

تأثیر باکتری‌های محرک رشد بر برخی صفت‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی داغداغان (*Celtis caucasica* Willd.) تحت تنش سرب

فاطمه مرادی^۱، میترا اعلائی^{۲*}، مسعود ارغوانی^۳ و فهیمه صالحی^۴

- ۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گیاهان زینتی، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران
 ۲- نویسنده مسئول، استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران. پست الکترونیک: maelaei@znu.ac.ir
 ۳- استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران
 ۴- دانشجوی دکتری اصلاح و بیوتکنولوژی گیاهان باغبانی، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۹/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۱۶

چکیده

به منظور بررسی تأثیر باکتری‌های محرک رشد تحت تنش سرب بر نهال‌های داغداغان (*Celtis caucasica* Willd.)، پژوهش پیش‌رو به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی در شرایط گلخانه در زنجان اجرا شد. تیمار سرب شامل سه سطح صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و تیمار باکتریایی شامل شاهد (بدون باکتری)، سودوموناس پوتیدا (*Pseudomonas putida*) و باسیلوس سوبتیلیس (*Bacillus subtilis*) با دو غلظت 10^5 و 10^8 باکتری زنده در میلی‌لیتر بودند. برخی صفت‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی شامل وزن‌های تر و خشک ریشه، ارتفاع گیاه، کلروفیل کل، فنل کل، فلاونوئید، فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و مالون‌دی‌آلدئید، غلظت فسفر در برگ و غلظت سرب در برگ و ریشه اندازه‌گیری شدند. به منظور بررسی تأثیر پارامترهای مذکور از تجزیه واریانس دوطرفه و مقایسه میانگین به روش دانکن استفاده شد. یافته‌های این پژوهش نشان داد که کاربرد دو باکتری مورد نظر سبب بهبود عملکرد داغداغان در شرایط آلودگی با سرب می‌شود. به طوری که اثرات متقابل سرب و باکتری بر وزن‌های تر و خشک ریشه، ارتفاع گیاه، کلروفیل کل و فلاونوئید معنی‌دار بودند. بیشترین فعالیت پراکسیداز در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم با غلظت 10^5 باسیلوس سوبتیلیس بر میلی‌لیتر مشاهده شد. در تیمار مذکور، $26/53$ میلی‌گرم سرب بر گرم وزن تر ریشه به دست آمد که به طور معنی‌داری نسبت به تیمارهای دیگر بیشتر بود. همچنین، بیشینه جذب سرب توسط برگ ($16/8$ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار باسیلوس سوبتیلیس با غلظت 10^8 باکتری زنده بر میلی‌لیتر مشاهده شد. به طور کلی، داغداغان در محیط آلوده به سرب، گیاه‌پالایی را به خوبی انجام داد، اما صفت‌های رشدی آن به شدت کم شد. با کاربرد باکتری‌های محرک رشد به ویژه باسیلوس سوبتیلیس می‌توان از کاهش شدید رشد آن جلوگیری کرد.

واژه‌های کلیدی: باسیلوس سوبتیلیس، پراکسیداز، سودوموناس پوتیدا، فسفر، گیاه‌پالایی.

مقدمه

معدن و ذوب فلزات، استفاده از لجن فاضلاب و پساب‌های صنعتی در زمین‌های کشاورزی و دود خروجی از آگزوز وسایل نقلیه بنزین‌سوز به وجود می‌آید (Shen et al.,

آلودگی با فلزات و مواد غیرزیستی، یک مشکل جهانی محیط‌زیستی است که به علت فعالیت‌هایی مانند استخراج

منفی فلزات سنگین مانند کادمیوم در گیاهان منتشر شده‌اند (Mishra et al., 2016). Aalipour و همکاران (۲۰۱۹) با بررسی اثر این فلز بر سرو نقره‌ای (*Cupressus arizonica*) Greene گزارش کردند که تلقیح نهال‌های این گونه با قارچ میکوریزا و باکتری سودوموناس سبب افزایش رویش و بقای آن‌ها در شرایط تحت تنش کادمیوم می‌شود. Azampoor و همکاران (۲۰۱۳) با بررسی آلودگی ون (*Fraxinus rotundifolia* Mill.)، نارون چتری (*Ulmus densa* Litv.) و بید سپید (*Salix alba* L.) به نیکل دریافتند که مقدار جذب این عنصر در برگ‌های ون و نارون چتری در منطقه آلوده به‌طور معنی‌داری بیشتر از شاهد بود. براساس یافته‌های Salehi و همکاران (۲۰۱۴)، زنده‌مانی، رویش و مقاومت سپیدار (*Populus alba* L.) در خاک‌های آلوده به سرب، رضایت‌بخش است. به‌طوری‌که این گونه، توانایی پالایش خاک‌های آلوده به فلز مذکور را دارد. سرب از جمله آلاینده‌های مهم در محیط‌زیست با سمیت بسیار زیاد است که درعین حال می‌تواند در گیاهان انباشته شود.

گونه‌های درختی به‌واسطه سیستم ریشه‌دوانی عمیق و در نتیجه، پالایش خاک‌های آلوده در عمق‌های بیشتر، گزینه بسیار مناسبی به‌منظور گیاه‌پالایی هستند (Dickinson & Pulford, 2005). از جمله این گونه‌ها می‌توان به داغداغان (*Celtis caucasica* Willd.) اشاره کرد. داغداغان، گونه‌ای پهن‌برگ و نورپسند از خانواده Ulmaceae است که در اروپا، ترکیه، شوروی سابق، شمال آفریقا و ایران پراکنش دارد (Khatamsaz, 1990). این درخت، طالب خاک‌های عمیق و غنی است، اما در خاک‌های اسیدی، بازی، مرطوب، خشک و شنی لومی نیز می‌تواند رشد کند. داغداغان به‌عنوان یک درخت زینتی در طراحی فضای سبز استفاده می‌شود. زیرا در برابر آلودگی هوا مقاوم است و طول عمر زیادی دارد (Dehnavi et al., 2014).

پژوهش پیش‌رو به‌منظور بررسی پتانسیل گیاه‌پالایی داغداغان تحت تنش سرب انجام شد. همچنین، باکتری‌های سودوموناس پوتیدا (*Pseudomonas putida*) و باسیلوس

