

تأثیر بسترهای مختلف کاشت بر صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی لوبیا چیتی (*Phaseolus vulgaris* L.) تحت تنش فلزات سنگین

حمیدرضا بلوچی*، فاطمه امینی، محسن موحدی دهنوی و محمود عطارزاده

گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۱/۱۰، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۵/۰۵/۰۶)

چکیده:

آلودگی فلزات سنگین در خاک یک مشکل گسترده جهانی است. یک رویکرد برای کاهش تجمع فلزات سنگین در گیاهان استفاده از بسترهای مختلف کاشت است. به منظور بررسی تأثیر ترکیبات مختلف بستر کاشت و فلزات سنگین بر صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی لوبیا چیتی (رقم صدری) آزمایشی اجرا گردید. عامل اول شامل چهار نوع نمک فلزات سنگین شامل نترات کادمیوم، نترات سرب، نترات نیکل و سولفات مس با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک و یک تیمار شاهد بدون فلز و عامل دوم شامل بسترهای مختلف کاشت در چهار سطح (شاهد (خاک زراعی)، کمپوست، ورمی‌کمپوست و خاک‌اره سپیدار) بود. نتایج نشان داد فلزات سنگین، سرعت فتوسنتز را نسبت به شاهد کاهش و سبب افزایش نشت یونی، پرولین، قند محلول و مالون‌دی‌آلدهید گردید. استفاده از ورمی‌کمپوست با بهبود وضعیت و ساختار فیزیکی و شیمیایی خاک منجر به افزایش محتوای کلروفیل، کارایی مصرف آب لحظه‌ای، هدایت روزنه‌ای، سرعت فتوسنتز و قند محلول برگ و همچنین کاهش نشت الکترولیت‌ها لوبیا چیتی شد. در نتیجه تا حدودی می‌تواند نقش مثبتی را در تعدیل اثرات تنش فلزات سنگین بر صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی لوبیا چیتی ایفا کند.

واژگان کلیدی: پرولین، کلروفیل، کمپوست، نیکل، ورمی‌کمپوست.

مقدمه:

با تجمع در دیواره سلول، ورود به سیتوپلاسم و ایجاد اختلال در متابولیسم طبیعی سلول منجر به کاهش رشد می‌شوند (Yadav, 2010). انباشته شدن فلزات سنگین در محیط ریشه سبب کاهش جذب آب و عناصر غذایی، مهار فعالیت آنزیم‌ها، کاهش متابولیسم سلولی، کاهش فتوسنتز، کاهش جذب و در نتیجه مهار رشد، تسریع پیری و حتی مرگ گیاه می‌شود (Countrey, 2006). فلزات سنگین به وسیله مهار آنزیم‌های گاما آمینو لوالونیک اسید دهیدروژناز و پروتوکلروفیلد ردوکتاز سبب مهار بیوسنتز کلروفیل می‌شوند. این فلزات سنتز گاما

فلزات سنگین از آلاینده‌های مهم زیست محیطی به شمار می‌روند که سلامت انسان و محیط زیست را بطور جدی تهدید می‌کند (Abioye et al., 2013). با اینکه فلزات سنگین عناصر ضروری برای گیاهان نیستند، اما به راحتی می‌تواند توسط گیاهان جذب شود. تجمع بیش از اندازه فلزات سنگین در بیشتر گیاهان موجب بروز سمیت در گیاه شده که در صورت زیاد بودن غلظت فلزات سنگین صدمات متابولیسمی گیاه را در پی دارد (Hadi and Aziz, 2015). فلزات سنگین

* نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: balouchi@yu.ac.ir

مطالعات و تحقیقات گیاه پالایی مورد توجه قرار گرفته‌اند. همچنین لوبیا بیشتر از دانه آن استفاده شده و از ساقه و برگ و ریشه آن کمتر استفاده می‌گردد لذا با توجه به جذب بیشتر فلزات سنگین در اندام رویشی و عدم جذب بالا توسط دانه این گیاه انتخاب گردید. همچنین استفاده از فلزات سنگین مختلف که در ساختار گیاه نقش دارند و آنهایی که نقش نداشته یا سمی هستند نیز بر تفاوت اثر آنها در مطالعه مفید واقع می‌شود. لوبیا صدی اولین رقم لوبیا چیتی دانه درشت در ایران است که علاوه بر دارا بودن خصوصیات رقم محلی خمین، از نظر عملکرد، رنگ دانه، فرم بوته، بازار پسندی و اجزای عملکرد نسبت به رقم خمین برتر است. لاین G- 14088 معروف به رقم صدی در سال ۱۳۶۷ به همراه ۶۰ لاین دیگر از مرکز تحقیقات بین المللی گیاهان حاره (CIAT) وارد ایران شد و در آزمایش‌های مختلف مقایسه عملکرد که در ایستگاه تحقیقاتی خمین اجرا شد، بررسی و عملکرد دانه بیشتری در مقایسه با سایر ارقام تولید کرد (بیضایی و همکاران، ۱۳۹۱). از آنجایی که تنش فلزات سنگین عامل محدود کننده‌ای برای بسیاری از گیاهان زراعی محسوب می‌شود، از سوی دیگر با توجه به گزارش‌هایی مبنی بر اثرات مثبت ترکیبات بستر کاشت در کاهش سمیت فلزات سنگین، هدف از پژوهش حاضر بررسی خصوصیات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک گیاه لوبیا چیتی در ارتباط با تأثیر ترکیبات بستر کاشت در شرایط حضور نمک‌های فلزات سنگین کادمیوم، سرب، نیکل و مس می‌باشد.

مواد و روش‌ها:

این پژوهش به منظور بررسی تأثیر فلزات سنگین مختلف و ترکیبات مختلف بستر کاشت بر صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی لوبیا چیتی رقم صدی در سال ۱۳۹۲ در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه یاسوج اجرا گردید. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار و دو گیاه در هر گلدان اجرا گردید. فاکتور اول آزمایش شامل چهار نوع فلزات سنگین شامل نیترات کادمیوم، نیترات

آمینو لوالونیک اسید و تشکیل کمپلکس آنزیم پرتوکولر فیلد ردوکتاز با سوبسترا را مهار می‌کنند. برهمکنش متقابل فلز سنگین با گروه سولفیدریل آنزیم‌ها مهم‌ترین مکانیسم این مهارها عنوان شده است (خطیب و همکاران، ۱۳۸۷). از اثرات دیگر فلزات سنگین بر بیوستتز کلروفیل می‌توان به جانشین شدن آنها به جای منیزیوم مرکزی کلروفیل اشاره کرد که این جانشینی سبب کاهش دریافت نور به وسیله کلروفیل و منجر به کاهش فتوسنتز می‌شود (Sharma and Dubey, 2005).

اضافه کردن مواد آلی به خاک جهت رفع سمیت فلزات سنگین یکی از روش‌های اصولی و مطمئن است. ترکیبات آلی خاک می‌تواند کربن محلول در خاک را افزایش دهد (Hanc et al., 2009). این امر به این علت است که خود مواد آلی به عنوان منبع کربن عمل می‌کنند. کربن آلی محلول با فلزات کمپلکس فلز-کربن را تشکیل می‌دهد که از قابلیت جذب آن توسط گیاهان و حتی ریز جانداران می‌کاهد (Han and Lee, 1996). به‌طور معمول یکی از علل افزایش رشد و فعالیت‌های گیاهان در خاک آلوده به عناصر سنگین بر اثر افزودن مواد آلی، افزایش کربن آلی کل و کربن آلی محلول است که سبب ایجاد محیطی مناسب جهت رشد گیاه می‌شوند (Hanc et al., 2009). از سوی دیگر محصولات جانبی کشاورزی از جمله ورمی‌کمپوست به دلیل هزینه کم و فراوانی زیاد آن‌ها و به علت دارا بودن گروه‌های عامل از قبیل هیدروکسیل، کربوکسیل و فنل و میل ترکیبی قوی با فلزات سنگین، از بین جاذب‌های مختلف برای حذف فلزات سنگین مناسب‌تر می‌باشند (Jadia and Fulekar, 2008). Park و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که کاربرد کمپوست، کادمیوم قابل تبادل را حدود ۷۰٪ کاهش داد و بر کاهش مسمومیت گیاهی نیز مؤثر بود.

