هر کیلوگرم خاک + کاربرد تلفیقی کودهای زیستی به دست آمد که با تیمارهای ۷۵ میلی‌گرم کادمیوم در هر کیلوگرم خاک + کاربرد مایکوریزا و باکتری به‌تنهایی و همچنین ۵۰ میلی‌گرم کادمیوم در هر کیلوگرم خاک + کاربرد مایکوریزا اختلاف معنی‌داری نشان ندادند. در تیمار عدم کاربرد کادمیوم نیز فقط در شرایط عدم کاربرد کودهای زیستی فاکتور انتقال کادمیوم مشاهده شد و در تیمار عدم کاربرد کادمیوم به‌همراه کاربرد کودهای زیستی به‌تنهایی و تلفیقی هیچ‌گونه کادمیومی از ریشه به اندام هوایی انتقال نیافت (شکل ۵). گزارش شده است که با افزایش سطح کادمیوم در خاک، غلظت این عنصر سمی در اندام‌های گیاهی (اندام هوایی و ریشه) به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (Motesharezadeh *et al.*, 2010). بر این اساس کادمیوم توانایی قابل‌ملاحظه‌ای در انتقال از ریشه به اندام هوایی نشان داد. به‌طورکلی گونه‌های گیاهی حذف‌کننده (Excluders) فاکتور انتقال کمتر از یک داشته درحالی‌که 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 کادمیوم از ریشه به اندام هوایی گاو زبان مشخص شد که این گیاه، یک گیاه حذف‌کننده است. فاکتور انتقال شاخصی است که تحت تأثیر محتوای کادمیوم ریشه و اندام هوایی تغییر می‌کند. به‌گونه‌ای که این شاخص با محتوای کادمیوم ریشه

گیاهی تلاش می‌کنند با استفاده از راهکارهایی نظیر اتصال آن به دیواره سلولی، ذخیره نمودن در واکوئل و کلاته‌نمودن 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 مایکوریزا 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 میسلیم برون ریشه‌ای و یا اتصال آن‌ها را به گلومالین تولیدشده توسط قارچ‌های مایکوریزا تعدیل نمایند (محمدی‌فرد و مقدم، ۱۳۹۹). به علاوه، این قارچ‌ها بر جذب و میزان تجمع کادمیم در اندام‌های مختلف گیاهی تأثیرگذار هستند. هر چند 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 صرف‌نظر از سطح کادمیم، غلظت کادمیم در ریشه گیاهان تلقیح‌شده آفتابگردان و گلرنگ در مقایسه با گیاهان تلقیح‌نشده 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 تلقیح‌شده با جدایه‌های باکتریایی متحمل کادمیوم باعث کاهش جذب کادمیوم در اندام هوایی گیاه شد (Jan *et al.*, 2019). در پژوهشی دیگر گیاه کلزا را با چهار نوع باکتری مقاوم به



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 است.

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 به جای می گذارند. 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 برگ‌هاست. همچنین غلظت‌های بالای کادمیوم در بافت برگ به‌طور غیرمستقیم از طریق اختلال در فرایند متابولیک گیاه و پیری زودرس بر روی محتوای کلروفیل تأثیر می‌گذارد (Barylta et al., 2001). کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاهان تحت تنش کادمیوم را می‌توان به اثر بازدارندگی این فلز سنگین بر جذب منیزیم، منگنز، کلسیم و آهن در اثر تجمع کادمیوم در بافت‌های گیاهی و همچنین مهار آنزیم‌های گروه

رابطه مستقیم و با محتوای کادمیوم اندام هوایی رابطه عکس دارد. فاکتور انتقال کمتر از یک و کاهش آن با افزایش غلظت کادمیوم در مقایسه با شاهد، نشان می‌دهد سازوکار تجمع کادمیوم بیشتر در ریشه‌ها نسبت به انتقال آن به شاخساره‌ها اتفاق افتاده است. غیرپویایی فلزهای سمی توسط تراوش‌های رایزوسفری، رسوب در گرانول‌های پلی فسفات، واکوئل‌ها و وزیکول‌ها، جذب سطحی در دیواره یاخته‌ای اندام‌های قارچی از طریق حضور کیتین، ملانین و یا کی‌لیت کردن در اندام‌های قارچی توسط گلومالین، صورت می‌گیرد (Jan et al., 2019). پس به نظر می‌رسد در بالاترین 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.