(2002). ویژگی بارز این فلزات، پایداری آن‌ها است، بنابراین افزایش غلظت و تجمع آن‌ها در مواد غذایی و محیط‌زیست سبب صدمات مهم و جبران‌ناپذیری می‌شود (Fu et al., 2008). به‌منظور پالایش محیط‌های آلوده به عناصر سنگین، روش‌های مختلف فیزیکوشیمیایی همچون واجذبی حرارتی، مکش هوایی، سوزاندن، خنثی‌سازی، اکسایش- کاهش و رسوب‌گذاری و روش‌های زیستی مانند کشت و زرع، تقلیل طبیعی، تخلیه زیستی، راکتور زیستی و گیاه‌پالایی پیشنهاد شده‌اند. بیشتر روش‌های فیزیکوشیمیایی به‌علت هزینه زیاد، به‌صرفه نیستند، درحالی‌که گیاه‌پالایی به‌عنوان یک روش زیست‌فناوری، سازگار با محیط‌زیست و مقرون‌به‌صرفه و به‌دلیل حفظ حاصلخیزی خاک و زیباسازی مناطق آلوده، مورد توجه زیادی قرار گرفته است (Glick, 2010). با این وجود، استفاده از این روش برای پالایش به‌زمان طولانی نیاز دارد. کاربرد باکتری‌ها نیز روش زیستی کارآمد و مقرون‌به‌صرفه برای حذف فلزات سمی محسوب می‌شوند (Vijayaraghavan & Yun, 2008). این ریزجانداران، گروه‌های عمده‌ای از موجودات زنده تک‌سلولی متعلق به پروکاریوت‌ها هستند که به‌دلیل اندازه کوچک و حضور گسترده در خاک و هوا، جزء مواد جاذب مناسب به‌شمار می‌آیند. ترکیبات شیمیایی موجود در دیواره سلولی باکتری‌ها، قادر به جداسازی غیرفعال فلزات هستند (Remacle, 1990). باکتری‌ها با ایجاد فیتوکلاتین‌های غنی از سیستئین با فلزات سنگین، تشکیل باند می‌دهند و از این طریق به پالایش آلودگی این فلزات کمک می‌کنند (Yang et al., 2014). در این بین، باکتری‌های سودوموناس (*Pseudomonas* sp.) و باسیلوس (*Bacillus* sp.) به‌دلیل ویژگی‌هایی همچون تنوع کاتابولیکی، توانایی زیاد در کلونیزاسیون ریشه و قابلیت آن‌ها در تولید دامنه وسیعی از آنزیم‌ها از جمله ACC دامیناز، سیدروفورها و مواد متابولیک، اهمیت ویژه‌ای دارند و از این نظر جزء مهم‌ترین پرشمارترین اعضای جمعیت باکتریایی ریشه‌گاه (Rhizosphere) هستند (Glick, 2010). گزارش‌هایی مبنی بر نقش باکتری‌های محرک رشد در کاهش اثرهای

مالون‌دی‌آلدنید برگ، مقدار سرب برگ و ریشه و نیز فسفر برگ پس از طی ۶۰ روز از اعمال تیمار باکتریایی اندازه‌گیری شدند.

ارتفاع نهال‌ها توسط خط‌کش برحسب سانتی‌متر از محل طوقه تا نوک ساقه اصلی برای هر تکرار محاسبه شد. پس از قطع اندام هوایی از سطح خاک و خارج کردن ریشه، وزن تر ریشه با ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری شد. سپس، ریشه‌ها در آن به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و وزن خشک آن نیز با همان ترازو تعیین شد. مقدار کلروفیل، فنل کل و فلاونوئید به ترتیب با روش‌های Arnon (۱۹۹۶)، Marinova و همکاران (۲۰۰۵) و Chang و همکاران (۲۰۰۲) اندازه‌گیری شد. روش مورد استفاده برای محاسبه فسفر برگ، روش اولسن (Olsen *et al.*, 1954) بود. برای اندازه‌گیری مقدار سرب در برگ و ریشه از روش Gupta (۲۰۰۹) استفاده شد. به منظور تعیین غلظت سرب، دستگاه جذب اتمی شیمادزو مدل UNICAM919AA به کار برده شد.

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز، یک گرم نمونه گیاهی به کمک نیتروژن مایع با سه میلی‌لیتر بافر استخراج فسفات پتاسیم (pH=7) با غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار در هاون ساییده شد. پیش‌ماده گایاکول نیز استفاده شد. در نهایت، منحنی تغییرات جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر هر ۱۰ ثانیه یک‌بار به مدت ۱۸۰ ثانیه با استفاده از روش طیف‌سنجی نوری (اسپکتروفتومتری JENWAY مدل UV-6505) در دمای آزمایشگاه (۲۵ درجه سانتی‌گراد) بررسی شد (Dhindsa *et al.*, 1981). برای اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدنید، ۰/۲ گرم از بافت برگ فریز شده با پنج میلی‌لیتر تری کلرواستیک‌اسید (TCA) ۰/۱ درصد ساییده شد. در نهایت، شدت جذب این محلول با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر به روش Paclcer و Heath (۱۹۶۹) ثبت شد.

تجزیه و تحلیل آماری

پس از بررسی نقاط پرت با نرم‌افزار Minitab و اطمینان

سوبتیلیس (*Bacillus subtilis*) به منظور افزایش جذب سرب و به عنوان یک کود زیستی برای بهبود رشد درخت مذکور استفاده شدند. در ادامه این پژوهش به باکتری‌های مذکور به ترتیب سودوموناس و باسیلوس گفته می‌شود.

مواد و روش‌ها

روش پژوهش

پژوهش پیش‌رو به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی در سال ۱۳۹۷ در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه زنجان انجام گرفت. ابتدا ۴۲ نهال یک‌ساله داغداغان (با میانگین قطر و ارتفاع به ترتیب ۶/۳ سانتی‌متر و ۵۱ سانتی‌متر) از اداره کل منابع طبیعی و آبخیزداری استان زنجان تهیه شدند. این نهال‌ها در بسترهای یکنواخت در گلدان‌های پلاستیکی با دهانه ۱۲ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۰ سانتی‌متر در گلخانه مستقر شدند. پیش از اعمال تیمارها، خاک گلدان‌ها آنالیز شد. خاک مورد استفاده از نوع شنی-رسی با کربن آلی ۱/۶ درصد، نیتروژن ۰/۱۸ درصد، فسفر ۱۲/۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم، پتاسیم ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و هدایت الکتریکی ۱/۰۲ دسی‌زیمنس بر متر بود. یک هفته پس از استقرار نهال‌ها، تیمار سرب با سه غلظت صفر، ۵۰، ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم طی دو مرحله با فاصله دو هفته و به منظور آلوده کردن خاک به صورت محلول به خاک گلدان‌ها اسپری شد. پس از سه هفته از مرحله اول تیمار سرب، تیمار باکتریایی که شامل سودوموناس و باسیلوس هر کدام با دو غلظت ۱۰^۵ و ۱۰^۸ باکتری زنده بر میلی‌لیتر بودند، در سه تکرار توسط سرنگ به خاک تزریق شد. باکتری‌ها از دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی دانشگاه تهران تهیه شدند. به منظور عدم آب‌شویی سرب، آبیاری در هر نوبت در حد ظرفیت زراعی صورت گرفت.

پارامترهای مورفولوژیک و فیزیولوژیک

صفت‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک شامل وزن‌های تر و خشک ریشه، ارتفاع گیاه، کلروفیل کل برگ، فنل کل برگ، فلاونوئید برگ و فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و

بر همه صفت‌های مذکور در سطح اطمینان حداقل ۹۵ درصد معنی‌دار بودند. نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل سرب و باکتری نشان داد که بیشینه وزن تر ریشه (با میانگین ۳۴ گرم در نهال) مربوط به کاربرد سودوموناس با غلظت 10^8 باکتری زنده بر میلی‌لیتر و بدون مصرف سرب بود (شکل ۱). کمترین مقدار این صفت (۱۴ گرم در نهال) نیز در تیمار سرب با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و بدون حضور باکتری مشاهده شد. بیشینه وزن خشک ریشه (۱۱/۴ گرم در نهال) متعلق به تیمار باسیلوس با غلظت 10^8 باکتری زنده بر میلی‌لیتر و شاهد (بدون سرب) بود، درحالی‌که کمترین مقدار آن (۳/۴ گرم در نهال) برای تیمار سرب با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و شاهد (بدون باکتری) به دست آمد (شکل ۲).

از پراکنش نرمال داده‌ها، تجزیه واریانس دوطرفه (Two-Way ANOVA) به منظور ارزیابی اثرات اصلی و متقابل غلظت‌های مختلف سرب و تیمار باکتریایی بر صفت‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی داغداغان استفاده شد. آزمون دانکن (Duncan) در سطح‌های اطمینان ۹۹ و ۹۵ درصد برای مقایسه میانگین صفات مورد بررسی بین تیمارهای مختلف در نرم‌افزار SAS 9.0 به کار برده شد.

