



دانشگاه گواران و منابع طبیعی

نشریه پژوهش‌های حفاظت آب و خاک
جلد بیست و هفتم، شماره چهارم، ۱۳۹۹
۶۵-۴۵

<http://jwsc.gau.ac.ir>

DOI: 10.22069/jwsc.2020.17087.3255

مقاله کامل علمی - پژوهشی

تأثیر هم‌زمان تیمارهای زیستی و محلول‌پاشی با سیلیسیم بر صفات رشدی، مورفولوژی و فیزیولوژی گیاه گشنیز تحت تنش سرب

*حمیده فاطمی^۱، بهروز اسماعیل‌پور^۱ و علی اشرف سلطانی^۲

^۱گروه باغبانی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران، ^۲گروه علوم و مهندسی خاک، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۲/۰۶؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۲/۰۹

چکیده

سابقه و هدف: آلودگی خاک‌های کشاورزی به فلزات سنگین یکی از معضلات بزرگ زیست‌محیطی به‌ویژه در کشورهای در حال توسعه است. انتقال این آلاینده‌ها از طریق گیاهان به انسان، سلامتی افراد جامعه به خطر می‌افتد. سرب با سمیت ماندگاری زیاد در خاک تأثیر مخربی در اکوسیستم برجای می‌گذارد و یکی از عوامل اصلی کاهش فعالیت زیستی ریزجانداران خاک به‌شمار می‌رود. کاربرد هم‌زمان سیلیسیم و تیمارهای زیستی به‌ندرت برای تنش فلزات سنگین به‌کار برده شده است. در این پژوهش سعی شد امکان‌سنجی کاربرد هم‌زمان آن‌ها بر صفات گیاه گشنیز بررسی شود.

مواد و روش‌ها: این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار سطح تنش سرب (۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب)، چهار سطح از ریزجانداران (بدون باکتری، جدایه ۶ (B. ceruse strain 264ZG5)، ۱۹ (B. thuringiensis isolate 2T22) باکتری و قارچ میکوریز گونه *Glomus mosseae*) و سه سطح محلول‌پاشی با نانوذرات سیلیسیم (۰، ۱،۵ و ۳ میلی‌مولار) انجام شد. در انتهای آزمایش صفاتی همانند ارتفاع گیاه، وزن بوته و ریشه، طول ریشه، سطح برگ، درصد ماده خشک برگ، رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید)، نشت غشا، پرولین و سنجش میزان کربوهیدرات و هم‌چنین تنفس پایه و تحریک شده و درصد کلونیزاسیون میکوریز در خاک اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که هر دو جدایه باکتری و میکوریز توانستند حتی در غلظت‌های بالا زنده‌مانی قابل‌قبولی داشته باشند هر چند غلظت‌های بالا به‌طور معنی‌داری جمعیت آن‌ها را کاهش داد. هم‌افزایی سیلیسیم و تیمارهای زیستی در بیش‌تر صفات مورد مطالعه برآیند مطلوبی داشتند. صفات مورفولوژی شامل وزن تر و خشک بوته، سطح برگ، کلروفیل a، b، کل و کارتنوئید تحت هر دو تیمار آزمایشی نسبت به تیمار شاهد با سرب افزایش نشان دهند. میزان نشت غشا و پرولین تحت تنش سرب به‌ویژه در غلظت‌های بالا افزایش معنی‌داری نشان داد

* مسئول مکاتبه: ha.fatemi@yahoo.com

اما تیمار ترکیبی سیلیسیم و تیمارهای زیستی تا حد مطلوبی سبب کاهش این تیمارها شد. همین‌طور سرب سبب افزایش کربوهیدرات گیاه گشنیز شد و نکته جالب‌توجه افزایش این ماده در اثر کاربرد هم‌زمان تیمارها است. به‌نظر می‌رسد تیمارهای زیستی در این مطالعه از طریق تأثیر بر سیستم ریشه و هم‌چنین تأثیر بر رنگیزه‌های فتوسنتزی سبب بهبود رشد گیاه گشنیز در شرایط آلودگی سرب شدند.

نتیجه‌گیری: به‌طورکلی سرب به‌ویژه در غلظت‌های بالا سبب نقصان معنی‌دار در صفات مورداندازه‌گیری در گیاه گشنیز شد. در این پژوهش تیمار میکوریز و جدایه ۶ باکتری در بیش‌تر صفات مورفولوژی و فیزیولوژی نتایج بهتری نشان دادند هر چند در غلظت‌های پایین‌تر سرب در برخی صفات جدایه ۱۹ نیز نتایج خوبی نشان داد. تلفیق جدایه‌ها با ۳ میلی‌مولار نانوذرات سیلیسیم سبب نتایج بهتری در این صفات شد. کاربرد هم‌زمان تیمارهای زیستی و سیلیسیم در گیاه گشنیز نسبت به کاربرد تکی آن‌ها توصیه می‌شود هرچند مکانیسم آن‌ها به‌صورت دقیق مشخص نشده است و نیازمند مطالعات بیش‌تری است.

واژه‌های کلیدی: باکتری محرک رشد، تنفس پایه، تنفس تحریک شده، سیلیسیم، صفات مورفولوژی

مقدمه

آلودگی خاک یکی از تهدیدات اصلی در زمینه تولید محصولات کشاورزی محسوب می‌شود، منشأ این آلودگی از منابع طبیعی مانند تجزیه مواد معدنی، فرسایش سنگ‌های مادری، رسوب از اتمسفر، پسماندهای زندگی شهری، انتشار، حذف یا نشت زباله‌های صنعتی، استفاده از لجن فاضلاب، کود و سموم کشاورزی می‌باشند (۳۸). یکی از این آلاینده‌ها که در عصر حاضر به‌سرعت در حال افزایش است، فلزات سنگین هستند که مخاطرات زیست‌محیطی زیادی را ایجاد می‌کنند. از آنجایی که فلزات سنگین به‌سختی از محیط حذف می‌شوند، اثرات سمی آن‌ها بسیار ماندگار است (۴).

فلزات سنگین مانند کادمیوم، سرب، کروم، مس، منگنز و روی سهم عمده‌ای از آلودگی خاک را به خود اختصاص می‌دهند (۳۸). در بین فلزات سنگین، سرب یکی از پردوام‌ترین این فلزات که می‌تواند ۵۰ تا ۱۵۰ سال در خاک باقی بماند، علاوه بر این، به‌راحتی توسط سیستم ریشه‌ای گیاه جذب شده و

سمیت آن برای گیاه بین ۲ تا ۲۰ برابر سایر فلزات سنگین است (۲۹). فلز سرب سبب بروز مشکلات فراوانی در گیاه می‌شود، به‌طوری‌که سبب کاهش زیست‌توده، ممانعت از جوانه‌زنی، القای کلروز و نکروز برگ، تغییر رنگ، چوبی شدن ریشه (۲۷)، کاهش حجم ریشه، جلوگیری از سنتز کلروفیل، تخریب سلول، آسیب به کروموزوم، کاهش جذب مواد معدنی، عدم تعادل در جذب آب و تغییر ساختمان و نفوذپذیری غشاء سلولی می‌شود (۱۹).

تعامل بین ریزجانداران مفید و گیاهان در ناحیه ریزوسفر، تعیین‌کننده سلامتی گیاه و حاصلخیزی خاک است، ریزوسفر مکانی است که اثرات متقابل بین خاک، گیاهان و ریزموجودات در آن به وقوع می‌پیوندد، باکتری‌های موجود در این منطقه را اصطلاحاً ریزوباکتری‌های محرک رشد می‌نامند. اکنون روشن است این باکتری‌ها تنها یک نقش ندارند و علاوه بر کمک به جذب عنصری خاص باعث جذب سایر عناصر، کاهش بیماری‌ها، بهبود ساختمان خاک، تحریک رشد گیاه و افزایش کمی و کیفی محصول

گشنیز (*Coriandrum sativum* L.) یک گونه مهم یکساله از خانواده Apiaceae است که دارای ارزش غذایی و دارویی که به طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرد (۳۹) رشد و فیزیولوژی گیاهان گشنیز به شدت توسط تنش تحت تأثیر قرار می‌گیرد (۳۵). با توجه به وجود آلودگی ناشی از سرب در خاک‌های کشور و اثرات مخرب این فلز در سلامت گیاهان، جانوران و انسان به نظر می‌رسد کاربرد تیمارهای دوست‌دار محیط زیست برای حفاظت گیاهان کشت شده در این مناطق آلوده ضروری باشد. با توجه به اثرات سودمند باکتری‌های محرک رشد و سیلیسیم در گیاهان به صورت مجزا به نظر می‌رسد کاربرد هم‌زمان آن‌ها در گیاه گشنیز اثرات فزاینده بر رشد آن در شرایط تنش فلز سنگین سرب داشته باشد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار سطح تنش سرب (۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب)، چهار سطح از ریزجانداران (شاهد، جدایه ۶، ۱۹ باکتری و قارچ میکوریز) و سه سطح محلول‌پاشی با نانوذرات سیلیسیم (۰، ۱/۵ و ۳ میلی‌مولار) انجام شد. باکتری‌های موردنظر از آزمایشگاه خاک‌شناسی دانشگاه محقق اردبیلی تهیه شد. در ابتدا باکتری در محیط کشت مایع مایه‌زنی داده شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمایی ۲۸ درجه سانتی‌گراد انکوبه و زمانی که غلظت باکتری‌ها به آن‌ها $(CFU\ ml^{-1})$ 2×10^6 رسید، بذره‌های گیاه گشنیز بومی شهرستان نهاوند که قبلاً ضد عفونی شده بود در شرایط استریل به محیط کشت حاوی باکتری اضافه شده و به مدت یک ساعت شیک شدند و به منظور تثبیت باکتری‌ها بر روی بذور مدتی در شرایط استریل قرار داده شدند تا کمی خشک شوند. سپس در گلدان‌های موردنظر کشت شدند. لازم به

می‌گردند، از آنجایی که این باکتری‌ها در درک تحمل استرس، مکانیسم سازگاری و واکنش مؤثر هستند، می‌توان آن‌ها را به عنوان مدل‌های عالی برای طراحی و ساخت گیاهان جهت مقابله با تنش‌ها (۱۹) مورد استفاده قرار داد. برخی پژوهشگران استفاده از این باکتری‌ها را نسبت به تثبیت‌کننده‌های شیمیایی به علت زیست‌تخریب‌پذیر بودن متابولیت‌های میکروبی و سمیت کم‌تر ترجیح می‌دهند. این باکتری‌ها از طریق مکانیسم‌های مختلفی سمیت فلزات سنگین را کاهش دهند مانند تولید سیدروفور مقاوم به فلزات می‌توانند سمیت فلزی را با عرضه مواد مغذی برای فلزات گیاهی و اتصال‌دهنده غیر از آهن (واکنش شیمیایی) کاهش دهند (۲۰)، توانایی تولید آنزیم ACC دامیناز (۴۷)، تولید اسیده‌های ارگانیک با وزن مولکولی کم (مانند سیتریک، اگزالیک، سوکسینیک و غیره) (۲۰)، از طریق انحلال کردن فسفات معدنی (به عنوان مثال، فسفات کلسیم، آهن فسفات و آلومینیوم فسفات) (۴۰).