لوبیا یکی از پر مصرف‌ترین مواد غذایی کشت شده در جهان می‌باشد که از نظر میزان پروتئین، نشاسته و فیبر غنی بوده و منبعی سرشار از آهن، پتاسیم، سلنیوم، مولیبدن، تیامین و اسید فولیک می‌باشد. از آنجایی که بقولات به راحتی در اراضی غیر حاصلخیز مستقر می‌شوند به همین دلیل در

جدول ۱- غلظت فلزات سنگین در خاک و ترکیبات بستر کاشت مورد آزمایش

ترکیبات بستر کاشت	کادمیوم	سرب	نیکل	مس
	(میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک خاک)			
خاک زراعی	۲/۱۸	۲۹/۷۴	۷۰/۳۰	۱/۹۷
ورمی‌کمپوست	۸/۸۳	۳۱/۶۸	۳۸/۳۷	۳/۰۰
کمپوست	۶/۹۰	۳۴/۵۱	۲۲/۶۰	۱۰/۰۰
خاک‌اره	۲/۱۰	۲/۴۰	۱/۲۰	۱/۶۰

مرحله ۵۰٪ گلدهی انجام گرفت. جهت اندازه‌گیری میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل با نمونه‌گیری تصادفی از جوان‌ترین برگ‌های بالغ نزدیک به غلاف روی ساقه اصلی و عصاره‌گیری با استون صورت گرفت. میزان جذب نور عصاره تهیه شده از نمونه‌ها در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل Lambda EZ 20 ساخت شرکت پرکین المر آمریکا قرائت شد و در نهایت غلظت کلروفیل a، b و کلروفیل کل با استفاده از معادله ۱، ۲ و ۳ بر اساس میلی‌گرم بر گرم وزن تازه برگ محاسبه گردید (Arnon, 1949).

(1):

$$a \text{ کلروفیل} = [12.7(D663) - 2.69(D645)] \times [V/1000 \times W]$$

(2):

$$b \text{ کلروفیل} = [22.9(D645) - 4.68(D663)] \times [V/1000 \times W]$$

(3):

$$[\text{کلروفیل کل}] = [(0.00802 \times OD645) - (0.02021 \times OD663)] \times [V/W \times 1000]$$

اندازه‌گیری خصوصیات فتوسنتزی شامل سرعت فتوسنتز، تعرق، هدایت روزنه‌ای، میزان دی‌اکسیدکربن زیر روزنه‌ای و کارایی مصرف آب لحظه‌ای با استفاده از دستگاه فتوسنتز متر مدل LCA4-002, BioScientific Ltd, Hoddesdon, UK در مرحله‌ی ۵۰ درصد گلدهی گیاه لوبیا چیتی انجام گرفت. اندازه‌گیری مؤلفه‌های پارامترهای فتوسنتزی روی جوان‌ترین برگ کاملاً باز شده و بین ساعت ۱۰ صبح تا ۱۴ ظهر انجام گرفت. اندازه‌گیری نشت الکتروولت‌ها با استفاده از روش Beltrano و Ranco (۲۰۰۸) انجام شد. این روش بر اساس میزان نفوذپذیری غشاء می‌باشد به طوری که نشت الکتروولت بیشتری از سلول‌های بافت برگی آسیب دیده توسط تنش در

سرب، نیترات نیکل و سولفات مس هر یک با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و یک سطح شاهد بدون فلز و فاکتور دوم شامل ترکیب‌های مختلف بستر کاشت با چهار ترکیب (شاهد (خاک زراعی)، کمپوست، ورمی‌کمپوست و خاک‌اره) بود. غلظت فلزات سنگین در خاک و ترکیبات آلی قبل از اعمال تیمارهای فلزات سنگین در آزمایشگاه آب و خاک استان فارس اندازه‌گیری شد که در جدول ۱ آورده شده است.

ابتدا خاک و شن را برای ایجاد یکنواختی اندازه بافت از الک نیم سانتی‌متری عبور داده و آن‌ها را به ترتیب به نسبت چهار به یک مخلوط کرده و سپس ترکیب‌های آلی خاک با نسبت پنج درصد وزنی (بر مبنای وزن پایه خشک) به طور دستی با خاک هر گلدان مخلوط شد (Angelova et al., 2010). در مرحله‌ی بعد فلزات سنگین نیترات کادمیوم، نیترات سرب، نیترات نیکل و سولفات مس با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک توسط افشانه به خاک‌های تقویت شده (با کودها و خاک‌اره سپیدار) اضافه شد (Jadia and Fulekar, 2008). سپس گلدان‌های کشت با هفت کیلوگرم از خاک فوق پر گردید. بعد از گذشت یک ماه (به دلیل یکنواخت شدن فلز سنگین با خاک) کاشت صورت گرفت. لازم به ذکر است که قبل از کاشت ۰/۳ گرم کود فسفات آمونیوم در لایه‌ی یک سانتی‌متری زیر بذر قرار داده شد (معادل ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار) و ۰/۵ گرم کود اوره (معادل ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار) همراه با اولین آب آبیاری و ۰/۵ گرم دیگر کود اوره (معادل ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار) نیز به صورت سرک طی مرحله گلدهی همراه با آب آبیاری اضافه گردید. نمونه‌برداری در

نتایج و بحث:

محتوای کلروفیل: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که نوع خاک و فلزات سنگین در سطح احتمال یک درصد و برهم‌کنش آن‌ها بر میزان کلروفیل، سرعت فتوسنتز و تعرق در سطح احتمال پنج درصد و بر کارایی مصرف آب لحظه‌ای در سطح احتمال یک درصد دارای اختلاف آماری معنی‌دار بود (جدول ۲).

مقایسه میانگین نشان داد که در تیمار شاهد (فاقد فلز سنگین) بیشترین میزان کلروفیل a در سطح بدون کاربرد ترکیبات آلی و کمترین مقدار این صفت در تیمار خاکاره بود. همچنین سطح‌های بدون کاربرد ترکیبات آلی، کمپوست و ورمی‌کمپوست با یکدیگر فاقد اختلاف معنی‌دار بودند؛ اما تنها سطح بدون کاربرد ترکیبات آلی با سطح خاکاره تفاوت آماری معنی‌داری داشت (جدول ۳). کاربرد ورمی‌کمپوست میزان کلروفیل a را در شرایط حضور نیترا کادمیوم نسبت به کاربرد خاکاره افزایش معنی‌داری داد، اما نسبت به بدون کاربرد ترکیبات آلی و کمپوست فاقد اختلاف معنی‌دار بود. در تیمار نیترا نیکل و سولفات مس نیز بیشترین میزان کلروفیل a در ورمی‌کمپوست و کمترین مقدار این صفت در سطح خاکاره بود. کاربرد خاکاره با کمپوست از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نداشت.

در تیمار شاهد (فاقد فلز سنگین) بیشترین میزان کلروفیل b مربوط به کاربرد کمپوست و کمترین مقدار این صفت در سطح بدون کاربرد ترکیبات آلی بود. در سطح فوق کاربرد کمپوست و ورمی‌کمپوست با یکدیگر فاقد اختلاف آماری معنی‌دار بودند؛ اما با سطح‌های کاربرد خاکاره و بدون کاربرد ترکیبات آلی تفاوت آماری معنی‌داری داشتند. در تیمار نیترا کادمیوم، میزان کلروفیل b در ورمی‌کمپوست نسبت به کاربرد خاکاره ۱۰۰ درصد و نسبت به خاک زراعی ۲۷ درصد افزایش نشان داد که نسبت به تیمار خاک زراعی و کمپوست فاقد اختلاف معنی‌داری بود (جدول ۳). در سطح نیترا نیکل و سولفات مس نیز بیشترین میزان کلروفیل b مربوط به کاربرد کمپوست و کمترین مقدار این صفت در کاربرد