**محتوای کلروفیل کل برگ:** اطلاعات به دست آمده از جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) بیانگر معنی‌دار بودن اثر کادمیوم و کودهای زیستی در سطح احتمال خطای یک درصد و غیر معنی‌دار بودن برهم‌کنش 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 به‌طوری‌که 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

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

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

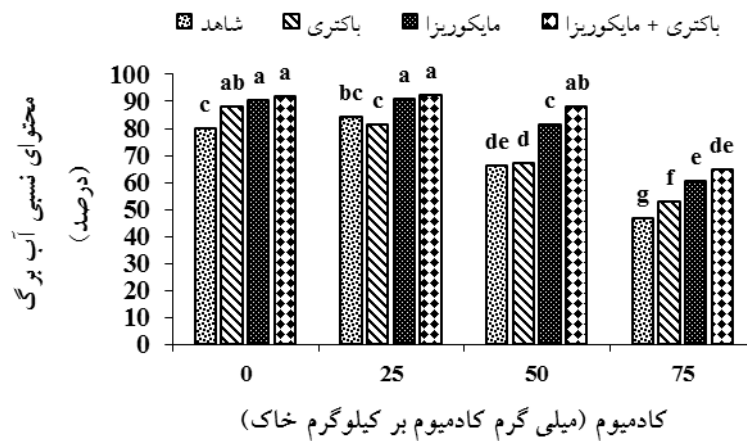
میانگین‌ها با حداقل یک حرف مشترک نشان‌دهنده عدم تفاوت آماری براساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد است.

گیاهان مایکوریزایی نقش قارچ مایکوریزا در فراهم نمودن فسفر مورد نیاز گیاه به‌عنوان عامل انرژی در طی فتوسنتز تأیید می‌شود (Demir, 2004). یکی از فاکتورهای مهم حفظ ظرفیت فتوسنتزی در گیاهان، غلظت کلروفیل است. به واسطه شرکت نیتروژن در ساختار کلروفیل، ارتباط مثبت و معنی‌داری بین نیتروژن برگ و مقدار کلروفیل وجود دارد و کودهای به کار رفته در این تحقیق به شکل‌های مختلف با افزایش نیتروژن در دسترس گیاه، باعث افزایش کلروفیل شده‌اند.

**محتوای نسبی آب برگ:** اطلاعات به دست آمده از جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) بیانگر معنی‌دار 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 معنی‌دار 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 میلی‌گرم 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

سولفیدریل دخیل در مسیر بیوسنتز رنگیزه‌ها نسبت داد (شیخ‌زاده و همکاران، ۱۴۰۱). کادمیوم از طریق جایگزینی با اتم منیزیم مرکزی، مولکول کلروفیل را غیرفعال می‌کند. علاوه بر این کادمیوم آنزیم کلروفیل‌از را که آنزیم تجزیه‌کننده کلروفیل است فعال می‌کند و سنتز آنزیم‌های بیوسنتز کلروفیل از جمله ۵- آمینولاولینیک اسید و ترکیب پروتوکلروفیلاید ردوکتاز را کاهش می‌دهد. همچنین، تنش کادمیوم با افزایش میزان گونه‌های فعال اکسیژن در گیاهان موجب کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی می‌شود. گونه‌های فعال اکسیژن به‌عنوان عامل مخرب رنگدانه‌ها و دیگر ماکرومولکول‌های زیستی در گیاهان عمل می‌کنند (Ali et al., 2018). نتایج پژوهشی روی گیاه دارویی ماریتیغال (*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 می‌گیرند در صورت بالا بودن میزان کلروفیل در گیاهان همزیست با قارچ مایکوریزا در مقایسه با گیاهان شاهد، می‌توان به این نتیجه رسید که احتمالاً به‌علت وجود رابطه مثبت بین غلظت فسفر و مقدار کلروفیل کل در



