

ارزیابی تأثیر بیوچار بر کیفیت و عملکرد اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) تحت شرایط تنش کادمیوم

به گل معظمی^۱، علی فرامرزی^{۱*}، فرزاد پاک‌نژاد^۲، جلیل اجلی^۱ و مهرداد عبدی^۱

^۱ گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد میانه، دانشگاه آزاد اسلامی، میانه، ایران

^۲ گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۶/۰۲، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۳/۰۷/۲۴)

چکیده

تحولات صنعتی و رشد جمعیت در سرتاسر جهان موجب آلودگی خاک و افزایش فلزات سنگین خاک شده و ارائه راهکارهایی جهت کاهش جذب فلزات سنگین توسط گیاهان امری ضروری است. بدین منظور آزمایشی در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج به مدت دو سال (۹۸-۱۳۹۷) بر روی اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) انجام شد که تا پس از دو سال اثر بیوچار روی خاک و گیاهان مشخص شود. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. تیمارهای پژوهش شامل بیوچار در دو سطح (صفر و ۵ درصد حجمی/حجمی) و کادمیوم در چهار سطح (صفر، ۱۰، ۲۰، ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر) بود. نتایج نشان داد که بیشترین وزن خشک اندام هوایی (۳/۵۴ گرم در بوته) در اثرات متقابل بیوچار و عدم مصرف کادمیوم مشاهده شد. عملکرد گیاه در تیمارهای دارای کادمیوم کاهش یافت و به‌طورکلی بیوچار عملکرد اسفناج را نسبت به شاهد افزایش داد و به عنوان یک اصلاح‌کننده خاک انتخاب مناسبی جهت افزایش رشد اسفناج بود. بیوچار فعالیت آنزیم کاتالاز را ۶۲/۵ درصد، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز را ۳۲/۶۰ درصد و آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را ۵۸/۸۶ درصد نسبت به شاهد کاهش داد. همچنین تیمار کادمیوم ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر فعالیت آنزیم کاتالاز را ۸۷/۵ درصد، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز را ۴۱/۰۷ درصد و آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را ۸۷/۴۶ درصد نسبت به شاهد افزایش داد. بنابراین کاربرد بیوچار در کاهش اثرات ناشی از تنش کادمیوم قابل توصیه است.

واژه‌های کلیدی: آلودگی خاک، اصلاح‌کننده خاک، فعالیت‌های آنزیمی، فلزات سنگین

مقدمه

غذایی فراوانی داشته و دارای عناصر مغذی بسیاری نظیر کلسیم، آهن، ویتامین‌ها و آنتی‌اکسیدان‌های فراوانی است که در سلامت انسان نقش مهمی دارند (گودرزی و همکاران، ۱۳۹۹).

یکی از مشکلات اساسی زیست‌محیطی در فرآیند تولید محصولات کشاورزی، تجمع فلزات سنگین در گیاهان است.

سبزیجات یکی از منابع مهم رژیم غذایی انسان هستند، زیرا سرشار از ویتامین‌ها، مواد معدنی و فیبر هستند. با این حال، سبزیجات آلوده به فلزات سنگین سلامت انسان را به خطر می‌اندازند (Mohammad et al., 2020). اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) از جمله سبزیجات مهم برگی است که ارزش

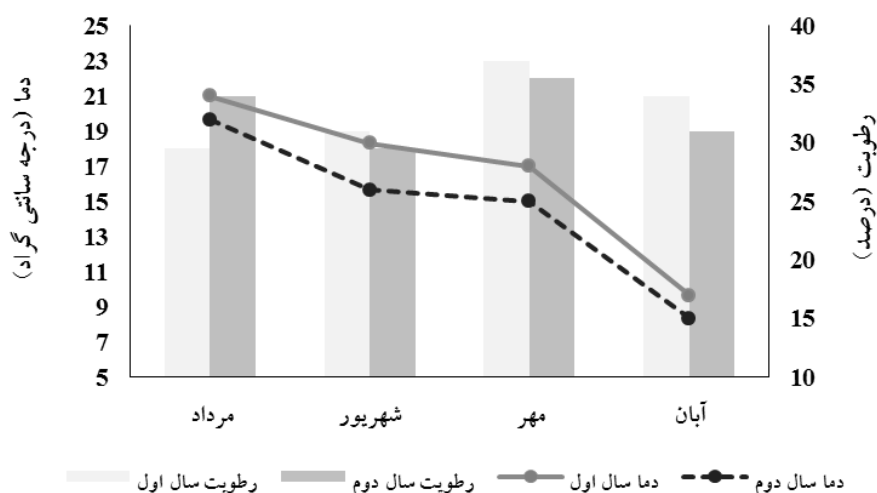
موجب کاهش جذب و آلودگی گیاه به فلزات سنگین شود (Shentu *et al.*, 2022). علاوه بر این، پژوهشگران بیان داشتند که کاربرد بیوچار به تنهایی و همچنین همراه با میکوریزا موجب افزایش عملکرد کمی و کیفی اسفناج نسبت به شاهد شده و همچنین اثرگذاری میکوریزا با افزایش میزان بیوچار بیشتر شد (شهبازی و همکاران، ۱۴۰۲). تجمع عناصر در خاک به ویژه در اراضی کشاورزی، امری تدریجی بوده و افزایش غلظت عناصر سنگین می‌تواند امنیت غذایی انسان‌ها را تهدید نماید. افزایش فلزات سنگین به ویژه کادمیوم و انتقال آن به زنجیره غذایی مشکل نگران‌کننده‌ای است. مطالعه حاضر با هدف استفاده از بیوچار به عنوان اصلاح‌کننده خاک برای کاهش اثرات منفی فلز سنگین کادمیوم در اسفناج در مدت دو سال انجام شد. مطالعات متعددی تأثیر بیوچار بر فلزات سنگین را مورد ارزیابی قرار دادند، اما تحقیقات دو ساله در زمینه تأثیر بیوچار به تعداد کافی نیست و نیاز به بررسی بیشتری دارد. به همین دلیل تحقیق حاضر در دو سال برای اطمینان از اثربخشی بیوچار روی گیاهان تکرار شد.

مواد و روش‌ها

طرح و تیمارهای آزمایش: این آزمایش در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج به مدت دو سال (۱۳۹۷-۱۳۹۸) بر روی اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) انجام شد. برای جلوگیری از آلوده شدن خاک مزرعه به فلزات سنگین، این تحقیق در گلخانه انجام شد. شرایط دما و رطوبت گلخانه طی رشد گیاهان در دو سال آزمایش ثبت گردید (شکل ۱). قبل از کاشت خاک نمونه‌برداری شد و برای تجزیه فیزیکی و شیمیایی به آزمایشگاه ارسال شد (جدول ۱). پژوهش حاضر به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. تیمارهای پژوهش عبارتند از بیوچار در دو سطح (صفر و ۵ درصد حجمی/حجمی) و همچنین کادمیوم در چهار سطح (صفر، ۱۰، ۲۰، ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر) مورد سنجش قرار گرفت. منبع بیوچار مورد استفاده چوب درختان جنگلی بود که به

ماندگاری بالای فلزات سنگین در خاک از مسائل زیست محیطی بسیار مهم و شناخته شده‌ای هستند. فلزات سنگین می‌توانند از طریق فعالیت‌هایی نظیر سوزاندن سوخت‌های فسیلی، کاربرد کودهای شیمیایی و آفت‌کش‌ها و سایر عوامل دیگر وارد اکوسیستم شوند (Emenike *et al.*, 2016). برخی از فلزات سنگین نظیر سرب، کادمیوم، جیوه و نیکل، حتی در مقادیر بسیار کم نیز برای انسان‌ها خطرآفرین هستند. زیرا این عناصر از بدن انسان دفع نمی‌شوند، بلکه توسط اندام‌های بدن جذب شده و بیماری‌های فراوانی را به همراه دارند (Yang *et al.*, 2010). سمیت فلزات سنگین در گیاه باعث به وجود آمدن اثرات منفی مستقیم و غیرمستقیم فراوانی در گیاهان از قبیل آسیب به ساختمان DNA، آسیب به غشای سلولی، اختلال در عملکرد سلول‌ها و تغییر در ویژگی آنزیم‌ها می‌شود. وجود فلزات سنگین در منطقه اطراف ریشه و ورود آن‌ها به گیاه، اختلال در متابولیسم سلولی و کاهش رشد گیاه را به همراه دارد (Shentu *et al.*, 2022; Qiu *et al.*, 2021). آلودگی فلزات سنگین در خاک و آب یک تهدید جدی برای اکوسیستم و سلامت انسان به شمار می‌رود. به همین دلیل، ارائه راهکارهایی جهت حذف فلزات سنگین از مسائل قابل توجه و مهم برای تولیدکنندگان محصولات کشاورزی در نظر گرفته می‌شود (Yu *et al.*, 2021).