مقایسه با بافت برگی گیاهان شاهد وجود دارد. میزان مالون‌دی‌آلدهید به عنوان فراورده نهایی پراکسیداسیون غشا با استفاده از روش Heath و Packer (۱۹۶۸) و با عصاره‌گیری از نمونه‌های منجمد برگ به میزان ۰/۲ گرم در ۳ میلی‌لیتر TCA (تری‌کلرواستیک‌اسید) ۱۰٪ شروع گردید. سپس به یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون صاف شده ۱ میلی‌لیتر TBA (تیوباری‌توریک‌اسید) ۰/۵٪ اضافه شد و در حمام آب‌گرم در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفت پس از سرد شدن میزان MDA با اندازه‌گیری جذب در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر و با استفاده از ضریب خاموشی ($\mu\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 155) محاسبه شد. اندازه‌گیری محتوای پرولین برگ به روش Paquine و Lechasseur (۱۹۷۹) و قند محلول با روش Irigoyen و همکاران (۱۹۹۲) با استفاده از عصاره الکلی از ۰/۵ گرم نمونه تازه برگ توسعه یافته انجام شد. بدین منظور بعد از اضافه کردن ۵ میلی‌لیتر ناین‌هیدرین و ۵ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال (۹۹.۹٪) به هر نمونه آنها به مدت ۴۵ دقیقه داخل حمام آب جوش (بن ماری) قرار داده شدند. سپس به هر نمونه ۱۰ میلی‌لیتر بنزن اضافه و به شدت تکان داده شد تا پرولین وارد فاز بنزن گردد. در نهایت میزان جذب نور نمونه‌ها در طول موج ۵۱۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید و غلظت پرولین به کمک منحنی کالیبراسیون استاندارد آن بر اساس میکرومول بر گرم وزن تر برگ مشخص گردید. جهت اندازه‌گیری قند محلول، به ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره الکلی ۳ میلی‌لیتر آنترون اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب‌جوش قرار داده شد. در نهایت میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۲۵ نانومتر قرائت گردید. سپس منحنی کالیبراسیون با استفاده از استاندارد گلوکز رسم و میزان قندهای محلول نمونه‌ها بر اساس میلی‌گرم در هر گرم وزن‌تر برگ محاسبه گردید.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS صورت پذیرفت و برای صفاتی که اثر متقابل آن‌ها معنی‌دار گردید، برش‌دهی و مقایسه میانگین‌ها با رویه L.S.Means در سطح احتمال پنج درصد انجام گرفت.

جدول ۲- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس صفات محتوای کلروفیل، سرعت فتوسنتز، تعرق و کارایی مصرف آب لحظه‌ای در لوبیا چیتی تحت تأثیر تنش فلزات سنگین و نوع خاک

منابع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	سرعت فتوسنتز	تعرق	کارایی مصرف آب لحظه‌ای
نوع خاک	۳	۱/۵۰**	۱/۳۴**	۵/۱۶**	۱۸/۵۹**	۴/۶۹**	۴/۹۹**
فلزات سنگین	۴	۰/۸۴**	۰/۴۷**	۱/۷۱**	۲۷/۹۴**	۰/۴۱*	۴/۴۹**
فلزات سنگین × نوع خاک	۱۲	۰/۲۹*	۰/۱۷*	۰/۴۲*	۲/۴۹*	۰/۶۳**	۱/۲۱**
اشتباه آزمایشی	۴۰	۰/۱۳	۰/۰۷	۰/۱۵	۰/۹۷	۰/۰۹	۰/۲۳
ضریب تغییرات %	-	۱۵/۷۱	۲۴/۵۵	۱۱/۳۳	۲۴/۵۳	۱۹/۶۰	۱۷/۱۴

n.s, * و ** به ترتیب عدم وجود اختلاف معنی‌دار، معنی‌دار در سطوح پنج و یک درصد را نشان می‌دهند.

(رضوانی مقدم و همکاران، ۱۳۹۳)، در نتیجه سبب افزایش میزان کلروفیل شده است. مقدار کلروفیل و رنگدانه‌های فتوسنتزی از مهمترین عوامل موثر در ظرفیت فتوسنتزی گیاهان هستند، زیرا بطور مستقیم بر سرعت و میزان فتوسنتز و در نهایت تولید زیست توده موثر هستند. میزان کلروفیل در گیاه به قابلیت دسترسی به نیتروژن خاک و توانایی جذب نیتروژن توسط گیاه بستگی دارد. نیتروژن علاوه بر شرکت در سنتز پروتئین در ساختمان کلروفیل نقش دارد (Saijeen et al., 2009). از سوی دیگر تمام تیمارهای فلزات سنگین میزان محتوای کلروفیل را نسبت به تیمار شاهد (فاقد فلز سنگین) کاهش دادند. اما خاک اره با توجه به میزان نیتروژن کمی که دارد تأثیر چندانی بر میزان کلروفیل نخواهد داشت. Irfan و همکاران (۲۰۱۳) بیان داشتند کادمیوم به دستگاه‌های فتوسنتزی به ویژه به مجموعه‌ی برداشت نوری فتوسیستم I و II آسیب می‌رساند. کادمیوم در ساخت کلروفیل، نسبت کلروفیل a به b، در سیستم برداشت نوری (LHCII) II، هیدرولیز آب در مراحل ابتدایی واکنش‌های نوری، تنفس نوری غیر چرخه‌ای و تثبیت کربن در چرخه کالوین اختلال ایجاد می‌کند (Orcut and Nilsen, 2000).

سرعت فتوسنتز: در تیمار شاهد (فاقد فلز سنگین)، بیشترین میزان سرعت فتوسنتز مربوط به کاربرد ورمی‌کمپوست

خاک‌اره بدست آمد. همچنین بین کاربرد خاک‌اره و سطح بدون کاربرد ترکیبات آلی از نظر آماری تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. (جدول ۳).

در تیمار شاهد (فاقد فلز سنگین) و نیترات کادمیوم، کمترین مقدار این صفت مربوط به کاربرد خاک‌اره بدست آمد. در سطح فوق سطح‌های بدون کاربرد ترکیبات آلی، کمپوست و ورمی‌کمپوست با یکدیگر فاقد اختلاف آماری معنی‌دار بودند (جدول ۳). در تیمار نیترات نیکل نیز بیشترین میزان کلروفیل کل مربوط به کاربرد ورمی‌کمپوست و کمترین مقدار این صفت در کاربرد خاک‌اره بود. در سولفات مس، بیشترین میزان کلروفیل کل مربوط به کاربرد کمپوست و کمترین مقدار این صفت در کاربرد خاک‌اره مشاهده شد و کاربرد ورمی‌کمپوست و کمپوست با یکدیگر از نظر آماری تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند؛ هرچند که کاربرد خاک‌اره با عدم کاربرد ترکیبات آلی از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نداشت.

نتایج بدست آمده در این پژوهش نشان می‌دهد که استفاده از کود کمپوست و ورمی‌کمپوست در تیمارهای مختلف تنش فلزات سنگین سبب افزایش میزان کلروفیل a، b و کل لوبیا چیتی گردیده است، به طوری که بیشترین میزان کلروفیل a، b و کل در ترکیبات آلی کمپوست و ورمی‌کمپوست بدست آمد. با توجه به اینکه ارتباط مستقیمی بین نیتروژن و کلروفیل وجود دارد و کودهای آلی به تدریج نیتروژن آزاد می‌کنند

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر نوع خاک در هر سطح از فلزات سنگین برای صفات محتوای کلروفیل، سرعت فتوسنتز، تعرق و کارایی مصرف آب لحظه‌ای در لوبیا چیتی