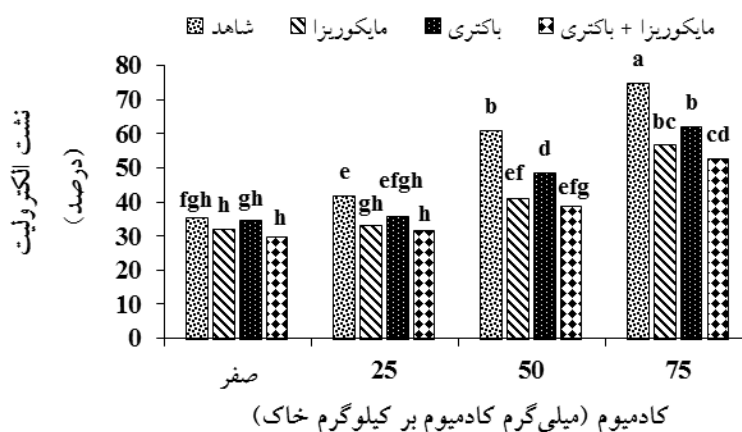
شکل ۶- مقایسه میانگین برهم کنش کادمیوم و کود زیستی برای محتوای نسبی آب برگ. میانگین‌ها با حداقل یک حرف مشترک نشان‌دهنده عدم تفاوت آماری براساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد است.

نشت الکترولیت گاوزبان اروپایی در سطح احتمال خطای یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). با افزایش سطح کادمیوم خاک، نشت الکترولیت به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. با مشاهده نتایج مقایسه میانگین (شکل ۷) بیشترین میزان نشت الکترولیت (۷۴/۹۶ درصد) مربوط به تیمار آلودگی با ۷۵ میلی‌گرم کادمیوم در هر کیلوگرم خاک + شاهد بود. درحالی‌که 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

میزان عرضه نسبی آب برگ و میزان تعرق در برگ را نشان می‌دهد. محتوای نسبی آب برگ، یکی از ویژگی‌های مؤثر در تداوم رشد گیاهان تحت شرایط تنش است و مقدار بالاتر آن، می‌تواند 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 می‌یابد (Gomes et al., 2013). 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 (نورایی و کفیل‌زاده، ۱۳۹۰). در مطالعه مشخص شد محتوای نسبی آب برگ گیاه تاتوره در سطوح ۱۵۰ و ۲۲۵ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم اختلاف معنی‌داری 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 قارچ‌های مایکوریزا باعث کاهش تولید اتیلن شده و با توسعه سامانه ریشه‌ای گیاه، باعث بهبود جذب آب و ظرفیت نگهداری آب در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین می‌شوند (محمدی‌فرد و مقدم، ۱۳۹۹) که در نتیجه موجب بهبود محتوای نسبی آب برگ می‌شوند.

نشت الکترولیت: برهم‌کنش کادمیوم و کودهای زیستی بر



شکل ۷- مقایسه میانگین برهم‌کنش 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 است.

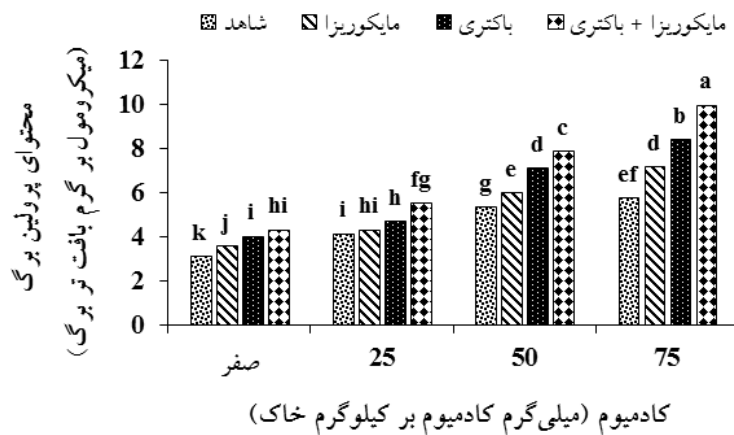
نفوذپذیری غشای پلاسمایی گیاهان میزبان می‌شود (Fattahi *et al.*, 2021).