نتایج

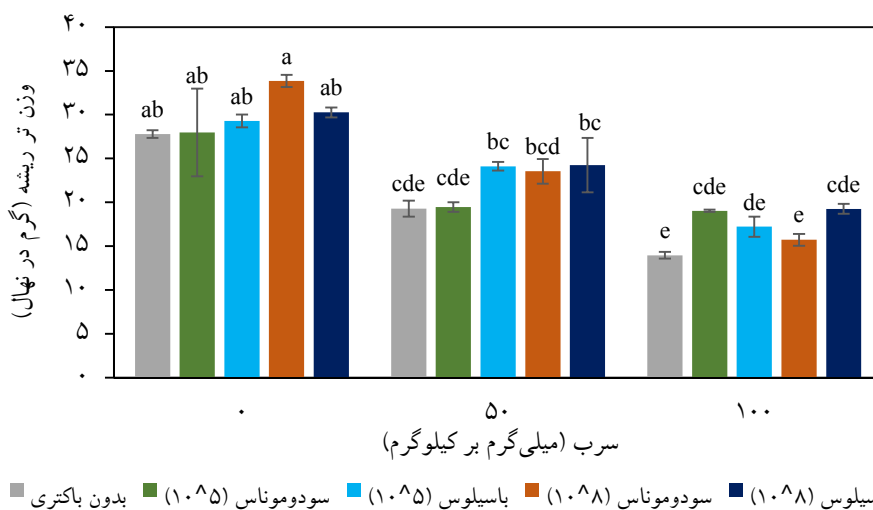
صفت‌های مورفولوژیکی

بر اساس نتایج تجزیه واریانس در جدول ۱، معنی‌داری تأثیر سرب بر هر سه صفت مورفولوژیکی مورد مطالعه (وزن‌های تر و خشک ریشه و ارتفاع نهال) تأیید شد ($p < 0.01$). تأثیر باکتری و نیز اثرات متقابل سرب و باکتری

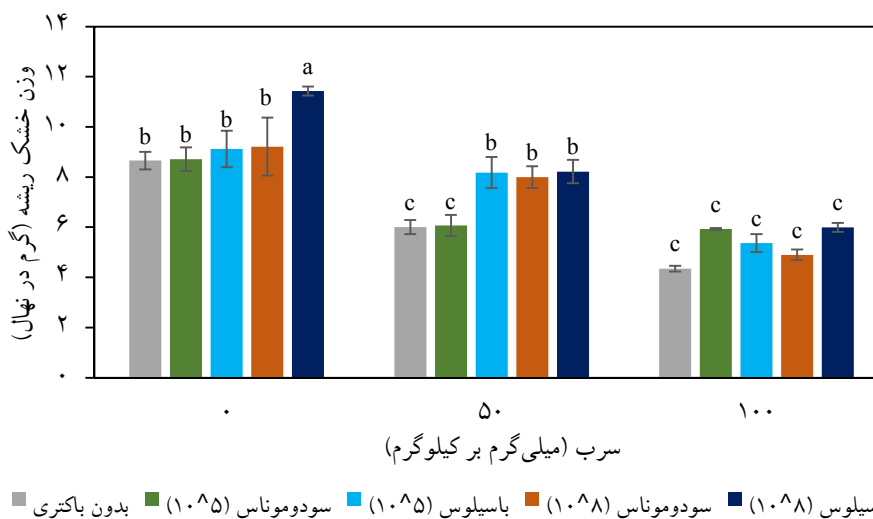
جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثرات اصلی و متقابل سرب و باکتری بر برخی صفت‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی در نهال‌های داغداغان

منبع تغییرات	سرب	باکتری	سرب × باکتری	خطا	ضریب تغییرات (%)
درجه آزادی	۲	۴	۸	۳۰	-
وزن تر ریشه	۶۲۲/۲۵**	۲۸/۱*	۲۱/۲۵*	۱۲/۵۵	۱۵/۴
وزن خشک ریشه	۶۳/۶۳**	۶/۰۹**	۵/۶۴**	۱/۰۵	۱۳/۹۵
ارتفاع نهال	۱۱۱۸/۲۸**	۱۳۱/۰۲**	۱۹/۸۷*	۱/۷۷	۳/۵۹
کلروفیل کل	۲/۲۱**	۰/۲۳**	۰/۰۵**	۰/۰۱	۷/۷۴
فنل کل	۲۸/۸**	ns۳/۷	ns۱/۱۶	۱/۹	۱۳/۰۶
فلاونوئید	۲۲/۶**	۰/۷۸**	۰/۳۹**	۰/۰۸۵	۱۵/۶۳
مالون‌دی‌آلدئید	۲/۸۷**	۰/۱۱**	ns۰/۰۱۵	۰/۰۲۵	۱۷/۵۲
پراکسیداز	۰/۳۶**	۰/۰۴۵**	۰/۰۲۷**	۰/۰۰۰۹۱	۱۵/۹۲
فسفر برگ	۰/۰۰۴۵**	۰/۰۰۰۳۳**	۰/۰۰۰۱۲**	۰/۰۰۰۰۴	۵/۴۹
سرب ریشه	۹۰۷/۳۸**	۹/۴۴**	۵/۹۴**	۱/۴۴	۸/۰۴
سرب برگ	۶۳۱/۵۷**	۲۰/۴۳**	ns۲/۷۳	۱/۵۹	۸/۵۳

** معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۹ درصد؛ * معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۵ درصد؛ ns غیر معنی‌دار



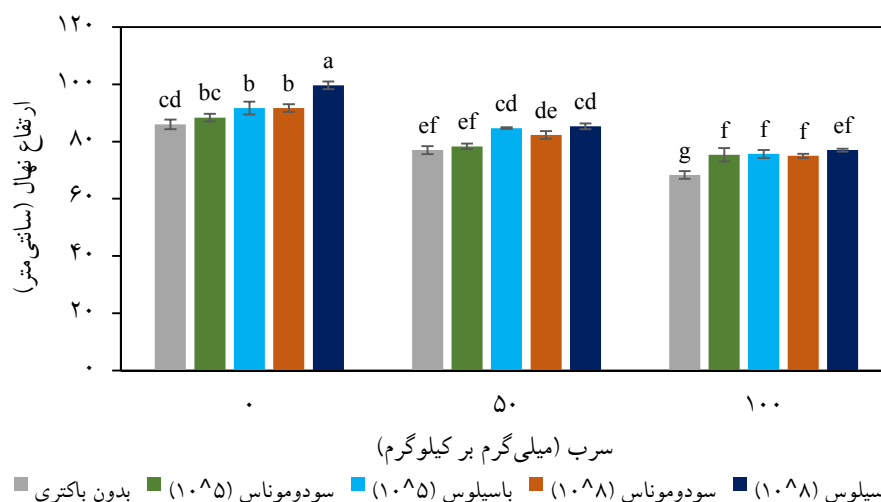
شکل ۱- مقایسه میانگین اثرات متقابل سرب و باکتری‌های محرک رشد بر وزن تر ریشه داغداغان حرف‌های متفاوت انگلیسی بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد هستند. عددهای داخل پرانتز در راهنمای شکل، تعداد باکتری زنده در میلی لیتر را نشان می‌دهند.



شکل ۲- مقایسه میانگین اثرات متقابل سرب و باکتری‌های محرک رشد بر وزن خشک ریشه داغداغان حرف‌های متفاوت انگلیسی بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۹ درصد هستند. عددهای داخل پرانتز در راهنمای شکل، تعداد باکتری زنده در میلی لیتر را نشان می‌دهند.