کارایی مصرف آب لحظه‌ای	تعرق	سرعت فتوسنتز	کلروفیل کل	کلروفیل b	کلروفیل a	نوع خاک	فلزات سنگین
(میکرومول بر مول آب مصرفی)	(مول بر مترمربع بر ثانیه)	(میکرومول بر مترمربع بر ثانیه)	(میلی‌گرم در گرم تر برگ)				
۳/۳۹ ^b	۱/۴۱ ^a	۴/۷۹ ^b	۴/۱۵ ^a	۱/۰۴ ^b	۳/۱۱ ^a	خاک زراعی	شاهد (فاقد فلز سنگین)
۳/۱۵ ^b	۱/۴۷ ^a	۵/۵۵ ^b	۴/۷۵ ^a	۱/۹۲ ^a	۲/۸۳ ^{ab}	کمپوست	
۵/۰۰ ^a	۱/۹۴ ^a	۸/۵۵ ^a	۴/۲۴ ^a	۱/۸۹ ^a	۲/۳۵ ^{ab}	ورمی کمپوست	
۳/۷۴ ^b	۱/۶۷ ^a	۵/۹۶ ^b	۳/۱۳ ^b	۱/۰۵ ^b	۲/۰۸ ^b	خاک‌اره	
۳/۸۲	۱/۶۲	۶/۲۱	۴/۰۶	۱/۴۷	۲/۵۹	میانگین	
۲/۷۰ ^a	۱/۴۸ ^b	۴/۰۱ ^a	۳/۲۱ ^a	۱/۰۳ ^a	۲/۱۷ ^a	خاک زراعی	نیترات کادمیوم
۲/۹۳ ^a	۱/۳۴ ^b	۲/۷۴ ^b	۳/۴۹ ^a	۱/۱۸ ^a	۲/۳۰ ^a	کمپوست	
۲/۹۱ ^a	۲/۹۰ ^a	۳/۰۸ ^{ab}	۳/۵۶ ^a	۱/۳۱ ^a	۲/۲۴ ^a	ورمی کمپوست	
۱/۲۹ ^b	۱/۳۴ ^b	۱/۷۱ ^c	۱/۸۴ ^b	۰/۶۵ ^b	۱/۱۸ ^b	خاک‌اره	
۲/۴۶	۱/۷۶	۲/۸۸	۳/۰۲	۱/۰۴	۱/۹۷	میانگین	
۲/۰۴ ^b	۱/۹۶ ^b	۴/۰۴ ^b	۳/۲۶ ^a	۰/۹۶ ^a	۲/۳۰ ^a	خاک زراعی	نیترات سرب
۳/۸۶ ^a	۰/۹۰ ^c	۴/۵۰ ^{ab}	۳/۹۲ ^a	۱/۱۰ ^a	۲/۸۱ ^a	کمپوست	
۳/۲۶ ^{ab}	۲/۷۱ ^a	۶/۵۵ ^a	۳/۵۳ ^a	۰/۷۹ ^a	۲/۷۴ ^a	ورمی کمپوست	
۲/۹۷ ^{ab}	۱/۳۸ ^{bc}	۴/۳۸ ^{ab}	۳/۶۷ ^a	۰/۹۹ ^a	۲/۶۸ ^a	خاک‌اره	
۳/۰۳	۱/۷۴	۴/۸۷	۳/۵۹	۰/۹۶	۲/۶۳	میانگین	
۱/۰۱ ^b	۲/۲۴ ^a	۲/۴۵ ^b	۳/۴۰ ^b	۰/۸۵ ^{bc}	۲/۵۵ ^a	خاک زراعی	نیترات نیکل
۲/۸۲ ^a	۱/۶۴ ^{bc}	۴/۴۸ ^{ab}	۳/۹۲ ^{ab}	۱/۴۷ ^a	۲/۴۴ ^{ab}	کمپوست	
۳/۶۴ ^a	۲/۱۹ ^{ab}	۴/۹۷ ^a	۴/۱۷ ^a	۱/۳۷ ^{ab}	۲/۷۹ ^a	ورمی کمپوست	
۲/۷۵ ^a	۱/۳۰ ^c	۲/۶۰ ^b	۲/۵۰ ^c	۰/۷۳ ^c	۱/۷۶ ^b	خاک‌اره	
۲/۵۶	۱/۸۴	۳/۶۳	۳/۴۹	۱/۱۰	۲/۳۸	میانگین	
۱/۸۳ ^a	۰/۴۴ ^c	۱/۱۶ ^c	۳/۰۵ ^{bc}	۰/۹۳ ^b	۲/۱۲ ^{ab}	خاک زراعی	سولفات مس
۲/۴۰ ^a	۱/۲۲ ^b	۲/۹۷ ^b	۴/۱۶ ^a	۱/۷۰ ^a	۲/۴۶ ^{ab}	کمپوست	
۲/۸۵ ^a	۲/۷۵ ^a	۴/۷۳ ^a	۳/۸۰ ^{ab}	۱/۰۶ ^b	۲/۷۴ ^a	ورمی کمپوست	
۲/۱۷ ^a	۱/۰۶ ^b	۱/۰۹ ^c	۲/۵۰ ^c	۰/۶۶ ^b	۱/۸۳ ^b	خاک‌اره	
۲/۳۱	۱/۳۶	۲/۴۹	۳/۳۷	۱/۰۸	۲/۲۹	میانگین	

در هر ستون و در هر سطح از فلزات سنگین وجود حداقل یک حرف مشترک نشان‌دهنده عدم تفاوت آماری معنی‌دار بر اساس رویه L.S.Means می‌باشد.

بود و با سطح بدون کاربرد ترکیبات آلی دارای اختلاف آماری معنی‌دار بود. کمترین مقدار این صفت مربوط به سطح

آلی و فتوستت می‌شود. اما با توجه به اینکه خاک اره تاثیر چندانی بر میزان کلروفیل و سطح برگ نخواهد داشت در نتیجه بر سرعت فتوستت نیز تاثیر معنی‌داری ندارد.

تعرق: در تیمار نیترا کادمیوم و نیترا سرب، کاربرد ورمی‌کمپوست میزان تعرق را بترتیب ۹۵ و ۳۸ درصد نسبت به خاک زراعی افزایش داد (جدول ۳). در تیمار نیترا نیکل بیشترین میزان تعرق مربوط به سطح بدون کاربرد ترکیبات آلی و کمترین مقدار این صفت مربوط به کاربرد خاک‌اره بود و تیمارهای عدم کاربرد ترکیبات آلی و ورمی‌کمپوست با یکدیگر فاقد تفاوت معنی‌دار بودند؛ ولی با سایر ترکیبات آلی خاک اختلاف آماری معنی‌داری داشتند. در تیمار سولفات مس میزان تعرق در کاربرد ورمی‌کمپوست نسبت به عدم کاربرد ترکیبات آلی افزایش معنی‌داری نشان داد (جدول ۳). تیمارهای فلزات سنگین به غیر از تیمار سولفات مس میزان تعرق را نسبت به شاهد تغییر معنی‌داری ندادند. از سوی دیگر افزودن ورمی‌کمپوست میزان تعرق را در سطح نیترا کادمیوم، سولفات مس و نیترا سرب افزایش داد. گزارش شده است، در لوبیا قرمز در مرحله‌ی گلدهی و گیاهچه‌ای، ورمی‌کمپوست تعرق را افزایش داد (بیک‌خورمیزی و همکاران، ۱۳۹۱) که نتایج مطالعه‌ی حاضر را تأیید می‌نماید. این موضوع شاید به دلیل ساختار فیزیکی، شیمیایی و زیستی ورمی‌کمپوست باشد، چرا که ورمی‌کمپوست به دلیل دارا بودن ساختار متخلخل آب زیادی را در خود نگاه می‌دارد (Atiyeh et al., 2001). همچنین این کود حاوی میکروارگانسیم‌ها از جمله مایکوریزا هست (Oliva et al., 2008) که باعث افزایش سطح ورود آب به ریشه می‌شوند و بنابراین با افزایش آب موجود در گیاه میزان تعرق نیز افزایش می‌یابد (Elvan, 2001).

کارایی مصرف آب لحظه‌ای: در تیمار شاهد (بدون تنش فلزات سنگین)، بیشترین میزان کارایی مصرف آب لحظه‌ای مربوط به کاربرد ورمی‌کمپوست بود که نسبت به خاک زراعی و ترکیبات کمپوست و خاک اره افزایش معنی‌داری نشان داد (جدول ۳). در تیمار نیترا کادمیوم، میزان کارایی مصرف

بدون کاربرد ترکیبات آلی بود (جدول ۳). در تیمار نیترا کادمیوم، میزان سرعت فتوستت با کاربرد خاک‌اره و کمپوست نسبت به خاک زراعی به‌طور معنی‌داری کاهش نشان داد، اما نسبت به ورمی‌کمپوست اختلاف آماری معنی‌دار نداشت. در تیمار نیترا سرب و نیکل بیشترین میزان سرعت فتوستت مربوط به کاربرد ورمی‌کمپوست و کمترین مقدار این صفت در بدون کاربرد ترکیبات آلی مشاهده شد. در سولفات مس، بیشترین میزان سرعت فتوستت در ورمی‌کمپوست و کمترین مقدار این صفت در کاربرد خاک‌اره مشاهده شد (جدول ۳). تمام تیمارهای فلزات سنگین سرعت فتوستت را نسبت به تیمار شاهد (بدون فلزات سنگین) کاهش دادند. محققان گزارش کردند تنش فلزات سنگین باعث کاهش سرعت تبادل دی‌اکسید کربن در برگ‌های گیاهان می‌شود. فلزات سنگین با کاهش هدایت مزوفیلی و فتوستت همراه است. در این رابطه می‌توان گفت که گیاه در مواجهه با تنش فلزات سنگین روزنه‌های خود را به حالت بسته یا نیمه بسته نگه می‌دارد، این حالت به دلیل اثر فلزات سنگین بر کانل‌های یونی و آبی درون گیاه می‌باشد. یون فلز سنگین یک بازدارنده کانال کلسیم و بطور غیر مستقیم سایر کانل‌های یونی بوده و تغییرات غلظت کلسیم سیتوسل را در سلول نگهبان روزنه متوقف می‌کند و از این طریق باعث توقف کانال‌های آب به سمت غشا سلول نگهبان روزنه شده و روزنه را بسته نگه می‌دارد (Yang et al., 2004). بنابراین، به دلیل کاهش CO_2 درون سلول، تثبیت CO_2 کاهش می‌یابد (Popova et al., 2008). کادمیوم بازدارنده‌ی مؤثر فتوستت می‌باشد. کادمیوم هم‌چنین منجر به بسته شدن روزنه، بازداری همه‌جانبه‌ی فتوستت و تغییر تبادل گاز در برگ گیاهان گردید. از سوی دیگر افزودن ورمی‌کمپوست میزان سرعت فتوستت را در تیمارهای شاهد، نیترا سرب، نیترا نیکل و سولفات مس افزایش داد (Irfan et al., 2013). Sallaku و همکاران (۲۰۰۹) نیز افزایش سرعت فتوستت را در ورمی‌کمپوست گزارش کردند. به نظر این محققان ورمی‌کمپوست از طریق افزایش سطح برگ، کلروفیل و دریافت نور بیشتر، سبب سنتز بیشتر مواد

