نشریه علمی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۳۶، شماره ۲، صفحه ۲۴۴-۲۲۷ (۱۳۹۹)

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ijmapr.2020.128076.2656
شناسه دیجیتال (DOR): 98.1000/1735-0905.1399.36.227.100.2.1578.1576

تأثیر سویه‌های مختلف باکتری سودوموناس فلورسنس بر فاکتورهای مورفولوژیک، بیوشیمیایی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گیاه شوید (*Anethum graveolens* L.) تحت تنش سرب

اکرم رهبری[۱]، حمیده فاطمی[۲*] و بهروز اسماعیل‌پور[۳]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه باغبانی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۲*- نویسنده مسئول، دانشجوی دکتری، گروه باغبانی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران، پست الکترونیک: Ha.fatemi@uma.ac.ir

۳- دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

تاریخ دریافت: مهر ۱۳۹۸ تاریخ اصلاح نهایی: بهمن ۱۳۹۸ تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۹۸

چکیده

اخیراً روش‌های مختلفی برای کاهش اثرهای مخرب آلاینده‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد که کاربرد کودهای زیستی با اثرهای مثبت آنها بر خصوصیات خاک و محیط‌زیست می‌توانند جایگزینی مناسب برای بسیاری از این روش‌ها باشند. به‌منظور بررسی اثر دو سویه باکتری سودوموناس فلورسنس بر شاخص‌های رشد، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه شوید (*Anethum graveolens* L.) در شرایط تنش سرب، یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۳۹۴ انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل تنش سرب در دو سطح (صفر و ۶۰۰ppm) و تیمار تلقیح با باکتری در سه سطح (تلقیح با سویه‌های ۱۵۰ و ۱۵۹ سودوموناس فلورسنس به‌صورت جداگانه و بدون تلقیح یا شاهد) بود. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که صفات رشدی تعداد برگ، ارتفاع بوته، وزن تر و خشک اندام هوایی و وزن تر و خشک ریشه به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر آلودگی سرب قرار گرفت و صفت وزن تر و خشک بوته، تعداد برگ و ارتفاع گیاه به‌ترتیب ۲۲، ۳۱، ۱۹ و ۹ درصد کاهش یافتند. محتوی پرولین و کربوهیدرات گیاه شوید تحت تأثیر حضور سرب افزایش معنی‌داری نشان داد، همچنین تلقیح با باکتری نیز محتوی پرولین و کربوهیدرات گیاه را افزایش داد که میزان این افزایش در تلقیح با سویه ۱۵۰ چشمگیرتر بود. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به‌صورت معنی‌دار تحت تأثیر سرب و باکتری قرار گرفت و حضور سرب به‌ترتیب موجب افزایش و کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز شد، اما تلقیح با باکتری سودوموناس به‌ویژه سویه ۱۵۰ سبب افزایش معنی‌دار فعالیت هر دو آنزیم شد. علاوه‌براین باکتری‌ها توانستند میزان سرب گیاه شوید را کاهش دهند. به‌طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد که تلقیح با باکتری سودوموناس با افزایش رشد و بهبود فعالیت‌های آنزیمی در کاهش اثرهای تنش سرب بر گیاه شوید کارآمد بودند.

واژه‌های کلیدی: پرولین، عناصر سنگین، کودهای زیستی، وزن خشک.

مقدمه

امروزه آلودگی زمین‌های کشاورزی به فلزات سنگین به‌دلیل فعالیت‌های صنعتی، استفاده بیش از حد از کودهای شیمیایی، آبیاری با فاضلاب و دفع نادرست زباله‌ها افزایش یافته است. این فلزات با قابلیت ورود به زنجیره غذایی انسان، توانایی بروز مشکلات عمده سلامتی را از طریق کشت محصولات کشاورزی در این خاک‌های آلوده دارند (Kumar *et al*., 2016). یون‌های فلزات سنگین زمانی که در مقادیر زیاد در محیط وجود داشته باشند به‌وسیله ریشه گیاهان جذب و به اندام‌های هوایی منتقل شده و موجب اختلال در سوخت‌وساز و کاهش رشد گیاه می‌شوند. علاوه‌براین، وجود مقادیر زیاد فلزات سنگین در خاک یک تهدید جدی به‌حساب می‌آید، زیرا ممکن است سبب تخریب ساختمان خاک، کاهش فعالیت‌های زیستی و حاصل‌خیزی خاک شده و همچنین کاهش عملکرد گیاه را در پی دارد (Souri *et al*., 2016).