می‌رفت، کوتاه‌ترین نهال‌ها (میانگین ۶۸ سانتی‌متر) در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم در شرایط شاهد (بدون باکتری) مشاهده شد (شکل ۳).

بیشترین ارتفاع نهال با طول ۱۰۰ سانتی‌متر مربوط به تیمار عدم مصرف سرب همراه با کاربرد باسیلوس با غلظت ۱۰^۸ باکتری زنده بر میلی‌لیتر بود. همان‌طورکه انتظار

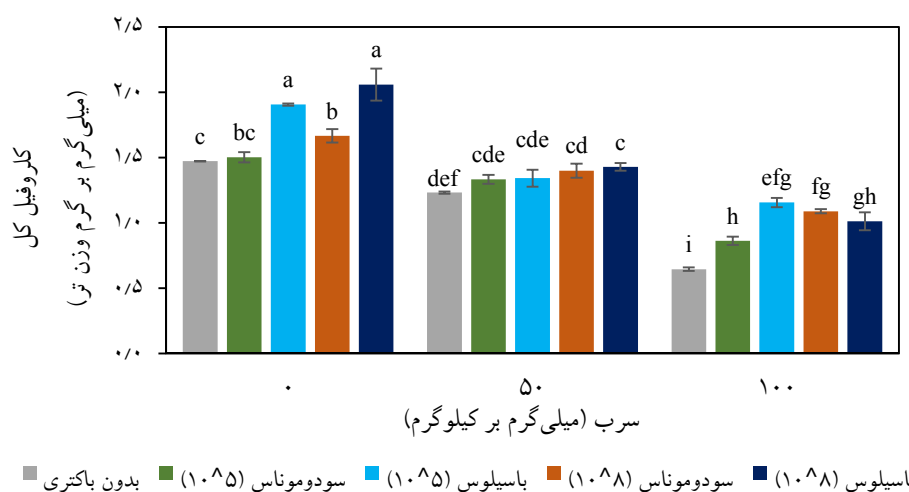


شکل ۳- مقایسه میانگین اثرات متقابل سرب و باکتری‌های محرک رشد بر ارتفاع نهال‌های داغداغان حرف‌های متفاوت انگلیسی بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد هستند. عددهای داخل پرانتز در راهنمای شکل، تعداد باکتری زنده در میلی‌لیتر را نشان می‌دهند.

کلروفیل کل، فلاونوئید، پراکسیداز، فسفر برگ و سرب ریشه معنی‌دار بودند ($p < 0.01$). طبق نتایج آزمون دانکن، بیشترین مقدار کلروفیل کل (۲/۰۶ میلی‌گرم بر گرم تر برگ) در تیمار عدم مصرف سرب و کاربرد باسیلوس با غلظت 10^8 باکتری زنده بر میلی‌لیتر مشاهده شد (شکل ۴).

صفت‌های فیزیولوژیکی

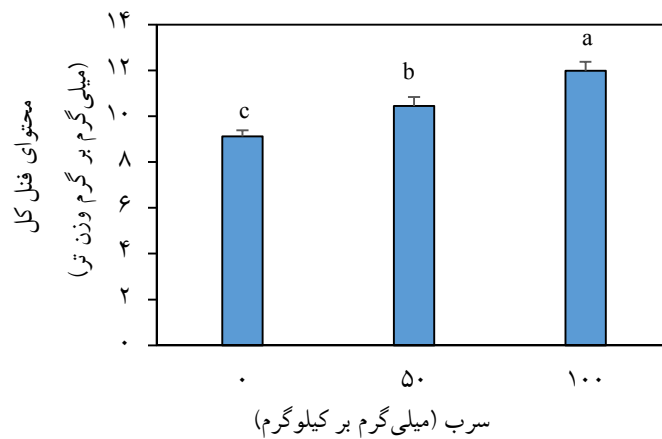
براساس نتایج تجزیه واریانس در جدول ۱، معنی‌داری کاربرد سرب بر همه صفت‌های فیزیولوژیکی مورد مطالعه تأیید شد ($p < 0.01$). به جز فنل کل، اثر باکتری نیز بر همه صفت‌های مورد نظر در سطح اطمینان ۹۹ درصد معنی‌دار به‌دست آمد. همچنین، اثرات متقابل سرب و باکتری بر



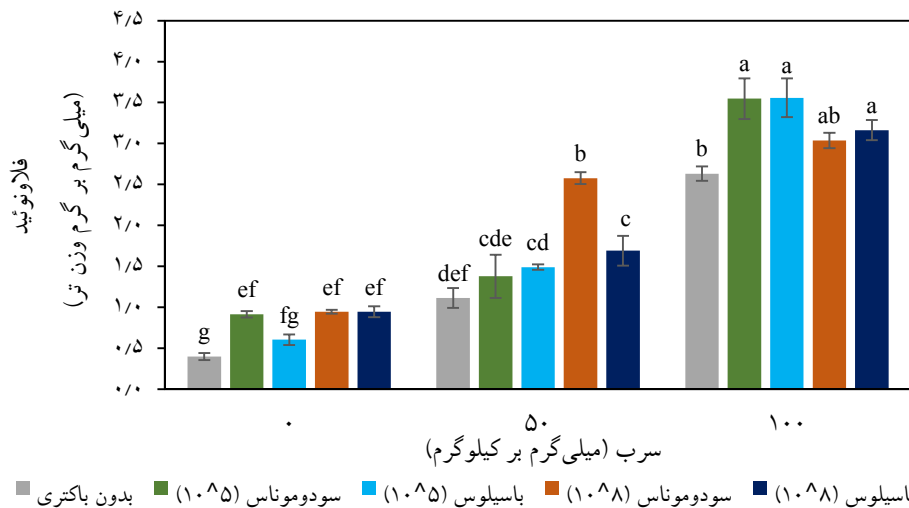
شکل ۴- مقایسه میانگین اثرات متقابل سرب و باکتری‌های محرک رشد بر مقدار کلروفیل کل در برگ‌های داغداغان حرف‌های متفاوت انگلیسی بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۹ درصد هستند. عددهای داخل پرانتز در راهنمای شکل، تعداد باکتری زنده در میلی‌لیتر را نشان می‌دهند.

فلاونوئید (۳/۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم همراه با غلظت‌های 10^5 باسیلوس بر میلی‌لیتر یا 10^5 سودوموناس بر میلی‌لیتر مشاهده شد (شکل ۶). تیمار عدم مصرف سرب و بدون باکتری نیز کمترین مقدار فلاونوئید (۰/۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) را نشان داد.

همان‌طور که پیش‌تر ذکر شد، فنل کل فقط تحت تأثیر تیمار سرب قرار گرفت (جدول ۱). بیشترین و کمترین مقدار این صفت (به ترتیب ۱۱/۹۸ و ۹/۱۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) به ترتیب در تیمارهای ۱۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم و عدم مصرف سرب مشاهده شد (شکل ۵). براساس نتایج اثرات متقابل سرب و باکتری، بیشترین مقدار



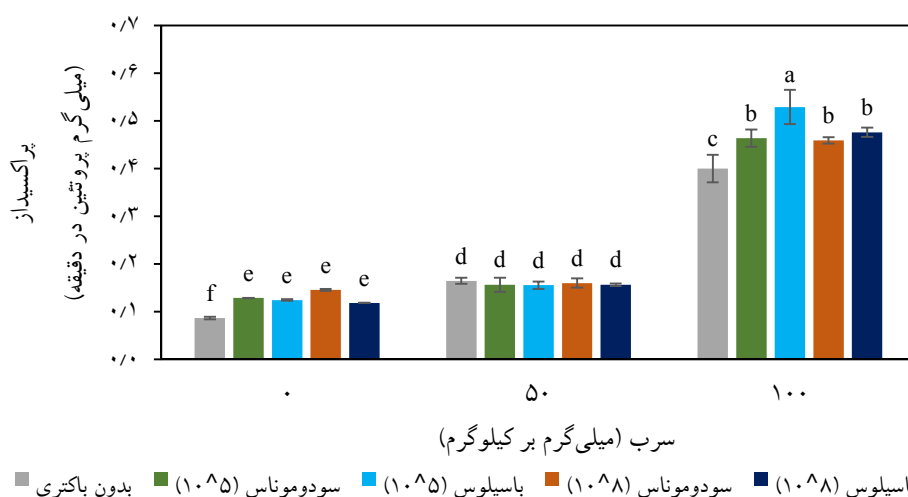
شکل ۵- مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف سرب بر مقدار فنل کل برگ در داغداغان حرف‌های متفاوت انگلیسی بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۹ درصد هستند.