یکی از تکنیک‌های متداول برای اصلاح خاک‌های آلوده، تثبیت فلزات سنگین در خاک است. بیوچار ذغال تهیه‌شده از زیست‌توده‌های گیاهی است که موجب تثبیت فلزات سنگین در خاک می‌گردد. مواد آلی از شاخص‌های مهم و پراهمیت در حاصلخیزی خاک است. کاربرد بیوچار به تنهایی موجب افزایش حاصلخیزی خاک و مواد آلی خاک شده و همچنین یک اصلاح‌کننده مهم خاک به شمار می‌رود (Amoah-Antwi *et al.*, 2020). بیوچار موجب حفظ و نگهداری کربن در خاک شده و علاوه بر این، سبب بهبود ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک می‌شود (Zhang *et al.*, 2022; Osman *et al.*, 2022). در همین راستا گزارش شده است که کاربرد بیوچار می‌تواند سبب تثبیت فلزات سنگین در خاک شود و همچنین



شکل ۱- دما و رطوبت گلخانه در ماه‌های کشت در دو سال آزمایشی

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک قبل از کاشت

سال	بافت خاک	اسیدیته	نیتروژن	فسفر	پتاسیم	هدایت الکتریکی	مواد آلی
			(میلی‌گرم بر کیلوگرم)			(دسی‌زیمنس بر متر)	(درصد)
سال اول	لومی-رسی	۷/۶	۵/۵۸	۷/۴۵	۳۸۵	۱/۶	۲/۶۱
سال دوم	لومی-رسی	۷/۸	۵/۱۳	۷/۳۹	۳۷۲	۱/۵	۲/۰۲

جدول ۲- نتایج تجزیه و تحلیل شیمیایی بیوجار

سال	آلمینیوم	سیلیکون	کربن	اکسیژن	کلسیم	آهن	پتاسیم	فسفر	نیتروژن
	(درصد)								
سال اول	۰/۱۷	۱/۲۵	۴۸/۲۴	۴۳/۲۲	۴/۰۳	۰/۴۱	۰/۳۵	۰/۲۰	۰/۳۴
سال دوم	۰/۱۹	۱/۱۶	۴۷/۱۳	۴۲/۰۷	۴/۰۶	۰/۴۴	۰/۳۱	۰/۱۷	۰/۳۷

روش pyrolysis (گرماکافت) تولید شد و نتایج تجزیه شیمیایی بیوجار در جدول ۲ نشان داده شده است.

روش انجام تحقیق: در سال اول خاک‌های آزمایشی به کادمیوم آلوده شدند، سپس در سال دوم این آزمایش مجدداً تکرار شد تا پس از دو سال اثر بیوجار روی خاک و گیاهان بهتر مشخص شود. آلودگی خاک یک ماه قبل از کاشت اسفناج با نمک کلرید کادمیوم انجام شد، ابتدا خاک مورد نظر به طور یکنواخت روی سطح برزنت به قطر ۲ سانتی‌متر قرار گرفت و سپس کلرید کادمیوم با دوز مشخص شده به صورت محلول در آب و اسپری روی سطح خاک پس از جذب کادمیوم توسط

خاک و خشک شدن رطوبت اضافی، بیوجار با تیمارهای خاک مربوطه به صورت ۵ درصد وزنی (۱/۵ کیلوگرم برای هر گلدان ۳۰ کیلوگرمی) مخلوط شد، سپس خاک‌ها به گلدان‌های آماده شده منتقل شدند. پس از گذشت یک ماه از تاریخ آلودگی (۱۵ شهریورماه)، بذره‌های اسفناج (از شرکت پاکان بذر اصفهان) در گلدان‌ها پس از ضدعفونی (هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت یک دقیقه) کشت شدند. رقم اسفناج Virofly بود. گنجایش گلدان‌ها ۳ کیلوگرم بود که حاوی خاک کشاورزی، خاک‌برگ و ماسه به نسبت (۲۰:۳۰:۵۰) بود. به منظور تأمین کودهای مورد نیاز، با توجه به آزمایش خاک (۹)

از طریق رابطه ۲ محاسبه شد (Bertin *et al.*, 1996).
رابطه (۲):

$$\text{Membrane Stability Index (MSI)} = [1 - C_1/C_2] \times 100$$

که در این رابطه $\text{MSI} = \text{شاخص پایداری غشا}$ ، $C_1 =$ نشت

اولیه، $C_2 =$ نشت ثانویه است. برای سنجش فعالیت آنزیم

کاتالاز، از مخلوط واکنش که شامل بافر فسفات سدیم ۱۰۰

میلی مولار، (اسیدیته=V)، H_2O_2 ۲۰ میلی مولار EDTA ۰/۱

میلی مولار و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی استفاده شد. برای

اندازه گیری محتوای پرولین، برگ گیاهان در دمای ۲۵ درجه

سلسیوس به مدت ۷۲ ساعت خشک و پس از آسیاب ۰/۳ گرم

ماده خشک گیاهی را درون هاون ریخته و ۵ میلی لیتر اسید

سولفوسالسیلیک ۳ درصد به آن اضافه، سپس همگن شد.

نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دمای چهار درجه سلسیوس در

۱۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و میزان جذب با استفاده

از اسپکتروفتومتر (مدل PG Instruments Ltd VIS/UV+T) در

طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده و با نمونه شاهد مقایسه شد

(Bates *et al.*, 1973). برای اندازه گیری میزان کل قندهای

محلول در برگ از روش Sheligl (۱۹۸۶) استفاده گردید.

نمونه‌های خشک شده آسیاب و پس از توزین، درون فالكون

ریخته و مقدار ۱۵ میلی لیتر اتانول ۸۰ درصد به ارلن اضافه

گردید و به مدت ۲۰ ثانیه ورتکس شد. فالكون‌های حاوی

عصاره به مدت ۲۴ ساعت در آن در دمای ۵۰ درجه

سانتی گراد نگهداری شدند تا اتانول آن‌ها تبخیر و به مدت ۱۰

دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. مقدار ۲

میلی لیتر از عصاره فاز مایع پس از سانتریفیوژ برداشته و

نمونه‌ها در اسپکتروفتومتر با طول موج ۴۸۵ نانومتر خوانده و

منحنی استاندارد رسم شد و مقدار قند با قراردادن اعداد در

معادله خط به دست آمد.

فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از کاهش جذب H_2O_2

محاسبه گردید. به ۳۵۰ میلی گرم از بافت برگ گیاه، ۱۵۰۰

میکرولیتر از بافر فسفات سدیم ۱۰۰ میلی مولار، حاوی دو

درصد PVPP و ۱/۳ میلی مولار EDTA افزوده شد و پس از

ورتکس نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه

سانتریفوژ شدند و روشناور برای سنجش عصاره آنزیم بکار

گرم آورده در هر گلدان در سه مرحله به صورت سرک) به خاک اضافه شد. آبیاری گیاهان براساس ظرفیت زراعی خاک به صورت نرمال هر دو روز یکبار انجام شد. در طول رشد گیاهان از هیچ گونه آفت کش، علف کش و نهاده های شیمیایی استفاده نشد. پس از گذشت دو ماه و در ۱۵ آبان ماه (در هر دو سال کشت) گیاهان برداشت شدند.