محلول‌پاشی با سیلیسیم نیز یکی راه‌کارهایی مؤثر برای کاهش اثرات زیان‌بار تنش‌های غیرزیستی است (۲۳)، مطالعات مختلف نیز کاربرد سیلیسیم در تخفیف اثرات منفی فلزات سنگین مانند سرب، کادمیوم، مس و آلومینیوم را تأیید می‌کنند (۱۵ و ۴۹). مکانیسم‌های کلیدی ناشی از کاهش یون‌های فعال فلزات سنگین در محیط رشد، کلاته کردن فلزات و تحریک سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاهان، ترکیب کردن و تشکیل کمپلکس سیلیسیم با فلزات، جداسازی و تغییرات ساختاری در گیاهان و تنظیم بیان ژن‌های انتقال فلز در گیاهان مؤثر باشد، باین‌حال، این مکانیسم‌ها ممکن است با گونه‌های گیاهی، ژنوتیپ‌ها، عناصر فلزی، شرایط رشدی، مدت زمان تحمل استرس و غیره مقابله شود (۲).

توضیح است خاک موردنظر از مناطق سبزی‌کاری استان اردبیل تهیه و با نمک کلرید سرب آغشته و به مدت شش‌ماه در شرایط خشک و تر قرار گرفت

سپس نمونه‌برداری و به میزان سرب با دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد. خواص محرک رشد باکتری‌های مورد استفاده نیز در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱- خصوصیات محرک رشدی جدایه‌های مورد استفاده.

Table 1. Growth promoting characteristic of isolates.

جدایه ۱۹ (B19)	جدایه ۶ (B6)	خصوصیات (Properties)
2.61	3.41	اکسین (میلی‌گرم بر لیتر) Uxin (mg.L)
281	392	حل‌کنندگی فسفر P (mg.L)
0	4.7	حل‌کنندگی روی (میلی‌گرم بر لیتر) ZNO(mg.L)
0	12.7	کربنات روی (میلی‌گرم بر لیتر) ZnCO ₃ (mg.L)
1.71	1.48	سیدروفور (میلی‌گرم بر لیتر) Sidropher (mg.L)
<i>B. thuringiensis isolate 2T22</i>	<i>B. ceruse strain 264ZG5</i>	نام علمی Scientific name
6	6	آستانه مقاومت (میلی‌مولار) Resistance threshold(mMule)

*۱: عدم تولید، ۲: تولید کم، ۳: تولید متوسط

1: No production, 2: low production, 3: high production

سطح برگ، طول ریشه و درصد ماده خشک برگ اندازه‌گیری شدند.

رنگیزه‌های فتوسنتزی: بدین‌منظور ۰/۱ گرم از بافت تر گیاهی در داخل هاون چینی با ده میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد ساییده و محلول حاصل به‌طور کامل به لوله‌های سانتریفیوژ منتقل گردید. لوله‌ها به مدت ده دقیقه با دور ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و مقدار کلروفیل در محلول رویی صاف‌شده با کاغذ صافی براساس روش لیچنتتالر و همکاران (۳۲) اندازه‌گیری شد. طبق این روش با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر Genway مدل 6705 مقدار جذب نوری محلول‌ها در طول موج ۴۷۰، ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر قرائت و مقدار کلروفیل a و b براساس رابطه‌های ۱ تا ۴ محاسبه گردید.

برای قارچ میکوریز از گونه *Glomus mosseae* برای این منظور استفاده شد که مایه‌زنی با قارچ در محل کشت بذر انجام شد. تمامی گلدان‌ها در شرایط محیطی یکسان با دمای میانگین ۲۵ درجه و رطوبت ۴۰ درصد ظرفیت مزرعه نگه‌داری شدند. پس از رشد گیاهان و تشکیل سومین برگ حقیقی محلول‌پاشی با نانوذرات سیلیسیم (۰، ۱/۵ و ۳ میلی‌مولار) تهیه‌شده از شرکت نانوسانی^۱ آمریکا در سه مرحله با فاصله زمانی دو هفته صورت گرفت. آبیاری مطابق با ظرفیت زراعی انجام شد، تمامی مراحل داشت با روش‌های معمول انجام شد.

فاکتورهای مورفولوژی: در انتهای آزمایش گیاهان گشنیز برداشت و به آزمایشگاه منتقل شدند و صفات مورفولوژیک شامل ارتفاع گیاه، وزن بوته و ریشه،

$$\text{Chla} = (12.25) (\text{A}663.2) - (2.798) (\text{A}646) \quad (۱)$$

$$\text{Chb} = (21.21) (\text{A}646.8) - (5.1) (\text{A}663) \quad (۲)$$

$$\text{ChIT} = \text{Chla} + \text{Chlb} \quad (۳)$$

$$\text{Cartenoide} = (1000\text{A}470 - 1.8\text{Chla} - 85.02\text{Chlb}) / 198 \quad (۴)$$

به دست آمد (۱۲).

سنجش میزان کربوهیدرات: بدین منظور ۰/۱ گرم نمونه برگ با پنج میلی لیتر اتانول ۸۰ درصد در هاون چینی خوب سائیده شد و به مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری با دمای ۷۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد. عصاره به دست آمده به مدت ۱۰ دقیقه در سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس سه میلی لیتر از محلول اترون به ۱۰۰ میکرو لیتر از عصاره اضافه شد و به مدت ۲۰ دقیقه در بن ماری ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت و مقدار جذب نمونه ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۲۵ نانومتر قرائت شد (۲۶).

تنفس پایه: در ابتدا یک بشر کوچک حاوی ۲۰ میلی لیتر سود ۰/۰۵ نرمال در داخل یک ظرف پلاستیکی با گنجایش یک لیتر که حاوی ۲۰ گرم خاک مرطوب (۵۰ درصد ظرفیت مزرعه بود) قرار داده شد. درب ظرف کاملاً عایق بندی شد و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۲۸ درجه سانتی گراد قرار گرفت. سپس محتویات بشر به داخل یک ارلن مایر ۲۵۰ میلی لیتر حاوی دو میلی لیتر کلرید باریم ۰/۵ مولار و سه الی چهار قطره معرف فنل فتالین منتقل و با استفاده از اسید ۰/۱ نرمال تیترو گردید. مقدار تنفس پایه خاک طبق رابطه ۵ برحسب میلی گرم CO₂ در گرم خاک در روز محاسبه گردید (۸).

$$\frac{(V_1 - V_2) * N_{HCL} * 22}{md} \quad (۵)$$

نتایج حاصل از اندازه گیری مقدار رنگیزه های فتوسنتزی برحسب میلی گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

نشت مواد محلول: از برگ کاملاً توسعه یافته دیسک هایی تهیه شد و پس از شستشو در ظروف سر بسته حاوی ۱۰ میلی لیتر آب دیونیزه قرار گرفت به مدت ۲۴ ساعت و در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد روی شیکر قرار داده شد و سپس در طول موج ۲۸۰ نانومتر قرائت شد (Lt). سپس نمونه و محلول در اتوکلاو در دمای ۱۲۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شد و مجدداً در طول موج ۲۸۰ نانومتر قرائت انجام شد (L₀). برای محاسبه از رابطه زیر استفاده شد (۴۴).

$$\% \text{ نشت مواد محلول} = (L_t - L_0) * 100$$

پروکلین: در ابتدا ۰,۵ گرم بافت تازه برگ با ۱۰ میلی لیتر سولفوسالسیلیک اسید ۳٪ به مدت سه دقیقه سائیده و دو میلی لیتر از محلول صاف شده، دو میلی لیتر نین هیدرین و دو میلی لیتر اسید استیک گلاسیال در یک لوله آزمایش ریخته شده و به مدت یک ساعت در دمای ۹۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. سپس بعد از سرد شدن به محلول واکنش ۴ میلی لیتر تولوئن اضافه و هر کدام از لوله ها، به مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه ورتکس گردید. پس از تشکیل دو فاز جداگانه، فاز رنگی بالایی با دقت جدا و مقدار جذب در دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت و مقدار پروکلین با استفاده از منحنی استاندارد پروکلین

تازه به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری و سپس در محلول اسید انکوبه شده و در نهایت در محلول رنگی شامل تریپان بلو ۰/۰۵ درصد رنگ‌آمیزی و به محلول رنگ‌بر به نسبت حجمی ۱:۱:۱ از اسیدلاکتیک: گلیسرین: آب منتقل و در نهایت در زیر میکروسکوپ نوری بررسی شدند و سپس ۳۰ قطعه از ریشه‌های رنگ‌آمیزی شده به‌طور تصادفی بر روی ظرف پتری که به ابعاد ۱cm × ۱cm شبکه‌بندی شده بود قرار گرفت و تعداد خطوط متقاطع کلنیزه شده به‌وسیله بینوکلر شمارش و درصد کلنیزاسیون تعیین گردید.

تجزیه آماری: داده‌های حاصل از این آزمایش با نرم‌افزار آماری SAS 9.4 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند، مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت.

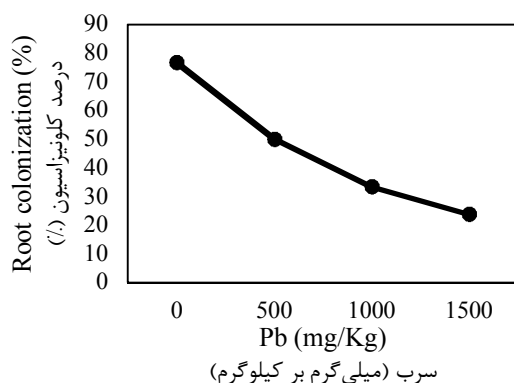
نتایج و بحث

درصد کلونیزاسیون و تنفس پایه و تحریک‌شده: یافته‌های حاصل از این پژوهش نشان داد که درصد کلونیزاسیون میکوریز تحت تأثیر سرب قرار گرفت و با افزایش غلظت سرب کاهش یافت، اما حتی در غلظت‌های بالاتر نیز درصد کلونیزاسیون میکوریز قابل قبول بود (شکل ۱).

که در آن، V_1 حجم اسید مصرفی برای نمونه شاهد V_2 (ml)، حجم اسید مصرفی برای نمونه خاک (ml)، N نرمالیتت اسیدکلریدریک و ۲۲ اکی‌والان گرم CO_2 است.

تنفس تحریک‌شده با بستره: مقدار ۵۰ گرم از نمونه خاک توزین و داخل یک ظرف پلاستیکی با گنجایش حدود یک لیتر ریخته شد. یک میلی‌لیتر گلوکز ۱٪ به‌عنوان بستره به نمونه خاک اضافه نموده و هم‌زمان یک بشر کوچک حاوی ۱۰ میلی‌لیتر سود ۰/۱ نرمال درون ظرف قرار داده و پس از بستن کامل درب ظرف، به مدت ۶ ساعت به همان حالت در انکوباتور در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس محتویات بشر به ارلن انتقال یافت و با اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال تیترومیزان تنفس تحریک‌شده با بستره محاسبه گردید (۶).

درصد کلونیزاسیون: رنگ‌آمیزی ریشه‌ها با استفاده از روش تغییر یافته کورمانیک و مک‌گراو (۳۱) انجام شد. نمونه‌ها در ابتدا در محلول اسید استیک-الکل-فرمالین تثبیت شدند و سپس ریشه‌ها چندین بار شستشو داده شدند و در لوله‌های حاوی محلول هیدروکسید پتاسیم ده درصد به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط قرار داده شدند. سپس ریشه‌ها در محلول آب اکسیژنه قلیایی



شکل ۱- اثر تلقیح میکوریز بر کلونیزاسیون ریشه در گیاه گشنیز تحت تنش سرب.