**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 گاو زبان 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 شد 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 قرارگرفته در معرض تنش فلزات سنگین از جمله کادمیوم موجب کاهش آسیب به غشا و پروتئین‌ها می‌شود. زمانی که گیاهان در معرض تنش‌های غیرزیستی قرار می‌گیرند،

احتمالاً آن هم تغییر در ترکیب و سیالیت چربی‌ها را در پی دارد (Hatata and Adel Abdel-Aal, 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 (محمدری 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 دی‌اکسید کربن (کنترل هدایت روزنه‌ای) سبب پایداری غشای سلول در شرایط تنش (Basak *et al.*, 2024) شده، بنابراین سبب کاهش نشت الکترولیت در گاو زبان 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



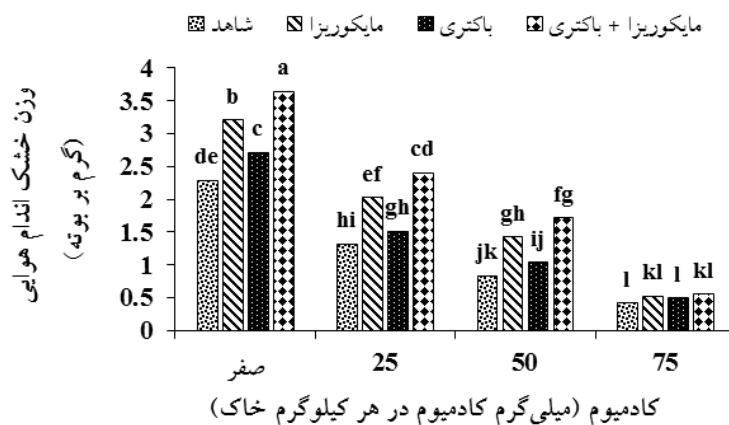
شکل ۸- مقایسه میانگین برهم‌کنش کادمیوم و کود زیستی برای محتوای پروکلین برگ. میانگین‌ها با حداقل یک حرف مشترک نشان‌دهنده عدم تفاوت آماری براساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد است.

افزایش املاح سازگار از جمله پروکلین می‌گردد (محمدی‌فرد و مقدم، ۱۳۹۹).

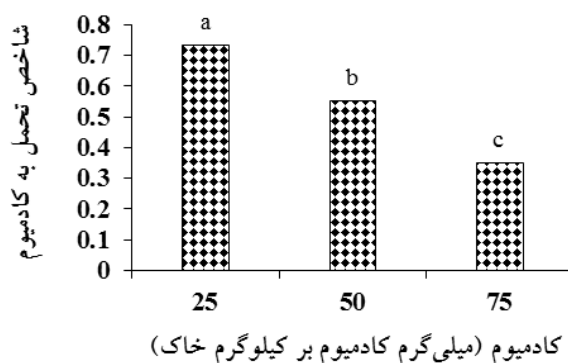
**وزن خشک اندام هوایی در بوته:** نتایج تجزیه واریانس نشان از معنی‌داری اثر کادمیوم و کودهای زیستی و برهم‌کنش آن‌ها بر وزن خشک اندام هوایی گاو زبان اروپایی در سطح احتمال خطای یک درصد دارد (جدول ۲). تنش کادمیوم موجب کاهش وزن خشک اندام هوایی در گاو زبان اروپایی شد و کاربرد کودهای زیستی به‌صورت تلفیقی نیز 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 مرستمی جلوگیری می‌کند. کاهش در وزن ممکن است در ارتباط با سمیت کلرید کادمیوم باشد. بدین صورت که این ماده سمی می‌تواند مکانیسم‌های فیزیولوژیکی نرمال را مختل کرده و در نهایت از این طریق اثرات منفی بر زیست‌توده داشته باشد (Shah et al., 2008). کاهش وزن خشک به جهت اختلال در فرآیند فتوسنتز، تنفس و متابولیسم نیتروژن در اثر غلظت‌های