متغیرهای بررسی شده: در زمان برداشت، تعداد برگ در هر

بوته شمارش شد. ارتفاع گیاه و ارتفاع ریشه توسط خط کش

مدرج اندازه گیری شد. برای اندازه گیری اندام هوایی، گیاه

کشت شده در هر گلدان از یقه توسط قیچی قطع شد و تمام

قسمت های هوایی گیاه (ساقه، گل و برگ) درون پاکت های

مخصوص قرار گرفت. برای اندازه گیری ریشه، با دقت کافی

گیاهان با ریشه کامل از خاک خارج شدند. پس از آن، ریشه ها

با اسید رقیق (Hcl 0.01 M) شسته شدند (Lindsay and

Norvell, 1978). سپس اندام هوایی و ریشه ها به صورت

جداگانه درون پاکت های مخصوص قرار گرفتند و پاکت ها به

مدت ۴۸ ساعت در آن در دمای ۷۲ درجه سلسیوس خشک و

پس از آن با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم توزین شدند.

برای سنجش میزان محتوای رطوبت نسبی از برگ های جوان

گیاه در هنگام برداشت استفاده و از طریق رابطه زیر محاسبه

شد.

رابطه (۱)

$$\text{RWC} = \frac{\text{FW} - \text{DW}}{\text{SW} - \text{DW}} \times 100$$

که در رابطه فوق $\text{FW} =$ وزن تر برگ، $\text{DW} =$ وزن خشک

برگ، $\text{SW} =$ وزن اشباع برگ است (Ferrat and Loyal, 1999).

شاخص پایداری غشاء از طریق اندازه گیری میزان نشت

الکترولیت های برگ ارزیابی شد. برای این منظور نمونه ها هر

کدام درون آب مقطر با حجم ۲۰ میلی لیتر منتقل و به مدت ۲۴

ساعت در دمای اتاق نگهداری شدند. هدایت الکتریکی

آب مقطر همراه نمونه به عنوان نشت اولیه اندازه گیری شد.

نشت ثانویه نیز از طریق اندازه گیری میزان هدایت الکتریکی

نمونه ها پس از حرارت دادن آن ها به مدت ۲ دقیقه و در دمای

۱۰۰ درجه سانتی گراد اندازه گیری شد. شاخص پایداری غشاء

برده شد. مخلوط واکنش دارای ۳۰ میلی مولار پراکسید هیدروژن در بافر فسفات ۵۰ میلی مولار (pH=7) و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیم در حجم نهایی ۱۰۰۰ میکرولیتر بود. میزان فعالیت آنزیم بر حسب هر میکرومول H_2O_2 تجزیه شده در دقیقه به ازای هر میلی گرم پروتئین محاسبه گردید. تغییرات جذب در ۲۴۰ نانومتر به مدت سه دقیقه با دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل PG Instruments Itd VIS/UV+T) ثبت شد (Aebi, 1984). سنجش آنزیم آسکوربات پراکسیداز از بافت برگ به روش اسپکتروفوتومتری (مدل PG Instruments Itd VIS/UV+T) در دمای ۲۵ درجه سلسیوس صورت گرفت و در نهایت میزان فعالیت آنزیم بر حسب میکرومول آسکوربات اکسید شده به ازای یک گرم پروتئین در دقیقه محاسبه شد (Sairam et al., 1998). برای ارزیابی آنزیم سوپراکسید دیسموتاز از برگ گیاهان استفاده و با اندازه گیری سرعت احیاء نیترو بلوترازولینوم (NBT) در طول موج ۵۶۰ نانومتر اندازه گیری شد. فعالیت آنزیمی بر حسب واحد آنزیم در مقدار پروتئین (بر حسب میلی گرم) موجود در عصاره بیان شد (Beers and Sizer, 1952). تجزیه آماری با استفاده از نرم افزار SAS (Ver. 9.4) به صورت آنالیز مرکب انجام شد. مقایسه میانگین ها نیز با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن با احتمال خطای احتمال پنج درصد و رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel صورت گرفت.

نتایج و بحث

تعداد برگ و ارتفاع گیاه: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر بیوجار، کادمیوم و اثرات متقابل آنان دارای اثر معنی دار با احتمال خطای یک درصد بر تعداد برگ و ارتفاع گیاه بود (جدول ۳). کاربرد بیوجار موجب افزایش تعداد برگ و ارتفاع گیاه اسفناج شد. کادمیوم و همچنین افزایش غلظت آن تعداد برگ و ارتفاع گیاه را کاهش داد. بیشترین تعداد برگ (۱۲ برگ) و ارتفاع گیاه (۱۵/۲۵ سانتی متر) مربوط به اثرات متقابل بیوجار و عدم مصرف کادمیوم بود. کمترین مقدار تعداد برگ (۴/۳۳ برگ) و ارتفاع گیاه (۸/۰۶ سانتی متر) مربوط به تیمار

عدم مصرف بیوجار و کادمیوم ۳۰ میلی گرم بر لیتر بود (جدول ۴). در مطالعه حاضر با افزایش غلظت کادمیوم خاک تعداد برگ و ارتفاع گیاه کاهش یافت که می تواند به دلیل کاهش جذب عناصر غذایی و کاهش فتوسنتز و تنفس در گیاه باشد. افزایش غلظت کادمیوم با اختلال در جذب عناصر غذایی پرمصرف خصوصاً عنصر نیتروژن، که اثر مستقیم در افزایش ارتفاع گیاه دارد و همچنین عنصر فسفر که تأثیر به سزایی در افزایش تعداد برگ را به همراه دارد، موجب کاهش رشد گیاه می شود. از طرف دیگر، جذب عناصر کم مصرف نظیر آهن، روی و منگنز که در ساخت کلروفیل و فتوسنتز نقش به سزایی دارند، با افزایش غلظت کادمیوم کاهش می یابد که در نهایت سبب کاهش فتوسنتز می شود و به همین علت در تیمارهای دارای غلظت بیشتر کادمیوم، کاهش ارتفاع گیاه و تعداد برگ اسفناج مشاهده شد (Shentu et al., 2022; Qiu et al., 2021). در تیمارهای دارای بیوجار تعداد برگ و ارتفاع گیاه اسفناج افزایش یافت که این افزایش از طریق بهبود شرایط خاک و همچنین جلوگیری از آلودگی عناصر توسط بیوجار صورت گرفته است (Osman et al., 2022). در همین راستا گزارش شده است که بیوجار با فراهمی آب و عناصر غذایی برای گیاه سبب افزایش رشد، ارتفاع گیاه و تعداد برگ ریحان شده است (Pandy et al., 2016).

وزن خشک ریشه و ارتفاع ریشه: اثر بیوجار، کادمیوم و

اثرات متقابل بیوجار در کادمیوم تأثیر معنی دار با احتمال خطای یک درصد بر وزن خشک ریشه و ارتفاع ریشه داشت (جدول ۳). استفاده از بیوجار سبب افزایش وزن خشک ریشه و ارتفاع ریشه گیاه اسفناج شد. کاربرد کادمیوم و همچنین افزایش غلظت آن وزن خشک ریشه و ارتفاع ریشه را کاهش داد. بیشترین وزن خشک ریشه (۰/۳۵ گرم) و ارتفاع ریشه (۱۴/۸۵ سانتی متر) در برهمکنش بیوجار و عدم مصرف کادمیوم مشاهده شد. کمترین مقدار وزن خشک ریشه (۰/۰۳ گرم) و ارتفاع ریشه (۶/۱۸ سانتی متر) مربوط به تیمار عدم مصرف بیوجار و کادمیوم ۳۰ میلی گرم بر لیتر بود (جدول ۴). اثرات منفی آلودگی کادمیوم بر رشد گیاه به ایجاد اختلال در رشد