Figure 1. Effect of mycorrhiza symbiosis on root colonization on coriander plant under Pb.

تیمارهای آزمایشی بر میزان تنفس تحریک شده نشان داد که بیشترین این شاخص در تیمار شاهد سرب و جدایه ۶ باکتری بوده که با تمامی تیمارها اختلاف معنی داری داشت و کمترین میزان آن نیز در تیمار ۱۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم سرب و با جدایه ۱۹ بود که با تیمار ۱۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم سرب و بدون مایه زنی باکتری بود اختلاف معنی داری نشان نداد.

مطابق جدول ۲ اثرات ساده سرب و باکتری و اثرات تقابل آن‌ها بر تنفس پایه و تحریک شده معنی دار بود. بیشترین میزان تنفس پایه در تیمار شاهد سرب و جدایه ۶ باکتری بوده که با جدایه ۱۹ اختلاف معنی داری نداشت و کمترین میزان آن نیز در تیمار ۱۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم سرب و بدون مایه زنی باکتری بود که با سایر تیمارهای اعمال شده اختلاف معنی داری نشان داد. مقایسه میانگین اثر متقابل

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس مایه زنی با باکتری‌های محرک رشد و تنش سرب در خاک گیاه گشنیز.

Table 2. Factorial ANOVA result for influence of PGPR inoculation and Pb stress on coriander soil.

میانگین مربعات (MS)		df	منابع تغییرات (S.O.V)
تنفس پایه (Basal Respiration)	تنفس تحریک شده (Induced Respiration)		
0.0066**	0.00057*	3	سرب (Pb)
0.018*	0.0049**	2	باکتری محرک رشد (PGPR)
0.00059	0.0001		خطا (E)

ns، * و ** به ترتیب عدم تفاوت معنی داری، معنی داری در سطح ۵ و ۱ درصد.

ns, *, ** Indicates no significant and significant at 0.05, 0.01 probability level respectively.

صفات در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد اختلاف معنی داری را نشان داد (جدول ۳).

صفات مورفولوژی: نتایج حاصل از مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که با افزایش غلظت سرب تا ۱۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم در بستر کاشت، ارتفاع گیاه، وزن تر بوته، وزن و طول ریشه، سطح برگ و درصد ماده خشک برگ به ترتیب ۲۴، ۳۸، ۳۲، ۱۸ و ۲۴ و ۱۸ درصد در مقایسه با گیاهان رشد کرده در تیمار شاهد کاهش نشان داد (جدول ۴) و بیشترین ارقام ثبت شده برای تمامی صفات در گیاهان گشنیز در تیمار ترکیبی مایه زنی با جدایه ۶ باکتری و محلول پاشی با غلظت ۳ میلی مولار نانوذرات سیلیسیم در شرایط بدون حضور عنصر سنگین سرب حاصل شد که با تیمار مایه زنی با قارچ میکوریز *G. mosseae* تفاوت

نتایج تجزیه واریانس: نتایج تجزیه و تحلیل حاصل از تأثیر تیمارهای تنش سرب و مایه زنی با باکتری‌های محرک رشد گیاهی و قارچ میکوریز و محلول پاشی با نانوذرات سیلیسیم نشان داد که تأثیر تنش سرب بر صفات وزن بوته، وزن ریشه، طول ریشه، ارتفاع گیاه، سطح برگ، درصد ماده خشک برگ، رنگیزه‌های فتوسنتزی، پرولین، کربوهیدرات و نشت غشا معنی دار بود و تأثیر محلول پاشی با نانوذرات سیلیسیم و مایه زنی با باکتری‌های محرک رشد نیز برای تمام صفات مذکور به استثنای درصد ماده خشک برگ معنی دار بود. همچنین اثرات متقابل دوگانه نیز برای تمام صفات مذکور در سطح احتمال یک درصد به جز تأثیر تیمار باکتری و سیلیسیم بر پرولین معنی دار بود. اثر متقابل سه گانه فاکتورهای آزمایشی نیز بر تمامی

معنی‌داری نداشت. نکته قابل توجه در این مورد تیمار ترکیبی جدایه ۶ و نانوذرات و همین‌طور میکوریز و نانوذرات توانست به‌طور معنی‌داری کاهش صفات رشدی در اثر سرب به‌خصوص در غلظت‌های بالا را بهبود ببخشد.

سرب به‌عنوان یکی از آلاینده‌های مهم اکوسیستم خشکی با خاصیت بسیار سمی برای گیاهان است که با تخریب سلول‌ها، ایجاد اختلال در سیستم فیزیولوژیکی گیاهان و نیز کاهش جذب آب و برخی عناصر غذایی، رشد و عملکرد گیاهان را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد (۴۸). سرب به‌دلیل انباشت زیاد در بخش‌های سطحی خاک به‌راحتی در دسترس گیاهان قرار می‌گیرد (۴۱). یکی از اولین مکانیسم‌های سرب تأثیر بر ریشه گیاه مانند تغییرات نامطلوب در ظاهر ریشه‌های تیمار شده با سرب از جمله قهوه‌ای شدن ریشه، لیگنینی شدن، ممانعت از رشد، کاهش قابلیت ارتجاع دیواره سلولی و کاهش بیوماس است که بدین طریق سیستم جذب گیاه را مختل کرده و بر رشد گیاه مؤثر است (۷، ۱۴ و ۱۸). در پژوهش حاضر استفاده از جدایه‌های باکتری مقاوم به فلزات سنگین و میکوریز اثر مثبتی روی رشد اندام‌های هوایی و ریشه داشته است و در بیش‌تر صفات مورفولوژیکی کاربرد هم‌زمان باکتری محرک رشد و سیلیسیم تأثیر بیش‌تری بر روی رشد گیاه گذاشتند. تولید غلظت‌های بالای اکسین توسط باکتری‌های محرک رشد از خصوصیت بارز محرک رشدی اکثر این باکتری‌ها است که در این پژوهش جدایه ۶ با مقدار بالاتر اکسین نتایج مناسب‌تری در صفات مورفولوژیک نشان داد که با نتایج سایر پژوهشگران بر گوجه‌فرنگی (۲۲) ذرت (۳۴) آویشن دنایی (۳۶) مطابقت داشت. زهیر و همکاران (۵۹) عنوان کردند مابه‌زنی با تیمارهای زیستی از طریق افزایش سطح جذب ریشه و توسعه سیستم ریشه‌ای موجب افزایش رشد شده که این امر

در نهایت بهبود سطح برگ و وزن تر و خشک را به‌دنبال داشته است. افزایش طول و سطح ریشه بر اثر کاربرد این باکتری‌ها با توجه به تأثیر این ویژگی‌ها بر توان نفوذ و جستجوی ریشه در حجم زیادتری از خاک، یکی از مهم‌ترین اثرات و سازوکارهای فعالیت این باکتری‌ها محسوب می‌شود (۵۹ و ۲۴). به‌طورکلی، ریزوباکتری‌ها به‌واسطه سنتز ترکیبات پیش‌ساز هورمون‌های گیاهی، ویتامین‌ها، آنزیم‌ها، سیدروفورها، آنتی‌بیوتیک‌ها و جلوگیری از سنتز اتیلن سبب بهبود رشد گیاه می‌شوند. ریزجانداران که از لحاظ کشاورزی دارای اهمیت هستند، مکانیسم‌های ویژه‌ای را به‌منظور تحمل جذب یون‌های فلزی و کاستن از شدت تنش فلزات سنگین توسعه داده‌اند. این مکانیسم‌ها شامل ۱- پمپ کردن یون‌های فلزی به فضای خارج از سلول، ۲- تجمع و انباشت نمودن یون‌های فلزی در داخل سلول، ۳- تبدیل فلزات سمی به فرم‌های با سمیت کم‌تر و ۴- جذب یا واجذب فلزات می‌باشند (۵۶). سیلیسیم باعث کاهش سمیت فلزات سنگین در گیاهان شده و باعث متحرک کردن فسفر خاک می‌شود و تأثیر مثبت بر فتوسنتز گیاهان دارد، اثرات سودمند سیلیسیم در رشد، توسعه و مقاومت گیاهان در برابر تنش فلزات سنگین در برخی از گونه‌های گیاهی گزارش شده است (۱۷ و ۴۲ و ۵۸). سیلیسیم موجب کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از فلزات سنگین مانند روی، آرسنیک و کادمیوم در گیاهان شده است (۳۳). گزارش شده که سیلیسیم استحکام برگ‌ها و کاهش تبخیر و تعرق را افزایش و پیری برگ را به تأخیر انداخته و میزان کلروفیل و فعالیت آنزیم روویسکو و سرعت فتوسنتز را افزایش می‌دهد (۲۰ و ۳۳). سیلیسیم با ترشح فنول در ریشه گیاه ذرت و ایجاد کمپلکس و تثبیت فلزات سنگین در قسمت ریزوسفر، مانع انتقال فلزات سنگین از ریشه به ساقه می‌شود (۵۰).

بر سیستم فتوسنتزی گیاه دانست زیرا تمامی رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه گشنیزی به‌خصوص با افزایش غلظت سرب کاهش یافتند و این امر به‌احتمال قوی سبب کاهش فتوسنتز و رشد گیاه گردید، برخی پژوهشگران این دلیل کاهش زیست‌توده را به اختلال در فتوسنتز در اثر تنش سرب نسبت می‌دهند (۵۲). در واقع سرب با اختلال در ساختار کلروپلاست، ممانعت از ساخت کلروفیل، پلاستوکوئینون و کارتنوئیدها، جلوگیری از انتقال الکترون، جلوگیری از فعالیت آنزیم‌های چرخه کلون و کمبود دی‌اکسیدکربن به‌دلیل بسته شدن روزنه‌ها ایجاد می‌شود که همه این موارد به کاهش رشد و توسعه گیاه می‌انجامد (۵). فلزات سنگین به‌وسیله مهار آنزیم‌های گاما‌آمینو لوالونیک اسید دهیدروژناز و پروتوکلروفیل ردوکتاز سبب مهار بیوسنتز کلروفیل می‌شوند. این فلزات سنتز گاما - آمینو لوالونیک اسید و تشکیل کمپلکس آنزیم پروتوکلروفیل ردوکتاز با سوسبترا را مهار می‌کنند (۲۸). سرب با ایجاد اختلال در جذب فلزات ضروری مثل منیزیم و آهن مانع از سنتز کلروفیل می‌شود (۴۸). مایه‌زنی با جدایه ۶ تأثیر مثبتی در شرایط تنش فلز سرب نشان داد که با نتایج پژوهشگران دیگر نیز مطابقت داشت، در مایه‌زنی بذر ریحان با باکتری محرک رشد باعث افزایش میزان کلروفیل برگ می‌شود (۲۵)، این میزان بالاتر کلروفیل، میزان بالاتر فتوسنتز گیاهان را در پی خواهد داشت. البته غلظت بالاتر کلروفیل را می‌توان به افزایش جذب فسفر نسبت داد چراکه رها شدن و بیرون آمدن تریوزفسفات‌ها از کلروپلاست به‌وسیله فسفر تنظیم می‌شود، جذب خالص فسفات غیرآلی به درون کلروپلاست‌ها، رها شدن مواد آلی سنتز شده در فتوسنتز از کلروپلاست‌ها را تنظیم می‌کند (۴۶). در این پژوهش محلول‌پاشی با نانوذرات سیلیسیم نیز به‌شدت در افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی مؤثر بود که

