گل و گیاهان زینتی (۱۴۰۴)، ۱۰(۲): ۲۳۱-۲۴۶
مقاله پژوهشی

اثر باکتری‌های محرک رشد بر ویژگی های مورفوفیزیولوژیک کلم زینتی (*Brassica oleraceae* L. ‘Kamum’) در شرایط تنش سرب

زمریالی تنی، میترا اعلایی*، سید نجم الدین مرتضوی، مسعود ارغوانی، فهیمه صالحی

گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان

maelaei@znu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۵/۲، تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۵/۲، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۵/۴

چکیده

کلم زینتی با نام علمی *Brassica oleraceae* L. از تیره Brassicaceae می‌باشد. فلزات سنگین از جمله سرب به عنوان مهم‌ترین آلاینده‌های خاک به دلیل تجزیه نشدن و نیمه عمر طولانی آن‌ها مورد توجه قرار گرفته‌اند. در این بین، باکتری‌ها به عنوان عاملی برای رویارویی با این تنش‌ها، یکی از گزینه‌های مهم هستند. در نتیجه، این مطالعه به بررسی اثر باکتری‌های محرک رشد *Bacillus subtilis* و *Pseudomonas putida* بر کاهش تاثیر تنش سرب بر ویژگی های مورفوفیزیولوژیک کلم زینتی رقم Kamum پرداخت. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح به طور کامل تصادفی، که شامل فاکتور اول تنش سرب در دو سطح (۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر) به همراه بدون تنش سرب و فاکتور دوم بدون مایه زنی (شاهد)، مایه زنی با باکتری *Bacillus subtilis* و مایه زنی با باکتری *Pseudomonas putida* با غلظت 10^8 cfu/ml در چهار تکرار در گلخانه دانشکده کشاورزی زنجان انجام گرفت. ویژگی های مورفوفیزیولوژیک شامل: تعداد برگ، سطح برگ، طول ریشه، وزن تر و خشک ریشه، سبزینه a و b، کاروتنوئید، نشت یونی، مالون دی آلدهید، فنل کل و میزان سرب برگ اندازه‌گیری شد. نتایج پژوهش نشان داد که اثر اصلی تنش سرب و باکتری بر تمامی ویژگی ها معنی‌دار شد. برهمکنش باکتری در برابر تنش سرب نیز در برخی ویژگی ها مانند میزان فنل، تعداد و سطح برگ، وزن تر و خشک ریشه و طول ریشه معنی‌دار شد. براساس نتایج مقایسه میانگین‌ها تیمار سرب، وزن تر و خشک ریشه، طول ریشه، میزان کاروتنوئید و سبزینه را کاهش و فنل را افزایش داد. از سویی دیده شد که کاربرد باکتری *Pseudomonas* در شرایط نبود سرب سبب بهبود شاخص‌های رشدی از جمله تعداد و سطح برگ، وزن تر و خشک ریشه و طول ریشه گیاه شد. تیمار *Pseudomonas* موجب افزایش سبزینه، کاروتنوئید و فسفر و کاهش میزان نشت یونی، مالون‌دی‌آلدهید و سرب در شرایط تنش در مقایسه با شاهد شد. از آن‌جایی که تنش با فلزات سنگین باعث اختلالات مهمی در گیاهان می‌شود، بنابراین شناخت ویژگی‌هایی که تحت تاثیر این گونه تنش‌ها قرار می‌گیرند و راه‌های رویارویی با آن‌ها لازم و ضروری است. نتایج پژوهش نشان داد که تنش سرب و باکتری تأثیر قابل‌توجهی بر تمامی ویژگی های مورد بررسی دارد. برهمکنش باکتری در برابر تنش سرب نیز بر برخی ویژگی ها مانند میزان فنل، تعداد و سطح برگ، وزن تر و خشک ریشه و طول ریشه تأثیرگذار بود. از سوی دیگر، استفاده از باکتری *Pseudomonas* در شرایط تنش سرب باعث افزایش سبزینه، کاروتنوئید و فسفر و کاهش میزان نشت یونی، مالون‌دی‌آلدهید و سرب نسبت به شاهد شد. به‌طور کلی، نتایج این پژوهش نشان‌دهنده اهمیت استفاده از باکتری‌های مفید مانند *Pseudomonas* در بهبود رشد گیاهان تحت شرایط تنش سرب است و می‌تواند به‌عنوان یک راهکار مؤثر در کشاورزی پایدار و در فرآیند گیاه‌پالایی مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: باکتری محرک رشد، سرب، سطح برگ، سبزینه، گیاه‌پالایی.

مقدمه

در سال‌های اخیر افزایش بی‌رویه مصرف کودهای شیمیایی، برای تولید محصولات کشاورزی، سلامت خاک، هوا و همچنین محصولات تولیدی را به خطر انداخته و نگرانی‌های روز افزونی را برای محیط زیست جهانی و سلامت بشر به وجود آورده است. در همین راستا بحث کشاورزی ارگانیک و توسعه کشاورزی پایدار، برای رویارویی با مشکلات یاد شده، در سراسر جهان مطرح شده و اهمیّت بالایی پیدا کرده است (Javanmardi, 2010). از طرفی آلودگی با فلزات و مواد غیرزیستی یک مشکل زیست محیطی به صورت جهانی است. از جمله این فلزات سنگین می‌توان به سرب اشاره نمود که در چند دهه اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته است. این عنصر، فلزی نرم، به رنگ سفید مایل به آبی می‌باشد که فوق العاده سمی است و در عین حال می‌تواند در گیاهان انباشته شود و بیشترین عوارض را بر سلامت انسان دارد (Bradl *et al.*, 2005). براساس بررسی‌های صورت گرفته، فاضلاب‌ها و پساب‌های صنعتی کارخانه‌ی سرب و روی در استان زنجان یکی از مهم‌ترین منابع اصلی در تولید فلزات سنگین به عنوان آلاینده‌های آب و خاک می‌باشند (Golchin *et al.*, 2005). سمیت سرب در گیاهان باعث بروز تغییر در شاخص‌های فیزیولوژیک رشد، کاهش زیست توده بخش هوایی و ریشه، کاهش زیست ساخت سبزینه، ایجاد کمپلکس با پروتئین و تجزیه سبزینه می گردد (Sofy *et al.*, 2020). در سال‌های اخیر مطالعات مختلفی در زمینه افزایش مقاومت گیاهان در برابر سمیت فلزات سنگین انجام شده است که از آن جمله، کاربرد روش‌های مدیریت تغذیه‌ای، قارچ‌ها و باکتری‌های محرک رشد گیاه و نیز استفاده از اسیدهای آمینه به عنوان محرک‌های زیستی است (Mosavi *et al.*, 2018). این روش‌ها می‌توانند رشد گیاه را تقویت کرده و مقاومت آن را در برابر ناملایمات محیطی بهبود بخشند (*Shafie et al.,* 2021). از طرفی برای مقابله با عناصر سنگین از روش‌های بیولوژیک همانند گیاه‌پالایی استفاده می‌شود که یک فن‌آوری سازگار و مقرون به صرفه می‌باشد و در سطح جهانی، توجهات را به خود جلب کرده است (Glick, 2010). گیاهانی که به منظور گیاه پالایی کشت می‌شوند تا صد برابر بیشتر از گیاهان معمولی فلزات سنگین را جذب می‌کنند و مسیر جذب و انتقال از ریشه به ساقه را با قدرت و سرعتی بالاتر می‌توانند انجام دهند (Verbruggen *et al.*, 2009). گیاهان زینتی معمولاً برای اهداف تزئینی در باغ و طراحی فضای سبز پرورش داده می‌شوند. این گیاهان علاوه بر نقش زیبایی محیط پیرامون، به منظور تعدیل آلودگی محیط زیست و پاکسازی مناطق تحت تاثیر فلزات سنگین کاربرد دارند (Blaster *et al.*, 2000). کلم زینتی با نام علمی *Brassica oleraceae* L. از تیره شب بو به خاطر برگ‌های رنگی و زیبایی که دارد به عنوان یکی از گیاهان باغچه‌ای در فضای سبز کاربرد دارد. این گیاه یک گیاه دو ساله می‌باشد ولی بیشتر به عنوان یک گیاه یک ساله استفاده می‌شود (Cheheltanan & Khosravi, 2014). در ایران طی سالیان اخیرکلم زینتی به دلیل داشتن اندام‌های هوایی بادوام و مقاومت بالا به شرایط بد محیطی به ویژه سرما به منزله یک گیاه زینتی در فضای سبز بیشتر شهرها مورد توجه زیادی قرار گرفته است (Taghizadeh & Solgi, 2014). در راستای گیاه پالایی اخیراً به منظور بهبود کارایی گیاهان، از ریز جانداران ریزوسفری مانند ریزوباکتری‌های آزادزی و یا همزیست، به منظور کاهش اثرات زیانبار فلزات سنگین جذب شده از محیط رشدی گیاه استفاده می‌شود (Belimov *et al*, 2005). محققان معتقدند که این باکتری‌های محرک رشد، می‌توانند گزینه‌ی مناسبی برای حذف بیولوژیک فلزات سنگین باشند (Kapila *et al.*, 2006). همچنین این باکتری‌ها می‌توانند حاصلخیزی و کیفیت خاک را از طریق مکانیسم‌های مستقیم و غیر مستقیم، مانند تثبیت نیتروژن بیولوژیکی، انحلال فسفات و پتاسیم بهبود بخشند (Zafar-ul-Hy *et al.*, 2019; Adoko *et al.*, 2021). طی گزارش ارائه شده در راستای کاربرد باکتری‌های محرک رشد، افزایش مقاومت گیاهان در برابر انواع تنش‌های زیستی و غیر زیستی عنوان گردید (Han *et al.*, 2022). باکتری‌های *Pseudomonas* و *Bacillus* به دلیل داشتن خصوصیاتی همچون تنوع کاتابولیکی، توانایی بالا در کلونیزاسیون ریشه و قابلیت آن‌ها در تولید محدوده‌ی وسیعی از آنزیم‌ها از جمله آنزیم ACC–دآمیناز، سیدروفورها، اسید ایندول استیک و مواد متابولیک از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند و از این نظر جزء