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس صفات عملکرد و ریشه اسفناج

منابع تغییرات	درجه آزادی	تعداد برگ	ارتفاع گیاه	وزن خشک ریشه	ارتفاع ریشه	وزن خشک اندام هوایی
سال	۱	۳/۸۳ ^{ns}	۱۳/۴۶ ^{ns}	۰/۰۷۵ ^{ns}	۶۳/۴۸ ^{ns}	۰/۲۱ ^{ns}
تکرار در سال	۲	۴/۳۲	۲۰/۴۸	۰/۳۹۵	۷۵/۶۲	۰/۱۰
بیوچار	۱	۲۱/۰۸ ^{**}	۳۵/۷۳ ^{**}	۶/۹۲ ^{**}	۱۲۷/۸۹ ^{**}	۷/۴۳ ^{**}
سال × بیوچار	۱	۰/۴۴ ^{ns}	۱/۵۵ ^{ns}	۰/۶۱ ^{ns}	۱/۷۲ ^{ns}	۰/۶۲ ^{ns}
کادمیوم	۳	۴۶/۳۱ ^{**}	۳۵/۷۶ ^{**}	۱۸/۲۵ ^{**}	۳۵/۶۸ ^{**}	۳۶/۹۷ ^{**}
سال × کادمیوم	۳	۰/۴۲ ^{ns}	۱/۹۷ ^{ns}	۲/۷۹ ^{ns}	۰/۹۱ ^{ns}	۰/۸۱ ^{ns}
بیوچار × کادمیوم	۳	۳۲/۹۴ ^{**}	۲۵/۶۲ ^{**}	۴۳/۶۷ ^{**}	۱۳/۴۵ ^{**}	۷۲/۳۵ ^{**}
سال × بیوچار × کادمیوم	۳	۱/۲۶ ^{ns}	۲/۱۴ ^{ns}	۵/۰۳ ^{ns}	۳/۲۶ ^{ns}	۳/۴۸ ^{ns}
خطا	۳۰	۵/۱۴	۴/۸۵	۱۱/۰۷	۹/۷۳	۴/۷۲
ضریب تغییرات		۹/۴۵	۱۱/۲۶	۱۲/۴۲	۱۰/۸۴	۸/۷۵

** معنی دار با احتمال خطای یک درصد و ns فاقد اثر معنی دار.

جدول ۴- نتایج مقایسه میانگین صفات عملکرد و ریشه اسفناج

بیوچار	کادمیوم (mg/l)	تعداد برگ	ارتفاع گیاه (cm)	وزن خشک ریشه (g)	ارتفاع ریشه (cm)	وزن خشک اندام هوایی (g)
	شاهد	۱۲ ^a	۱۵/۲۸ ^a	۰/۳۵ ^a	۱۴/۸۵ ^a	۲/۷۴ ^a
۵ درصد	۱۰	۹/۳۳ ^c	۱۳/۸۵ ^b	۰/۲۴ ^b	۱۲/۴۲ ^c	۲/۲۵ ^b
وزنی/وزنی	۲۰	۴/۵ ^e	۱۱/۲۱ ^d	۰/۲۳ ^b	۱۰/۰۸ ^e	۲/۱۹ ^b
	۳۰	۷/۵ ^d	۱۰/۰۸ ^e	۰/۱۸ ^c	۸/۹۳ ^f	۱/۹۸ ^c
	شاهد	۱۰/۵ ^b	۱۳/۹۱ ^b	۰/۱۳ ^d	۱۳/۶۱ ^b	۱/۱۵ ^d
	۱۰	۷/۶۵ ^d	۱۲/۴۵ ^c	۰/۱۲ ^d	۱۱/۲۷ ^d	۱/۱۲ ^d
شاهد	۲۰	۳/۵ ^f	۹/۳۸ ^f	۰/۰۷ ^e	۷/۵۱ ^g	۰/۹۲ ^e
	۳۰	۴/۳۳ ^e	۸/۰۶ ^g	۰/۰۳ ^f	۶/۱۸ ^h	۰/۷۱ ^f

میانگین‌ها با حروف یکسان فاقد اثر معنی داری هستند.

ریشه برنج تحت تیمارهای کادمیوم به طور معنی داری کاهش یافت (Qina et al., 2021). کاربرد بیوچار موجب افزایش رشد ریشه در مطالعه حاضر شد. تبادل کاتیونی توسط بیوچار نقش مهمی را در کاهش زیست‌فراهمی فلزات سنگین در خاک ایفا می‌کند. علاوه بر این، بیوچار با افزایش pH خاک اسیدی، منجر به افزایش بارهای منفی سطح خاک می‌شود. بنابراین باعث افزایش جذب فلزات سنگین در خود می‌شود. به طور کلی

ریشه نیز مربوط می‌شود. اینکه گیاه جذب انتخابی نداشته و با افزایش غلظت عناصر شامل عناصر غذایی و فلزات سنگین در محیط ریشه، میزان جذب و انباشت آن نیز در بافت‌های گیاهی افزایش پیدا می‌کند، امری کاملاً بدیهی در علم تغذیه گیاهی است. فلز کادمیوم با ایجاد اختلال در محیط اطراف ریشه موجب کاهش رشد ریشه شده است (Leng et al., 2021). در مطالعه‌ای دیگر مشاهده شد که وزن خشک ریشه و ارتفاع

دارد که این امر می‌تواند در بهبود عملکرد معنی‌دار اندام هوایی نسبت به شاهد (عدم مصرف بیوچار) مؤثر باشد. نتایج حاصل از پژوهش حاضر با نتایج سایر محققین بر روی باقلا مطابقت داشت. پژوهشگران بیان کردند که کاربرد بیوچار سبب افزایش عملکرد و اندام هوایی باقلا شد (پورمنصور و همکاران، ۱۳۹۸).

رطوبت نسبی برگ و شاخص پایداری غشاء: نتایج

تجزیه واریانس بیانگر آن است که اثر بیوچار و اثر کادمیوم با احتمال خطای یک درصد بر رطوبت نسبی برگ و شاخص پایداری غشاء معنی‌دار شد (جدول ۵). کاربرد بیوچار موجب افزایش رطوبت نسبی برگ و کاهش شاخص پایداری غشاء شد. مصرف کادمیوم و افزایش غلظت آن نیز رطوبت نسبی برگ را افزایش و شاخص پایداری غشاء را کاهش داد. در میان تیمارهای بیوچار بیشترین رطوبت نسبی برگ (۷۲/۴۸ درصد) و کمترین شاخص پایداری غشاء (۵/۱۷ درصد) مربوط به کاربرد بیوچار بود. در میان تیمارهای کادمیوم نیز بیشترین رطوبت نسبی برگ (۵۹/۲۸ درصد) و کمترین شاخص پایداری غشاء (۱۰/۷۹ درصد) مربوط به کادمیوم ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر بود (جدول ۶). یکی از مهم‌ترین تغییرات حاصل از تنش در گیاهان کاهش محتوای رطوبت نسبی برگ است. شاخص رطوبت نسبی برگ توانایی گیاه را در تحمل به تنش‌های محیطی نشان می‌دهد. کاهش در محتوای نسبی آب برگ گیاهان نشان‌دهنده کاهش آماس سلولی است که موجب کاهش آب مورد نیاز جهت فرآیندهای مورفوفیزیولوژیکی همچون بازشدن روزنه‌ها، طویل‌شدن سلولی و فتوسنتز است. زمانی که رطوبت نسبی برگ افزایش یابد، گیاه در وضعیت مناسبی قرار دارد و آماس سلولی خود را حفظ می‌کند و رشد آن تداوم می‌یابد؛ اما در مطالعه حاضر با افزایش تنش کادمیوم و کاهش آماس سلولی از محتوای نسبی آب برگ کاسته شد که این کاهش بیانگر کاهش فتوسنتز و رشد گیاه است (Zulfiqar *et al.*, 2022). گونه‌های فعال اکسیژن در شرایط تنش‌های محیطی افزایش پیدا می‌کنند و سبب پراکسیداسیون لیپیدی و کاهش پایداری غشاء شده و در نتیجه مواد سیتوپلاسمی از آن

مکانیسم‌های جذب فلزات سنگین توسط بیوچار شامل برهمکنش‌های الکترواستاتیک، تبادل یونی، رسوب شیمیایی و ایجاد کمپلکس با گروه‌های عاملی در سطح بیوچار است. در واقع بیوچار با قلیایی‌کردن خاک و افزایش ظرفیت تبادل کاتیونی قابلیت دسترسی ریشه به عناصر غذایی در خاک را افزایش می‌دهد (Zhang *et al.*, 2022). در پژوهش دیگری مشاهده شد که با افزایش غلظت کادمیوم و سرب رشد ریشه باقلا کاهش یافت و کاربرد بیوچار مانع جذب فلزات سنگین توسط گیاه شد و همچنین رشد و ارتفاع ریشه را افزایش داد (Karimi *et al.*, 2012).