کلروفیل a, b و کل: مقایسه میانگین تأثیر تیمارها نشان داد که با افزایش غلظت فلز سنگین سرب در بستر کاشت، میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید در گیاه گشنیز به‌طور معنی‌داری کاهش یافت و مقادیر آن‌ها در گیاهان پرورش‌یافته در بسترهای حاوی ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب در مقایسه با گیاهان رشد کرده در تیمار شاهد به‌ترتیب ۵، ۲۱، ۲۸ درصد کاهش یافت (جدول ۴). تیمارهای مایه‌زنی با کودهای زیستی و محلول‌پاشی با نانوذرات سیلیسیم توانست اثرات نامطلوب ناشی از آلودگی عنصر سنگین سرب را کاهش دهد به‌طوری‌که بیش‌ترین میزان کلروفیل a برگ گیاهان گشنیز، کلروفیل b، کلروفیل کل در تیمار ترکیبی مایه‌زنی با جدایه ۶ و محلول‌پاشی با غلظت ۳ میلی‌مولار نانوذرات سیلیسیم در شرایط بدون حضور عنصر سنگین سرب حاصل شد که با تیمار ترکیبی مایه‌زنی با قارچ *Glomus mosseae* تفاوت معنی‌دار نشان نداد. بیش‌ترین میزان کارتنوئید برگ در گیاهان مایه‌زنی شده با باکتری جدایه ۶ حاصل شد که با غلظت ۳ میلی‌مولار از نانوذرات سیلیسیم محلول‌پاشی شده بودند و کم‌ترین میزان کارتنوئید در گیاهان پرورش‌یافته در غلظت ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب مشاهده شد که هیچ‌گونه تیمار مایه‌زنی و محلول‌پاشی در مورد آن‌ها انجام نگرفته بود (جدول ۴). در غلظت پایین‌تر سرب (۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) قارچ میکوریز کارایی بهتری نسبت به دو جدایه دیگر نشان داد و اعداد بالاتری ثبت شد، اما در شرایط سرب با غلظت بالاتر ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کلروفیل a و کارتنوئید جدایه ۶ در ترکیب با ۳ میلی‌مولار سرب کارایی بهتری داشت اما کلروفیل b و کل قارچ میکوریز کارایی بهتری نشان داد. شاید یکی دیگر از علل کاهش رشد و صفات مورفولوژی در گیاه گشنیز به‌علت تأثیر مستقیم سرب

با نتایج پژوهشگران دیگر مطابقت داشت، در آزمایشی اثر سه سطح مختلف سرب (۰، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار) و دو سطح سیلیسیم (۰ و ۱ میلی‌مولار) در گیاه پنبه بر رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ نشان داد که حضور سیلیسیم توانست میزان این رنگیزه‌ها را به‌طور معنی‌داری افزایش دهد، علاوه بر این سیلیسیم به‌دلیل رسوب آن در پهنک برگ، افزایش استحکام برگ‌ها و افزایش غلظت کلروفیل در واحد سطح برگ توانایی گیاه برای استفاده مؤثرتر از نور را بالا می‌برد، هم‌چنین کاربرد سیلیسیم محلول برای تولید غلظت‌های بالاتر آنزیم ریپولوز بی‌فسفات در برگ مؤثر است، البته برخی پژوهشگران دلیل این امر را به نقش سیلیسیم در زنجیره فتوسنتزی و ممانعت از تخریب زنجیره کلروفیل توسط سیلیسیم ربط داده‌اند (۳). برخی پژوهشگران سیلیسیم را عامل مؤثر در افزایش تولید آنزیم رایبیسکو دانسته‌اند (۱). همراه با افزایش شاخص کلروفیل، تبادلات گازی برگ نیز در واحد سطح افزایش یافته است، با توجه به آن‌که افزایش رنگ‌دانه‌های کلروفیلی، امکان تثبیت بیش‌تر دی‌اکسیدکربن را فراهم می‌آورد، از این رو بهبود تبادل گازی و به دنبال آن ورود بیش‌تر دی‌اکسیدکربن به برگ دور از انتظار نخواهد بود (۲۳ و ۴۵).

پرولین: جدول مقایسه میانگین تأثیر تیمارها نشان داد که با افزایش غلظت عنصر سنگین سرب در بستر کاشت، میزان پرولین آزاد برگ گیاه گشنیز به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و در گیاهان پرورش‌یافته در بسترهای حاوی ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب مقایسه با گیاهان رشد کرده در بستر بدون آلودگی سرب میزان پرولین ۶۵ درصد افزایش یافت (جدول ۴). بیش‌ترین میزان پرولین برگ گیاهان گشنیز در تیمار ترکیبی مایه‌زنی با جدایه ۶ باکتری و بدون محلول‌پاشی با نانوذرات سیلیسیم در شرایط آلودگی با غلظت ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب عنصر

سنگین سرب حاصل شد و کم‌ترین میزان پرولین نیز در گیاهان رشد کرده در شرایط بدون آلودگی خاک با سرب با ۳ میلی‌مولار محلول‌پاشی نانوذرات سیلیسیم حاصل شد که با هیچ‌یک از کودهای زیستی مایه‌زنی نشده بود. نتایج مطالعات نشان داده در شرایط تنش فلزات سنگین گلوتامات که پیش ماده تولید کلروفیل است، به‌سمت تولید پرولین می‌رود (۴۳) که در گیاه گشنیز نیز به‌وضوح شاهد کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی بودیم که بیانگر این مسأله است. تحت تنش فلزات سنگین افزایش غلظت پروتئین کل نشان‌دهنده افزایش اسیدآمینو پرولین است، افزایش پرولین به‌دلیل قابلیت کلات شدن این اسیدآمینو با یون‌های فلزی و افزودن بر مکانیسم دفاعی جهت بقای بیش‌تر است، علاوه بر این افزایش پرولین در گیاهان سبب محافظت از آنزیم‌های سیتوزول و ساختارهای سلولی می‌شود پرولین افزون بر تنظیم اسیدپته سلول و پایداری پروتئین‌ها در گیاهان در شرایط تنش‌های محیطی به‌ویژه تنش فلزات سنگین با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله سوپراکسید دیسموتاز سبب کاهش آسیب‌های ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود (۶۰). تولید بیش‌تر پرولین در تیمار باکتری‌ها نسبت به تیمار شاهد احتمالاً به‌دلیل تولید هورمون آبسزیزیک‌اسید توسط این میکروارگانیسم‌ها است، زیرا این هورمون تولید اسیدهای آمینه به‌ویژه پرولین را افزایش می‌دهد و سازش با تنش را بهبود می‌بخشد (۳۷). مایه‌زنی گیاهان با سودوموناس پوتیدا رشد را به‌وسیله کاهش جذب یون‌های سمی، افزایش میزان ایندول استیک اسید و تشکیل پروتئین‌های ویژه تنش در گیاهان تحت تنش تحریک می‌کند (۱۱).

کربوهیدرات محلول: با توجه به مقایسه میانگین تأثیر تیمارها مشخص شد که با افزایش غلظت سرب میزان کربوهیدرات‌های محلول گیاه گشنیز به‌طور معنی‌داری

با نتایج پژوهشگران دیگر مطابقت داشت، در آزمایشی اثر سه سطح مختلف سرب (۰، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار) و دو سطح سیلیسیم (۰ و ۱ میلی‌مولار) در گیاه پنبه بر رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ نشان داد که حضور سیلیسیم توانست میزان این رنگیزه‌ها را به‌طور معنی‌داری افزایش دهد، علاوه بر این سیلیسیم به‌دلیل رسوب آن در پهنک برگ، افزایش استحکام برگ‌ها و افزایش غلظت کلروفیل در واحد سطح برگ توانایی گیاه برای استفاده مؤثرتر از نور را بالا می‌برد، هم‌چنین کاربرد سیلیسیم محلول برای تولید غلظت‌های بالاتر آنزیم ریپولوز بی‌فسفات در برگ مؤثر است، البته برخی پژوهشگران دلیل این امر را به نقش سیلیسیم در زنجیره فتوسنتزی و ممانعت از تخریب زنجیره کلروفیل توسط سیلیسیم ربط داده‌اند (۳). برخی پژوهشگران سیلیسیم را عامل مؤثر در افزایش تولید آنزیم رایبیسکو دانسته‌اند (۱). همراه با افزایش شاخص کلروفیل، تبادلات گازی برگ نیز در واحد سطح افزایش یافته است، با توجه به آن‌که افزایش رنگ‌دانه‌های کلروفیلی، امکان تثبیت بیش‌تر دی‌اکسیدکربن را فراهم می‌آورد، از این رو بهبود تبادل گازی و به دنبال آن ورود بیش‌تر دی‌اکسیدکربن به برگ دور از انتظار نخواهد بود (۲۳ و ۴۵).

پرولین: جدول مقایسه میانگین تأثیر تیمارها نشان داد که با افزایش غلظت عنصر سنگین سرب در بستر کاشت، میزان پرولین آزاد برگ گیاه گشنیز به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و در گیاهان پرورش‌یافته در بسترهای حاوی ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب مقایسه با گیاهان رشد کرده در بستر بدون آلودگی سرب میزان پرولین ۶۵ درصد افزایش یافت (جدول ۴). بیش‌ترین میزان پرولین برگ گیاهان گشنیز در تیمار ترکیبی مایه‌زنی با جدایه ۶ باکتری و بدون محلول‌پاشی با نانوذرات سیلیسیم در شرایط آلودگی با غلظت ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب عنصر

قند بر اثر تلقیح با باکتری‌های محرک رشد گیاه تولید فسفر توسط گیاهان است، فسفر نقش مهمی را در شکستن کربوهیدرات‌ها و سنتز پلی‌ساکاریدها ایفا می‌کند به‌ویژه در سنتز نشاسته از گلوکز بسیار مؤثر است. علاوه بر این مشخص شده است که فسفر جذب‌شده توسط باکتری‌های محرک رشد نقش مهمی را در انتقال انرژی در طول فتوسنتز ایفا می‌کند و از این طریق بر میزان فتوسنتز تأثیر می‌گذارند (۱۶). دلیل دیگر برای تأثیر باکتری‌ها در افزایش محتوای قند، افزایش سطح هورمون‌های گیاهی مانند سیتوکینین و جیبرلین در گیاهان مایه‌زنی شده می‌باشد که این تأثیر به‌ویژه افزایش در میزان سیتوکینین می‌تواند با انتقال یون‌های مؤثر در باز شدن روزنه‌ها و تنظیم سطح کلروفیل، موجب افزایش و بالا رفتن سرعت فتوسنتز و در نهایت افزایش محتوای کربوهیدرات‌ها در گیاهان شود (۵۶). دمیر نشان داد که میزان محتوای قند کل در گیاهان فلفل همزیست با باکتری‌های محرک رشد به‌صورت معنی‌داری بالاتر از گیاهان شاهد بوده است (۱۶). ریزجانداران می‌توانند از طریق تبخیر فلزات سنگین مانند سرب، جیوه از سمیت این فلزات در گیاهان کاهش بدهند (۹ و ۱۳). علاوه بر این، باکتری‌های محرک رشد گیاه بیوسنتز قندها، آنزیم‌ها و اسیدهای آلی را که نقش مثبتی در حلالیت فلزات سنگین در گیاهان را منجر می‌شود، بر عهده دارند (۵۴). سیلیسیم بر متابولیسم قندها و پخش مواد فتوسنتزی در گیاهان در حال رشد اثر قابل‌توجهی گذاشته و باعث افزایش آن می‌گردد، سیلیسیم محتوی قندهای احیاکننده و محلول را در گیاه افزایش می‌دهد (۵۵). افزایش میزان کربوهیدرات در اثر استعمال سیلیسیم در گیاه کلم تحت تنش سرب نیز گزارش شده است (۳۰).