جدول ۴- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس صفات غلظت دی اکسید کربن زیر روزنه‌ای، هدایت روزنه‌ای، نشت الکترولیت، پرولین برگ، قند محلول و مالون دی آلدهید در لوبیا چیتی تحت تأثیر تنش فلزات سنگین و نوع خاک

منابع تغییرات	درجه آزادی	دی اکسید کربن زیر روزنه‌ای	هدایت روزنه‌ای	نشت الکترولیت	پرولین برگ	قند محلول	مالون دی آلدهید
نوع خاک	۳	۱۷۴۲۲/۱۵*	۰/۰۰۰۳۱۱**	۷۸۰/۳۰**	۴۶/۶۸**	۱/۳۹**	۲/۸۲ n.s
فلزات سنگین	۴	۲۴۸۱۳/۳۰**	۰/۰۰۰۱۰۹**	۲۰۹۵/۲۰**	۷/۲۵**	۳/۸۷**	۲۹/۰۳**
فلزات سنگین × نوع خاک	۱۲	۸۹۴۹/۶۰**	۰/۰۰۰۱۰۶**	۱۸۷/۴۰*	۵/۸۰**	۱/۳۹**	۵/۵۸**
اشتباه آزمایشی	۴۰	۲۴۷۰/۹۶	۰/۰۰۰۰۰۶	۸۰/۴۱	۰/۵۵	۰/۲۴	۱/۹۲
ضریب تغییرات %	-	۲۶/۴۱	۱۶/۷۱	۱۲/۲۴	۱۸/۷۰	۲۱/۸۷	۱۴/۳۷

n.s, * و ** به ترتیب عدم وجود اختلاف معنی دار، معنی دار در سطوح پنج و یک درصد را نشان می‌دهند.

سنگین و برهم‌کنش آن‌ها بر غلظت دی اکسید کربن زیر روزنه‌ای، هدایت روزنه‌ای، نشت الکترولیت، پرولین برگ و قند محلول در سطح احتمال یک درصد دارای اختلاف آماری معنی دار بود (جدول ۴).

در تیمار شاهد (بدون تنش فلزات سنگین) و نیترات نیکل بیشترین میزان غلظت دی اکسید کربن زیر روزنه‌ای مربوط به عدم کاربرد ترکیبات آلی خاک بود و کمترین مقدار این صفت مربوط به کاربرد کمپوست بود (جدول ۵). به طور کلی بیشترین میزان غلظت دی اکسید کربن زیر روزنه‌ای در سطح نیترات نیکل و کمترین در نیترات کادمیوم مشاهده شد که این به دلیل بسته شدن روزنه‌ها و مقاومت روزنه‌ای توسط کادمیوم می‌باشد که با مطالعات Popova و همکاران (۲۰۰۸) روی گیاه لوبیا مطابقت دارد. فراوانی و اندازه روزنه‌ها در گیاهان مختلف متفاوت است و این تفاوت با پدیده‌هایی مانند انتشار CO₂، تعرق، کارایی مصرف آب، فتوسنتز و تولید ماده خشک ارتباط دارد (کاظمی اربط، ۱۳۶۵).

هدایت روزنه‌ای: در تیمار نیترات کادمیوم، کاربرد ورمی کمپوست هدایت روزنه‌ای را نسبت به کاربرد خاکاره پنج برابر و نسبت به خاک زراعی ۱/۵ برابر افزایش داد (جدول ۵). در تیمار نیترات سرب، بیشترین هدایت روزنه‌ای در ورمی کمپوست و خاک زراعی مشاهده شد که اختلاف معنی داری با یکدیگر نداشتند و نسبت به کاربرد کمپوست و

آب لحظه‌ای در کاربرد خاکاره نسبت به سایر ترکیبات آلی خاک کاهش معنی دار نشان داد. در تیمار نیترات سرب کاربرد کمپوست میزان کارایی مصرف آب لحظه‌ای را ۸۹ درصد نسبت به خاک زراعی افزایش داد (جدول ۳). در تیمار نیترات نیکل نیز کاربرد ورمی کمپوست میزان کارایی مصرف آب لحظه‌ای را حدود ۲/۵ برابر نسبت به خاک زراعی افزایش داد. بیشترین میزان کارایی مصرف آب لحظه‌ای در تیمار شاهد (بدون فلزات سنگین) مشاهده شد و تنش فلزات سنگین میزان کارایی مصرف آب لحظه‌ای را نسبت به شاهد کاهش دادند. Howladar (۲۰۱۴) در گیاه لوبیا، کاهش کارایی مصرف آب لحظه‌ای را در حضور کلرید کادمیوم گزارش نمود که نتایج مطالعه‌ی فوق را تأیید می‌کند. محققان ساختار مولکولی ترکیبات آلی و ریز بودن اندازه‌ی ذرات آن، عامل اصلی حفظ بهتر رطوبت در خاک گزارش کردند (Chalker Scott, 2002). به نظر می‌رسد اندازه‌ی ذرات ترکیبات آلی خاک در حفظ رطوبت خاک نسبت به مواد سازنده عامل مهم‌تری باشد و هرچه اندازه‌ی ذرات ریزتر باشد رطوبت خاک بهتر حفظ می‌شود. در مطالعه حاضر نیز کمپوست و ورمی کمپوست کارایی مصرف آب لحظه‌ای را در سطح‌های شاهد و فلزات سنگین را به طور معنی داری افزایش داد.

غلظت دی اکسید کربن زیر روزنه‌ای: نوع خاک، فلزات

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر ترکیبات آلی خاک در هر سطح از فلزات سنگین برای غلظت دی اکسید کربن زیر روزنه‌ای، هدایت روزنه‌ای، نشت الکترولیت، پرولین برگ، قند محلول و مالون دی آلدهید در لوبیا چیتی