وزن خشک اندام هوایی: اثر بیوچار، کادمیوم و برهمکنش

بیوچار در کادمیوم تأثیر معنی‌دار با احتمال خطای یک درصد بر وزن خشک اندام هوایی داشت (جدول ۳). بیوچار افزایش وزن خشک اندام هوایی اسفناج را رقم زد. کاربرد کادمیوم و همچنین افزایش غلظت آن وزن خشک اندام هوایی را کاهش داد. بیشترین وزن خشک اندام هوایی (۲/۷۴ گرم) در اثرات متقابل بیوچار و عدم مصرف کادمیوم مشاهده شد. کمترین مقدار وزن خشک اندام هوایی (۰/۷۱ گرم) مربوط به تیمار عدم مصرف بیوچار و کادمیوم ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر بود (جدول ۴). در مطالعه حاضر کادمیوم و افزایش غلظت آن سبب کاهش وزن خشک اندام هوایی اسفناج شد که می‌توان گفت دلیل این امر افزایش اتصال عرضی پکتین‌ها در لاملاهای میانی موجب افزایش چسبندگی سلولی و اتصال به دیواره سلولی می‌شود که در برابر رشد مقاومت می‌کند. از طرف دیگر، افزایش فعالیت پراکسیداز دیواره سلولی ناشی از فلز سنگین کادمیوم سبب افزایش اتصال عرضی فنلی می‌شود که می‌تواند از گسترش دیواره سلولی و رشد زیست‌توده جلوگیری کند (Sudhagar and Sassikumar, 2017). به نظر می‌رسد کاربرد بیوچار نقش مهمی در رشد گیاه دارد. زیرا بیوچار با فراهمی و افزایش میزان عناصر غذایی همچون نیتروژن، فسفر، پتاسیم، کلسیم و منیزیم موجب افزایش عملکرد و رشد گیاه اسفناج شده است (Liu *et al.*, 2017). ترکیبات بیوچار به کاربرده شده نیز نشان از بالاتر بودن نیتروژن و کربن نسبت به خاک محل آزمایش

جدول ۵- نتایج تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیک اسفناج

منابع تغییرات	درجه آزادی	رطوبت نسبی برگ	شاخص پایداری غشاء	محتوای پرولین	قند محلول	کاتالاز	آسکوربات پراکسیداز	سوپراکسید دیسموتاز
سال	۱	۸/۱۱ ^{ns}	۵/۴۳ ^{ns}	۴/۲۵ ^{ns}	۳/۷۵ ^{ns}	۰/۲۴ ^{ns}	۱/۲۸ ^{ns}	۲/۳۶ ^{ns}
تکرار در سال	۲	۳۴/۵۹	۲۶/۷۶	۱۹/۸۱	۱۰/۳۹	۷/۸۴	۹/۲۸	۸/۴۵
بیوچار	۱	۲۸۳/۹۴ ^{**}	۲۵۹/۸۳ ^{**}	۴۵/۹۶ ^{**}	۴۹/۴۳ ^{**}	۳۸/۱۲ ^{**}	۵۶/۴۳ ^{**}	۷۳/۴۳ ^{**}
سال × بیوچار	۱	۱۴/۸۵ ^{ns}	۲۳/۲۴ ^{ns}	۳/۲۵ ^{ns}	۱/۳۸ ^{ns}	۲/۴۳ ^{ns}	۸/۳۲ ^{ns}	۵/۷۵ ^{ns}
کادمیوم	۳	۳۵۹/۱۴ ^{**}	۴۸۷/۲۳ ^{**}	۵۳/۸۵ ^{**}	۶۲/۸۹ ^{**}	۴۴/۷۸ ^{**}	۸/۹۷ ^{**}	۹۶/۱۶ ^{**}
سال × کادمیوم	۳	۲/۴۸ ^{ns}	۱۲/۰۵ ^{ns}	۲/۴۹ ^{ns}	۵/۲۶ ^{ns}	۳/۹۶ ^{ns}	۰/۲۵ ^{ns}	۲/۸۱ ^{ns}
بیوچار × کادمیوم	۳	۶/۷۱ ^{ns}	۴/۶۵ ^{ns}	۴/۲۸ ^{ns}	۱۰/۰۸ ^{ns}	۹/۳۲ ^{ns}	۱۴/۲۱ ^{ns}	۱۶/۷۹ ^{ns}
سال × بیوچار × کادمیوم	۳	۱۰/۲۸ ^{ns}	۱۲/۵۸ ^{ns}	۵/۱۱ ^{ns}	۱۵/۲۱ ^{ns}	۱۲/۴۵ ^{ns}	۱۵/۳۲ ^{ns}	۱۸/۲۵ ^{ns}
خطا	۳۰	۲۳/۴۲	۱۱/۰۷	۱۰/۲۸	۱۷/۴۳	۸/۷۳	۲۱/۱۸	۱۰/۸۳
ضریب تغییرات		۸/۴۵	۱۳/۴۲	۱۱/۳۲	۱۳/۵۹	۱۲/۰۷	۹/۴۳	۷/۹۶

** معنی دار با احتمال خطای یک درصد و ns فاقد اثر معنی دار

جدول ۶- نتایج مقایسه میانگین صفات فیزیولوژیک اسفناج

تیماها	رطوبت نسبی برگ (%)	شاخص پایداری غشاء (%)	محتوای پرولین (mg.g FW ⁻¹)	قند محلول (%)	کاتالاز (μmol Fw minute ⁻¹)	آسکوربات پراکسیداز (μmol H ₂ O ₂ min ⁻¹ .mg ⁻¹ protein)	سوپراکسید دیسموتاز (U. mg protein)
بیوچار (وزنی/وزنی)							
شاهد	۶۳/۷۹ ^b	۱۱/۳۲ ^a	۰/۱۳۱ ^a	۲/۲۸ ^b	۰/۰۱۳ ^a	۰/۶۱ ^a	۶/۴۵ ^a
۵ درصد	۷۲/۴۸ ^a	۵/۱۷ ^b	۰/۱۱۴ ^b	۳/۹۶ ^a	۰/۰۰۸ ^b	۰/۴۶ ^b	۴/۰۶ ^b
کادمیوم (میلی گرم بر لیتر)							
شاهد	۵۹/۲۸ ^a	۱۰/۷۹ ^d	۰/۱۲۲ ^c	۲/۰۵ ^c	۰/۰۰۸ ^c	۰/۵۶ ^d	۳/۵۹ ^d
۱۰	۵۶/۶۵ ^b	۱۹/۶۵ ^c	۰/۱۸۶ ^b	۳/۵۶ ^b	۰/۰۱۱ ^b	۰/۶۲ ^c	۴/۶۷ ^c
۲۰	۵۲/۲۸ ^c	۲۸/۱۱ ^b	۰/۱۷۱ ^b	۳/۴۹ ^b	۰/۰۱۲ ^b	۰/۷۱ ^b	۵/۹۸ ^b
۳۰	۴۷/۷۳ ^d	۳۵/۴۴ ^a	۰/۲۱۶ ^a	۴/۳۳ ^a	۰/۰۱۵ ^a	۰/۷۹ ^a	۶/۷۳ ^a

میانگین ها با حروف یکسان فاقد اثر معنی داری هستند.