افزایش یافت و این صفت در گیاهان پرورش‌یافته در خاک حاوی ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب در مقایسه با گیاهانی که در خاک بدون سرب رشد کرده بودند، حدود ۱۷۹ درصد بیش‌تر بود. به‌عبارت‌دیگر بیش‌ترین میزان کربوهیدرات‌های محلول در گیاهان پرورش‌یافته در شرایط آلودگی با غلظت ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب حاصل شد که با جدایه ۶ باکتری مایه‌زنی شده و تحت تیمار محلول‌پاشی با غلظت ۳ میلی‌مولار نانوذرات سیلیسیم قرار گرفته بودند که تفاوت معنی‌داری با گیاهان مایه‌زنی شده با باکتری جدایه ۱۹ و قارچ میکوریز و محلول‌پاشی شده با همان غلظت نانوذرات سیلیسیم نداشتند (جدول ۴) و کم‌ترین میزان کربوهیدرات‌های محلول در گیاهان رشد کرده در خاک بدون آلودگی سرب و بدون مایه‌زنی با ریزجانداران و محلول‌پاشی با نانوذرات سیلیسیم حاصل شد (جدول ۴). میزان کربوهیدرات در گیاه گشنیز تحت تنش سرب به‌شدت افزایش یافت و هردو تیمار آزمایشی نیز اثر سینرژیست بر میزان کربوهیدرات نشان دادند، فلزات سنگین با تغییر در فعالیت پروتئین‌های کانالی انتقال آب و با بستن روزنه‌های برگ، جریان آب در گیاه را متوقف می‌سازند، با کاهش انتقال آب به برگ و به‌دنبال آن تجمع فلز سنگین در سلول‌ها، میزان قندهای محلول در گیاه افزایش می‌یابد، این ویژگی یک روش سازگاری گیاه برای حفظ شرایط اسمزی است. علاوه بر این، افزایش قندهای محلول به گیاه کمک می‌کند تا بتواند ذخیره کربوهیدراتی خود را برای حفظ متابولیسم پایه در شرایط تنش در حد مطلوب نگه دارد (۳۰). البته بیوسنتز بیش‌تر کلروفیل و فتوسنتز در برگ گیاهان تیمار شده با باکتری‌های محرک رشد می‌تواند از دلایل تولید بیش‌تر کربوهیدرات‌ها در برگ‌ها باشد، یکی از دلایل افزایش

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس مایزنی با باکتری‌های محرک رشد و قارچ میکوریز و محلول‌پاشی نانوذرات سیلیسیم بر شاخص‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه کشنیر تحت تنش سرب.
Table 3. Factorial ANOVA result for influence of PCPPR inoculation and mycorrhiza and silicon nano particle foliar application on physiological and biochemical of coriander under Pb stress.

متغیر	Electro leakage	کربوهیدرات	پروتئین	کارتینوئید	Total Chlorophyll	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل a	وزن ماده خشک برگ	مساحت برگ	طول ریشه	وزن ریشه	وزن تر پسته	وزن تازه ریشه	ارتفاع گیاه	Plant height	Df	منابع تغییرات (S.O.V)
۱	5873.3**	0.879**	0.277**	129.24**	780.21**	94.86**	954.20**	9.033**	143010°	362.8**	0.001**	0.37**	362.8**	3	تنش سرب (Pb)			
۲	6372.8**	0.445*	0.052**	54.42**	930.78**	48.64**	731.43**	0.556 ^{ns}	87156**	52.87**	0.001*	0.039**	52.87**	3	ریزجانداران محرک رشد (B)			
۳	931.0*	1.01**	0.082**	119.62**	542.61**	55.95**	579.71**	2.365 ^{ns}	10428**	28.12**	0.017**	0.488**	28.12**	2	نانوذرات سیلیسیم (Si)			
۴	1481.1**	0.367**	0.029**	43.24**	264.31**	44.88**	421.09**	4.403**	30979	68.56**	0.003**	0.167**	68.12**	9	سرب × ریزجانداران (Pb×B)			
۵	210.49**	0.809**	0.004**	9.47**	55.66**	7.28**	38.31**	4.950**	30596**	61.84**	0.00**	0.015**	61.84**	6	سرب × سیلیسیم (Pb×Si)			
۶	258.82**	0.337**	0.006 ^{ns}	17.43**	55.21**	5.59**	215.64**	2.727**	45727**	16.51**	0.032**	0.019**	16.51**	6	ریزجانداران × سیلیسیم (Si×B)			
۷	176.13**	0.429**	0.014*	11.25**	40.84**	4.68**	115.98**	3.444**	19711**	38.27**	0.00*	0.028**	38.27**	18	سرب × ریزجانداران × سیلیسیم (Pb×B×Si)			
۸	3.48	0.007	0.0025	0.500	3.266	0.345	4.43	1.49	4032.3	0.897	0.00	0.00	2.75	143	اشتباه آزمایشی (E)			
۹	3.35	8.79	20.19	6.26	4.62	6.43	6.98	19.44	19.05	6.75	4.42	8.98	6.75	143	ضرب تغییرات (CV)			

^{ns}، *، ** Indicates no significant and significant at 0.05, 0.01 probability level respectively.
*، ** و ^{ns} به ترتیب عدم تفاوت معنی داری، معنی داری در سطح 0.05 و 0.01 در درصد.

جدول ۴ - مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارهای آزمایشی بر شاخص‌های رشد گیاهی در شرایط تنش سرب.
 Table 4. Interaction effect of experimental treatments on growth index of coriander under Pb stress.

	Electro leakage	Carbohydrate	Proline	Cartenoid	Total Chlorophyll	Chlorophyll b	Chlorophyll a	Leaf dry weight	Leaf area	Root length	Root weight	Shoot weight	Plant height
(%)	(mg FW)	(μ mol gFW)	(mg FW)	(mg FW)	(mg FW)	(mg FW)	(mg FW)	(%)	(mm ²)	(cm)	(g)	(g)	(cm)
41.83 ^{mn}	0.411 ^s	0.106 ^d	0.985 ^{mn}	3.517 ^{ms}	0.9 ^{fh}	2.457 ^{pd}	4.9 ^{efg}	304 ^{eg}	10.9 ^{fg}	0.053 ^{lm}	0.41 ^{ko}	23.86 ^{hn}	0
32.63 ^{hi}	0.55 ^{s,d}	0.168 ^{kp}	1.353 ^{eg}	4.383 ^d	1.1 ^e	3.548 ^{eg}	5.75 ^{ceg}	355 ^{ode}	11.28 ^{de}	0.058 ^{kj}	0.44 ^{kl}	24.05 ^{dh}	1.5
36 ^{op}	0.495 ^{ar}	0.122 ^{pd}	1.028 ^{ko}	3.727 ^{im}	0.97 ^{fh}	25 ^{ba}	6.12 ^{cag}	401 ^c	12.32 ^{bc}	0.062 ^{ji}	0.48 ^{hi}	29.13 ^b	3
31.61 ^{hi}	0.63 ^{or}	0.168 ^{kp}	1.417 ^{pd}	4.883 ^d	1.153 ^d	3.284 ^{hi}	4.9 ^{efg}	329 ^{de}	10.8 ^{fg}	0.05 ^{mnp}	0.44 ^{kl}	23.74 ^{ko}	0
30 ^r	0.74 ^{mo}	0.199 ^{jo}	2.1 ^a	5.9 ^b	1.43 ^d	4.125 ^{pd}	5.75 ^{ceg}	498 ^{bc}	13.26 ^{ab}	0.063 ^{ji}	0.56 ^{def}	27.26 ^{be}	1.5
38 ^{mn}	0.53 ^{s,b}	0.119 ^{pd}	1.046 ^{ko}	3.673 ^{kn}	0.99 ^f	2.563 ^{mq}	7.75 ^{ad}	559 ^a	13.52 ^a	0.11 ^a	0.74 ^a	35.15 ^a	3
37.71 ^{op}	0.62 ^{or}	0.188 ^{jp}	1.294 ^{fh}	3.807 ^{gl}	0.93 ^{fh}	2.75 ^{ko}	4.9 ^{efg}	315 ^{eg}	10.83 ^g	0.06 ^{jk}	0.41 ^{ko}	23.9 ^{hn}	0
36 ^{op}	0.72 ^{mo}	0.187 ^{jo}	1.742 ^c	4.464 ^{df}	1.097 ^e	3.145 ^{ij}	5.85 ^{ceg}	355 ^{ode}	11.46 ^{cd}	0.080 ^g	0.53 ^{defg}	25.86 ^{dg}	1.5
38.12 ^{mn}	0.63 ^{or}	0.119 ^{pd}	1.055 ^{ko}	5.778 ^a	1.320 ^b	3.648 ^{eg}	7.12 ^{are}	467 ^b	13.12 ^{ab}	0.11 ^a	0.71 ^{ab}	30.2 ^b	3
41.83 ^{jk}	0.65 ^{po}	0.155 ^{mnp}	1.367 ^{eg}	3.287 ^{eu}	0.70 ^{no}	2.32 ^{pe}	5.37 ^{ceg}	367 ^{ce}	10.8 ^{fg}	0.043 ^{lm}	0.44 ^{kl}	27.26 ^{eg}	0
38 ^{op}	0.68 ^{pd}	0.199 ^{jo}	1.9 ^b	4.883 ^d	1.169 ^{ce}	3.628 ^{eg}	6.5 ^{abc}	467 ^c	12.55 ^b	0.06 ^{jk}	0.56 ^{def}	29.13 ^{bc}	1.5
32.63 ^{ar}	0.88 ^{il}	0.119 ^{pd}	0.95 ^{np}	6.0 ^a	1.487 ^a	4.8 ^a	8 ^a	536 ^a	13.55 ^a	0.11 ^a	0.75 ^a	35.15 ^a	3
45.1 ^{kl}	0.80 ^{kn}	0.251 ^{kp}	1.128 ^{jk}	3.521 ^{ms}	0.8 ^{ih}	2.5 ^{nq}	6.5 ^{bf}	277 ^{efg}	10.16 ^h	0.043 ^{lm}	0.36 ^{op}	22.3 ^{kr}	0
37 ^{op}	0.87 ^{il}	0.188 ^{jp}	1.294 ^{fh}	3.9 ^{fl}	1.084 ^e	2.75 ^{ko}	6.5 ^{bf}	294 ^{cgl}	11.12 ^e	0.051 ^{mm}	0.43 ^{kl}	24.53 ^{gm}	1.5
38.1 ^{mn}	0.81 ^{lk}	0.169 ^{fk}	0.95 ^{np}	4.043 ^{fh}	0.78 ^{km}	2.4 ^{qr}	6.75 ^{bf}	342 ^{eg}	12.51 ^b	0.055 ^{lm}	0.48 ^{hi}	26.66 ^{cf}	3
48.88 ^{lh}	0.97 ^{gi}	0.296 ^{eh}	1.149 ^{ik}	4.606 ^{dg}	0.93 ^{fh}	3.01 ^{ik}	6 ^{ceg}	287 ^{eg}	10.12 ^h	0.049 ^{no}	0.37 ^{op}	22.96 ^{fi}	0
40.25 ^{mn}	1.19 ^e	0.336 ^{ef}	1.408 ^{df}	5.333 ^b	1.25 ^{lc}	3.97 ^{de}	6.8 ^{bf}	345 ^{eg}	12.52 ^b	0.061 ^j	0.53 ^{de}	25.80 ^{de}	1.5
36 ^{op}	0.86 ^{km}	0.193 ^{jo}	0.967 ^{np}	4.033 ^{fh}	0.78 ^{kn}	2.32 ^{nq}	7.75 ^{bf}	417 ^c	12.52 ^b	0.075 ^b	0.58 ^{de}	28.9 ^b	3
48.5 ^k	0.97 th	0.328 ^{ef}	1.112 ^{jl}	4.574 ^{mr}	0.93 ^{fh}	3.011 ^{ik}	5.9 ^{ceg}	261 ^{efg}	10 ^{hi}	0.050 ^{mm}	0.37 ^{op}	22.35 ^{ko}	0
44.41 ^{kl}	1.05 ^{eh}	0.260 ^{fh}	1.317 ^{eh}	4.9 ^{bc}	1.097 ^f	3.628 ^{eg}	6.25 ^{bf}	287 ^{eg}	11.6 ^d	0.063 ^{ji}	0.50 ^{df}	24.97 ^{dh}	1.5
41.22 ^{ml}	0.72 ^{mo}	0.215 ^{im}	0.997 ^{ip}	3.987 ^{ej}	0.74 ^{ln}	2.65 ^{rp}	6.5 ^{bf}	345 ^{eg}	12.85 ^b	0.076 ^{gh}	0.59 ^{de}	27.70 ^{bed}	3
48.5 ^k	0.81 ^{kn}	0.318 ^{eg}	0.801 ^{ht}	2.826 ^{nu}	0.64 ^{oq}	2.05 ^{su}	5 ^{efg}	261 ^{efg}	10 ^{hi}	0.045 ^{op}	0.4 ^{mnp}	23.86 ^{gi}	0
40.25 ^{mn}	0.986 ^{gh}	0.287 ^{ei}	1.220 ^{bj}	4.45 ^{ot}	0.94 ^{fh}	3.48 ^{ef}	6.07 ^{ceg}	309 ^{eg}	11.4 ^{de}	0.056 ^{lm}	0.53 ^{defg}	27.85 ^{be}	1.5
36 ^{op}	0.886 ^{il}	0.161 ^{ip}	1.492 ^d	5.0 ^b	1.213 ^d	4.6 ^{ab}	7 ^a	345 ^{eg}	12.8 ^b	0.080 ^g	0.6 ^{cd}	29.4 ^{bed}	3