مهم‌ترین و پرشمارترین اعضای جمعیت باکتریایی ریزوسفر محسوب می‌شوند (Abd El-Mageed *et al*., 2022. Glick *et al*, 2010). طی آزمایش‌های صورت گرفته بر روی گیاهان مختلف، تحت تاثیر باکتری‌های *Pseudomonas* و *Bacillus*، گیاه در برابر اثرات بازدارندگی فلز سنگین کروم (Cr) مقاومت نشان داد که ب دلیل آن را می‌توان تولید ایندول استیک اسید، تولید سیدروفور و محلول کردن فسفات توسط این باکتری‌ها و در نهایت بهبود جذب مواد مغذی و افزایش زیست توده گیاهی دانست (Ullah *et al*., 2015). از آن‌جایی که یکی از عوامل محدودکننده توسعه فضای سبز شهری وجود تنش‌های مختلف از جمله تنش فلزهای سنگین بخصوص در شهر زنجان با وجود کارخانه سرب می‌باشد و گیاه کلم زینتی در برابر شرایط و تنش‌های مختلف، گیاهی مقاوم می‌باشد، در نتیجه در این راستا این پژوهش به منظور بررسی ویژگی های مورفوفیزیولوژیک گیاه کلم زینتی تحت تاثیر باکتری‌های محرک رشد در شرایط آلودگی سرب اجرا شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به منظور مطالعه تأثیر باکتری‌های محرک رشد بر ویژگی های رویشی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی کلم زینتی رقم پیچ‌دار Kamom تحت تیمار سرب از منبع نیترات سرب[۱] به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در گلخانه قله‌ای (شیروانی) پژوهشی گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان در پاییز ۱۳۹۹ا نجام شد. فاکتور اول شامل دو غلظت سرب (۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) و عدم تنش سرب و فاکتور دوم شامل باکتری‌های محرک رشد بدون مایه زنی (شاهد)، مایه زنی با باکتری *Bacillus subtilis* و مایه زنی با باکتری *Pseudomonas putida* با غلظت cfu/ml 10^8 در چهار تکرار بود. از ترکیب خاک، کوکوپیت، پرلیت به نسبت یکسان به منظور کشت بذر در سینی‌های کشت استفاده شد. آبیاری سینی‌های کشت روزی یک بار در شرایط محیطی تهویه مناسب، دمای ۳۵ درجه سلسیوس و بیشترین شرایط آفتابی برای نشاها صورت گرفت. شرایط محیطی مناسب جهت جوانه‌زنی و رشد و نمو این گیاه شامل تهویه مناسب، دمای بین ۲۰-۱۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی بالا و نور کامل حدود شش تا هشت ساعت می‌باشد. پس از ظهور برگ‌های سوم و چهارم، دانهال‌ها در خاک باغچه، خاک برگ و کود دامی (به نسبت‌های مساوی) درون گلدان‌هایی با قطر ۱۵ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۳ سانتی‌متر مستقر شدند. قبل از اعمال تیمار، خاک گلدان تجزیه و آنالیز شد (جدول ۱). چهار هفته بعد از استقرار، به منظور اعمال تیمار در این مرحله با استفاده از نیترات سرب و آب مقطر محلول‌های یک لیتری با غلظت‌های صفر، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتراز سرب تهیه گردید. آلوده‌سازی خاک به طور مصنوعی از طریق اسپری کردن با استفاده از این محلول‌های ساخته شده، انجام شد. همچنین برای یکسان‌سازی میزان نیترات در غلظت‌های مختلف سرب، از محلول ساخته شده از نمک نیترات پتاسیم استفاده شد که بعد از آلوده‌سازی به خاک اضافه شد. لازم به ذکر است با توجه به این که نمک به کار برده شده برای ایجاد آلودگی دارای بنیان نیترات بود، جهت ایجاد دقیق غلظت‌های مورد نیاز از سرب، محاسبات لازم انجام شد و میزان نیترات سرب استفاده شده به گونه‌ای بود که غلظت خالصی از سرب در هر سطح افزوده شود (Kolahkaj *et al.,* 2017). با گذشت سه هفته از رشد کلم زینتی و اعمال تیمار سربی، تیمار دوم که شامل استفاده از باکتری‌های محرک رشد می‌باشد به خاک گلدان‌ها اضافه شدند. آبیاری در هر نوبت با دقت و به منظور عدم آبشویی سرب در حد ظرفیت مزرعه‌ای صورت گرفت. در واقع ابتدا ظرفیت زراعی خاک گلدان اندازه‌گیری شد (Alizadeh, 2008) و سپس براساس این میزان، آبیاری انجام گردید. بعد از سه هفته، ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک گیاه شامل تعداد برگ، سطح برگ، طول ریشه، وزن تر و خشک ریشه، سبزینه a و b، کاروتنوئید، نشت یونی، مالون دی آلدهید، فنل کل و میزان سرب اندازه‌گیری شد. در طول دوره‌ی رشدی تعداد برگ شمارش شد. به منظور اندازه‌گیری سطح برگ، پنج برگ از قسمت‌های مختلف گیاه به صورت تصادفی انتخاب شد و سپس با کمک اسکنر برگ‌ها را اسکن و با نرم افزار Digimizer سطح برگ محاسبه و میانگین‌گیری شد. بعد از جدا کردن تمامی برگ‌ها و

۱- $Pb(NO_3)_2$

اندام هوایی گیاه، ریشه آن به کمک خط‌کش از قسمت طوقه تا انتهای بلندترین انشعاب ریشه برحسب سانتی‌متر اندازه‌گیری شد. ریشه‌های هر بوته به طور مجزا کامل شسته و وزن تر آن‌ها با کمک ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. سپس ریشه‌ها را به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۵۰ درجه سلسیوس در آون خشک و وزن خشک آن‌ها محاسبه شد. میزان فسفر در برگ به روش اسپکتروفتومتری (Chapman & Part, 1961) اندازه‌گیری شد.

جدول ۱- **نتایج تجزیه خاک گلدان‌های مورد استفاده در آزمایش پیش از تیمارها.**

Table 1- Result of the pots' soil analysis used in the experiment before treatments.

رس Clay (%)	سیلت Silt (%)	شن Sand (%)	پتاسیم K (ppm)	فسفر P (ppm)	نیتروژن N (%)	کربن آلی OC (%)	شاخص واکنش pH	هدایت الکتریکی EC ($ds.m^{-1}$)
12	21	39	11	10.7	0.19	1.6	7.1	1.12

شکل ۱- کلم‌های زینتی در گلخانه پژوهشی گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان.

Figure 1. Ornamental cabbages in the research greenhouse of the Horticultural Science Department, Faculty of Agriculture, Zanjan University.

سبزینه و کاروتنوئید

اندازه‌گیری میزان سبزینه با استفاده از روش Arnon (1949) در طول موج۶۶۳ و ۶۴۵ انجام شد. سپس با استفاده از روابط زیر میزان سبزینه a و b محاسبه شد.

رابطه ۱ $[(12.7 \times A633) - (2.69 \times A645)] \times V / 1000 \times W$ = میلی‌گرم کلرفیل a در هر گرم برگ‌تر

رابطه ۲ $[(22.9 \times A645) - (4.69 \times A663)] \times V / 1000 \times W$ = میلی‌گرم کلرفیل b در هر گرم برگ‌تر

در روابط بالا A برابر میزان جذب در طول موج مورد نظر، V حجم نهایی استون ۸۰ درصد بر حسب میلی‌لیتر، W اندازه برگ تازه بر حسب گرم می‌باشد.

فنل کل

برای اندازه‌گیری فنل کل، ابتدا ۰/۱ گرم از بافت تازه برگ را در ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد ساییده و به مدت ۷۲ ساعت در تاریکی نگه‌داری شد. سپس ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی و۱ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد اضافه و با آب مقطر به حجم ۵ میلی لیتر رسانده شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر معرف فولین سیو-کالتیو ۵۰ درصد و ۱ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۵ درصد به آن اضافه شد و مخلوط حاصل به مدت ۱ ساعت در تاریکی نگه‌داری و جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۰ نانومتر خوانده و در نهایت با استفاده از منحنی استاندارد غلظت‌های مختلف اسید گالیک برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر تعیین شد (Marinova *et al.*, 2005).

نشت یونی و مالون دی آلدهید

برای اندازه‌گیری پایداری غشا، میزان نشت یونی برگ‌ها از روش (Ben Hamed *et al*., 2007) و برای اندازه‌گیری مالون دی‌آلدهید (MDA) از روش Heath و Packer (۱۹۶۹) استفاده شد.