مطالعه حاضر شاخص پایداری غشاء را افزایش داد که این افزایش سبب اختلال در عملکرد گیاه و باز و بسته شدن روزنه‌ها می‌شود، بنابراین در پی آن رطوبت نسبی برگ کاهش پیدا کرده و همین امر سبب کاهش فتوسنتز و رشد گیاه شده

به بیرون نشت کرده و افزایش هدایت الکتریکی را به دنبال دارد (Rehman et al., 2022). نشت یونی به عبارتی شاخصی برای ارزیابی میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء است. می‌توان اظهار داشت انباشت یون‌ها در شرایط تنش کادمیوم در

توجیه نمود. از طرف دیگر، در مطالعه حاضر در تیمار کادمیوم ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر رطوبت نسبی برگ کاهش و قند محلول افزایش داشت که می‌توان گفت افزایش غلظت قند در گیاهان مرتبط با کاهش آب در سلول‌ها عامل مهمی در کاهش رشد گیاه است (Rohani et al., 2019). نتایج پژوهش حاضر با سایر محققان مطابقت داشت. آن‌ها بیان داشتند که کاربرد بیوجار سبب افزایش قند محلول در شلغم علوفه‌ای شد (کلهر منفرد و همکاران، ۱۴۰۳). تجمع قندهای محلول در حفظ سازوکارهایی مانند ترمیم و جبران حجم از دست رفته سلول و آماس آن، کاهش صدمات ناشی از رادیکال‌های آزاد به سلول، حفاظت و ثبات آنزیم‌ها و ساختمان غشا مهم است (Devi et al., 2007). می‌توان گفت افزایش مقدار پرولین در برگ‌ها در همه غلظت‌های کادمیوم ناشی از سنتز یا تجزیه پروتئین باشد. پرولین با عمل به عنوان مولکول پایدارکننده پروتئین‌ها، سمیت ناشی از فلز سنگین کادمیوم را کاهش می‌دهد. تجمع آنتی‌اکسیدانت‌های غیرآنزیمی مانند پرولین تنظیم اسمزی را تسهیل می‌کند و پتانسیل اسمزی درون گیاه را کاهش می‌دهد و ممکن است با تحمل تنش غیرزنده ارتباط داشته باشد. پرولین در واقع به عنوان یک شاخص در تعیین میزان حساسیت به تنش در گیاهان به شمار می‌رود. بالارفتن میزان این ترکیب در بافت‌های گیاهان به نوعی بیانگر فعال‌شدن مکانیسم تنظیم اسمزی است که شرایط را برای جذب بیشتر آب و املاح از محیط ریشه فراهم می‌آورد. پژوهشگران تأکید کردند که تجمع پرولین در بافت گیاهان تنش دیده به علت افزایش میزان آن به وسیله پرولین-۵-کربوکسیلاز سنتتاز و کاهش میزان تجزیه آن به وسیله آنزیم پرولین اکسیداز است. در شرایط تنش آب و املاح قابل دسترس گیاه کاهش می‌یابد و برای حفظ محتوای آب درونی روزه‌های برگ بسته می‌شود که این امر منجر به کاهش جذب و تثبیت CO₂، بازداری از فعالیت آنزیم‌های فتوسنتزی و تغییر در متابولیسم قندها می‌گردد. افزایش پرولین ناشی از افزایش مقدار کادمیوم را می‌توان چنین توجیه کرد که آنزیم‌های مسیر گلوتامات تحت تنش کادمیوم فعال شده و در نتیجه سنتز پرولین افزایش می‌یابد، زیرا

است (Cao et al., 2014). در همین راستا پژوهشگران اعلام کردند که تنش کادمیوم موجب کاهش رطوبت نسبی برگ و افزایش شاخص پایدار غشاء و نشت الکترون در سلول شده است (Rehman et al., 2022). با کاهش شاخص پایداری غشا، رطوبت نسبی برگ افزایش یافت و بیوجار با فراهمی آب در دسترس گیاه موجب افزایش رطوبت نسبی برگ شد که نتایج حاصل از این پژوهش کلهر منفرد و همکاران (۱۴۰۳)، مطابقت داشت. آن‌ها عنوان کردند که استفاده از بیوجار به علت بهبود ساختمان خاک و حفظ آب ثقیلی باعث ایجاد محیطی مناسب جهت رشد گیاه شده و آب قابل دسترس بیشتری را در اختیار گیاه قرار داده و در نتیجه سبب افزایش محتوای نسبی آب برگ می‌گردد.

محتوای پرولین و قند محلول: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر بیوجار و اثر کادمیوم با احتمال خطای یک درصد بر محتوای پرولین و قند محلول معنی‌دار شد (جدول ۵). استفاده از بیوجار سبب کاهش محتوای پرولین و افزایش قندهای محلول گیاه شد و به کار بردن کادمیوم و افزایش غلظت آن نیز موجب افزایش محتوای پرولین و کاهش قندهای محلول گیاه شد. نتایج نشان داد که در میان تیمارهای بیوجار بیشترین محتوای پرولین (۰/۱۳۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، مربوط به شاهد و بیشترین مقدار قند محلول (۳/۹۶ درصد)، مربوط به کاربرد بیوجار بود. در میان تیمارهای کادمیوم بیشترین محتوای پرولین (۰/۲۱۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، و بیشترین مقدار قند محلول (۴/۳۲ درصد)، مربوط به کادمیوم ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر بود (جدول ۶). افزایش کل قندهای محلول در شرایط تنش‌های محیطی، باعث حفظ غشا و ساختارهای سلولی مختلف می‌شود و از ساختار سلول در برابر تنش محافظت می‌کند. افزایش قندهای محلول در شرایط تنش، موجب افزایش ذخیره کربوهیدرات گیاهان در سطح مطلوب برای حمایت از متابولیسم گیاه می‌شود. افزایش قندهای محلول را می‌توان با دلایلی از قبیل تجزیه پلی‌ساکاریدها نظیر نشاسته، سنتز قندها از مسیر غیرفتوسنتزی، عدم تبدیل این ترکیبات به محصولات دیگر، کاهش انتقال از برگ‌ها به دیگر اندام‌ها

اثرات مخرب گونه‌های اکسیژن فعال را خنثی می‌کند، بنابراین می‌توان گفت که با افزایش غلظت کادمیوم، فعالیت آنزیمی گیاه جهت مقابله با تنش کادمیوم افزایش یافته است (Dawuda et al., 2019; Ullah et al., 2020). آنزیم سوپراکسید دیسموتاز رادیکال سوپراکسید را که سبب آسیب به غشای کلروپلاست، اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌ها می‌شود را خنثی کرده و به اکسیژن مولکولی و پراکسید هیدروژن تبدیل می‌کند. پراکسید هیدروژن حاصل به‌وسیله سایر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و پراکسیداز پاک‌سازی می‌شود (Zeid and Shedeed, 2006). در شرایط تنش‌های محیطی عملکرد گیاه کاهش می‌یابد و فعالیت آنزیمی جهت جلوگیری از آسیب به سلول افزایش می‌یابد. در مطالعه حاضر هر چه مقدار آلودگی کادمیوم در خاک بیشتر شد، فعالیت آنزیمی بیشتر و عملکرد و ارتفاع گیاه کاهش محسوس‌تری داشتند که می‌توان گفت آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتی نقش مهمی در مقابله با تنش اکسیداتیو و شرایط نامساعد محیطی دارند (Dawuda et al., 2020).

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از پژوهش حاضر بیانگر آن است که عملکرد اسفناج در تیمارهای دارای کادمیوم کاهش یافته که این کاهش با افزایش غلظت کادمیوم روند افزایشی داشت. در مجموع کاربرد بیوجار عملکرد اسفناج را نسبت به شاهد افزایش داد و سبب کاهش انتقال آن از خاک به گیاه شد که به عنوان یک اصلاح‌کننده خاک انتخاب مناسبی جهت افزایش رشد اسفناج بود. در پژوهش حاضر در شرایط تنش کادمیوم، تأثیر قابل ملاحظه‌ای بر افزایش فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانت‌های آنزیمی (کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز) و غیر آنزیمی از جمله پرولین داشت. علاوه‌براین، رشد و عملکرد اسفناج را کاهش داد و موجب افزایش فعالیت آنزیمی اسفناج شد. استفاده از بیوجار به دلیل پتانسیل خود موجب افزایش عملکرد و کاهش فعالیت آنزیمی و محتوای پرولین شد. کاربرد بیوجار با تأمین آب و مواد غذایی و مسدودکردن فلزات

کادمیوم ژن‌های سنتزکننده این آنزیم‌ها را تحریک می‌کند (Gurrieri et al., 2020).