میزان پروکلین 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 پروکلین و مقدار پاداکساینده بافت وجود دارد؛ به‌طوری‌که مقدار رادیکال آزاد در نتیجه تنش‌های مختلف افزایش می‌یابد و باعث تجمع پروکلین در بافت گیاهی می‌شود (Zhang et al., 2009). در آزمایشی بر گیاه گاو زبان اروپایی مشخص گردید تحت تنش کادمیوم مقدار پروکلین گیاهچه‌ها با افزایش غلظت کادمیوم به‌طور معناداری افزایش یافت؛ به‌طوری‌که بیشترین میانگین محتوای پروکلین 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 (محمدی 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 پروکلین تولیدی در برگ را در پی داشته باشد. برخی از محققین بر این باورند که مایکوزیزا باعث افزایش پروکلین 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



شکل ۹- مقایسه میانگین برهم کنش 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 است.



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 است.

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

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

<sup>ns</sup> و <sup>\*\*</sup> به ترتیب عدم وجود اختلاف معنی‌دار و معنی‌داری در سطح احتمال خطای ۱ درصد

غلظت بالای کادمیوم موجب کاهش وزن خشک نسبت به گیاه شاهد در تمام تیمارها به جز تیمار ۲ میلی مولار شد. به طوری که

سمی کادمیوم رخ می‌دهد (Shanker et al., 2005). مطالعه آقایی و همکاران (۱۳۹۸) بر گیاه ریحان نشان داد که تنش

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 میلی‌گرم کادمیوم در هر کیلوگرم خاک از تحمل بیشتری برخوردار بود.

### نتیجه‌گیری

براساس نتایج این آزمایش مشخص شد 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 مایکوریزا آربوسکولار و باکتری شرایط را برای گیاه مساعدتر کرد. اثر تنش کادمیوم نشان‌دهنده اثر منفی کادمیوم بر درصد کلونیزاسیون ریشه بود اما کاربرد کودهای زیستی با توجه به اثرات مثبتی مانند تولید انواع آنزیم‌های تجزیه‌کننده مواد آلی و تعاملات مثبت با میکروب‌های دیگر موجب بهبود شرایط برای ریزجانداران می‌شوند 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 کم‌تر از یک بود این گیاه جز گیاهان حذف‌کننده کادمیوم می‌باشد. وجود کودهای زیستی سبب کاهش جذب این عناصر توسط گیاه و انباشتگی آن‌ها در اندام هوایی شده است. براساس نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر می‌توان 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 می‌توان از شدت خسارت‌های وارده کم کرد.

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 تأثیر قرار گیرد. مواد تنظیم‌کننده رشد مانند اکسین، اتیلن و سیتوکنین به عنوان یکی از فاکتورهای متغیر محیطی می‌تواند تغییراتی در ویژگی مورفولوژیک ریشه ایجاد کند. 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 (عباسی و همکاران، ۱۳۹۷). در بررسی اثر قارچ‌های مایکوریزا روی گیاه نخودفرنگی در خاک‌های آلوده به عنصر کادمیوم پژوهشگران نشان دادند که با افزایش کادمیوم در خاک، زیست‌توده و رشد ریشه گیاه کاهش یافت ولی در حضور قارچ‌های مایکوریزا فلز کادمیوم نتوانست اثر منفی معنی‌داری بر زیست‌توده گیاه داشته باشد (Becerril *et al.*, 2002). افزایش وزن خشک گیاهان مایکوریزایی را می‌توان به توان بالای جذب و انتقال عناصر غذایی نظیر فسفر به کمک هیف‌های بیرونی قارچ نسبت داد (Jankong and Visoottiviseth, 2008).

**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 معنی‌دار شد، اما اثر اصلی کودهای زیستی و برهم‌کنش آن‌ها معنی‌دار نشد. با افزایش سطوح کادمیوم از شاخص تحمل کاسته شد. بیشترین شاخص تحمل با میانگین ۰/۷۳ از سطح ۲۵ میلی‌گرم کادمیوم در هر کیلوگرم خاک حاصل شد که با سطوح ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم 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 (Stress

### منابع

اصغری، محسن، معصومی زواریان، ابوالفضل، و یوسفی‌راد، مجتبی (۱۳۹۹). بررسی اثر سدیم نیتروپروساید در کاهش سمیت ناشی از کادمیوم در گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.). *تنش‌های محیطی در علوم زراعی*، ۱۳(۳)، ۱۰۱۸-۱۰۰۹.