فلزات سنگین	نوع خاک	دی اکسید کربن زیر روزنه‌ای (مول CO ₂ بر مترمربع بر ثانیه)	هدایت روزنه‌ای (میلی مول CO ₂ بر متر مربع بر ثانیه)	نشت الکترولیت‌ها (درصد)	پرولین برگ (میکرومول بر گرم وزن تر برگ)	قند محلول برگ (میلی گرم بر گرم وزن تر برگ)	مالون دی آلدهید (میکرومول بر گرم وزن تازه)
شاهد	خاک زراعی	۳۷۷/۳۳ ^a	۰/۰۱ ^a	۵۲/۴۶ ^a	۴/۸۴ ^a	۱/۳۳ ^a	۷/۵۷ ^a
	کمپوست	۱۴۳/۳۳ ^b	۰/۰۱ ^a	۴۵/۰۳ ^a	۲/۱۱ ^b	۱/۶۱ ^a	۸/۰۲ ^a
	ورمی کمپوست	۱۶۲/۶۷ ^b	۰/۰۱ ^a	۴۶/۱۰ ^a	۲/۵۳ ^b	۱/۲۷ ^a	۸/۷۲ ^a
	خاک‌اره	۲۱۵/۳۳ ^b	۰/۰۱ ^a	۵۶/۶۰ ^a	۱/۴۵ ^b	۱/۳۷ ^a	۶/۲۳ ^a
	میانگین	۲۲۴/۶۷	۰/۰۱	۵۰/۱۱	۲/۷۳	۱/۳۹	۷/۶۳
نیتрат کادمیوم	خاک زراعی	۱۴۷/۳۳ ^a	۰/۰۲ ^b	۸۴/۴۷ ^a	۸/۳۷ ^a	۱/۶۵ ^c	۶/۹۱ ^a
	کمپوست	۱۳۵/۰۰ ^a	۰/۰۱ ^c	۸۰/۰۰ ^a	۳/۲۵ ^b	۳/۰۰ ^b	۸/۵۵ ^a
	ورمی کمپوست	۱۳۰/۰۰ ^a	۰/۰۳ ^a	۷۵/۸۳ ^a	۲/۷۶ ^b	۳/۹۸ ^a	۹/۵۷ ^a
	خاک‌اره	۱۲۹/۳۳ ^a	۰/۰۰۶ ^d	۷۲/۹۷ ^a	۱/۹۲ ^c	۳/۲۴ ^{ab}	۹/۳۵ ^a
	میانگین	۱۳۵/۴۲	۰/۰۱	۷۸/۳۱	۴/۰۷	۲/۹۶	۸/۵۹
نیترات سرب	خاک زراعی	۱۷۳/۳۳ ^a	۰/۰۲ ^a	۸۵/۹۰ ^a	۸/۷۳ ^a	۱/۲۹ ^b	۷/۳۲ ^b
	کمپوست	۱۵۸/۰۰ ^a	۰/۰۱ ^b	۸۷/۵۳ ^a	۲/۷۹ ^b	۲/۵۲ ^a	۱۰/۳۸ ^{ab}
	ورمی کمپوست	۱۲۱/۰۰ ^a	۰/۰۲ ^a	۶۵/۴۰ ^b	۲/۴۶ ^b	۲/۶۴ ^a	۹/۴۴ ^{ab}
	خاک‌اره	۱۶۷/۰۰ ^a	۰/۰۱ ^b	۶۲/۸ ^b	۳/۳۳ ^b	۲/۳۵ ^a	۱۲/۰۰ ^a
	میانگین	۱۵۴/۸۳	۰/۰۱	۷۵/۴۰	۴/۲۳	۲/۲۰	۸/۰۳
نیترات نیکل	خاک زراعی	۳۰۹/۰۰ ^a	۰/۰۱ ^b	۸۹/۰۰ ^a	۵/۳۵ ^{ab}	۳/۵۴ ^a	۱۱/۸۹ ^a
	کمپوست	۱۶۱/۶۷ ^b	۰/۰۲ ^a	۸۷/۳۶ ^a	۶/۵۲ ^a	۱/۶۲ ^c	۱۰/۵۵ ^a
	ورمی کمپوست	۲۷۴/۶۷ ^{ab}	۰/۰۱ ^b	۸۶/۴۶ ^a	۳/۵۹ ^c	۲/۵۹ ^b	۱۱/۰۱ ^a
	خاک‌اره	۲۲۷/۰۰ ^{ab}	۰/۰۱ ^b	۶۶/۷۶ ^b	۳/۸۸ ^{bc}	۲/۰۲ ^{bc}	۱۲/۴۷ ^a
	میانگین	۲۴۳/۰۸	۰/۰۱	۸۲/۳۶	۴/۸۳	۲/۴۴	۱۱/۴۸
سولفات مس	خاک زراعی	۱۸۷/۶۷ ^a	۰/۰۱ ^b	۹۴/۲۳ ^a	۴/۹۶ ^a	۱/۵۷ ^b	۱۲/۱۷ ^a
	کمپوست	۲۳۰/۶۷ ^a	۰/۰۰۳ ^c	۸۷/۳۰ ^{ab}	۴/۷۴ ^a	۲/۵۱ ^a	۱۰/۰۹ ^a
	ورمی کمپوست	۱۸۴/۳۳ ^a	۰/۰۲ ^a	۶۵/۱۰ ^c	۲/۴۳ ^b	۲/۵۷ ^a	۹/۶۱ ^a
	خاک‌اره	۱۲۸/۳۳ ^a	۰/۰۱ ^b	۷۳/۵۳ ^{bc}	۳/۵۹ ^{ab}	۲/۷۴ ^a	۱۱/۰۲ ^a
	میانگین	۱۸۲/۷۵	۰/۰۱	۸۰/۰۴	۳/۹۳	۲/۳۴	۱۰/۷۲

در هر ستون و در هر سطح از فلزات سنگین وجود حداقل یک حرف مشترک نشان‌دهنده عدم تفاوت آماری معنی‌دار بر اساس رویه L.S.Means می‌باشد.

خاک‌اره دو برابر افزایش نشان دادند. در تیمار نیترات نیکل بیشترین میزان هدایت روزنه‌ای مربوط به کاربرد کمپوست

و ابراهیم‌زاده (۱۳۹۲) گزارش کردند که با افزایش غلظت نیکل و مس در بستر گیاه، میزان نشت الکترولیت‌ها نسبت به سطح شاهد افزایش یافت.

پرولین برگ: در تیمار شاهد (بدون تنش فلزات سنگین) و نیترات کادمیوم، بیشترین میزان پرولین مربوط به تیمار عدم کاربرد ترکیبات آلی بود و کمترین مقدار این صفت مربوط به کاربرد خاک‌اره بدست آمد (جدول ۵). همچنین کاربرد کمپوست با ورمی‌کمپوست فاقد اختلاف آماری معنی‌دار بود. در تیمار نیترات سرب بیشترین میزان پرولین مربوط به عدم کاربرد ترکیبات آلی و کمترین مقدار این صفت مربوط به کاربرد ورمی‌کمپوست بود. در نیترات نیکل میزان پرولین در کمپوست نسبت به کاربرد ورمی‌کمپوست و خاک‌اره اختلاف معنی‌داری نشان داد، اما نسبت به شاهد فاقد اختلاف معنی‌داری بود. در سطح سولفات مس بیشترین میزان پرولین در عدم کاربرد ترکیبات آلی و کمترین مقدار این صفت در ورمی‌کمپوست مشاهده شد (جدول ۵). به‌طور کلی تمام تیمارهای فلزات سنگین میزان پرولین را نسبت به تیمار شاهد (بدون فلزات سنگین) افزایش دادند. در تنش کادمیوم یون‌های کادمیوم و کلسیم بر سر اتصال به جایگاه‌های کربوکسیلاز رقابت کرده و اتصال یون کلسیم به جایگاه‌های این یون در آنزیم مذکور موجب فعالیت شدید این آنزیم شده و در نهایت بر غلظت پرولین افزوده می‌شود (Hendry, 1993). Faiazan و همکاران (۲۰۱۱) در گیاه نخود تیمار شده با فلز کادمیوم، افزایش پرولین را گزارش کردند. از آنجایی که فلزات سنگین باعث افزایش رادیکال‌های آزاد می‌شود، پرولین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان غیر آنزیمی در جهت کاهش رادیکال‌های آزاد عمل می‌کند. مکانیسم‌هایی که پرولین به‌وسیله آن‌ها باعث کاهش آسیب رادیکال‌های آزاد می‌شود، شامل خاموش‌سازی فیزیکی اکسیژن منفرد و واکنش شیمیایی با رادیکال‌های هیدروکسیل می‌باشد که این کار برای حفظ غشای سلول امری ضروری است (Schaller, 2003). پرولین به عنوان وسیع‌ترین اسمولیت انباشته شده در شرایط تنش عمل می‌کند (Shah et al., 2001).

بود، اما بین سطح عدم کاربرد ترکیبات آلی، خاک‌اره و ورمی‌کمپوست اختلاف آماری معنی‌داری وجود نداشت. در تیمار سولفات مس کاربرد ورمی‌کمپوست میزان هدایت روزنه‌ای را نسبت به خاک زراعی ۱۰۰ درصد افزایش داد (جدول ۵).

استفاده از کودهای آلی با افزایش ظرفیت نگهداری آب، هوادهی مناسب، بهبود شرایط مناسب و تسهیل در جذب عناصر غذایی سبب افزایش هدایت روزنه‌ای می‌شود (گلی کلانیا، ۱۳۹۴). به نظر می‌رسد ترکیبات آلی کمپوست و ورمی‌کمپوست در شرایط تنش فلزات سنگین قابلیت نگهداری آب خاک را افزایش داده و در نتیجه آب بیشتری برای جذب در اختیار گیاه قرار می‌گیرد و سبب افزایش هدایت روزنه‌ای شده است.

از سوی دیگر با کمبود آب ایجاد شده توسط فلزات سنگین و اختلال در تعادل آبی گیاه به دلیل کاهش اندازه و تعداد آوندهای چوبی رخ می‌دهد (Barcelo and Poschenrieder, 1990). اعلام شده در شرایط تنش فلزات گیاه نیاز به حفظ آب دارد و در نتیجه هدایت روزنه‌ای آن کاهش می‌یابد (Andrades-Moreno et al., 2013).