فعالیت آنزیمی: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر بیوجار و کادمیوم با احتمال خطای یک درصد بر فعالیت آنزیم کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز معنی‌دار شد (جدول ۵). استفاده از بیوجار سبب کاهش فعالیت آنزیمی (فعالیت آنزیم آنزیم کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز) گیاه شد و به کار بردن کادمیوم و افزایش غلظت آن نیز موجب افزایش فعالیت آنزیمی گیاه شد. نتایج نشان داد که کاربرد بیوجار فعالیت آنزیم کاتالاز را $62/5$ درصد، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز را $32/60$ درصد و آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را $58/86$ درصد نسبت به شاهد کاهش داد. همچنین تیمار کادمیوم 30 میلی‌گرم بر لیتر فعالیت آنزیم کاتالاز را $87/5$ درصد، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز را $41/07$ درصد و آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را $87/46$ درصد نسبت به شاهد افزایش داد (جدول ۶). آنتی‌اکسیدانت‌های آنزیمی و غیر آنزیمی از جمله مهم‌ترین ترکیبات در سیستم‌های جاروب کردن اکسیژن رادیکال آزاد هستند و اولین راه دفاعی در برابر صدمات اکسیژن‌های رادیکال آزاد هستند. بنابراین، برای مقابله با تنش اکسیداتیو تغییر ظرفیت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان ضروری است (Viciedo et al., 2019). آنزیم سوپراکسید دیسموتاز اولین پروتئینی است که در پاسخ به تنش تولید می‌شود و یون سوپر اکسید را به اکسیژن و پراکسید هیدروژن تجزیه می‌کند. آنزیم بعدی کاتالاز است که با پراکسید هیدروژن واکنش می‌دهد. ایجاد شرایط تنش از جمله تنش کادمیوم سبب عدم تعادل یونی می‌شود و در نتیجه تولید گونه‌های اکسیژن فعال را تحریک می‌کند و منجر به اختلال در غشای سلول و اندامک‌ها می‌شود که فعالیت متابولیکی سلول را از طریق تغییر سیگنالینگ مولکولی، تنظیم اسمزی و تولید متابولیت‌های ثانویه تغییر می‌دهد. سیستم دفاعی گیاه از طریق پاسخ آنتی‌اکسیدانی که از اجزای آنتی‌اکسیدانی (آنزیمی و غیر آنزیمی) تشکیل شده است، برای مقابله با گونه‌های اکسیژن فعال تولید می‌شود و

سنگین در کاهش اثرات منفی حاصل از فلزات سنگین در مناطق آلوده به فلزات سنگین مؤثر است. در مطالعه حاضر اثرات متقابل بیوجار در فلزات سنگین معنی‌دار نشد و بیوجار در صفات فیزیولوژیک نتوانست با کادمیوم مقابله کند که

منابع

- پورمنصور، سمانه، رزاقی، فاطمه، سپاسخواه، علیرضا، و موسوی، سید علی‌اکبر (۱۳۹۸). کاربرد سطوح مختلف بیوجار و آبیاری بر رشد، محصول و اجزای محصول گیاه باقلا. *نشریه علوم گیاهان زراعی ایران*، ۵۰(۲)، ۸۹-۹۹.
- شهبازی، نیما، اردکانی، محمدرضا، و غفوربان، حسین (۱۴۰۲). ارزیابی عملکرد کمی اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) در سطوح بیوجار و مایکوریزا در شرایط کشت گلخانه‌ای. *نشریه علوم گیاهان زراعی ایران*، ۵۴(۲)، ۹۹-۱۱۲.
- کلهر منفرد، روما، اردکانی، محمدرضا، پاک‌نژاد، فرزاد، سراجوقی، منصور، و نقادی‌بادی، حسنعلی (۱۴۰۳). ارزیابی صفات کیفی شلغم علوفه‌ای (*Brassica rapa* var. *rapa*) در کشت مخلوط با ریحان (*Ocimum basilicum*) تحت تأثیر کاربرد بیوجار و ورمی‌کمپوست. *نشریه بوم‌شناسی کشاورزی*، ۱۶(۱)، ۱-۱۷.
- گودرزی، فرناز، دلشاد، مجتبی، سلطانی، فروزنده، و منصوری، حامد (۱۳۹۹). تغییر برخی شاخص‌های رشد و عملکرد اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) تحت تأثیر کود نیتروژن و تراکم کشت. *نشریه علوم گیاهان زراعی ایران*، ۵۱(۲)، ۱۹۸-۱۸۳.
- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105, 121-126.
- Amoah-Antwi, C., Kwiatkowska-Malina, J., Thornton, S. F., Fenton, O., Malina, G., & Szara, E. (2020). Restoration of soil quality using biochar and brown coal waste: A review. *Science of the Total Environment*, 722(1), 137852. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137852>
- Bates, I. S., Waldern, R. P., & Tear, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205-207.
- Beers, R. F., & Sizer, I. W. (1952). A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *Journal of Biological Chemistry*, 195(1), 133-140.
- Bertin, P., Bouharmont, J., & Kinet, J. M. (1996). Soma clonal variation and improvement in chilling tolerance in rice. *Journal of Plant Breeding*, 115, 268-273.
- Cao, F., Wang, R., Cheng, W., Zeng, F., Ahmed, I. M., Hu, X., Zhang, G., & Wu, F. (2014). Genotypic and environmental variation in cadmium, chromium, lead and copper in rice and approaches for reducing the accumulation. *Science of the Total Environment*, 496, 275-281. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.07.064>
- Dawuda, M. M., Liao, W., Hu, L., Yu, J., Xie, J., Calderon-Urrea, A., Wu, Y., & Tang, Z. (2020). Foliar application of abscisic acid mitigates cadmium stress and increases food safety of cadmium sensitive lettuce (*Lactuca sativa* L.) genotype. *Peer Journal*, 8, e9270. doi:10.7717/peerj.9270
- Devi, R., Munjal, N., Gupta, A. K., & Kaur, N. (2007). Cadmium induced changes in carbohydrate status and enzymes of carbohydrate metabolism, glycolysis and pentose phosphate pathway in pea. *Environmental and Experimental Botany*, 61, 167-177.
- Emenike, P. C., Omole, D. O., Ngene, B. U., & Tenebe, I. T. (2016). Potentiality of agricultural adsorbent for sequestering of metal ions from wastewater. *Global Journal of Environmental Science and Management*, 2(4), 411-442.
- Ferrat, I. L., & Loyal, C. J. (1999). Relation between relative water content, nitrogen pools, and growth of *P. vulgaris* and *P. acutifolius* during water deficit. *Crop Science*, 39, 467-474.
- Gurrieri, L., Merico, M., Trost, P., Forlani, G., & Sparla, F. (2020). Impact of drought on soluble sugars and free proline content in selected arabidopsis mutants. *Journal of Biology*, 9(367), 1-14. <https://doi.org/10.3390/biology9110367>
- Karimi, R., Chorom, M., Solhi, S., Solhi, M., & Safe, A. (2012). Potential of *Vicia faba* and *Brassica arvensis* for phytoextraction of soil contaminated with cadmium, lead and nickel. *African Journal of Agricultural Research*, 7, 3293-3301.
- Leng, Y., Li, Y., Ma, Y. H., He, L. F., & Li, S. W. (2021). Abscisic acid modulates differential physiological and biochemical responses of roots, stems, and leaves in mung bean seedlings to cadmium stress. *Environmental Science and Pollution Research International*, 28(5), 6030-6043. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-10843-8>