رابطه ۳ درصد نشت یونی =Ec1 / Ec2 ×۱۰۰

میزان سرب در برگ

برای تعیین غلظت سرب برگ، در ابتدا نمونه‌های خشک شده‌ی برگ‌ها به روش اسیدی هضم شدند، طوری‌که به ۰/۵ گرم نمونه خشک گیاهی پودر شده، ۶ میلی‌لیتر اسید سولفوریک (H_2SO_4) غلیظ اضافه شد و ۵ دقیقه در دستگاه Digesdahl (Hach Co, USA) در دمای ۴۴۰ درجه‌ی سلسیوس قرار گرفت. سپس سه میلی‌لیتر آب اکسیژنه (H_2O_2) ۳۰ درصد به آن اضافه و سه دقیقه حرارت داده شد. نمونه‌ها از کاغذ صافی واتمن ۴۲ عبور داده شدند و با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. در نهایت، غلظت سرب نمونه‌های گیاهی با استفاده از دستگاه جذب اتمی مدل (AA-670) قرائت گردید (Pitche and Bradway, 2008).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های حاصل از این پژوهش به کمک روش تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1.4 انجام شد و جهت مقایسه میانگین‌ها، آزمون چنددامنه‌ای دانکن با نرم‌افزار MSTAT- C در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد مورد استفاده قرار گرفت . رسم نمودار به کمک نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

تعداد برگ و سطح برگ

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات اصلی سرب، باکتری و برهمکنش سرب در باکتری بر صفت تعداد برگ‌های هر بوته و سطح برگ در سطح احتمال یک و پنج درصد معنی‌دار شد (جدول۱). نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل سرب در باکتری نشان داد که بیشترین تعداد برگ در بوته و سطح برگ با میانگین ۱۰۹/۱۴ برگ و ۴۲/۹ سانتی‌متر، مربوط به تیمار عدم مصرف سرب و کاربرد باکتری *Pseudomonas* بود که نسبت به تیمار ۵۰ میلی‌گرم بر لیترسرب و عدم تلقیح باکتری به ترتیب به میزان ۷۳٪/۷۱٪ و ۸۸/۱۶٪ افزایش در تعداد و سطح برگ مشاهده شد (شکل ۲). از آن‌جایی که سرب یک فلز سنگین می‌باشد و منجر به کاهش رشد در گیاهان می‌شود این امر انتظار می‌رود که با افزایش این فلز سنگین در محیط، میزان رشد محدود شده و تعداد برگ‌های گیاه کلم زینتی را نیز تحت تاثیر قرار دهد. اما در این بین مصرف باکتری‌های محرک رشد موجب تعدیل این اثرات سمی می‌شود. دلیل خطرآفرین بودن فلزات سنگین این است که وجود مقادیر زیاد آن در خاک باعث تخریب ساختمان خاک، کاهش عملکرد گیاه، افت کیفیت محصولات و افزایش غلظت آن‌ها در محصولات کشاورزی می‌شود (Landi *et al*., 2000). باکتری‌ها سبب افزایش تولید موادی با خاصیت بازدارندگی در مقابل اثرات فلزات سنگین در گیاهان می‌شوند (Li *et al*., 2007). در واقع با تأثیر مستقیم در تثبیت زیستی نیتروژن و افزایش قابلیت دسترسی عناصر مختلف برای گیاه باعث افزایش رشد گیاه می‌شوند. پژوهش های متعدد نشان داده است که باکتری‌های محرک رشد از طریق تأثیر بر جذب عناصر غذایی پرمصرف مانند نیتروژن، فسفر و پتاسیم و از طرف دیگری از طریق تولید هورمون های محرک رشد گیاه مانند جیبرلین (تاثیر در رشد طولی سلول ها، به ویژه میان گره های ساقه)، اکسین و سیتوکینین (تأثیر در تقسیم سلولی) سبب افزایش ویژگی های رویشی گیاه مانند تعداد و سطح برگ می‌شوند (Kungu *et al*., 2008).

طول ریشه، وزن تر و خشک ریشه

نتایج ارائه شده در جدول ۱ نشان داد که اثر اصلی و متقابل سرب و باکتری بر طول ریشه، وزن تر و خشک ریشه‌ی گیاه کلم زینتی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. به طوری که در اثر کاربرد سرب در محیط رشد این گیاه، کاهش در این ویژگی

ها مشاهده شد. به عبارتی وزن تر و خشک یگ گیاه نماد عملکرد رشد گیاه است و هر عاملی که به نوعی اثر مهاری بر رشد داشته باشد باعث کاهش وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی گیاه می‌شود (Sundramoorthy *et al*., 2010). فلزات سنگین نیز با اثر بر روی رشد و فتوسنتز به طور غیر مستقیم رشد گیاه را تحت تاثیر قرار می‌دهند (Shanker *et al*., 2005). طی کاربرد باکتری این کاهش تعدیل یافت. بیشترین وزن خشک و تر ریشه و همین‌طور طول ریشه به ترتیب با میانگین ۳/۴۸ و ۱۰/۵۳ گرم در بوته و ۲۱/۷۵ میلی‌متر مربوط به عدم مصرف سرب و کاربرد باکتری *Pseudomonas* مشاهده شد که به ترتیب افزایش ۵۷/۱۸٪، ۶۶/۸۷٪ و ۸۵/۱۰٪ نسبت به تیمار ۵۰ پی‌پی ام سرب و عدم مصرف باکتری نشان داد (شکل ۳). طبق بررسی‌های صورت گرفته این احتمال وجود دارد که تلقیح گیاهان با باکتری‌های محرک رشد، به واسطه تولید آنزیم ACC – دآمیناز، سبب کاهش در سطح اتیلن در گیاه شود و در نتیجه موجب افزایش وزن تر و خشک ریشه گردد. همچنین باکتری‌ها با تولید اکسین، متابولیت‌های اولیه و ثانویه و افزایش تولید ترکیبات محرک رشد ریشه می‌توانند موجب افزایش طول و وزن تر و خشک ریشه شوند (Rajkumar *et al*., 2008 a). باکتری‌های محرک رشد با توانایی تثبیت نیتروژن و تولید اکسین، می‌توانند فلزات سنگین را غیر متحرک کرده و رشد ریشه را افزایش دهند و همین‌طور جذب عناصر غذایی را توسط گیاهان در حضور غلظت‌های سمی این گونه فلزات افزایش دهند (Belimov & Dietz, 2000). در مطالعه‌ای گزارش شد که وزن خشک ریشه گیاه کرچک در یک خاک آلوده به نیکل، مس و روی در حضور سویه‌ی باکتریایی *Pseudomonas sp.* افزایش یافت (Rajkumar *et al*., 2011 b). همچنین طی آزمایشی گزارش شد که تلقیح باکتری‌های محرک رشد در محیط رشد گیاه کلم موجب تحریک رشد ریشه و افزایش وزن تر وخشک ریشه و افزایش جذب عناصر غذایی در خاک آلوده به کادمیوم شد (Belimov *et al*., 2002). در پژوهشی نیز گزارش شد که تلقیح سویه *P. myrsinacearum* RC6b در گل ناز باعث افزایش معنی‌دار ۲۲ درصدی وزن خشک ریشه در این گیاه شد (Ma *et al*., 2013).

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر سرب و باکتری‌های محرک رشد بر برخی ویژگی های مورفوفیزیولوژیک کلم زینتی.

Table 3- Analysis of variance of the effect of lead and growth-promoting bacteria on some morphophysiological traits of ornamental cabbage.

		میانگین مربعات Mean Squares						
منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	سطح برگ Leaf area	تعداد برگ Leaf number	طول ریشه Root length	وزن تر ریشه Root fresh weight	وزن خشک ریشه Root dry weight	کارتنوئید Carotenoid	کلروفیل کل Total Chlorophyll
سرب Lead	2	465.44**	2852.80**	147.19**	86.37**	7.95**	0.33**	0.92**
باکتری Bacteria	2	65.03**	272.79**	42.52**	9.82**	1.38**	0.05**	0.09**
سرب × باکتری Lead× Bacteria	4	16.44*	73.65*	3.69**	2.85**	0.59**	0.001ns	0.006ns
خطا Error	27	4.24	19.59	0.59	0.30	0.08	0.002	0.004
ضریب تغییرات CV%	-	6.20	4.6	4.13	7.29	10.41	10.05	8.42

**،* و ns: به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و عدم معنی‌داری.

** ,*, ns: Significantly at at $p \leq 0.01$ and $p \leq 0.05$, non-significant, respectively.

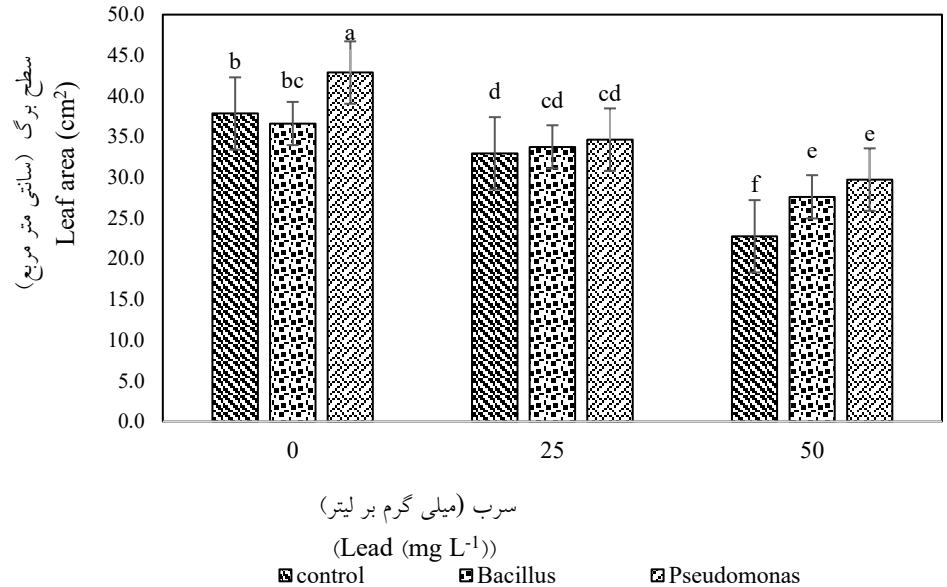
جدول ۳- **تجزیه واریانس اثر سرب و باکتری‌های محرک رشد بر برخی ویژگی های فیزیولوژیک کلم زینتی.**

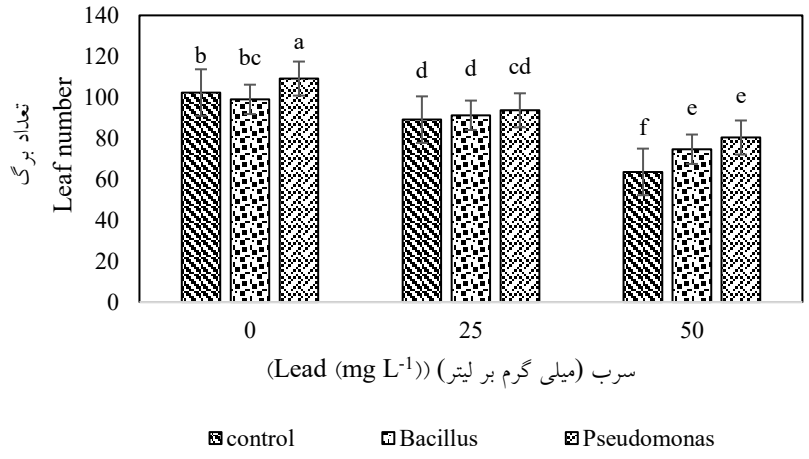
Table 3- Analysis of variance of the effect of lead and growth-promoting bacteria on some physiological traits of ornamental cabbage.