نشت الکترولیت (پایداری غشاء) برگ: در تیمار نیترات

سرب و نیترات نیکل کمترین مقدار نشت الکترولیت‌ها مربوط به کاربرد خاک‌اره بود (جدول ۵). اما در تیمار سولفات مس کمترین مقدار این صفت مربوط به کاربرد ورمی‌کمپوست با میانگین ۶۵/۱٪ مشاهده شد که با تیمار کاربرد خاک‌اره فاقد تفاوت آماری معنی‌دار بود (جدول ۵). به‌طور کلی تمام تیمارهای فلزات سنگین میزان نشت الکترولیت‌ها را نسبت به تیمار شاهد (بدون فلزات سنگین) افزایش دادند. افزایش نشت‌پذیری غشاهای زیستی و آسیب به غشاهای زیستی در تنش‌های مختلف محیطی به دلیل افزایش پراکسیداسیون لیپیدها می‌باشد (Wahid, 2007). Bhardwaj و همکاران (۲۰۰۹) گزارش نمودند که فلز کادمیوم و سرب در لوبیا میزان نشت الکترولیت‌ها را نسبت به سطح شاهد (بدون فلزات سنگین) افزایش داد، که تأییدی بر آزمایش فوق است. پوراکیبر

سنگین و برهم کنش آن‌ها بر صفت فوق در سطح احتمال یک درصد دارای اختلاف آماری معنی‌دار بود (جدول ۴). در تیمار نیترا سرب کاربرد خاک‌اره میزان مالون‌دی‌آلدهید نسبت به خاک زراعی ۶۳ درصد افزایش داد. همچنین کاربرد خاک‌اره با کمپوست و ورمی‌کمپوست فاقد اختلاف معنی‌داری بود (جدول ۵). نتایج بدست آمده در این پژوهش نشان می‌دهد که تمام تیمارهای فلزات سنگین میزان پراکسیداسیون لیپیدها را نسبت به سطح شاهد (بدون فلزات سنگین) افزایش دادند. فلزات سنگین از عوامل بروز تنش اکسیداتیو در گیاهان محسوب می‌شوند، اسیدهای چرب اشباع نشده در غشاهای سلولی مستعد تخریب‌های اکسیداتیو می‌باشند، لینولئیک اسید و لینولنیک اسید بیشترین اسیدهای چرب غیراشباع در ساختمان سلول‌های گیاهی هستند (Skorzynska et al., 2005). حاصل این فرایندها تشکیل محصولات تجزیه‌ای به‌ویژه آلدئیدهایی همانند مالون‌دی‌آلدهید می‌باشد (Prasad and Zeeshan, 2005). نتایج تحقیقات Bhardwaj و همکاران (۲۰۰۹) در گیاه لوبیا مبنی بر افزایش پراکسیداسیون لیپیدها با افزایش غلظت کادمیوم و سرب نتایج مطالعه‌ی فوق را تأیید می‌نماید.

نتیجه‌گیری:

در مجموع نتایج این پژوهش نشان داد که تنش فلزات سنگین با کاهش میزان کلروفیل، سرعت فتوسنتز، تخریب، کارایی مصرف آب و هدایت روزنه‌ای و افزایش میزان نشت الکترولیت‌ها، قندهای محلول و پراکسیداسیون لیپیدها باعث اختلال در پارامترهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی لوبیا چیتی شد. از سوی دیگر استفاده از ورمی‌کمپوست به عنوان یک کود آلی با بهبود وضعیت و ساختار فیزیکی و شیمیایی خاک با افزایش میزان کلروفیل، سرعت فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای و پایداری غشا سلولی و کاهش نشت الکترولیت‌ها می‌تواند نقش مثبتی را در تعدیل اثرات فلزات سنگین ایفا کند.

قند محلول برگ: در تیمار نیترا کادمیوم ورمی‌کمپوست میزان قند محلول را نسبت به عدم کاربرد ترکیبات آلی ۱۴۰ درصد افزایش داد (جدول ۵). در نیترا سرب و سولفات مس کمترین قند محلول در عدم کاربرد ترکیبات بدست آمد. همچنین سطوح کمپوست، ورمی‌کمپوست و خاک‌اره فاقد اختلاف آماری معنی‌دار بود. در تیمار نیترا نیکل، بیشترین میزان قند محلول مربوط به عدم کاربرد ترکیبات آلی و کمترین مقدار این صفت مربوط به کاربرد کمپوست بدست آمد. به‌طور کلی بیشترین میزان قندهای محلول کل برگ در سطح نیترا کادمیوم و کمترین در تیمار شاهد (بدون فلزات سنگین) مشاهده شد. تمام سطوح فلزات سنگین میزان قندهای محلول کل برگ را نسبت به سطح شاهد (بدون فلزات سنگین) افزایش دادند. فلزات سنگین با کاهش انتقال آب به برگ‌ها منجر به بروز تغییرات فراساختاری اندامک‌های سلولی از قبیل تونوپلاست و تغییر در رفتار آنزیم‌های کلیدی چند مسیر متابولیسمی از جمله مسیر متابولیسم قند می‌شود. به دنبال تجمع فلزات در سلول‌ها، محتوای قندهای احیاکننده (کربوهیدرات‌ها) در گیاه افزایش می‌یابد، این پدیده احتمالاً مکانیسم سازشی گیاه برای حفظ پتانسیل اسمزی در شرایط سمیت فلزات سنگین است (Prasad, 1997). در واقع کاهش پتانسیل آب، موجب تجمع و افزایش میزان قندهای محلول می‌شود (Sato et al., 2004) علاوه بر نقش قندها در تنظیم فشار اسمزی تصور می‌شود با افزایش قندهای حل‌شونده، گیاه بتواند ذخیره‌ی کربوهیدراتی خود را برای حفظ متابولیسم پایه‌ی سلول در شرایط محیطی تحت تنش در حد مطلوب نگه‌دارد (Verma and Dubey, 2001). به نظر می‌رسد در این پژوهش افزایش قند محلول در گیاهان تیمار شده با فلزات سنگین می‌تواند به عنوان دلیلی بر مقابله بهتر این گیاه در مقابل تنش باشد. نورانی‌آزاد و کفیل‌زاده (۱۳۹۰) در گیاه گلرنگ گزارش کردند که با افزایش غلظت کلرید کادمیوم میزان قندهای محلول افزایش یافت.

پراکسیداسیون لیپیدها (مالون‌دی‌آلدهید): ترکیبات آلی خاک بر میزان مالون‌دی‌آلدهید معنی‌دار نبود؛ ولی فلزات

منابع:

- بیضایی، ا.، دری، ح.، قنبری، ع.ا.، غفاری خلیق، ح.، رحمانی قبادی، ع.، طاهری مازندرانی، م.، شهرآیین، ن.، هدایتی پور، ا.، صدری، ب.، ارده، م.ج.، یوسفی، م.، دادیور، م.، لک، م.ر.، حسنی مهربان، ا.، سمیعی، د.، آزرمی، م.، پوردوایی، ح.ا.، مستعد، ب.، باشتینی، ا.، هاشمی، ش.، مجد نصیری، ب.، کامل، م. و تکاسی، م. (۱۳۹۱) صدری رقم جدید لوبیا چیتی دانه درشت برای کاشت در مناطق معتدل سرد ایران. مجله به‌نژادی نهال و بذر: ۳۳۷-۳۳۵.
- بیک‌خورمیزی، ع.، گنجعلی، ع.، ابریشم‌چی، پ. و پارسا، م. (۱۳۹۱) بررسی تأثیر ورمی‌کمپوست بر میزان فتوسنتز، تعرق و کارایی مصرف آب لوبیا قرمز رقم تحت تنش شوری. مجله بوم‌شناسی کشاورزی ۴: ۲۳۴-۲۲۳.
- پوراکبر، ل. و ابراهیم‌زاده، ن. (۱۳۹۲) اثر نیکل و مس بر بیومس، محتوای رنگیزه‌ای و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در ریشه‌ها و اندام‌های هوایی گیاه ذرت. مجله علوم دانشگاه خوارزمی ۱۳: ۷۱۲-۷۰۱.
- خطیب، م.، راشد محصل، م. ح.، گنجعلی، ع. و لاهوت، م. (۱۳۸۷) تاثیر غلظت های مختلف نیکل بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی گیاه جعفری (*Petroselinum crispum*). مجله پژوهش‌های زراعی ایران ۶: ۲۵۹-۳۰۲.
- رضوانی مقدم، پ. م.، امیری، ب. و سیدی، س. م. (۱۳۹۳) اثر مصرف کودهای آلی و زیستی بر عملکرد، میزان روغن و ترکیب اسیدهای چرب روغن کنجد (*Sesamum indicum* L). مجله علوم زراعی ایران ۱۶: ۲۲۱-۲۰۹.
- کاظمی اربط، ح. و رحیم زاده خوبی، ف. (۱۳۶۵) تغییرات تراکم روزنه‌های برگ نخود در شرایط دیم و آبی. مجله علوم کشاورزی ایران ۱۷ (۱): ۲۴۵-۲۳۵.
- گلی کلانپا، ا.، امانی، ن. و اسماعیل پور، ب. (۱۳۹۴) تاثیر پسماند کمپوست قارچ بر خصوصیات رشدی و جذب عناصر پرمصرف در کاهو (*lactuca sativa* L) رقم سیاهو. مجله مدیریت خاک و تولید پایدار ۵: ۱۳۰-۱۱۳.
- نورانی آزاد، ح. و کفیل‌زاده، ف. (۱۳۹۰) تأثیر سمیت کادمیوم بر رشد، قندهای محلول، رنگیزه‌های فتوسنتزی و برخی آنزیم‌ها در گل‌رنگ. مجله زیست‌شناسی ایران ۲۴ (۶): ۸۶۷-۸۵۸.
- Abioye, O. P., Ijah, U. J. J. and Aransiola, S. A. (2013) Remediation mechanisms of tropical plants for lead-contaminated environment, In Plant-Based Remediation Processes. Soil Biology 35: 59-77.
- Andrades-Moreno, L., Cambrolle, J., Figueroa, M.E. and Mateos-Naranjo, E. (2013) Growth and survival of *Halimione portulacoides* stem cuttings in heavy metal contaminated soils. Marine Pollution Bulletin 75: 28-32.
- Angelova, V., Ivanova, R., Pevicharova, G. and Ivanov, K. (2010) Effect of organic amendments on heavy metals uptake by potato plants. World Congress of Soil Science, Soil Solutions for a Changing World, 1-6 August, Brisbane, Australia 84-87.
- Arnon, D. I. (1949) Copper enzyme in isolated chloroplast and polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiology 2: 1-15.
- Atiyeh, R. M., Arancon, N., Edwards, C. A. and Metzger, J. D. (2001) The influence of earthworm processed pig manure on the growth and productivity of marigolds. Bioresource Technology 81: 103-108.
- Barcelo, J. and Poschenrieder, C. (1990) Plant water relations as affected by heavy metal stress. Plant Nutrition 13:1-37.
- Beltrano, J. and Ranco, G. M. (2008) Improved tolerance of wheat plants (*Triticum aestivum* L.) to drought stress and rewetting by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus claroideum*: Effect on growth and cell membrane stability. Brazilian Society of Plant Physiology 20: 29-37.
- Bhardwaj, P., Chaturvedi, A. K. and Prasad, P. (2009) Effect of Enhanced Lead and Cadmium in soil on Physiological and Biochemical attributes of *Phaseolus vulgaris* L. Nature and Science 7: 63-66.
- Chalker Scott, L. (2002) Bark mulch and sawdust are aesthetically preferable to wood chips and they work just as well. Horticultural Myths 22:88-92.
- Country, N. (2006) Influence of cadmium on growth of root vegetable and accumulation of cadmium in the edible root. International Journal Applied Science and Engineering 3: 243-252.
- Elvan, L. M. (2001) Effect of soil water regimes and inoculation with mycorrhizae on growth and nutrients content of maize plant. Zagazig Journal Agricultural Research 28: 163-172.
- Faiazan, S., Kausar, S. and Perveen, R. (2011) Varietal differences for cadmium-induced seedling mortality, foliar

- toxicity symptoms, plant growth, proline and nitrate reductase activity in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Biology and Medicine* 3: 196-206.
- Hadi, F. and Aziz, T. (2015) A Mini Review on Lead (Pb) Toxicity in Plants. *Journal of Biology and Life Science* 6: 91-101.
- Han, D. H and Lee, J. H. (1996) Effects of liming on uptake of lead and cadmium by *Raphanus sativa*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 31:488-493.
- Hanc, A. P., Tlustos, J. and Szakova, J. (2009) Changes in cadmium mobility during composting and after soil application. *Waste Management* 29: 2282-2288.
- Heath, R. L. and Packer, L. (1968) Photo peroxidation in isolated chloroplast kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Biochemistry and Biophysics* 125: 189-198.
- Hendry, G. A. F. (1993) Evolutionary origins natural functions of fractals climatologically biogeography and mechanistic appraisal. *New Physiologist* 123: 3-14.
- Howladar, S. M. (2014) A novel moringa oleifera leaf extract can mitigate the stress effects of salinity and cadmium in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 100: 69-75.
- Irfan, M., Hayat, S. H., Ahmad, A. and Alyemeni, M. N. (2013) Soil cadmium enrichment: Allocation and plant physiological manifestations. *Saudi Journal of Biological Sciences* 20:1-10.
- Irigoyen, J. J., Emerich, D. W and Sanchez-Diaz, M. (1992) Water stress induced changes in concentration of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia Plantarum* 84: 55- 60.
- Jadia, C. D. and Fulekar, M. H. (2008) Phytoremediation: The application of vermin-compost to remove zinc, cadmium, copper, nickel and lead by sunflower plant. *Journal of Environmental Management* 7: 547-558.
- Oliva, M. A., Zenteno, R. E., Pinto, A., Dendooven, L. and Gutierrez, F. (2008) Vermicompost role against sodium chloride stress in the growth and photosynthesis in tamarind plantlets (*Tamarindus indica* L.). *Gayana Botanica* 65: 10-17.
- Orcut, D. M. and E. Nilsen. (2000) The physiology of plant under stress. *Soil and Biotic Factors*, Joen Wiley Publishing pp 481-517.
- Paquine, R. and Lechasseur, P. (1979) Observation method dosage labire dans lesde plants. *Canadian Journal of Botany* 57: 1851- 1854.
- Park, J. H., Lamb, D., Paneerselvam, P., Choppala, G., Bolan, N. and Chung, J. W. (2011) Role of organic amendments on enhanced bioremediation of heavy metal (loid) contaminated soils. *Hazardous Materials* 185: 549-574.
- Popova, L., Maslenkova, L., Yordanova, R., Krantev, A., Szalai, G. and Janda, T. (2008) Salicylic acid protects photosynthesis against cadmium toxicity in pea plants. *General and Applied Plant Physiology* 34: 133-148.
- Prasad, M. N. N. (1997) Cadmium toxicity and tolerance in vascular plants. *Environment Experimental Botany* 35: 525-545.
- Prasad, S. M. and Zeeshan, M. (2005) UV-B Radiation and cadmium induced changes in growth, photosynthesis and antioxidant enzymes of cyanobacterium *Plectonema Boryanum*. *Biologia Plantarum* 49:229-236.
- Saijeen, S., Kaewman, O. and Suksawat, M. (2009) Evaluation of media, organic and chemical fertilizer applications on growth of pot gerbera (*Gerbera jamesonii*). *Asian Journal of Food and Agro-Industry* 2: 51-56.
- Sallaku, G., Babaj, I., Kaciu, S. and Balliu, A. (2009) The influence of vermicompost on plant growth characteristics of cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings under saline conditions. *Food Agriculture and Environment* 7: 869-872.
- Sato, F., Yoshioka, H., Fugiwara, T., Higashio, H., Uragami, A. and Tokud, S. (2004) Physiological responses of cabbage plug seedlings to water stress during low temperature storage in darkness. *Science Horticulture* 101: 349-357.
- Schaller, H. (2003) The role of sterols in plant growth and development. *Progress in Lipid Research Plantarum* 42: 63-175.
- Shah, K., Kumar, R. G., Verma, S. and Dubey, R. S. (2001) Effect of cadmium on lipid peroxidation, superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. *Plant Science* 161: 1135-1144.
- Sharma, P. and Dubey, R.S.H. (2005) Lead toxicity in Plants. *Plant Physiology* 17: 35-52.
- Skorzynska, E., Pawlikowska pawlega, B., Szczuka, E., Drazkiewicz, M. and Krupaz, Z. (2005) The activity and localization of lipoxygenases in *Arabidopsis thaliana* under cadmium and copper stresses. *Plant Growth Regulation* 48:29-39.
- Verma, S. and Dubey, R. S. (2001) Effect of cadmium on soluble sugar and enzymes of their metabolism in rice. *Biologia Plantarum* 44: 117-123.
- Wahid, A. (2007) Physiological implications of metabolites biosynthesis in net assimilation and heat stress tolerance of sugarcane (*Saccharum officinarum*) sprouts. *Journal Plant Research* 120: 219-228.
- Yadav, S. K. (2010) Heavy metals toxicity in plants: An overview on the role of glutathione and phytochelatin in heavy metals stress tolerance of plants. *South African Journal of Botany* 76:167-179.
- Yang, H. M., Zhang, X. Y. and Wang, G. X. (2004) Effects of heavy metals on stomatal movements in broad bean leaves. *Russian Journal of Plant Physiology* 51:464-468.