شکل ۶- مقایسه میانگین اثرات متقابل سرب و باکتری‌های محرک رشد بر مقدار فلاونوئید برگ در داغداغان حرف‌های متفاوت انگلیسی بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۹ درصد هستند. عددهای داخل پرانتز در راهنمای شکل، تعداد باکتری زنده در میلی‌لیتر را نشان می‌دهند.

آنزیم مذکور (۰/۰۹ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) در تیمار شاهد (عدم مصرف سرب و بدون باکتری) مشاهده شد (شکل ۷).

بیشترین فعالیت پراکسیداز (۰/۵۳ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) متعلق به تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم و ۱۰^۵ باسیلوس بر میلی‌لیتر بود، درحالی‌که کمترین فعالیت



شکل ۷- مقایسه میانگین اثرات متقابل سرب و باکتری‌های محرک رشد بر فعالیت آنزیم پراکسیداز برگ در داغداغان حرف‌های متفاوت انگلیسی بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۹ درصد هستند. عددهای داخل پرانتز در راهنمای شکل، تعداد باکتری زنده در میلی‌لیتر را نشان می‌دهند.

میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) را داشت. همچنین، بیشترین مقدار این صفت (۱/۰۳ و ۰/۹۶ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) به ترتیب در شاهد و ۱۰^۸ سودوموناس بر میلی‌لیتر مشاهده شد که بین این دو، تفاوت معنی‌داری وجود نداشت.

بیشترین و کمترین مقدار مالون‌دی‌آلدئید (۱/۳۹ و ۰/۵۳ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) به ترتیب در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم و شاهد مشاهده شد (جدول ۲). در بین تیمارهای باکتری، سودوموناس با غلظت ۱۰^۸ باکتری زنده بر میلی‌لیتر، کمترین مقدار مالون‌دی‌آلدئید (۰/۷۴)

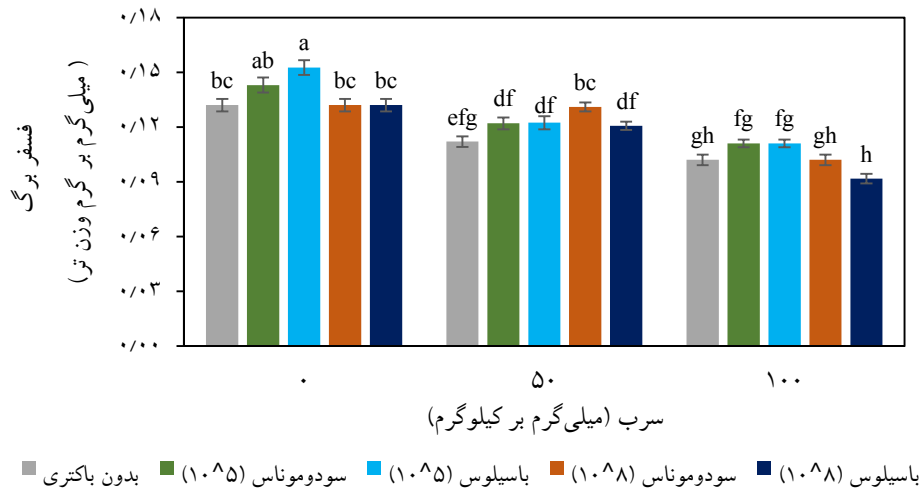
جدول ۲- مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف سرب بر برخی صفات فیزیولوژیک داغداغان

سرک برگ	سرب ریشه	فسفر برگ	مالون‌دی‌آلدئید	غلظت سرب
(میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	(میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	(میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	(میلی‌گرم پروتئین در دقیقه)	(میلی‌گرم بر کیلوگرم)
۰۷/۷۴	۰۷/۱۷	۰/۱۳	۰/۵۳	۰
۰۱۶/۱۲	۰۱۴/۹۶	۰/۱۲	۰/۷۹	۵۰
۰۲۰/۵۲	۰۲۲/۷۳	۰/۱۰	۰/۳۹	۱۰۰

حرف‌های متفاوت انگلیسی در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان حداقل ۹۵ درصد هستند.

میلی گرم بر گرم وزن تر برگ) در غلظت ۱۰۰ میلی گرم سرب بر کیلوگرم و 10^8 باسیلوس بر میلی لیتر مشاهده شد (شکل ۸).

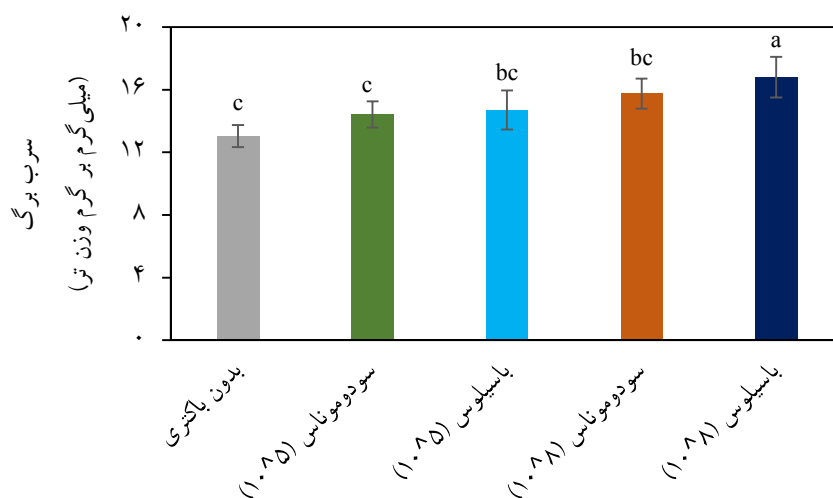
بیشینه مقدار فسفر (۰/۱۵۳) میلی گرم بر گرم وزن تر برگ) مربوط به عدم مصرف سرب و غلظت 10^5 باسیلوس بر میلی لیتر بود، درحالی که کمترین مقدار آن (۰/۰۹۲)