منابع تغییرات S.O.V	df	میانگین مربعات Mean Squares						
		سبزینه a Chlorophyll a	سبزینه b Chlorophyll b	فنل کل Total phenol	درصد نشت یونی EC	مالون دی آلدهید MDA	سرب Pb	فسفر برگ P
سرب Lead	2	0.80**	0.05**	0.001**	2899/99**	0.09**	505.01**	0.071**
باکتری Bacteria	2	0.05**	0.009**	0.0003**	140.13**	0.02**	47.85**	0.046**
سرب×باکتری Lead×Bacteria	4	0.003ns	0.0003ns	0.0002**	6.41ns	0.002ns	0.72ns	0.0003ns
خطا Error	27	0.002	0.0005	0.0002	18.24	0.002	1.97	0.00084
ضریب تغییرات CV%	-	8.39	8.62	10.50	9.89	13.66	12.31	5.55

**،* و ns: به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و عدم معنی‌داری.

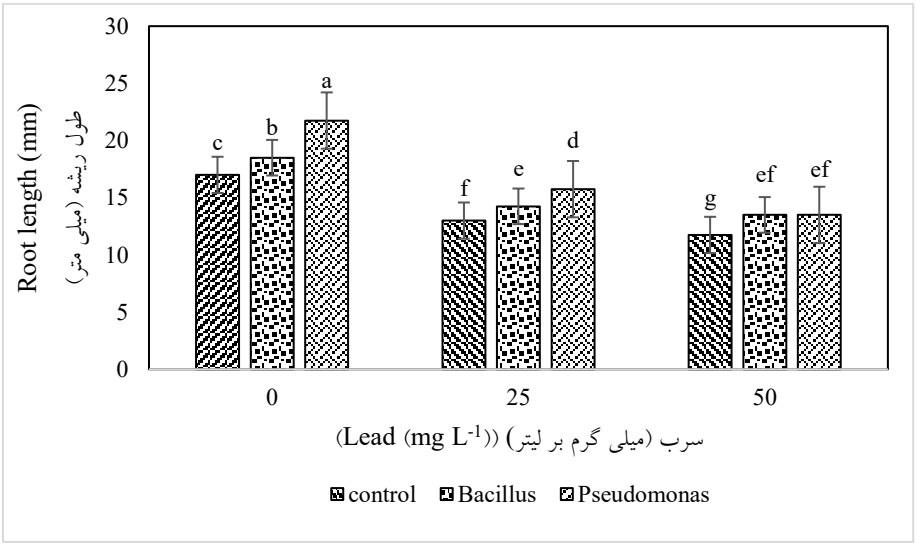
**, *, ns: Significantly at at $p\leq0.01$ and $p\leq0.05$, non-significant, respectively.

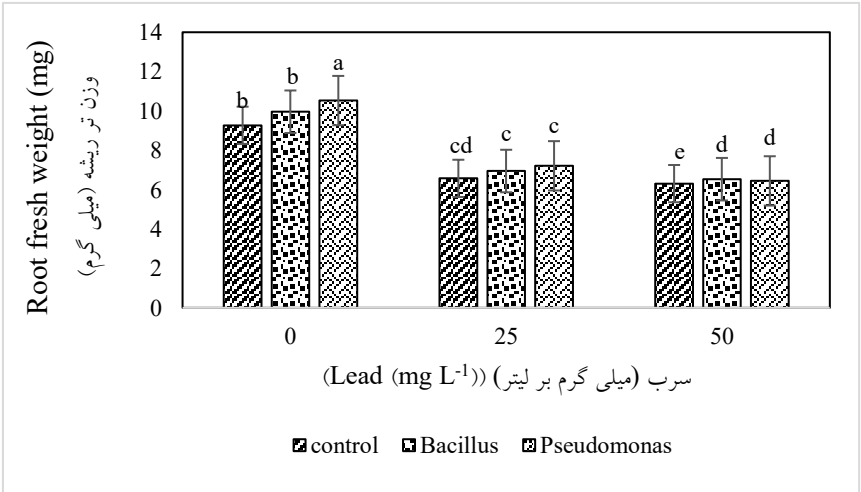


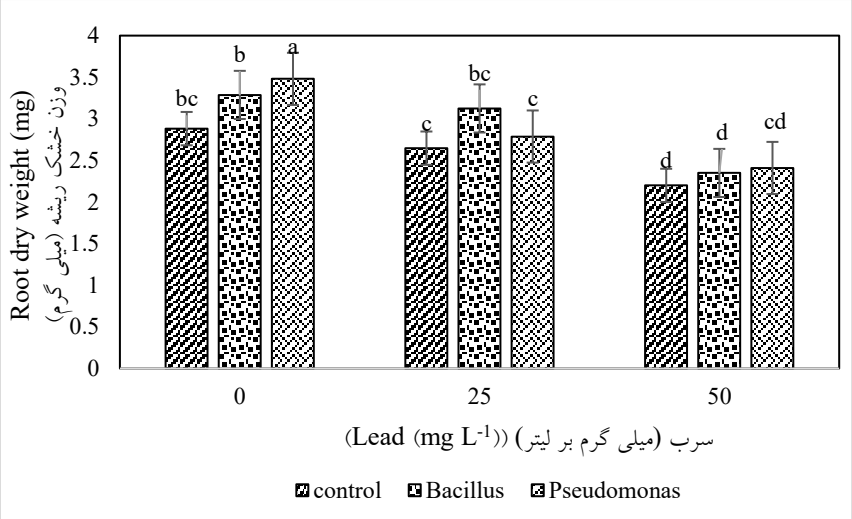


شکل ۲- اثر باکتری‌های محرک رشد بر میزان سطح برگ و تعداد برگ گیاه کلم زینتی در شرایط تنش سرب (میانگین‌های دارای حروف مشابه، براساس آزمون چند دامنه دانکن و در سطح احتمال پنج درصد، تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند).

Figure 2. The effect of growth-promoting bacteria on number and leaf area of ornamental cabbage under lead stress conditions (Means with the same letters are not significantly different based on Duncan's test at 0.05 leevel).







شکل ۳- اثر باکتری‌های محرک رشد بر طول، وزن خشک و تر ریشه گیاه کلم زینتی در شرایط تنش سرب (میانگین‌های دارای حروف مشابه، براساس آزمون چند دامنه دانکن و در سطح احتمال پنج درصد، تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند).

Figure 3. The effect of growth-promoting bacteria on length, root dry and fresh weight of ornamental cabbage under lead stress conditions (Means with the same letters are not significantly different based on Duncan's test at 0.05 level).

سبزینه a, b،سبزینه کل وکاروتنوئید

نتایج این پژوهش نشان داد که اثر اصلی مصرف سرب و کاربرد باکتری بر میزان کاروتنوئید، سبزینه کل، سبزینه a و b کلم زینتی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین اثر اصلی مصرف سرب در ویژگی های کاروتنوئید، سبزینه کل، سبزینه a و b نشان داد که بیشترین میزان به ترتیب با مقادیر ۰/۵۳، ۱/۱۶، ۰/۸۳ و ۰/۳۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر مربوط به تیمار عدم مصرف سرب بود که به ترتیب افزایش۷۰/۹۶٪، ۹۶/۲۹٪، ۸۸/۶۳ و ۶۵٪ نسبت به مصرف ۵۰ میلی‌گرم بر لیترسرب نشان داد (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین مربوط به اثر اصلی مصرف باکتری نیز نشان داد که بیشترین مقادیر برای میزان کاروتنوئید، سبزینه کل، سبزینه a و b به ترتیب با میانگین ۰/۵۲، ۰/۹۰، ۰/۶۱ و ۰/۲۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر مربوط به کاربرد باکتری سودوموناس شد که به ترتیب افزایش ۳۰٪، ۲۶/۷۶٪، ۲۷/۰۸٪ و ۲۶/۰۸٪در مقایسه با عدم کاربرد باکتری مشاهده شد (جدول ۲). مهار بیوسنتز سبزینه در اثر تنش کادمیوم در گیاهانی مانند خردل (Ahmed *et al*., 2012) و باقلا (Siddiqu *et al*., 2012) گزارش شده است که احتمالاً به دلیل تداخل یون‌های فلزهای سنگین با بیوسنتز سبزینه و جانشینی آن‌ها با یون منیزیم یا ممانعت مستقیم مراحل آنزیمی دخیل در بیوسنتز سبزینه باشد (Pourraut *et al*., 2011). همچنین طی آسیب و تخریب لیپیدهای غشاء کلروپلاستی در اثر ایجاد تنش اکسیداتیو و تقابل بین عناصر و یا القای تغییرات در کلروپلاست باشد (Ahmed *et al*., 2012). دلیل بالا بودن میزان سبزینه‌ها و کاروتنوئیدها در گیاهان تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد و قارچ ریشه‌های آربوسکولار میکوریزا را احتمالاً می‌توان به نقش قارچ‌ها و باکتری‌ها در فراهم نمودن فسفر مورد نیاز گیاه به عنوان حامل انرژی در فتوسنتز و همچنین افزایش جذب منیزیم و آهن نسبت داد (Demir, 2004).