ادامه جدول ۴-۴

Continue Table 4.

(%) نسبت جفتا	Electro leakage	Carbohydrate (mg.g Fw)	Proline (μmol.gFw)	Cartenoid (mg.g Fw)	Total Chlorophyll (mg.g Fw)	Chlorophyll a (mg.g Fw)	Chlorophyll b (mg.g Fw)	Chlorophyll a (mg.g Fw)	ماده خشک برگي (%)	Leaf dry weight	Leaf area (mm ²)	طول ريشه (cm)	وزن ريشه (g)	وزن بونه (g)	وزن بونه (cm)	ارتفاع بونه (cm)	Plant height
59.50 ^f	0.98 ^h	0.295 ^{o-f}	0.945 ^{da}	3.026 ^h	0.70 ^{mo}	2.25 ^r	5.7 ^{eg}	236 ^{fg}	9 ^j	0.032 ^s	0.3 ^q	19.7 ^{h-t}	0	0	0	0	0
54.21 ^g	1.08 ^g	0.224 ^{bm}	0.997 ^{lp}	3.680 ^{jn}	0.68 ^{da-p}	2.32 ^{bi}	5.75 ^{eg}	294 ^{cg}	11.8 ^e	0.046 ^{op}	0.4 ^{n-p}	22.4 ^{kr}	1.5	1.5	1.5	1.5	شاهد
52.39 ^g	1.05 ^{eh}	0.198 ^{ei}	1.046 ^k	3.574 ^{mr}	0.9 ^{fh}	2.75 ^{lo}	6 ^{gb}	365 ^{oe}	12.03 ^{bc}	0.053 ^{lmm}	0.46 ^j	24.66 ^{di}	3	3	3	3	شاهد
60.59 ^f	1.40 ^{cd}	0.307 ^{dh}	0.988 ^{mo}	3.680 ^{jn}	0.68 ^{dp}	2.075 ^{cu}	5.75 ^{eg}	236 ^{fg}	9.8 ⁱ	0.050 ^{mm}	0.37 ^{op}	23.55 ^{gj}	0	0	0	0	B6
51.63 ^{gh}	1.77 ^a	0.396 ^{bc}	1.108 ^{jm}	4.079 ^{eg}	0.998 ^{fg}	2.953 ^{li}	6.5 ^{oe}	297 ^{cg}	10.16 ^h	0.076 ^{gh}	0.45 ^{ik}	25.03 ^{dh}	1.5	1.5	1.5	1.5	جدايه ۱
48.50 ⁱ	1.08 ^g	0.213 ^{im}	1.35 ^{eg}	4.82 ^{bc}	1.2 ^d	3.952 ^{bf}	8.37 ^{ab}	385 ^{de}	12.23 ^{bc}	0.097 ^{cd}	0.58 ^{de}	29.36 ^{be}	3	3	3	3	جدايه ۱
64.07 ^{eg}	1.37 ^d	0.291 ^{ia}	0.99 ^{qp}	3.362 ^{nt}	0.79 ^{im}	2.5 ^{bq}	5.75 ^{eg}	231 ^{fg}	9.6 ^{ji}	0.045 ^{op}	0.38 ^{m-p}	22 ^{bj}	0	0	0	0	B19
61.82 ^{gh}	1.01 ^{fi}	0.25 ^{ej}	1.026 ^{ko}	4.254 ^{lp}	0.9 ^{fh}	2.953 ^{li}	6.5 ^{fb}	282 ^{cg}	11.2 ^e	0.056 ^{lm}	0.44 ^{jl}	25 ^{dh}	1.5	1.5	1.5	1.5	جدايه ۱۹
53.66 ^g	1.15 ^{ef}	0.30 ^{dh}	1.1 ^{kn}	3.662 ^o	0.981 ^{fg}	3.021 ^{ik}	7.12 ^{ae}	352 ^{oe}	11.43 ^{de}	0.076 ^{gh}	0.53 ^{dg}	27.7 ^{be}	3	3	3	3	جدايه ۱۹
55.25 ⁱ	1.02 ^{hb}	0.21 ⁱⁿ	0.99 ^{qp}	2.048 ^w	0.384 ^s	2.075 ^{cu}	5.75 ^{eg}	236 ^{fg}	9.75 ⁱ	0.037 ^r	0.35 ^p	21.16 ^{or}	0	0	0	0	M
54.15 ⁱ	1.44 ^{cd}	0.24 ^{gm}	0.807 ^{iq}	2.209 ^{mr}	0.589 ^q	2.953 ^{li}	6.5 ^{fb}	277 ^{eg}	11.8 ^e	0.050 ^{mm}	0.44 ^{jl}	23.30 ^{gi}	1.5	1.5	1.5	1.5	میکوریز
53.66 ^g	1.52 ^{bc}	0.40 ^{bc}	1.256 ^{bj}	4.362 ^{od}	1.1 ^e	3.963 ^{df}	6.87 ^{fb}	316 ^{eg}	12.4 ^{bc}	0.065 ⁿⁱ	0.52 ^{def}	27.5 ^{bf}	3	3	3	3	میکوریز
87.50 ^a	1.15 ^{ef}	0.49 ^a	0.63 ^r	2.517 ^{lq}	0.476 ^t	1.869 ^{uv}	4 ^f	231 ^{fg}	8.9 ^{jk}	0.026 ^t	0.17 ^u	17.9 ^u	0	0	0	0	0
82.25 ^b	1.40 ^{cd}	0.32 ^{eg}	0.740 ^r	3.174 ^{vm}	0.6 ^{qp}	2.32 ^{iq}	4.75 ^{fg}	282 ^{cg}	9.5 ^{ji}	0.043 ^{pq}	0.26 ^t	20.8 ^{os}	1.5	1.5	1.5	1.5	شاهد
74.50 ^c	1.64 ^b	0.38 ^{bd}	1.071 ^{kn}	3.533 ^{qt}	0.70 ^{no}	2.9 ^{jm}	5 ^{efg}	294 ^{cg}	10.43 ^{fg}	0.058 ^{kl}	0.34 ^{pq}	22.1 ^{mr}	3	3	3	3	شاهد
85.50 ^a	1.09 ^{eg}	0.31 ^{dh}	0.747 ^r	3.334 ^{ei}	0.436 st	2.089 ^{tu}	5 ^{efg}	282 ^{cg}	9.05 ⁱ	0.024 ^{tu}	0.2 st	20.33 ⁿ	0	0	0	0	B6
71.75 ^{cd}	1.36 ^d	0.24 ^{gm}	0.901 ^{qp}	3.0 ^{vw}	0.589 ^q	2.832 ^{kn}	6.12 ^c	297 ^{cg}	10.03 ^{hi}	0.045 ^{pq}	0.28 ^u	24.33 ^{gm}	1.5	1.5	1.5	1.5	جدايه ۱
60.59 ^h	1.85 ^a	0.29 ^{fi}	1.207 ^{bj}	3.353 ^{ot}	0.997 ^f	3.836 ^{cd}	7.12 ^a	316 ^{eg}	11.2 ^e	0.065 ⁿⁱ	0.4 ^{n-p}	27.9 ^{be}	3	3	3	3	جدايه ۱
73.25 ^{cd}	1.19 ^{ef}	0.38 ^{bd}	0.775 ^r	2.9 ^{vw}	0.68 ^{np}	2.685 ^{co}	5.75 ^{eg}	251 ^{eg}	8.9 ^{jk}	0.034 ^{rs}	0.2 st	21.68 ^{ik}	0	0	0	0	B19
66.55 ^{gh}	1.37 ^d	0.37 ^{be}	0.939 ^{op}	3.536 ^{or}	0.78 ^{kn}	2.685 ^{co}	6 ^{eg}	267 ^{eg}	10.66 ^f	0.050 ^{mm}	0.32 ^q	23.8 ^{bm}	1.5	1.5	1.5	1.5	جدايه ۱۹
62 ^f	1.84 ^a	0.61 ^{dh}	1.199 ^{bj}	3.727 ^{im}	0.81 ^{il}	3.6 ^{fh}	5.75 ^{bf}	298 ^{eg}	11.12 ^e	0.059 ^{jk}	0.39 ^{m-p}	25.8 ^r	3	3	3	3	جدايه ۱۹
67 ^e	1.77 ^a	0.43 ^{ab}	0.985 ^{np}	3.982 ^{fk}	0.87 ^{hj}	3.145 ^{ij}	5.7 ^{eg}	252 ^{eg}	9.05 ⁱ	0.028 ^s	0.2 st	18.3 st	0	0	0	0	M
41.83 ^{mm}	0.411 ^s	0.106 ^p	1.108 ^{jm}	3.517 ^{ms}	0.9 th	2.457 ^{oq}	5.75 ^{eg}	287 ^{eg}	10.8 ^{fg}	0.045 ^{pq}	0.32 ^q	21.3 ^{or}	1.5	1.5	1.5	1.5	میکوریز
34.50 ⁿⁿ	0.474 ^s	0.117 ^{op}	1.146 ^{ik}	3.741 ^{bn}	0.983 ^{fg}	3.021 ^{ik}	6 ^{eg}	302 ^{eg}	11.83 ^e	0.057 ^{kl}	0.37 ^{op}	24.8 ^{fi}	3	3	3	3	میکوریز

LSD میانگین با حروف مشترک حداقل تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون LSD

Means sharing the same letters are statistically non-significant at P<0.05 by LSD.