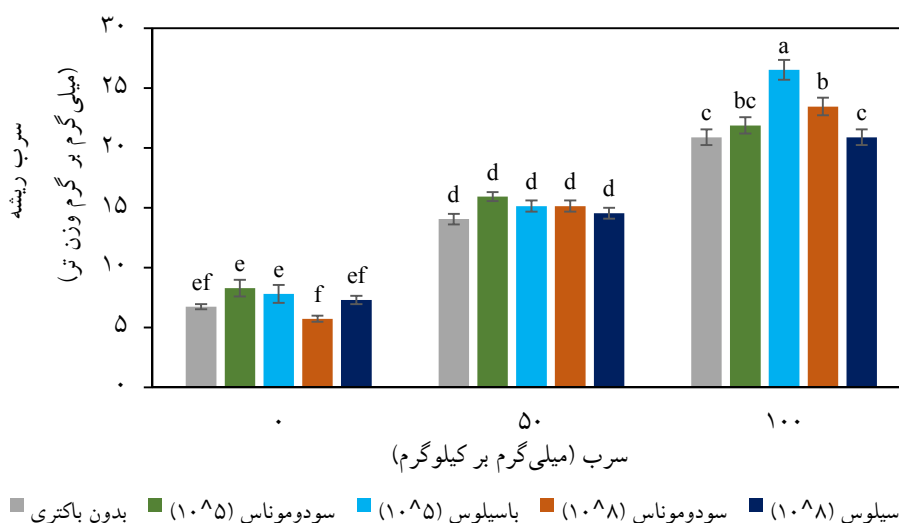
شکل ۸- مقایسه میانگین اثرات متقابل سرب و باکتری های محرک رشد بر مقدار فسفر در برگ های داغداغان حرف های متفاوت انگلیسی بیانگر اختلاف معنی دار در سطح اطمینان ۹۹ درصد هستند. عددهای داخل پرانتز در راهنمای شکل، تعداد باکتری زنده در میلی لیتر را نشان می دهند.

میلی گرم بر گرم وزن تر) در تیمار شاهد (بدون باکتری) مشاهده شد (شکل ۹). به طور کلی، کاربرد باکتری های محرک رشد سبب افزایش جذب سرب در برگ های داغداغان شد. اثرات متقابل تیمارهای سرب و باکتری بر مقدار جذب سرب در ریشه نشان داد که بیشینه سرب ریشه (با میانگین ۲۶/۵۳ میلی گرم بر گرم وزن تر) متعلق به تیمار ۱۰۰ میلی گرم سرب بر کیلوگرم همراه با 10^5 باسیلوس بر میلی لیتر است، درحالی که کمترین مقدار (۵/۷۳ میلی گرم بر گرم وزن تر) در تیمار سودوموناس با غلظت 10^8 باکتری زنده بر میلی لیتر و بدون مصرف سرب مشاهده شد (شکل ۱۰).

بر اساس نتایج موجود در جدول ۱، اثرات اصلی کاربرد سرب و باکتری بر مقدار سرب ریشه و برگ در سطح اطمینان ۹۹ درصد معنی دار بودند، درحالی که معنی داری اثرات متقابل آن ها فقط بر مقدار سرب ریشه تأیید شد ($p < 0.01$). در تیمار کاربرد ۱۰۰ میلی گرم سرب بر کیلوگرم، بیشترین مقدار سرب برگ (۲۰/۵۲ میلی گرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد، درحالی که کمترین مقدار آن (۷/۷۴ میلی گرم بر گرم وزن تر) مربوط به تیمار عدم مصرف سرب بود (جدول ۲). همچنین، بیشینه مقدار سرب برگ (۱۶/۸ میلی گرم بر گرم وزن تر) در تیمار باسیلوس با غلظت 10^8 باکتری زنده بر میلی لیتر و کمینه آن (۱۳/۰۴)



شکل ۹- مقایسه میانگین اثر باکتری‌های محرک رشد بر مقدار سرب در برگ‌های داغداغان حرف‌های متفاوت انگلیسی بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۹ درصد هستند. عددهای داخل پرانتز در راهنمای شکل، تعداد باکتری زنده در میلی‌لیتر را نشان می‌دهند.



شکل ۱۰- مقایسه میانگین اثرات متقابل سرب و باکتری‌های محرک رشد بر مقدار سرب در ریشه داغداغان حرف‌های متفاوت انگلیسی بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۹ درصد هستند. عددهای داخل پرانتز در راهنمای شکل، تعداد باکتری زنده در میلی‌لیتر را نشان می‌دهند.

بحث

فسفات‌های آلی و معدنی می‌توانند جذب عناصر غذایی و رویش گیاه را افزایش دهند (Khan *et al.*, 2009; Glick, 2003). ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه علاوه بر نقشی که در حفاظت از گیاهان در مقابل سمیت فلزات سنگین ایفا می‌کنند،

باکتری‌های محرک رشد از طریق سازوکارهای متعددی مانند تثبیت زیستی نیتروژن، تولید هورمون‌های گیاهی، ویتامین‌ها، آنزیم‌ها، سیدروفورها، آنتی‌بیوتیک‌ها و انحلال

در نتیجه، کاربرد فسفر به عنوان حامل انرژی در فتوسنتز می‌شوند که تولید بیشتر کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها را به دنبال دارند (Demir, 2004; Hong *et al.*, 2012).

فسفر، ریزمغذی اصلی برای رویش و تولید مثل گیاهان و دومین عنصر مهم در تغذیه گیاهی محسوب می‌شود که در بیشتر خاک‌ها نامحلول است. این عنصر، نقش چشمگیری در بسیاری از واکنش‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان دارد (Fageria *et al.*, 2013). به نظر می‌رسد که باکتری‌های محرک رشد با تولید اسیدهای آلی و تغییر pH در اطراف ریشه گیاه و به دنبال آن، افزایش حلالیت عناصر کم‌مصرف سبب جذب زیادتر آن‌ها توسط گیاهان می‌شوند (Zare *et al.*, 2018). باکتری‌های حل‌کننده فسفات در پژوهش پیش‌رو سبب بهبود جذب فسفر در برگ‌های داغداغان شدند. بیشینه مقدار فسفر در برگ‌های نهال‌های مورد مطالعه در تیمار باسیلوس با غلظت 10^5 باکتری در میلی‌لیتر مشاهده شد (شکل ۸). Canbolat و همکاران (۲۰۰۶) نیز افزایش جذب فسفر توسط جو (*Hordeum vulgare* L.) در نتیجه تلقیح باکتری‌های حل‌کننده فسفات به خصوص *Bacillus M-13* را گزارش کردند.

بر اساس نتایج دیگر پژوهش پیش‌رو با تشدید تنش سرب، نهال‌ها از سازوکارهای حفاظتی آنتی‌اکسیدانی مانند افزایش فلاونوئید و فنل استفاده می‌کنند. ترکیب‌های فنلی به عنوان یکی از ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانت موجود در گیاهان در افزایش تحمل آن‌ها به فلزات سنگین، تأثیر بسزایی دارند (Kováčik *et al.*, 2011). زمانی که گیاه در معرض تنش‌های محیطی قرار می‌گیرد، رادیکال‌های آزاد ایجاد می‌شوند. گیاهان برای مقابله با آن‌ها، سیستم دفاعی کارایی دارند که می‌توانند این رادیکال‌های آزاد را از بین ببرند یا خنثی کنند (Walker & McKersie, 1993). به طور کلی، مقدار آنتی‌اکسیدان‌ها، ارتباط مستقیمی با غلظت عناصر کم‌مصرف دارد. همان‌طور که پیش‌تر ذکر شد، باکتری‌های محرک رشد با افزایش حلالیت عناصر کم‌مصرف سبب جذب زیادتر آن‌ها توسط گیاهان می‌شوند که بهبود قدرت آنتی‌اکسیدانی در گیاهان را در پی دارد (Zare *et al.*,