فنل کل

نتایج تجزیه واریانس مربوط به صفت فنل کل نشان داد که اثر اصلی سرب، باکتری و برهمکنش سرب در باکتری بر میزان فنل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد که بیشترین میزان فنل کل با میانگین ۰/۰۷۲۵ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن تر مربوط به تیمار ۵۰ میلی‌گرم بر لیترسرب و باکتری *Pseudomonas* شد که ۵۰٪ افزایش میزان فنل کل نسبت به تیمار عدم مصرف سرب و عدم تلقیح با باکتری را نشان داد (شکل ۴). طی آزمایشی

مشخص شد که با افزایش سرب میزان فنل و فلاونوئید افزایش یافته است. پس گیاه برای تحمل تنش سرب از سازوکارهای محافظتی آنتی‌اکسیدانی از قبیل افزایش میزان محتوای فنلی استفاده می‌کند. در واقع ترکیب‌های فنلی به عنوان یکی از ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی موجود در گیاه در افزایش تحمل گیاهان به فلزات سنگین تأثیر بسزایی دارند (Kovacik *et al*., 2010). علت این امـر را بـه این ترتیب عنوان کردند که هنگامی که Co_2 موجود در داخل یک سلول فتوسنتزی به علت حضور فلزات سنگین محدود شود فعالیت‌های چرخه کلوین کاهش می‌یابد اما فتوسیستم فعال باقی می‌ماند؛ که این منجر به یک انرژی تحریکی بیشتر در فتوسیسم شده و الکترون‌های انباشته شده در زنجیره انتقال الکترون به اکسیژن رسیده و این منجر به تولید رادیکال‌های آزاد می‌شود. غیر فعال شدن رادیکال آزاد در مرکز زنجیره فتوشیمیایی سرآغاز واکنش‌های فتوشیمیایی در فتوسیستم دو می‌شود که این به صورت استرس اکسیداتیو بروز می‌کند و موجب افزایش در مقادیر فنل و فلاونوئید می‌شود که نتایج حاصل از این مطالعه این امر را تأیید می‌کند. فلزات سنگین از طریق واکنش فنتون اقدام به تولید انواع فعال اکسیژن می‌کنند (Rahmani *et al*, 2009). تجمع انواع فعال اکسیژن منجر به تنش اکسیداتیو می‌شود که می‌تواند باعث آسیب به اجزای سلول از قبیل غشاها، پروتئین‌ها و DNA شود (Matheickal *et al*, 1997). مشخص شده است که فنل‌ها به عنوان ترکیبات کلاته کننده فلزات، نقش مهمی در ایجاد تحمل نسبت به تنش فلزات سنگین در گیاهان به عهده دارند (Matsouka & Beri, 2011). پژوهش های مختلف اثر باکتری‌ها را بر افزایش ترکیب‌های فنلی در گیاهان اثبات کرده‌اند. در گزارشات مختلف بیان شده است که باکتری‌های محرک رشد با فراهم کردن مطلوب عناصر غذایی برای گیاه در سنتز متابولیت‌های ثانویه و افزایش فنل کل اثر گذار هستند (Khalil *et al*., 2007).

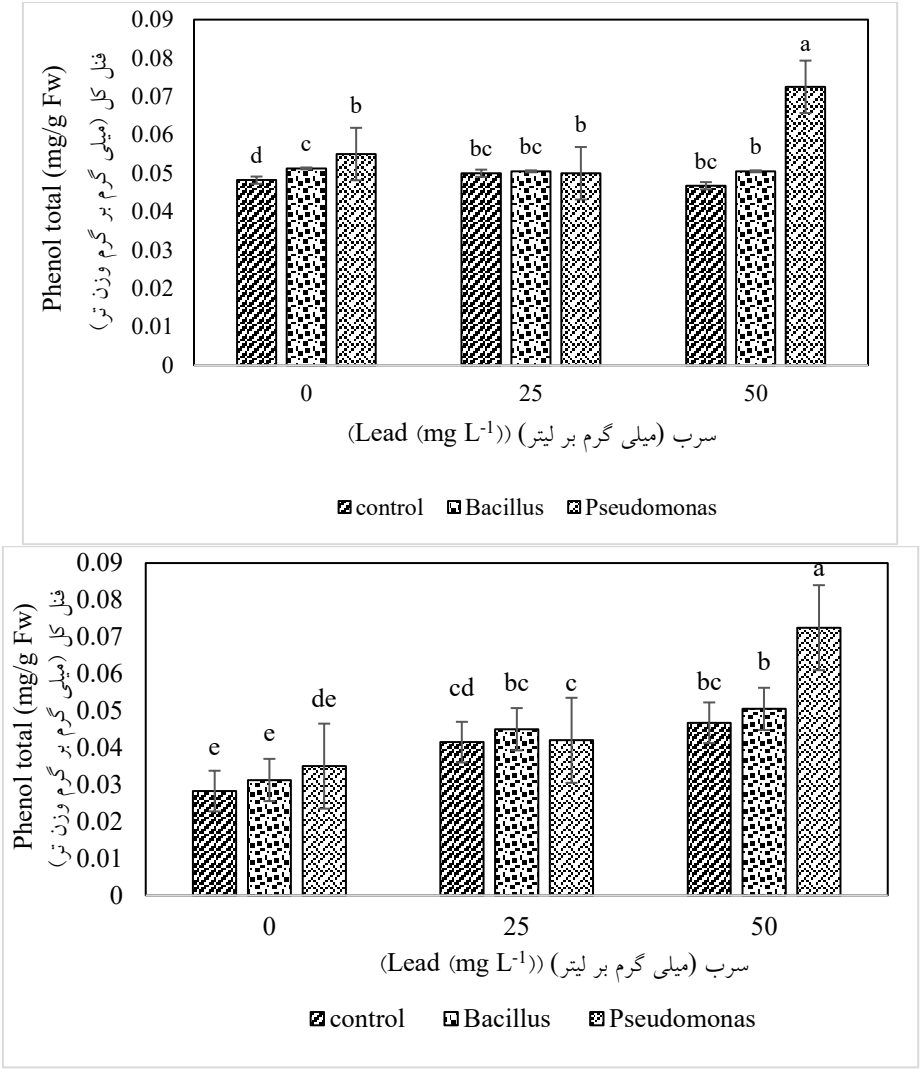
جدول ۴- **مقایسه میانگین اثرات اصلی سرب، باکتری بر برخی ویژگی های فیزیولوژیک کلم زینتی.**

Table 4. Comparison of the main effects of lead and growth-promoting on some physiological traits of ornamental cabbage.

تیمارها	سبزینه a Chlorophyll a (mg g^{-1} FW)	سبزینه b Chlorophyll b (mg g^{-1} FW)	سبزینه کل Total Chlorophyll (mg g^{-1} FW)	کارتنوئید Carotenoid (mg g^{-1} FW)	نشت یونی EC (ds cm^2)	مالون‌دی آلدهید MDA (mg g^{-1} FW)	سرب Pb (mg kg^{-1})	فسفر برگ P (٪)
سرب (میلی‌گرم بر لیتر) Lead (mg L^{-1})								
0	0.83[a]	0.33[a]	1.06[a]	0.53[a]	133.26[c]	0.29۰[c]	6.47[c]	0.59[a]
25	0.40[b]	0.26[b]	0.71[b]	0.41[b]	215.16[b]	0.38[b]	12.40[b]	0.53[b]
50	0.44	0.20[c]	0.54[c]	0.31[c]	249.83[a]	0.47۰[a]	11.93[a]	0.44[c]
باکتری Bacteria								
شاهد Control	0.48[c]	0.23[b]	0.71[c]	0.40[b]	219.87[a]	0.43[a]	13.54[a]	0.45[c]
Bacillus Bacillus	0.53 [b]	0.27[a]	0.80[b]	0.42[b]	201.31[a]	0.37[b]	11.08[b]	0.54۰[b]
Pseudomonas Pseudomonas	0.61[a]	0.29[a]	0.90[a]	0.52 [a]	177.25[b]	0.34[b]	9.58[c]	0.57[a]

میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means with the same letters are not significant in Duncan's test at 0.05 level



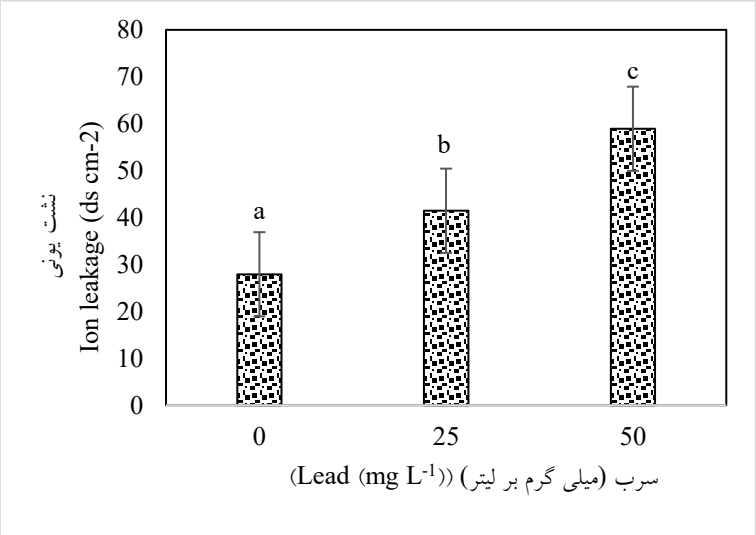
شکل ۴- اثر باکتری‌های محرک رشد بر فنل کل گیاه کلم زینتی در شرایط تنش سرب (میانگین‌های دارای حروف مشابه، براساس آزمون چند دامنه دانکن و در سطح احتمال پنج درصد، تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند).

Figure 4. The effect of growth-promoting bacteria on total phenol of ornamental cabbage under lead stress conditions (Means with the same letters are not significantly different based on Duncan's test at 0.05 level).