- Lindsay, W. L., & Norvell, W. A. (1978). Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese, and copper. *Soil Science Society of America Journal*, 42(1), 421-428.
- Liu, Z., Cheng, X., Sun, D., Meng, J., & Chen, W. (2017). Maize Stover biochar increases urea (15 N isotope) retention in soils but does not promote its acquisition by plants during a 4-year pot experiment. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 77(4), 382-389. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392017000400382>
- Mohammad, A. J., Ahmad, J. Z., & Ahmad, K. D. (2020). Heavy metal pollution and human health risk assessment for exposure to surface soil of mining area: A comprehensive study. *Environmental Earth Sciences*, 79, 365.
- Osman, A. I., Fawzy, S., Farghali, M., El-Azazy, M., Elgarahy, A. M., Fahim, R. A., Maksoud, M. I. A. A., Ajlan, A. A., Yousry, M., Saleem, Y., & Rooney, D. W. (2022). Biochar for agronomy, animal farming, anaerobic digestion, composting, water treatment, soil remediation, construction, energy storage, and carbon sequestration: A review. *Environmental Chemistry Letters*, 20(4), 2385-2485. <https://doi.org/10.1007/s10311-022-01424-x>
- Pandy, V., Patel, A., & Patra, D. D. (2016). Biochar ameliorates crop productivity, soil fertility, essential oil yield and aroma profiling in basil (*Ocimum basilicum* L.). *Ecological Engineering*, 90(1), 361-366. [doi:10.1016/j.ecoleng.2016.01.020](https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.01.020)
- Qina, H., Yinliang, W., & Guosheng, S. (2021). Root aeration promotes cadmium accumulation in rice by regulating iron uptake-associated system. *Rice Science*, 28(5), 511-520. <https://doi.org/10.1016/j.rsci.2021.07.011>
- Qiu, B., Tao, X., Wang, H., Li, W., Ding, X., & Chu, H. (2021). Biochar as a low-cost adsorbent for aqueous heavy metal removal: A review. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 155(1), 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2021.105081>
- Rehman, S., Chattha, M. U., Khan, I., Mahmood, A., Hassan, M. U., Al-Huqail, A. A., Salem, M. Z. M., Ali, H. M., Hano, C., & El-Esawi, M. A. (2022). Exogenously applied trehalose augments cadmium stress tolerance and yield of mung bean (*Vigna radiata* L.) grown in soil and hydroponic systems through reducing Cd uptake and enhancing photosynthetic efficiency and antioxidant defense systems. *Plants Journal*, 11, 822. <https://doi.org/10.3390/plants11060822>
- Rohani, N., Daneshmand, F., Vaziri, A., Mahmoudi, M., & Saber-Mahani, F. (2019). Growth and some physiological characteristics of *Pistacia vera* L. cv Ahmad Aghaei in response to cadmium stress and *Glomus mosseae* symbiosis. *South African Journal of Botany*, 124, 499-507. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.06.001>
- Sairam, R. K., Deshmukh, P. S., & Saxena, D. C. (1998). Role of antioxidant systems in wheat genotypes tolerance to water stress. *Biologia Plantarum*, 41(3), 387-394.
- Shentu, J., Li, X., Han, R., Chen, Q., Shen, D., & Qi, S. (2022). Effect of site hydrological conditions and soil aggregate sizes on the stabilization of heavy metals (Cu, Ni, Pb, Zn) by biochar. *Science of the Total Environment*, 802, 149909. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149949>
- Sheligi, H. Q. (1986). Die verwertung orgngischer souren durch chlorella lincht. *Journal of Plantarum*, 47-51.
- Sudhagar, R., & Sassikumar, D. (2017). Cadmium induced morphological and phytotoxic effects on different plant parts of maize (*Zea mays* L.) seedlings: Evidence for alterations in nutrient dynamics and enzyme activities. *Plant Arch*, 17(2), 1669-1676.
- Ullah, I., Al-Johny, B. O., Al-Ghamdi, K. M., Al-Zahrani, H. A. A., Anwar, Y., Firoz, A., Al-Kenani, N., & Almatry, M. A. A. (2019). Endophytic bacteria isolated from *Solanum nigrum* L., alleviate cadmium (Cd) stress response by their antioxidant potentials, including SOD synthesis by sodA gene. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 174, 197-207. [doi:10.1016/j.ecoenv.2019.02.074](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.02.074)
- Viciedo, D. O., de Mello Prado, R., Toledo, R. L., dos Santos, L. C. N., Hurtado, A. C., Nedd, L. L. T., & Gonzalez, L. C. (2019). Silicon supplementation alleviates ammonium toxicity in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 19(2), 413-419. <https://doi.org/10.1007/s42729-019-00043-w>
- Yang, J., Guo, H., Ma, Y., Wang, L., Wei, D., & Hua, L. (2010). Genotypic variations in the accumulation of Cd exhibited by different vegetables. *Journal of Environmental Sciences*, 22(8), 1246-1252. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(09\)60245-X](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(09)60245-X)
- Yu, S., Pang, H., Huang, S., Tang, H., Wang, S., Qiu, M., Chen, Z., Yang, H., Song, G., Fu, D., Hu, B., & Wang, X. (2021). Recent advances in metal-organic framework membranes for water treatment: A review. *Science of the Total Environment*, 800(1), 149662. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149662>
- Zeid, I. M., & Shedeed, Z. A. (2006). Response of alfalfa to putrescine treatment under drought stress. *Biologia Plantarum*, 50(4), 635-640.
- Zhang, G., Dou, S., Meng, F., Yin, X., & Zhou, X. (2022). Transformation of biochar into extracted humic substances under short-term laboratory incubation conditions: Evidence from stable carbon isotopes. *Soil Tillage Research*, 215 (1), 105189. <https://doi.org/10.1016/j.still.2021.105189>
- Zulfiqar, U., Ayub, A., Hussain, S., Waraich, E. A., El-Esawi, M. A., Ishfaq, M., Ahmad, M., Ali, N., & Maqsood, M. F. (2022). Cadmium toxicity in plants: Recent progress on morpho-physiological effects and remediation strategies. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 22, 212-269. <https://doi.org/10.1007/s42729-021-00645-3>

Evaluation of biochar on quality and yield of spinach (*Spinacia oleracea* L.) under cadmium stress conditions

Behgol Moazzami¹, Ali Faramarzi^{1*}, Farzad Paknejad², Jalil Ajali¹, Mehrdad Abdi¹

¹Department of Agronomy and Plant Breeding, Miyaneh Branch, Islamic Azad University, Miyaneh, Iran

²Department of Agronomy and Plant Breeding, Karaj branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran
(Received: 2024/08/23, Accepted: 2024/10/15)

Abstract

Industrial developments and population growth all over the world have caused soil pollution and the increase of heavy metals in the soil, and it is necessary to provide solutions to reduce the absorption of heavy metals by plants. For this purpose, an experiment was conducted on spinach (*Spinacia oleracea* L.) in the research greenhouse of the Faculty of Agriculture and Natural Resources, Islamic Azad University, Karaj Branch, for 2 years (2018-2019) to determine the effect of biochar on soil and plants after two years. The experiment was conducted as a factorial in the form of a completely randomized design in three replications. The research treatments included biochar at two levels (0 and 5% volume/volume) and cadmium at four levels (0, 10, 20, 30 mg/l). The results showed that the highest dry weight of shoot (3.54 g/plant) was observed in the mutual effects of biochar and no cadmium use. Plant yield decreased in treatments with cadmium, and in general, biochar increased spinach yield compared to the control, and as a soil amendment, it was a good choice to increase spinach growth. Biochar reduced catalase enzyme activity by 62.5%, ascorbate peroxidase enzyme activity by 32.60% and superoxide dismutase enzyme activity by 58.86% compared to the control. Also, 30 mg/l cadmium treatment increased catalase enzyme activity by 87.5%, ascorbate peroxidase enzyme activity by 41.07%, and superoxide dismutase enzyme activity by 87.46% compared to the control. Therefore, the use of biochar in reducing the effects of cadmium stress is recommended.

Keywords: Soil pollution, Soil amendment, Enzyme activities, Heavy metals

Corresponding author, Email: faramarzi.d.a@gmail.com