<https://doi.org/10.22077/escs.2020.2272.1582>

آقای، کیوان، راه‌خسروانی، بهاره، مغانلو، لیلا، و قطبی، علی‌اکبر (۱۳۹۸). بررسی اثر تجمع کادمیوم بر برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی در گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.). فرآیند و کارکرد گیاهی، ۸(۳۳)، ۱۰۷-۱۲۲.

پورتریزی، ثریا، پورسیدی، شهرام، عبدالشاهی، روح‌اله، و نادرزاده، نازی (۱۳۹۷). تأثیر تنش فلز کادمیوم بر برخی صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه دارویی ماریتیغال. فرآیند و کارکرد گیاهی، ۷(۲۶)، ۱۸۷-۱۹۷.

جعفرحدادیان، الهام، ذوفن، پرژک، و شفیع، محمد (۱۳۹۹). اثر کلرید سدیم روی تعدیل تنش کادمیوم، سیستم آنتی‌اکسیدانی و جذب و تجمع کادمیوم در گیاه پنیرک. زیست‌شناسی گیاهی ایران، ۱۲(۴۶)، ۵۹-۷۶.

<http://doi.org/10.22108/IJPB.2021.122156.1204>

رستمی، رامین، دانشور، ماشالله، اسماعیلی، احمد، و زاهدی، مرتضی (۱۳۹۸). تأثیر قارچ مایکوریزا بر پارامترهای رشدی و فیزیولوژیکی آفتابگردان و گلرنگ تحت تنش کادمیوم. فرآیند و کارکرد گیاهی، ۸(۳۰)، ۱۹۵-۲۰۵.

شیخ‌زاده، پریسا، زارع، ناصر، و ابوطالبی، شهربانو (۱۴۰۱). تأثیر تنش کادمیوم بر رنگیزه‌های فتوسنتزی و متابولیت‌های ثانویه گاوزبان اروپایی (*Brago officinalis* L.). تنش‌های محیطی در علوم زراعی، ۱۵(۴)، ۱۱۴۵-۱۱۶۰.

<https://doi.org/10.22077/escs.2021.4245.1996>

شیرخانی، زهره، چهرگانی‌راد، عبدالکریم، غلامی، منصور، و محسن‌زاده، فریبا (۱۳۹۸). پاسخ‌های مرفولوژیکی و فیزیولوژیکی تاتوره (*Datura stramonium* L.) به سمیت کادمیوم. فرآیند و کارکرد گیاهی، ۸(۲۲)، ۱۲۱-۱۳۵.

صارمی‌راد، بابک، اسفندیاری، عزت‌اله، شکرپور، مجید، سفالیان، امید، آوانس، آرمن، و موسوی، سید بهمن (۱۳۹۳). اثر کادمیوم روی برخی از ویژگی‌های ریخت‌شناسی و فیزیولوژیکی گندم در مرحله گیاهچه‌ای. مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی

ایران)، ۲۷(۱)، ۱-۱۱. <http://doi.org/20.1001.1.23832592.1393.27.1.1.9>

عباسی، امین، صیادی آذر، زهرا، شکاری، فریبرز، و جوانمرد، عبدالله (۱۳۹۷). تأثیر کودهای زیستی و شیمیایی بر تغییرات هورمونی و جذب عناصر غذایی سورگوم تحت دوره‌های مختلف آبیاری. پژوهش‌های تولید گیاهی (علوم کشاورزی و منابع طبیعی)، ۲۵(۴)،

<https://sid.ir/paper/155858/fa> ۸۵-۹۹

محمدی‌فرد، فریبا، و مقدم، محمد (۱۳۹۹). تأثیر مایه‌زنی قارچ‌های مایکوریزا بر ویژگی‌های رشدی، پایداری غشاء، محتوای نسبی آب برگ و جذب عناصر گشیز تحت تنش کادمیوم. نشریه زیست‌شناسی خاک، ۸(۱)، ۲۵-۴۰.