نشت یونی و مالوندی‌آلدهید

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر اصلی سرب و اثر اصلی باکتری بر میزان نشت یونی معنی‌دار شد (جدول ۱). براساس نتایج مقایسه میانگین نیز مشاهده شد که بالاترین مقدار برای نشت یونی با میانگین ۵۸/۹۲ دسی زیمنس بر سانتی‌متر مربع مربوط به تیمار کاربرد ۵۰ میلی‌گرم بر لیترسرب شد که ۵۵/۴۲٪ افزایش نشت یونی نسبت به تیمار عدم مصرف سرب حاصل شد (شکل ۵). نتایج تجزیه واریانس نشان داد که از بین عوامل مورد بررسی برای ویژگی ها مالوندی‌آلدهید نیز تنها اثرات اصلی مصرف سرب و باکتری معنی‌دار بود ولی برهمکنش این دو معنی‌دار نشد (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین اثر اصلی کاربرد سرب برای مالوندی‌آلدهید نشان داد که بیشترین مقدار مالوندی‌آلدهید ۰/۴۷مربوط به تیمار کاربرد ۵۰ میلی‌گرم بر لیترسرب و کمترین مقادیر نیز با میانگین ۰/۲۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر مربوط به تیمار عدم مصرف سرب حاصل شد که ۶۲٪/۰۷ افزایش در میزان مالوندی‌آلدهید در تیمار ۵۰ میلی‌گرم بر لیترسرب نسبت به شاهد مشاهده شد. در مورد اثر اصلی

کاربرد باکتری نیز بالاترین میزان با میانگین ۰/۴۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر مربوط به تیمار عدم مصرف باکتری بود و کمترین میزان نیز با میانگین ۰/۳۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر مربوط به تیمار کاربرد باکتری *Pseudomonas* بود که در واقع افزایش ۲۶/۴۷ درصدی در تیمار باکتری *Pseudomonas* نسبت به شاهد در مقدار مالون‌دی آلدهید مشاهده شد. طبق بررسی‌های صورت گرفته مشخص شد که افزایش میزان مالون دی‌آلدهید در شرایط تنش با فلزات سنگین به دلیل افزایش میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشا اتفاق می‌افتد (Zahir *et al*., 2004). از طرفی باکتری‌های محرک رشد می‌توانند باعث القای تجمع هورمون اسید سالیسیلیک شوند. این هورمون نیز از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و جذب کلسیم، گیاه را از صدمات حاصل از واکنش‌های اکسیداتیو حفظ می‌کند (Yadeghari *et al*., 2008). همچنین اسید سالیسیلیک میزان پلی‌آمین‌های پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین را در گیاه افزایش می‌دهد که می‌تواند به یکپارچگی و حفظ غشا تحت شرایط تنش کمک کند (Nemeth *et al*., 2002). باکتری‌های محرک رشد گیاه بیان ژن‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه را افزایش می‌دهند که منجر به بهبود فعالیت این آنزیم‌ها شده و در نتیجه سبب افزایش پایداری غشا و کاهش مالون دی‌آلدهید و میزان نشت یونی در گیاهان تلقیح شده با باکتری در مقایسه با گیاهان شاهد می‌گردد (Gururani *et al*., 2012; Asrar *et al*., 2012).

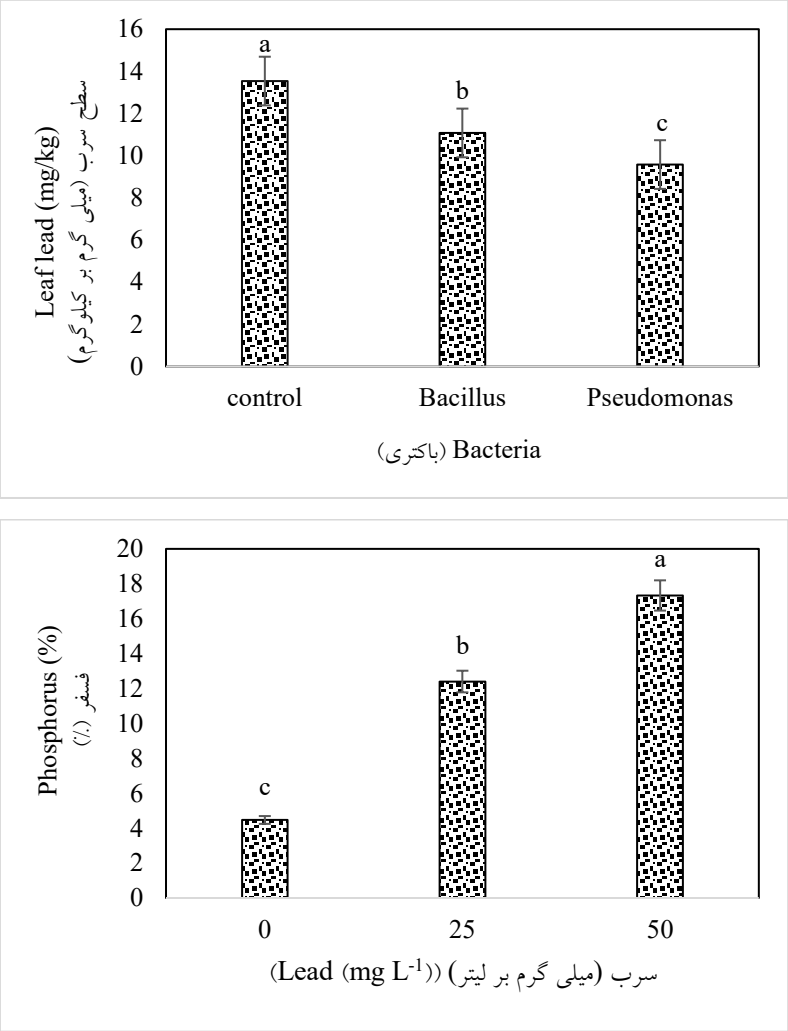


شکل ۵- اثر غلظت‌های مختلف سرب بر میزان نشت یونی گیاه کلم زینتی (میانگین‌های دارای حروف مشابه، براساس آزمون چند دامنه دانکن و در سطح احتمال پنج درصد، تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند).

Figure 5. The effect of different concentrations of lead on ion leakage of ornamental cabbage (Means with the same letters are not significantly different based on Duncan's test at 0.05 level).

میزان فسفر و سرب برگ

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که از بین عوامل مورد بررسی تنها اثرات اصلی تنش سرب و مصرف باکتری بر این ویژگی ها معنی‌دار شد (جدول ۱). همچنین نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بالاترین میزان فسفر اندام هوایی با میانگین ۰/۵۹ درصد مربوط به تیمار عدم تنش سرب و کمترین میزان فسفر نیز با میانگین ۰/۴۴ درصد مربوط به تیمار تنش سرب ۵۰ میلی‌گرم بر لیترشد (جدول ۲). همچنین نتایج مقایسه میانگین اثر اصلی مصرف باکتری نشان داد که بالاترین میزان فسفر اندام هوایی با میانگین ۰/۵۷ درصد مربوط به کاربرد باکتری سدوموناس و کمترین میزان نیز با میانگین ۰/۴۵ درصد مربوط به تیمار شاهد شد (شکل ۶). در ادامه نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین مقدار سرب اندام هوایی با میانگین ۱۱/۹۳ میلی‌گرم در کیلوگرم مربوط به تیمار تنش سرب با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیترشد که به میزان ۸۴/۳۹٪ افزایش سرب را نسبت به تیمار عدم تنش سرب نشان داد (جدول ۲).



شکل ۶- اثر باکتری‌های محرک رشد بر میزان سرب برگ و اثر غلظت‌های مختلف سرب بر میزان فسفر گیاه کلم زینتی (میانگین‌های دارای حروف مشابه، براساس آزمون چند دامنه دانکن و در سطح احتمال پنج درصد، تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند).

Figure 6. The effect of growth-promoting bacteria on the amount of lead and the effect of different concentrations of lead on leaf phosphorus of ornamental cabbage (Means with the same letters are not significantly different based on Duncan's test at 0.05 level).

همچنین نتایج مقایسه میانگین اثر اصلی مصرف باکتری نشان داد که بالاترین میزان سرب اندام هوایی با میانگین ۱۳/۵۴ میلی‌گرم در کیلوگرم مربوط به عدم کاربرد باکتری است که به میزان ۴۱/۳۴٪ نسبت به تیمار باکتری سدوموناس افزایش مشاهده شد (جدول ۲). این امر نقش حضور فلزات سنگین در محیط رشد ریشه را نشان می‌دهد که در صورت وجود فلزاتی مثل سرب گیاه قادر به جذب آن‌ها می‌باشد و از طرفی باکتری‌های محرک رشد سبب کاهش میزان جذب سرب می‌شوند. سطوح سلولی تمام باکتری‌هـا به دلیل ساختارهای مختلف آنیونی دارای بار منفی هستند بر این اساس، دیواره سلول باکتریای‌ها تمایل شدیدی برای جذب کاتیون‌هـای فلـزی دارند. همچنین سلول‌های باکتریایی زنده، غیر زنده و محصولات آن‌ها دارای کارایی زیادی برای تجمع اشکال محلول فلزات هسـتند (Colak *et al*., 2011). به نظر می‌رسد با افزایش تنش فلزات سنگین گیاه قادر به جذب فلزات ضروری برای رشد نبوده و به سختی این کار را انجام می‌دهد. در مورد حضور باکتری در محیط نیز به دلیل همزیستی با ریشه گیاهان منجر به تقویت سیستم ریشه شده و عناصر را بهتر جذب می‌کنند که در نتایج این پژوهش نیز مشاهده می‌شود. در آزمایشی افزایش جذب فسفر در گیاه ذرت طی تلقیح با باکتری‌های حل‌کننده فسفات را گزارش کردند (Zafar *et*

al., 2011). نتایج پژوهشی نیز افزایش معنی‌دار جذب فسفر در میوه و برگ فلفل دلمه‌ای را با کاربرد باکتری *Bacillus sabtalis* و *Bacillus megaterium* در دو فصل متوالی رشد را نشان داد (Zaki *et al.,* 2012). نتایج این پژوهش منطبق با نتایج پژوهش های انجام شده روی گیاهانی نظیر خردل (Rajkumar *et al*., 2008) و کلم (Sheng *et al*., 2008) می‌باشد که در این آزمایش‌ها عنوان شده باکتری‌ها موجب کاهش جذب فلزات سنگین در گیاه می‌شوند.