یون‌های سرب یا جایگزینی یون‌های کلسیم با سرب به دلیل تشابه زیاد سرب برای باند شدن با محل‌های پیوند کلسیم در ساختارهای بیولوژیکی گیاه باشد (۵۷).

نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی استفاده هم‌زمان تیمارهای زیستی و سیلیسیم توانست اثرات منفی فلز سنگین سرب را در گیاه گشنیز تا حدی کاهش دهد، به‌طوری‌که در بیش‌تر تیمارها تیمار میکوریز و جدایه ۶ و محلول‌پاشی با ۳ میلی‌مولار سیلیسیم تأثیر بهتری نشان دادند. مکانیسم کاربرد هم‌زمان این دو تیمار باهم به‌خوبی شناخته نشده است و نیاز به مطالعات بیش‌تری دارد. می‌توان این‌طور فرض کرد که در گیاه گشنیز هم تیمارهای زیستی و هم سیلیسیم در ابتدا با تأثیر بر سیستم ریشه‌ای و جذب بهتر مواد غذایی و آب در شرایط تنش سبب بهبود رشد می‌شوند. البته این دو ترکیب بر رنگیزه‌های فتوسنتزی هم تأثیر مثبتی داشتند و از این طریق توانستند بر میزان رشد و بیوماس گیاهی تأثیر بگذارند. نویسندگان این مقاله معتقدند که چون دو تیمار آزمایشی از دو جهت مختلف برگ و ریشه بر گیاه اعمال می‌شوند سبب تأثیر بهتری می‌شود زیرا از سبب تقویت گیاه از دو جهت می‌شود و احتمالاً اثرات بهتری می‌گذارد. پیشنهاد می‌شود فاکتورهای بیش‌تری برای این دو تیمار در این گیاه موردبررسی قرار گیرد تا بتوان مکانیسم اصلی این قضیه را بهتر درک نمود که در پژوهش‌های بعدی ارائه خواهد شد.

تقدیر و تشکر

بدین‌وسیله نویسندگان از دانشگاه محقق اردبیلی که امکانات لازم برای انجام این پژوهش را فراهم کرد کمال تشکر و سپاس را دارند.

نشت غشا: مطابق نتایج جدول ۴ با افزایش غلظت سرب میزان نشت مواد محلول از غشای سلولی در گیاه گشنیز به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و بیش‌ترین میزان برای این صفت در گیاهان پرورش‌یافته در خاک حاوی ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب یافت شد که هیچ‌گونه تیمار مایه‌زنی با کودهای بیولوژیک و محلول‌پاشی با نانوذرات سیلیسیم را دریافت نکرده بودند که تفاوت معنی‌داری با گیاهان مایه‌زنی شده با باکتری جدایه ۱۹ و محلول‌پاشی شده با همان غلظت نانوذره سیلیسیم نداشتند (جدول ۴) و کم‌ترین میزان نشت مواد محلول از غشای سلولی (۳۰ درصد) در گیاهان پرورش‌یافته در خاک بدون آلودگی سرب و مایه‌زنی شده با باکتری جدایه ۶ و محلول‌پاشی با ۳ میلی‌مولار نانوذرات سیلیسیم حاصل شد که با گیاهان مایه‌زنی شده با قارچ میکوریز تحت تیمار محلول‌پاشی با همان غلظت از نانوذرات سیلیسیم تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۴). با بررسی اثر آلودگی سرب بر شاخص پایداری غشا در گیاه بامیه نتایج مشابهی به‌دست آمد (۵۳). احتمالاً سرب موجب اختلال در ساختار غشای سلولی و ناپایدار شدن غشای سلولی می‌شود و در نهایت به انتشار محتویات درون سلول به خارج آن منجر می‌شود (۱۰ و ۲۱)، بنابراین اختلال در غشای سلولی ممکن است به انتشار یون‌ها به بیرون سلول منجر شود (۵۱). در غلظت‌های بالای فلزات سنگین، میزان پراکسیداسیون و تجزیه لیپیدهای غشایی به‌خصوص غشای کلروپلاستی تحریک می‌شود (۲۲). کلسیم نیز نقش مهمی در نگهداری و عملکرد غشا، ایجاد پایداری در ساختار دیواره سلولی، تنظیم انتخابی یون‌ها و حمل آن‌ها، کنترل تبادلات یونی و نیز فعالیت آنزیم‌های دیواره سلولی دارد. کاهش مقدار کلسیم در گیاهانی مانند چاودار، آفتاب‌گردان، ذرت و گوجه‌فرنگی که تحت تنش سرب گزارش شده است که این قضیه ناشی از ممانعت از انتقال کلسیم توسط

داده‌ها و اطلاعات

داده‌ها و اطلاعات این مقاله از رساله دکتری نویسنده مسئول که در دانشگاه محقق اردبیلی در سال‌های ۱۳۹۴-۱۳۹۷ اجرا شده است استخراج گردیده است.

تعارض منافع

در این مقاله تعارض منافی وجود ندارد و این مسأله مورد تأیید همه نویسندگان است.

منابع

1. Adatia, M., and Besford, R. 1986. The effects of silicon on cucumber plants grown in recirculating nutrient solution. *Annals of Botany*. 58: 3. 343-351.
2. Adrees, M., Ali, S., Rizwan, M., Zia-ur-Rehman, M., Ibrahim, M., Abbas, F., Farid, M., Qayyum, M.F., and Irshad, M.K. 2015. Mechanisms of silicon-mediated alleviation of heavy metal toxicity in plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 119: 186-197.
3. Agarie, S. 1993. Effect of silicon on growth, dry matter production and photosynthesis in rice plants. *Crop Production Improvement Technology Asia*. Pp: 225-234.
4. Ahmad, E., Zaidi, A., Khan, M.S., and Oves, M. 2012. Heavy metal toxicity to symbiotic nitrogen-fixing microorganism and host legumes, Toxicity of heavy metals to legumes and bioremediation. Springer. Pp: 29-44.
5. Akinci, I.E., Akinci, S., and Yilmaz, K. 2010. Response of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) to lead toxicity: Growth, element uptake, chlorophyll and water content. *Afric. J. Agric. Res*. 5: 6. 416-423.
6. Alef, K. 1995. Field methods, *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry*. Elsevier, Pp: 463-490.
7. Almeida, A.A.F.d., Valle, R.R., Mielke, M.S., and Gomes, F.P. 2007. Tolerance and prospection of phytoremediator woody species of Cd, Pb, Cu and Cr. Brazil. *J. Plant Physiol*. 19: 2. 83-98.
8. Anderson, T.H., and Domsch, K. 1990. Application of eco-physiological quotients (qCO₂ and qD) on microbial biomasses from soils of different cropping histories. *Soil Biology and Biochemistry*. 22: 2. 251-255.
9. Andrade, S.A., Gratão, P.L., Schiavinato, M.A., Silveira, A.P., Azevedo, R.A., and Mazzafera, P. 2009. Zn uptake, physiological response and stress attenuation in mycorrhizal jack bean growing in soil with increasing Zn concentrations. *Chemosphere*. 75: 10. 1363-1370.
10. Azooz, M., Youssef, M., and Al-Omair, M. 2011. Comparative evaluation of zinc and lead and their synergistic effects on growth and some physiological responses of Hassawi okra (*Hibiscus esculentus*) seedlings. *Americ. J. Plant Physiol*. 6: 6. 269-282.
11. Bano, A., and Fatima, M. 2009. Salt tolerance in *Zea mays* (L.) following inoculation with *Rhizobium* and *Pseudomonas*. *Biology and Fertility of Soils*. 45: 4. 405-413.
12. Bates, L.S., Waldren, R.P., and Teare, I. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and soil*. 39: 1. 205-207.
13. Bolan, N., Kunhikrishnan, A., Thangarajan, R., Kumpiene, J., Park, J., Makino, T., Kirkham, M.B., and Scheckel, K. 2014. Remediation of heavy metal (loid) s contaminated soils— to mobilize or to immobilize? *J. Hazard. Mater*. 266: 141-166.
14. Cenkci, S.L., Cierci, I.H., Yildiz, M., Zay, C., Bozda, A., and Terzi, H. 2010. Lead contamination reduces chlorophyll biosynthesis and genomic template stability in *Brassica rapa* L. *Environmental and Experimental Botany*. 67: 3. 467-473.
15. Da Cunha, K.P.V., and do Nascimento, C.W.A. 2009. Silicon effects on metal tolerance and structural changes in maize (*Zea mays* L.) grown on a cadmium and zinc enriched soil. *Water, air and soil pollution*. 197: 1-4. 323.

16. Demir, S. 2005. Influence of arbuscular mycorrhiza on some physiological growth parameters of pepper. *Turk. J. Biol.* 28: 2-4. 85-90.
17. Dufey, I., Gheysens, S., Ingabire, A., Lutts, S., and Bertin, P. 2014. Silicon application in cultivated rices (*Oryza sativa* L and *Oryza glaberrima* Steud) alleviates iron toxicity symptoms through the reduction in iron concentration in the leaf tissue. *J. Agron. Crop Sci.* 200: 2. 132-142.
18. Estrella-Gómez, N., Mendoza-Cózatl, D., Moreno-Sánchez, R., González-Mendoza, D., Zapata-Pérez, O., Martínez-Hernández, A., and Santamaría, J.M. 2009. The Pb-hyperaccumulator aquatic fern *Salvinia minima* Baker, responds to Pb^{2+} by increasing phytochelatins via changes in SmPCS expression and in phytochelatin synthase activity. *Aquatic Toxicology.* 91: 4. 320-328.
19. Etesami, H. 2018. Bacterial mediated alleviation of heavy metal stress and decreased accumulation of metals in plant tissues: mechanisms and future prospects. *Ecotoxicology and environmental safety.* 147: 175-191.
20. Gao, X., Zou, C., Wang, L., and Zhang, F. 2006. Silicon decreases transpiration rate and conductance from stomata of maize plants. *J. Plant Nutr.* 29: 9. 1637-1647.
21. Gill, S.S., and Tuteja, N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant physiology and biochemistry.* 48: 12. 909-930.
22. Gravel, V., Antoun, H., and Tweddell, R.J. 2007. Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: possible role of indole acetic acid (IAA). *Soil Biology and Biochemistry.* 39: 8. 1968-1977.
23. Haghghi, M., and Pessarakli, M. 2013. Influence of silicon and nano-silicon on salinity tolerance of cherry tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.) at early growth stage. *Scientia Horticulturae.* 161: 111-117.
24. Han, Q.Q., Lü, X.P., Bai, J.P., Qiao, Y., Paré, P.W., Wang, S.-M., Zhang, J.L., Wu, Y.N., Pang, X.P., and Xu, W.B. 2014. Beneficial soil bacterium *Bacillus subtilis* (GB03) augments salt tolerance of white clover. *Frontiers in plant science.* 5: 1-8.
25. Heidari, M., and Golpayegani, A. 2012. Effects of water stress and inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on antioxidant status and photosynthetic pigments in basil (*Ocimum basilicum* L.). *J. Saudi Soc. Agric. Sci.* 11: 1. 57-61.
26. Irigoyen, J., Einerich, D., and Sánchez-Díaz, M. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa* L.) plants. *Physiologia plantarum.* 84: 1. 55-60.
27. Islam, E., Liu, D., Li, T., Yang, X., Jin, X., Mahmood, Q., Tian, S., and Li, J. 2008. Effect of Pb toxicity on leaf growth, physiology and ultrastructure in the two ecotypes of *Elsholtzia argyi*. *J. Hazard. Mater.* 154: 1-3. 914-926.
28. Khatib, M., Rashed, M., Ganjali, A., and Lahouti, M. 2008. The effects of different nickel concentrations on some morpho-physiological characteristics of parsley (*Petroselinum crispum*). 6: 2. 295-302.
29. Knasmüller, S., Gottmann, E., Steinkellner, H., Fomin, A., Pickl, C., Paschke, A., Göd, R., and Kundi, M. 1998. Detection of genotoxic effects of heavy metal contaminated soils with plant bioassays. *Mutation Research. Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis.* 420: 1-3. 37-48.
30. Kohli, S.K., Bali, S., Tejpal, R., Bhalla, V., Verma, V., Bhardwaj, R., Alqarawi, A.A., Abd_Allah, E.F., and Ahmad, P. 2019. In-situ localization and biochemical analysis of bio-molecules reveals Pb-stress amelioration in *Brassica juncea* L. by co-application of 24-Epibrassinolide and Salicylic Acid. *Scientific reports.* 9: 1. 3524.
31. Kormanik, P., and McGraw, A. 1982. Quantification of vesicular-arbuscular mycorrhizae in plant roots.