سبب بهبود حاصلخیزی خاک و افزایش بازدهی گیاهان از طریق فراهم کردن عناصر غذایی مورد نیاز آن‌ها و سنتز مواد تنظیم‌کننده رشد می‌شوند. Dell'Amico و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که این باکتری‌ها می‌توانند رشد و ارتفاع ساقه کلزا (*Brassica napus* L.) را در برابر تنش‌های خارجی از جمله فلزات سنگین افزایش دهند. نتایج پژوهش پیش‌رو نشان داد که کاربرد سرب در محیط رشد داغداغان، رویش آن را به شدت کاهش داد، اما با حضور باکتری‌های محرک رشد به ویژه غلظت 10^8 باسیلوس بر میلی‌لیتر می‌توان از کاهش شدید رشد داغداغان جلوگیری کرد. باسیلوس، یک باکتری میله‌ای، هوازی و گرم مثبت است که به دلیل ساختار دیواره سلولی متفاوت نسبت به انواع گرم منفی، توانایی بیشتری در اتصال به فلزات دارد (Matyar *et al.*, 2008). به نظر می‌رسد که این باکتری می‌تواند اثر مساعدی بر رشدونمو داغداغان تحت شرایط تنش داشته باشد. Rostamikia و همکاران (۲۰۱۷) با بررسی اثر باکتری‌های محرک رشد بر صفات رویشی و عناصر تغذیه‌ای نونهال‌های فندق (*Corylus avellana* L.) گزارش کردند که این باکتری‌ها سبب افزایش زی‌توده ریشه و اندام هوایی می‌شوند. به طوری که زی‌توده و حجم ریشه نونهال‌های تلقیح‌شده فندق تحت تأثیر باکتری سودوموناس به ترتیب $79/3$ و $68/8$ درصد در مقایسه با شاهد افزایش یافتند.

کاهش مقدار کلروفیل برگ در گیاهان تحت تنش فلزات سنگین به علت مهار مرحله‌های مختلف بیوسنتز این ماده و احتمالاً به واسطه جلوگیری از سنتز دلتا-آمینولولینیک و تشکیل پروتوکلروفیلید ردوکتاز رخ می‌دهد (Khalighi Jamal-Abad & Khara, 2008). نتایج پژوهش پیش‌رو نیز حاکی از نقش غلظت‌های مختلف سرب در کاهش شدید مقدار کلروفیل بود، در حالی که تیمار باکتری توانست در همان شرایط تنش سرب، مقدار این رنگیزه را نسبت به شاهد به طور معنی‌داری افزایش دهد (شکل ۴). باکتری‌های محرک رشد با آزادسازی اسیدهای آلی، کاهش pH خاک و یا چنگالش (Chelation) یون‌های کلسیم سبب تثبیت فسفر در خاک، افزایش جذب آن توسط ریشه و

طراحی فضای سبز، کاشت در مناطق مختلف صنعتی و شهری و پاک‌سازی زمین‌های کشاورزی پیشنهاد می‌شود.

منابع مورد استفاده

- Aalipour, H., Nikbakht, A., Etemadi, N., Soleimani, M. and Rejali, F., 2019. Evaluating the effect of cadmium on the decline of Arizona cypress seedlings and the enhancement role of mycorrhizal fungus and plant growth promoting rhizobacteria. *Journal of Water and Soil Science (Science and Technology of Agriculture and Natural Resources)*, 23(2): 417-431 (In Persian).
- Ali, M.B., Vajpayee, P., Tripathi, R.D., Rai, U.N., Singh, S.N. and Singh, S.P., 2003. Phytoremediation of lead, nickel, and copper by *Salix acmophylla* Boiss.: Role of antioxidant enzymes and antioxidant substances. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 70: 462-469.
- Arnon, D.I., 1996. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenol oxidase in beta vulgaris. *Plant Physiology*, 24: 1-15.
- Azampoor, S., Pilehvar, B., Shirvany, A., Bayramzadeh, V. and Ahmadi, M., 2013. Nickel phytoremediation by leaves of planted species (*Fraxinus rotundifolia*, *Ulmus densa*, *Salix alba*) (Case study: Kermanshah oil refinery area). *Iranian Journal of Forest*, 5(2): 141-150 (In Persian).
- Canbolat, M.Y., Bilen, S., Çakmakçı, R., Şahin, F. and Aydın, A., 2006. Effect of plant growth-promoting bacteria and soil compaction on barley seedling growth, nutrient uptake, soil properties and rhizosphere microflora. *Biology and Fertility of Soils*, 42(4): 350-357.
- Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M. and Chern, J.C., 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3): 178-182.
- Dehnavi, S., Matinkhah, H. and Nourbakhsh, F., 2014. The role of Hackberry "*Celtis caucasica*" as nitrogen-fixing trees on understory's soil properties in reserved area in Ardasteh-Dehaghan in Isfahan. *Iranian Journal of Forest and Poplar Research*, 21(4): 643-653 (In Persian).
- Dell'Amico, E., Cavalca, L. and Andreoni, V., 2008. Improvement of *Brassica napus* growth under cadmium stress by cadmium-resistant rhizobacteria. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(1): 74-84.
- Demir, S., 2004. Influence of arbuscular mycorrhiza on some physiological growth parameters of pepper. *Turkish Journal of Biology*, 28: 85-90.
- Dhindsa, R.S., Plumb-Dhindsa, P. and Thorpe, T.A.,

2018). از میان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، پراکسیداز نقش مهمی در از بین بردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن به‌ویژه پراکسید هیدروژن ایفا می‌کند. براساس پژوهش Ali و همکاران (۲۰۰۳)، فعالیت زیاد آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در *Salix acmophylla* Boiss. نتیجه راهبردهای مختلفی است که گیاه برای بقا خود تحت تنش فلزاتی مانند مس، نیکل و سرب به‌کار می‌برد.

به‌طور معمول افزایش غلظت عناصر در اطراف ریشه، غلظت آن‌ها در اندام‌های هوایی گیاه را نیز زیاد می‌کند. زیرا آب و عناصر از سمت ریشه‌های گیاه به سمت اندام هوایی جریان دارند. افزایش غلظت سرب در تیمارهای پژوهش پیش‌رو سبب افزایش جذب آن در اندام هوایی و ریشه‌های داغداغان شد. باکتری‌های حل‌کننده فلزات سنگین و محرک رشد به بهبود انتقال کاتیون‌های فلزی از ریشه‌های گیاه به سمت اندام‌های هوایی کمک می‌کنند.

در مجموع، با توجه به سمیت فلز سرب حتی در غلظت‌های کم باید به منابع ورودی این آلاینده به محیط زیست توجه شود. از سوی دیگر، شناسایی، جداسازی و کاربرد باکتری‌های بومی محرک رشد گیاه و مقاوم، اثرات تنش را کاهش می‌دهد و به بهبود رشد گیاه کمک می‌کند. نتایج تجزیه واریانس در پژوهش پیش‌رو نشان داد که کاربرد سرب بر همه صفات‌های مورد بررسی در سطح اطمینان ۹۹ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). تیمارهای سرب نسبت به شاهد سبب کاهش وزن‌های تر و خشک ریشه، ارتفاع نهال، کلروفیل کل و غلظت فسفر برگ شدند، در حالی که این تیمارها، افزایش فنل کل، فلاونوئید، پراکسیداز، مالون‌دی‌آلدئید و غلظت سرب برگ و ریشه را در پی داشتند. به‌طور کلی، کاربرد سرب در محیط رشد داغداغان سبب کاهش شدید صفات‌های رشدی آن شد، اما با حضور باکتری‌های محرک رشد به‌خصوص غلظت 10^8 باسیلوس بر میلی‌لیتر می‌توان از این کاهش شدید جلوگیری کرد و روند گیاه‌پالایی را سرعت بخشید. با توجه به استقرار کارخانه سرب و روی در زنجان و آلودگی ناشی از آن، داغداغان می‌تواند به‌عنوان یک گونه مقاوم به این تنش معرفی شود. کاربرد بیشتر این گونه به‌منظور حفاظت از خاک و آب،