<http://doi.org/10.22092/SBJ.2020.121882>

محمودی، فاطمه، شیخ‌زاده مصدق، پریسا، زارع، ناصر، و اسماعیل‌پور، بهروز (۱۳۹۸). بهبود جوانه‌زنی بذر، رشد و ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی (*Brago officinalis* L.). در شرایط تنش کادمیوم با استفاده از پیش‌تیمار بذر.

<http://doi.org/10.22108/IJPB.2019.111889.1104> ۲۳-۴۲، ۱۱(۳۹)، ۲۳-۴۲.

مرزبان، زهرا، عامریان، محمدرضا، و ممرآبادی، مجتبی (۱۳۹۳). بررسی خصوصیات ریشه و شاخص کلونی‌زایی لوبیا چشم‌بلبلی (*Vigna unguiculata* L.) و ذرت (*Zea mays* L.) تحت مصرف باکتری مزوزیویوم و قارچ آربوسکولار مایکوریزا در کشت

مخلوط. نشریه مدیریت خاک و تولید پایدار، ۲(۴)، ۱۸۵-۱۶۹. <http://doi.org/20.1001.1.23221267.1393.4.2.9.5>

نورایی، حمید، و کفیل‌زاده، فرشید (۱۳۹۰). تأثیر سمیت کادمیوم بر رشد، قندهای محلول، رنگیزه‌های فتوسنتزی و برخی آنزیم‌ها در گلرنگ. مجله زیست‌شناسی ایران، ۱۰(۲۴)، ۸۵۸-۸۶۷.

وطن‌پور، زهرا، متفکر آزاد، روح‌اله، جهانبخش، سدا، موافقی، علی، و سبزی، محسن (۱۴۰۰). بررسی تأثیر کاربرد باکتری‌های ازتوباکتر کروکوکوم و سودوموناس پوتیدا بر رنگیزه‌های فتوسنتزی و عملکرد گندم در شرایط تنش کادمیوم. تنش‌های محیطی در

<https://doi.org/10.22077/escs.2020.3512.1869> .۱۱۴۷-۱۱۶۱، (۴)۱۴، علوم زراعی،

- 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>
- Basak, H., Mesut Cimrin, K., & Turan, M. (2024). Effects of mycorrhiza on plant nutrition, enzyme activities and lipid peroxidation in pepper grown under salinity stress. *Journal Agricultural Science and Technology*, 26(2), 359-369.
- Basar, S. N., Rani, S., Farah, S. A., & Zaman, R. (2013). Review on *Borago officinalis*: A wonder herb. *International Journal of Biological and 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.
- Fattahi, M., Mohammadkhani, A., Shiran, B., Baninasab, B., Ravash, R., & Gogorcena, Y. (2021). Beneficial effect of mycorrhiza on nutritional uptake and oxidative balance in pistachio (*Pistacia* spp.) rootstocks submitted to drought and salinity stress. *Scientia Horticulturae*, 281, 109937. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.109937>
- 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.
- Hu, J., Wang, H., Wu, F., Wu, S., Cao, Z., Lin, X., & Wong, M. H. (2014). Arbuscular mycorrhizal fungi influence the accumulation and partitioning of Cd and P in bashfulgrass (*Mimosa pudica* L.) grown on a moderately Cd - contaminated soil. *Applied Soil Ecology*, 73, 51-57.
- 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., Savaghebi-Firoozabadi, G. R., Mirseyed Hosseini, H., & 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 méthode dosage Labrie dans les plantes. *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>
- Vierheilig, H., Coughlan, A. P., Wyss, U. R. S., & Piche, Y. (1998). Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(12), 5004-5007.
- 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

Parisa sabeti<sup>1</sup>, Alireza Yadavi<sup>1\*</sup>, Amin Salehi<sup>1</sup>, Reza Naghiha<sup>2</sup> and Fatemeh Ebrahimi<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Yasouj, Yasouj, Iran

<sup>2</sup> Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Yasouj, Yasouj, Iran

(Received: 2023/09/03, Accepted: 2023/12/18)

### 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 bio-fertilizers 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

Corresponding author, Email: Yadavi@yu.ac.ir