32. Lichtenthaler, H. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in enzymology*. 148: 350-382.
33. Liu, J., Zhang, H., Zhang, Y., and Chai, T. 2013. Silicon attenuates cadmium toxicity in *Solanum nigrum* L. by reducing cadmium uptake and oxidative stress. *Plant physiology and biochemistry*. 68: 1-7.
34. Mahohi, A.F., Raiesi, A.F., and Hosseinpur, A.R. 2018. Phytoremediation of Lead in the presence of individual and combined inoculation of earthworms, arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobacteria by maize. *J. Water Soil Cons.* 25: 2. 91-110. (In Persian)
35. Meriem, B.F., Kaouther, Z., Chérif, H., Tijani, M., and André, B. 2014. Effect of priming on growth, biochemical parameters and mineral composition of different cultivars of coriander (*Coriandrum sativum* L.) under salt stress. *J. Stress Physiol. Biochem.* 10: 3. 85-109.
36. Mohkami, Z., Bidarnamani, F., Ghafari Moghadam, Z., and Frozandeh, M. 2018. The effect of AFM fungi on lead and cadmium phytoremediation by Thyme (*Thymus daenensis* Celak.). *J. Water Soil Cons.* 25: 4. 225-242. (In Persian)
37. Munns, R., Husain, S., Rivelli A.R., James, R.A., Condon, A.G., Lindsay, M.P., Lagudah, E.S., Schachtman, D.P., and Hare, R.A. 2002. Avenues for increasing salt tolerance of crops and the role of physiologically based selection traits. *Plant and Soil*. 247: 93-105.
38. Nagajyoti, P., Lee, K., and Sreekanth, T. 2010. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. *Environmental chemistry letter*. 8: 3. 199-216.
39. Neffati, M., and Marzouk, B. 2010. Salinity impact on growth, essential oil content and composition of coriander (*Coriandrum sativum* L.) stems and leaves. *J. Essen. Oil Res.* 22: 1. 29-34.
40. Pacwa-Płociniczak, M., Czapla, J., Płociniczak, T., and Piotrowska-Seget, Z. 2019. The effect of bioaugmentation of petroleum-contaminated soil with *Rhodococcus erythropolis* strains on removal of petroleum from soil. *Ecotoxicology and environmental safety*. 169: 615-622.
41. Parsa, D.F., Bahreyani, N.B., Safari, S.A., and Kaboli, M. 2007. Phytoremediation of lead with native rangeland plants in Irankoh polluted soils. Pp: 54-63.
42. Prabagar, S., Hodson, M.J., and Evans, D.E. 2011. Silicon amelioration of aluminium toxicity and cell death in suspension cultures of Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.). *Environmental and Experimental Botany*. 70: 2-3. 266-276.
43. Prasad, K., Saradhi, P.P., and Sharmila, P. 1999. Concerted action of antioxidant enzymes and curtailed growth under zinc toxicity in Brassica juncea. *Environmental and experimental Botany*. 42: 1. 1-10.
44. Redmann, R., Haraldson, J., and Gusta, L. 1986. Leakage of UV-absorbing substances as a measure of salt injury in leaf tissue of woody species. *Physiologia Plantarum*. 67: 1. 87-91.
45. Romero, S.I., Piola, A.R., Charo, M., and Garcia, C.A.E. 2006. Chlorophyll-a variability off Patagonia based on SeaWiFS data. *J. Geophysic. Res. Ocean.* 111p.
46. Sadaghiani, M., Barin, M., and Jalili, F. 2009. The effect of PGPR inoculation on the growth of wheat.
47. Sessitsch, A., Kuffner, M., Kidd, P., Vangronsveld, J., Wenzel, W.W., Fallmann, K., and Puschenreiter, M. 2013. The role of plant-associated bacteria in themobilization and phytoextraction of trace elements in contaminated soils. *Soil Biology and Biochemistry*. 60: 182-194.
48. Sharma, P., and Dubey, R.S. 2005. Lead toxicity in plants. *Brazil. J. Plant Physiol.* 17: 1. 35-52.
49. Shen, X., Xiao, X., Dong, Z., and Chen, Y. 2014. Silicon effects on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of peanut under aluminum stress. *Acta Physiologiae Plantarum*. 36: 11. 3063-3069.

50. Shi, G., Cai, Q., Liu, C., and Wu, L. 2010. Silicon alleviates cadmium toxicity in peanut plants in relation to cadmium distribution and stimulation of antioxidative enzymes. *Plant Growth Regulation*. 61: 1. 45-52.
51. Singh, R., Tripathi, R.D., Dwivedi, S., Kumar, A., Trivedi, P.K., and Chakrabarty, D. 2010. Lead bioaccumulation potential of an aquatic macrophyte *Najas indica* are related to antioxidant system. *Bioresource Technology*. 101: 9. 3025-3032.
52. Sinha, P., Dube, B.K., Srivastava, P., and Chatterjee, C. 2006. Alteration in uptake and translocation of essential nutrients in cabbage by excess lead. *Chemosphere*. 65: 4. 651-656.
53. Sudhakar, C., Lakshmi, A., and Giridarakumar, S. 2001. Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. *Plant Science*. 161: 3. 613-619.
54. Ullah, A., Mushtaq, H., Ali, H., Munis, M.F.H., Javed, M.T., and Chaudhary, H.J. 2015. Diazotrophs-assisted phytoremediation of heavy metals: a novel approach. *Environmental Science and Pollution Research*. 22: 4. 2505-2514.
55. Verma, S., and Dubey, R.S. 2001. Effect of Cd on soluble sugars and enzymes of their metabolism in rice. *Biologia plantarum*. 44: 1. 117-123.
56. Wani, P.A., Khan, M.S., and Zaidi, A. 2008. Chromium-reducing and plant growth-promoting Mesorhizobium improves chickpea growth in chromium-amended soil. *Biotechnology letters*. 30: 1. 159-163.
57. White, P.J., and Broadley, M.R. 2003. Calcium in plants. Pp: 487-511.
58. Ye, J., Yan, C., Liu, J., Lu, H., Liu, T., and Song, Z. 2012. Effects of silicon on the distribution of cadmium compartmentation in root tips of *Kandelia obovata* (S., L.) Yong. *Environmental Pollution*. 162: 369-373.
59. Zahir, Z.A., Arshad, M., and Frankenberger, W.T. 2004. Plant growth promoting rhizobacteria: applications and perspectives in agriculture. *Advances in Agronomy*. 81: 1. 98-169.
60. Zhang, H.H., Tang, M., Chen, H., Zheng, C.L., and Niu, Z.C. 2010. Effect of inoculation with AM fungi on lead uptake, translocation and stress alleviation of *Zea mays* L. seedlings planting in soil with increasing lead concentrations. *Europ. J. Soil Biol.* 46: 5. 306-311



Effect of Simultaneous Biological and Foliar Treatments with Silicon on Growth, Morphological and Physiological Traits of Coriander under Pb Stress

*H. Fatemi¹, B. Esmailpour¹ and A.A. Soltani²

¹Dept. of Horticulture, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran,

²Dept. of Soil Science and Engineering, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

Received: 02.25.2020; Accepted: 04.28.2020

Abstract

Background and Objectives: One of the major environmental problems is heavy metal contamination of agricultural soils, especially in developing countries. The transfer of pollutants to human via plants endangers people health in community. Lead (Pb) with higher shelf life toxicity in soil has a more devastating decrease on the biological activities in soils. Simultaneous application of silicon and biological treatments under heavy metal stresses rarely investigated before. In this study, it was tried to evaluate the feasibility of their simultaneous use on the properties of coriander.

Materials and Methods: This factorial experiment was conducted in a completely randomized design with four levels of Pb stress (0, 500, 1000 and 1500 mg.Kg), four levels of biological treatments (Without bacteria, strains 6, 19 bacteria and mycorrhizal fungi *Glomus mosea*) and three levels of silicon nano particles (0, 1.5 and 3 mM) on coriander plants. At the end of the experiment, traits including plant height, root and shoot weight, root length, leaf area, leaf dry weight, photosynthesis pigment (Chlorophyll a, b and total, carotenoid), electro leakage, proline, and carbohydrate were measured in *coriandrum sativum*. Also, basal and induced respiratory and percentage of mychorizha colonization in soil were measured.

Results: The results of this study showed that both mycorrhizae symbiosis and bacterial isolates inoculation were acceptable population even at high intensities, such that high amount of Pb decreased population. Simultaneous application of Silicon nanoparticles and biological treatments showed desirable results in most of the studied traits. Morphological traits including fresh and dry weight of plant, leaf area, chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll and carotenoid under both experimental treatments were partially offset by Pb treatment. The amount of electro leakage and proline under Pb stress, especially at high concentrations, was significantly increased, but the combination of silicon nano particles and biological treatments decreased this treatments significantly. Also, Pb increased the carbohydrate content of coriander plants, and the interesting thing was that it increased as a result of their simultaneous application of silicon nano particles and biological treatments. It seems that the biological treatments in this study improved the growth of *Coriandrum sativum* under Pb contamination by affecting the root system and subsequently the effect on photosynthetic pigments.

Conclusion: In general, Pb, especially at high concentrations, caused significant deficiency in measured traits in Coriander. In this study, mycorrhizal and isolates 6 showed better results in most morphological and physiological conditions, although at lower concentrations of Pb in

* Corresponding Author; Email: ha.fatemi@yahoo.com

some isolates 19 also showed good results. Combining the microorganism treatment with 3 mM silicon nanoparticles caused better results in these traits. Simultaneous application of biological treatments and silicon in coriander is recommended for their individual application, although their mechanism has not been elucidated and needs further study.

Keywords: Basal respiration, Induced respiration, Morphological traits, PGPR, Silicon