- and vegetables. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*, 40(3): 255-260.
- Matyar, F., Kaya, A. and Dinçer, S., 2008. Antibacterial agents and heavy metal resistance in Gram-negative bacteria isolated from seawater, shrimp and sediment in Iskenderun Bay, Turkey. *Science of The Total Environment*, 407(1): 279-285.
 - Mishra, V., Gupta, A., Kaur, P., Singh, S., Singh, N., Gehlot, P. and Singh, J., 2016. Synergistic effects of Arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting rhizobacteria in bioremediation of iron contaminated soils. *International Journal of Phytoremediation*, 18(7): 697-703.
 - Olsen, S.R., Cole, C.V., Watanabe, F.S. and Dean, L.A., 1954. Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. USDA Circular. Government. Printing Office. Washington D.C., 939(1): 1-19.
 - Remacle, J., 1990. The cell wall and metal binding: 83-92. In: Volesky, B. (Ed.). *Biosorption of Heavy Metals*. CRC Press, Boca Raton, Florida, 408p.
 - Rostamikia, Y., Tabari Kouchaksaraei, M., Asgharzadeh, A. and Rahmani, A., 2017. Effect of growth promoting rhizobacteria on growth and nutrient elements of common hazelnut (*Corylus avellana* L.) seedlings in Ardabil Fandoqlou nursery. *Iranian Journal of Forest and Poplar Research*, 25(1): 116-126 (In Persian).
 - Salehi, A., Tabari, M. and Shirvani, A., 2014. Survival, growth and Pb concentration of *Populus alba* (clone 44/9) seedling in Pb-contaminated soil. *Iranian Journal of Forest*, 6(4): 419-433 (In Persian).
 - Shen, Z.G., Li, X.D., Wang, C.C., Chen, H.M. and Chua, H., 2002. Lead phytoextraction from contaminated soil with high-biomass plant species. *Journal of Environmental Quality*, 31(6): 1893-1900.
 - Vijayaraghavan, K. and Yun, Y.S., 2008. Bacterial biosorbents and biosorption. *Biotechnology Advances*, 26(3): 266-291.
 - Walker, M.A. and McKersie, B.D., 1993. Role of the ascorbate-glutathione antioxidant system in chilling resistance of tomato. *Journal of Plant Physiology*, 141(2): 234-239.
 - Yang, S., Liang, S., Yi, L., Xu, B., Cao, J., Guo, Y. and Zhou, Y., 2014. Heavy metal accumulation and phytostabilization potential of dominant plant species growing on manganese mine tailings. *Frontiers of Environmental Science and Engineering*, 8(3), 394-404.
 - Zare, A.A., Malakouti, M.J., Bahrami, H.A. and Sefidkon, F., 2018. Effect of bio fertilizers on the yield and essential oil composition of Lemon Verbena (*Lippia citriodora*). *Horticultural Plants Nutrition*, 1(1): 29-40 (In Persian).
 - 1981. Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany*, 32(1): 93-101.
 - Dickinson, N.M. and Pulford, I.D., 2005. Cadmium phytoextraction using short-rotation coppice *Salix*: the evidence trail. *Environment International*, 31(4): 609-613.
 - Fageria, N.K., Moreira, A. and Dos Santos, A.B., 2013. Phosphorus uptake and use efficiency in field crops. *Journal of Plant Nutrition*, 36: 2013-2022.
 - Fu, J., Zhou, Q., Liu, J., Liu, W., Wang, T., Zhang, Q. and Jiang, G., 2008. High levels of heavy metals in rice (*Oryza sativa* L.) from a typical E-waste recycling area in southeast China and its potential risk to human health. *Chemosphere*, 71: 1269-1275.
 - Glick, B.R., 2003. Phytoremediation: Synergistic use of plants and bacteria to clean up the environment. *Biotechnology Advances*, 21(5): 383-393.
 - Glick, B.R., 2010. Using soil bacteria to facilitate phytoremediation. *Biotechnology Advances*, 28(3): 367-374.
 - Gupta, P.K., 2009. *Soil, Plant, Water and Fertilizer Analysis*. Agrobios, Jodhpur, 366p.
 - Heath, R.L. and Packer, L., 1968. Photo peroxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Biochem. Biophys*, 125(1): 189-98.
 - Hong, L., Li, M., Luo, J., Cao, X., Qu, L., Gai, Y., ... and Luo, Z.B., 2012. N-fertilization has different effects on the growth, carbon and nitrogen physiology, and wood properties of slow- and fast-growing *Populus* species. *Journal of Experimental Botany*, 63(17): 6173-6185.
 - Khalighi Jamal-Abad, A. and Khara, J., 2008. The effect of arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* on some growth and physiological parameters in wheat (CV. Azar2) plants under cadmium toxicity. *Iranian Journal of Biology*, 21(2): 216-230 (In Persian).
 - Khan, M.S., Zaidi, A., Wani, P.A. and Over, M., 2009. Role of plant growth promoting rhizobacteria in the remediation of metal contaminated soils. *Environmental Chemistry Letters*, 7: 1-19.
 - Khatamsaz, M., 1990. *Flora of Iran*. No. 4: Ulmaceae. Published by Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, 28p (In Persian).
 - Kováčik, J., Klejdus, B., Hedbavny, J., Covaš, S. and Zoň, J., 2011. Significance of phenols in cadmium and nickel uptake. *Journal of Plant Physiology*, 168(6): 576-584.
 - Marinova, D., Ribarova, F. and Atanassova, M., 2005. Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits

The effect of growth-promoting bacteria on some morphologic and physiological traits of *Celtis caucasica* Willd. under lead stress

F. Moradi ¹, M. Alaei ^{2*}, M. Arghavani ³ and F. Salehi ⁴

1- M.Sc. Student of Ornamental plants, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

2* - Corresponding author, Assistant Prof, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran
E-mail: maelaei@znu.ac.ir

3- Assistant Prof, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

4- Ph.D. Candidate of breeding and biotechnology of horticultural plants, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

Received: 26.11.2021

Accepted: 05.02.2022

Abstract

In order to investigate the effect of plant growth in soil pollution conditions in hackberry plant (*Celtis caucasica* Willd.), a test was carried out as a factorial design in a completely random pattern in the research conservatory of the University of Zanjan, Iran. The treatments included three levels of lead (0, 50, 100 mg/kg) and bacterial treatments including *Pseudomonas putida* and *Bacillus subtilis* with concentrations of 10^5 and 10^8 cfu/ml. The attributes of the evaluation include root fresh and dry weights, plant height, total chlorophyll, total phenol, flavonoids and enzyme activity including peroxidase and malon-di-aldehyde, lead value in root and leaf and phosphorus in leaf. The two-way analysis of variance and compare the comparison with Duncan's method were used in order to investigate the effects of the lead stress and bacteria. The findings of this study showed that the use of bacteria in lead stress improved the growth and function of hackberry plant including root fresh and dry weights, plant height, total chlorophyll and flavonoids. The maximum amount of peroxidase was obtained in the treatment of 100 mg/kg lead and *Bacillus subtilis* (10^5 cfu/ml). In this treatment, the amount of lead in the fresh roots was 26.53 mg/g, which was a significant difference compared to the other treatments. Also, the highest amount of lead uptake by leaves (16.8 mg/g Fw) was observed under the treatment of *Bacillus subtilis* with a concentration of 10^8 cfu/ml. While hackberry plant performed well in terms of phytoremediation under lead stress, its growth characteristics were significantly diminished, but with the presence of growth-promoting bacteria specially *Bacillus subtilis* that can prevent severe reduction.

Keywords: *Bacillus subtilis*, peroxidase, phosphorus, phytoremediation, *Pseudomonas putida*.