نتیجه‌گیری

در مجموع با توجه به سمیت فلـز سـرب حتـی در غلظت‌های کم و ایجاد آلودگی‌های زیستی باید توجه کافی به منابع ورودی این آلاینده به محیط زیست معطوف شود. از سـوی دیگـر شناسـایی و کـاربرد باکتری‌های محرک رشد گیاه و مقاوم به تنش‌ها نیز بـه واسـطه تاثیر بر رشد گیاه حائز اهمیت می‌باشد. با توجه به نتایج به دست آمده مشخص شد که اعمال تنش سرب در کلم زینتی منجر به کاهش رشد در گیاه شده و شاخص‌های رشدی گیاه مانند وزن تر و خشک ریشه، تعداد برگ و سطح برگ را تحت تأثیر قرار داده است. کاربرد باکتری‌های محرک رشد در اکثر ویژگی ها منجر به بهبود ویژگی های اندازگیری شده در گیاه در شرایط تنش و غیر تنش گردید. از جمله کاربرد باکتری سدوموناس به طور موثری موجب کاهش نشت یونی و مالون‌دی‌آلدهید و افزایش تعداد برگ، سطح برگ و وزن تر و خشک ریشه، طول ریشه و افزایش جذب فسفر در اندام هوایی شد. همچنین این باکتری‌ها از جذب سرب در اندام هوایی گیاه جلوگیری کرده، که از این صفت به خصوص در کشت گیاهان زراعی و خوراکی در زمین‌های آلوده به فلزات سنگین می‌توان استفاده نمود تا با کاربرد باکتری‌ها مانع از جذب سرب توسط گیاه و مقاومت گیاه در برابر تنش سرب و در نهایت استفاده از این گیاهان به منظور مصارف خوراکی اشاره کرد. در نتیجه در انتها می‌توان بیان کرد که، کاربرد باکتری‌های *Pseudomonas putida* و *Bacillus subtilis* در آلودگی سربی باعث بهبود ویژگی های کمی و کیفی کلم زینتی و مقاومت این گیاه در برابر تنش فلز سنگین سرب می‌شوند. به عبارتی می توان توصیه نمود که استفاده از *Pseudomonas putida* در مناطقی که با آلودگی سرب مواجه‌اند، می‌تواند به کاهش اثرات سمی و افزایش جذب عناصر مغذی کمک کند. همچنین، بررسی امکان استفاده از این روش در گیاهان زراعی دیگر و توسعه پروتکل‌های کاربردی برای کشاورزان می‌تواند گامی موثر در مدیریت پایدار آلودگی‌های فلزات سنگین در خاک باشد. علاوه بر این، پژوهش‌های آتی می‌توانند به بررسی ماندگاری اثرات این باکتری‌ها در طولانی‌مدت و تحلیل هزینه‌های اقتصادی و زیست‌محیطی استفاده از آن‌ها بپردازند.

منابع

Abd El-Mageed, T.A., Abd El-Mageed, S.A., El-Saadony, M.T., Abdelaziz, S., Abdou, N.M. (2022). Plant growth-promoting rhizobacteria improve growth, morph-physiological responses, Water Productivity, and Yield of Rice Plants Under Full and Deficit Drip Irrigation. *RICE, 15*, 16

Adoko, M.Y., Sina, H., Amogou, O., Agbodjato, N.A., Noumavo, P.A., Aguégué, R.M., Assogba, S.A., Adjovi, N.A., Dagbénonbakin, G.; Adjanohoun, A. (2021). Potential of Biostimulants Based on PGPR Rhizobacteria Native to Benin's Soils on the Growth and Yield of Maize (*Zea mays* L.) under Greenhouse Conditions. *Open Journal of Soil Science, 11*, 177-196.

Ahmad, P., Ozturk, M., Gucel, S. (2012). Oxidative damage and antioxidants induced by heavy metal stress in two cultivars of mustard plants. *Fresenius Environmental Bulletin, 21*, 2953-2961.

Ali, B.M., Vajpayee, P., Tripathi, R.D., Rai, U.N., Singh, S.N., Singh, S.P. (2003). Phytoremediation of lead, nickel, and copper by *Salix acmophylla* Boiss: Role of antioxidant enzymes and antioxidant substances. Bull. *Environmental Contamination and Toxicology, 70*(3), 462-469.

Alizadeh, A. (2008). Water, soil, plant. Astane ghodse razavi, 8th edition. (In Persian)

Ardalani, Sh., Saedi, M., Jalali Honarmand, S., Ghobadi, M.A., Abdoli, M. (2014). Physiological responses and antioxidant enzyme activity in bread wheat genotypes under drought stress after anthesis. *Crop Physiology, 6*(21), 45-59.

Arnon, D.I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in Beta vulgaris. *Plant Physiology, 24(*1), 1-5.

Asrar, A.A., Abdel-Fattah, G.M., Elhindi, K.M. (2012). Improving growth, flower yield and water relation of snapdragon (*Antirrhinum majus* L.) plants grown under well-watered and water-stress conditions using arbuscular mycorrhizal fungi. *Photosynthetica, 50*(3), 305-316.

Bafeel, S. (2010). Physiological and Biochemical Aspects of Tolerance in *Lepidium sativum*. (cress) to Lead Toxicity. Catrina (*Egyption Society for Environmental Sciences*). *5*(1), 1-7.
Belimov, A.A., Hontzeas, N., Safronova, V.I., Demchinskaya, S.V., Piluzza, G., Bullitta, S., Glick, B.R. (2005). Cadmium tolerant plant growth-promoting bacteria associated with the roots of Indian mustard (*Brassica juncea* L. Czern.). *Soil Biology and Biochemistry*, *37* (2), 241-250.
Belimov, A.A., Safronova, V.I. Mimura, T. (2002). Response of spring rape to inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase depends on nutrient status of the plant. *Canadian Journal of Microbiology, 48*, 189-199.
Belimov, A.A., Dietz, K.J. (2000). Effect of associative bacteria on element composition of barley seedlings grown in solution culture at toxic cadmium concentrations. *Microbiological Research, 155*, 113-121.
Ben Hamed, K., Castagna, A., Salem, E., Ranieri, A., Abdelly, C. (2007). Sea fennel (*Crithmum maritimum* L.) under salinity conditions: a comparison of leaf and root antioxidant responses. *Plant Growth Regulation. 53*, 185-194.
Blaster, P.S., Zimmermann, J., Luster, A., Shotyk, W. (2000). Critical examination of trace element enrichment and depletion in soils: As, Cr, Cu, Ni, Pb and Zn in Swiss forest soil, *Science of Total Environment, 249*, 257-280.
Bradl, H.B. (2005). Heavy Metals in the Environment: Origin, Interaction and Remediation. *Interface Science and Technology, 6*, 1-27.
Brunet, J., Repellin, A., Varrault, G., Terrync, N., Zuily-fodil, Y. (2008). Lead accumulation in the roots of Grass pea (*Lathyrus sativus*): A novel plant for phytoremediation systems. *Comptes Rendus Biologies, 331*, 859-864.
Chapman, H.D., Part, P.F. (1961). Method of analysis for soils, plants and waters. University of California. Division of Agricultural Sciences. Pp.309.
Colak, F., Atarb, N., Yazıcıoglu, D., Olgun, A. (2011). Biosorption of lead from aqueous solutions by Bacillus strains possessing heavy-metal resistance. *Chemical Engineering Journal, 173*, 422- 428.
Dehghan, G., Khoshkam, Z. (2012). Tin (II)–quercetin complex: Synthesis, spectral characterization and antioxidant activity. *Food Chemistry, 131* (2), 422-426.
Cheheltanan, L., Khosravi, S. (2014). The effect of pakrobutrazole and psychocell on vegetative growth and appearance of ornamental cabbage. 2nd International Conference on Applied Research in Agricultural Sciences, Natural Resources and Environment.
Glick, B.R., Penrose, D.M., Jiping, LI. (1998). A model for the lowering of plant ethylene concentration by plant growth- promoting bacteria. *Journal of Theoretical Biology, 190*, 63-68.
Glick, B.R. 2010. Using soil bacteria to facilitate phytoremediation. *Biotechnology Advances, 28*, 367-374.
Golchin, A., Ismaili, M., Takasi, M. (2005). Contaminant sources of soil and agricultural and horticultural products of Zanjan province to heavy metals, *Management and Planning Organization of Zanjan province. 1*, 134-135.
Gururani, M.A., Venkatesh, J., Upadhyaya, C.P., Nookaraju, A., Pandey, S.K., Park, S.W. (2012). Plant disease resistance genes: Current status and future directions. *Physiological and Molecular Plant Pathology, 78*, 51-65.
Han, R., Zilu, L., Hualin, C., Jiangmin, Z., Cjennqun L., (2022). Effects of Biochar and Plant Growth-Promoting Rhizobacteria on Plant Performance and Soil Environmental Stability, *Sustainability*, *14*, 10922.
Hasnain, S., Sabri, A. N. (1996). Growth Stimulation of Triticum aestivum seedlings under Cr stresses by non-rhizospheric Pseudomonad strains. *Environmental Pollution, 97*(3), 265-273.
Heath, R.L., Packer, L. (1969). Photoperoxidation in isolated chloroplast I: kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics, 125*, 189-198.
Javanmardi, J. (2010). Organic cultivation of vegetables. Mashhad University Jihad. Mashhad. *349*, 13-15. (In Persian)
Kolahkaj, A., Mohammadi Rouzbahani, M. (2017). Survey Effectiveness of *Althea officinal* in Pb Heavy Metal Accumulation. *Science and Technology Ocean Systems, 19* (1), 72-73.
Kungu, J., Rode Loretta, U., Reynaldo, E., Tariq, H. (2008). Effect of vesicular arbuscular mycorrhiza (VAM) fungi inoculation on coppicing ability and drought resistance of Sienna Spectabilis Pakistan. *Journal of Botany, 40*(5), 2217-2224.
Khalil, M.Y., Moustafa, A.A., Naguib, N.Y. (2007). Growth, phenolic compounds and antioxidant activity of some medicinal plants grown under organic farming conditions. *World Journal of Agricultural Sciences, 3*(4), 451-457.
Landi, L., Renella, G., Moreno, J.L., Falchini, L., Nannipieri, P. 2000. Influence of cadmium on the metabolic quotient, L-, D- glutamic acid respiration ratio and enzyme activity, microbial biomass ratio under laboratory conditions. *Biology and Fertility of Soils. 32*, 8-16.
Li, W.C., Ye, Z.H., Wong, M.H. (2007). Effects of bacteria on enhanced metal uptake of the Cd/Zn hyperaccumulating plant, Sedum alfredii. *Journal of Experimental Botany, 58*, 4173-4182.
Lonegragan, J.F., Weeb, M.J. (1993). Interaction between zinc and other nutrients affecting the growth of plants. In: Robson AD (ed). Zinc in Soils and Plants. Kluwer Academic Publishers, *Dordrecht, 30*, 119-134.
Marinova, D., Ribarov, F., Atanassova, M. (2005). Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy, 40* (3), 255-260.
Ma, Y., Rajkumar, M., Luo, Y., Freitas, H. (2013). Phytoextraction of heavy metal polluted soils using Sedum plumbizincicola inoculated with metal mobilizing *Phyllobacterium myrsinacearum RC6b. Chemosphere, 93*, 1386-1392.

Matheickal, J.T., Yu, Q., Feltham, J. (1997). "Cu (II) Binding by E. Radiata." *Biomaterial Environ.Technology, 18*(1), 25-34.
Matsouka, I., Beri, D., Chinou, I., Haralampidis, K.G., Spyropoulos, C. (2011). Metals and selenium induce medicarpin accumulation and excretion from the roots of fenugreek seedlings: a potential detoxification mechanism. Plant Soil Published Online.
Munzuroglu, O., Geckil, H. (2002). Effects of metals on seed germination, root elongation, and coleoptiles and hypocotyls growth in *Triticum aestivum* and *Cucumis sativus*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology. 43*, 61-73.
Mousavi, S. M., Brodie, G., Payghamzadeh, K., Raiesi, T., Srivastava, A. K. (2022). Lead bioavailability in the environment: Its exposure and effects. *Journal of Advances in Environmental Health Research, 10* (1), 1-14. https://doi.org/10.32598/JAEHR.10.1.1256.
Nemeth, M., Janda, T., Hovarth, E., Paldi, E., Szali, G. (2002). Exogenous salicylic acid increases polyamine content but may decrease drought tolerance in maize. *Plant Science, 162*, 569-574.
Petter, N.K., Varma, D.P.S. (1990). Phenolic compounds as regulators of gene expression in plant-microbe interaction. *Molecular Plant-Microbe Interactions Journal, 3*, 4-8.
Pitche, J., Bradway, D.J. (2008). Conventional crops and organic amendments for Pb, Cd and Zn treatment at a severely contaminated site, *Bioresource Technology, 99*, 1242-1251.
Pourraut, B., Shahid, M., Dumat, C., Winterton, P., Pinelli, E. (2011) Lead uptake, toxicity and detoxification in plants. *Review on Environmental Contamination and Toxicology, 213*, 113-136.
Ullah, A., Mushtaq, H., Ali, H., Munis, M. F. H., Javed, M. T., Chaudhary, H.J. (2015) Diazotrophs-assisted phytoremediation of heavy metals: A novel approach. *Environmental Science and Pollution Research, 22*, 2505-2514.
Rajkumar, M., Ma, Y., Freitas, H. (2008a). Characterization of metal-resistant plant-growth promoting Bacillus weihenstephanensis isolated from serpentine soil in Portugal. *Journal of Basic Microbiology, 48*, 500-508.
Rajkumar, M., Ma, Y., Freitas, H. (2008 b). Effects of inoculation of plant-growth promoting bacteria on Ni uptake by Indian mustard. *Bioresource Technology, 99*(9), 3491-3498.
Rahmani, K., Mahvi, A.H., Vaezi, F., Mesdaghinia, A.R., Nabizade, R. (2009). Bioremoval of lead by use of waste-activated sludge. *International Journal of Environmental Research, 3*, 471-476.
Shafie, F., Bayat, H., Aminifard, M. H., Daghighi, S. (2021). Biostimulant effects of seaweed extract and amino acids on growth, antioxidants, and nutrient content of yarrow (*Achillea millefolium* L.) in the field and greenhouse conditions. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, *52*, 964-975.
Shanker, K.A., Cervantes, C., Loza-Taversa, H., Avudainayagam, S. (2005) Chromium toxicity in plants. *Environment International, 31*,739-753.
Sheng, X.F., Xia, J.J. (2006). Improvement of rape (*Brassica napus*) plant growth and cadmium uptake by cadmium-resistant bacteria. *Chemosphere, 64*(6), 1036-1042.
Siddiqui, M. H., Al-Whaibi, M. H., Ali, H. M. (2012) Effect of calcium and potassium on antioxidant system of Vicia faba L. under cadmium stress. *International Journal of Molecular Sciences, 13*, 6604-6619.
Sofy, M. R., Seleiman, M. F., Alhammad, B. A., Alharbi, B. M., Mohamed, H. I. (2020). Minimizing adverse effects of Pb on maize plants by combined treatment with jasmonic acid, salicylic acid, and proline. *Agronomy, 10* (5), 699. https://doi.org/10.3390/agronomy10050699.
Sundaramoorthy, P., Alagappan, C., Kaliyaperumal, S. G., Pachikkaran, U., Logalashmanan, B. (2010) Chromium stress in paddy: (i) Nutrient status of paddy under chromium stress; (ii) Phytoremediation of chromium by aquatic and terrestrial weeds. *Comptes Rendus Biologies, 333*, 597-607.
Kapila, S., Vibha, P., Sinha, R. (2006). Antioxidative and hypocholesterolemic effect of Lactobacillus caseisp casei. *Indian Journal of Medical Sciences Mub, 60*(9), 361-369.
Taghizadeh, M., Solgi, M. (2014). Introducing a commercial protocol for propagation inside ornamental cabbage jars. *Horticultural Sciences, 45*(2), 484- 475.
Verbruggen, N., Hermans, C., Schat, H. (2009). Molecular mechanisms of metal hyperaccumulation in plants. *New Phytologist, 181*, 759-779.
Walker, M.A., Kersie, B.D. (1993). Role of the ascorbate glutathione antioxidant system in chilling resistance of tomato. *Journal of Plant Physiology, 141*, 234-239.
Yadeghari, L.Z., Heidari, R., Carapetian, J. (2008). The influence of cold acclimation on proline, malondialdehyde (MDA), Total protein and pigment contents in soybean (*Glycine max*) seedlings. *Research Journal of Biological Sciences, 3*(1), 74-79.
Zafar, M., Abbasi, M.K., Khan, M.A., Aslam, M. (2011). Effect of plant growth-promoting rhizobacteria on growth, nodulation and nutrient accumulation of lentil under controlled conditions. *Pedosphere, 22*, 848-859.
Zafar-ul-Hye, M.; Bhutta, T.S.; Shaaban, M.; Hussain, S., (2019). Qayyum, M.F.; Aslam, U.; Zahir, Z.A. Influence of Plant Growth Promoting Rhizobacterial Inoculation on Wheat Productivity under Soil Salinity Stress. *Phyton- International Journal of Experimental Botany*, *88*, 119-129
Zaki, N.M., Gomaa, F., Radwan, I., Hassanein, M.S., Wali, AM. (2012). Effect of mineral, organic and biofertilizers on yield, yield components and chemical composition of some wheat cultivars. *Journal of Applied Science Research, 8*(1), 174-191.

Flower and Ornamental Plants (2025), 10(2): 231-246
Research article

Effect of growth-promoting bacteria on morphophysiological traits of ornamental cabbage (*Brassica oleraceae* L. 'Kamum') under lead stress conditions

Zmarialy Tani, Mitra Aelaei *, Seyed Najmeddin Mortazavi, Masoud Arghavani, Fahimeh Salehi

Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan
maelaei@znu.ac.ir
Received: 2024/07/23, Revised: 2025/07/24, Accepted: 2025/07/26

Abstract
Ornamental cabbage (*Brassica oleracea* L. 'Kamum') belongs to the family Brassicaceae. Heavy metals, including lead (Pb), are among the most important soil pollutants due to their non-biodegradable nature and long half-lives. In this context, bacteria, particularly plant growth–promoting bacteria (PGPB), represent an important strategy for alleviating such stresses. Therefore, the present study investigated the effects of the plant growth-promoting bacteria *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas putida* on mitigating lead stress and improving morphophysiological traits in ornamental cabbage cultivar 'Kamum'. The experiment was conducted as a factorial arrangement in a completely randomized design (CRD). The first factor consisted of lead stress at three levels: 0 (control), 25, and 50 mg L^{-1}. The second factor comprised three inoculation treatments: non-inoculated control, *Bacillus subtilis*, and *Pseudomonas putida*, each applied at a concentration of 10^8 CFU mL^{-1}. The experiment was carried out with four replications under greenhouse conditions at the Faculty of Agriculture, University of Zanjan. Morphophysiological traits including leaf number, leaf surface, root length, fresh and dry root weight, chlorophyll a and b, carotenoid, ion leakage, malondialdehyde, total phenol, and leaf lead were measured. The results indicated that lead stress and the effectiveness of bacteria on all traits were significant. The effect of the interaction between bacteria and lead stress was also significant positively in some features such as amount of phenol, number of leaves and their area, fresh and dry weight, and length of roots. The lead treatment decreased root fresh and dry weight, root length, carotenoid and chlorophyll content, and increased phenol. The application of *P. putida* in the absence of lead led to the improvement of growth indicators, including the number and area of leaves, fresh and dry weight, and root length. *P. putida* increased chlorophyll, carotenoid, and phosphorus and decreased ion leakage, malondialdehyde, and lead under stress conditions compared to the control. Given that heavy metal stress causes significant disturbances in plants, it is essential to identify the characteristics affected by such stresses and the strategies to mitigate them. The research findings indicate that lead stress and bacteria have a significant impact on all examined traits. The interaction effect of bacteria against lead stress also influenced certain traits, such as phenol content, leaf number and area, fresh and dry root weight, and root length. Furthermore, the application of *Pseudomonas* bacteria under lead stress conditions resulted in increased chlorophyll, carotenoids, and phosphorus levels, while decreasing ion leakage, malondialdehyde, and lead concentrations compared to the control group. Overall, the results of this study highlight the importance of using beneficial bacteria like *Pseudomonas* to enhance plant growth under lead stress conditions. This approach can serve as an effective strategy in sustainable agriculture and phytoremediation processes.
Keywords: Bacteria promote growth, Chlorophyll, Lead, Leaf area**,** Phytoremediation.