از میان فلزات سنگین، سرب به‌عنوان فلزی با اثرهای مضر بر فرایندهای بیوشیمی بدن است که سازوکار فیزیولوژیکی آن دقیقاً برای انسان ناشناخته است (Ali *et al*., 2014)، علاوه‌برآن سرب به‌عنوان یکی از آلاینده‌های هوا و همین‌طور به‌عنوان یکی از معضلات اصلی خاک‌های کشاورزی و کاهنده شدید عملکرد محصولات گزارش شده است (Jiang *et al*., 2019). به‌علت تجمع بالای این فلز در سطح خاک، سرب به‌راحتی در دسترس گیاهان قرار می‌گیرد و با جذب از طریق ریشه برخی از فرایندهای گیاهی و رشد آنها را دچار اختلال می‌کند (Laidlaw *et al*., 2016). علاوه‌براین سرب با تأثیر بر میتوز، کلروز برگ‌ها، توقف رشد ریشه و ساقه و کاهش فتوسنتز و سنتز DNA می‌گردد و بر بسیاری از فعالیت‌های آنزیمی آثار مخربی دارد (Ghnaya *et al*., 2013).

استفاده از کشاورزی پایدار بر پایه مصرف کودهای آلی و بیولوژیک با هدف حذف یا تقلیل چشمگیر در مصرف کودهای شیمیایی، یک راه‌حل مطلوب برای غلبه بر مشکلات زیست محیطی و بهبود سلامت محصولات کشاورزی به‌شمار می‌آید (TayebRezvani *et al*., 2013). کودهای زیستی در مقایسه با کودهای شیمیایی مزیت‌های قابل توجهی دارند، از آن جمله می‌توان به جلوگیری از تولید مواد سمی در چرخه‌های غذایی، کاهش اثرهای نامطلوب عناصر سنگین و اصلاح خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک اشاره کرد، همچنین از نظر اقتصادی مقرون به صرفه بوده و از دیدگاه زیست محیطی قابل پذیرش هستند. از انواع کودهای بیولوژیک می‌توان به باکتری‌های محرک رشد گیاهی اشاره کرد. این باکتری‌ها به دو روش مستقیم و غیرمستقیم روی رشد گیاه و میزان تولید در واحد سطح تأثیر می‌گذارند، در اثرهای مستقیم این باکتری‌ها از طریق افزایش انحلال عناصر غذایی کم محلول، تولید هورمون‌های رشد گیاهی، تثبیت نیتروژن و تولید سیدروفور اثرهای خود را اعمال می‌کنند و در اثرهای غیرمستقیم این باکتری‌ها با استفاده از مکانیسم‌های مختلف آنتاگونیسمی، اثرهای مضر بیمارگرهای گیاهی را خنثی یا تعدیل نموده و بدین طریق موجب افزایش رشد گیاه می‌شوند (Luo *et al*., 2012).

امروزه کشت گیاهان دارویی نه‌تنها در ایران بلکه در همه دنیا بسیار مورد توجه قرار گرفته است. شوید (*Anethum graveolens*) گیاهی دارویی از خانواده چتریان (Umbellifereae) است که به‌عنوان طعم‌دهنده و معطرکننده در صنایع غذایی و فرآورده‌های آرایشی، بهداشتی مورد استفاده قرار می‌گیرد. تمام پیکر رویشی گیاه دارای اسانس است. به‌طوری که در پیکر رویشی مقدار اسانس بین ۰/۸–۱/۶٪ است. بذرهای کاملاً رسیده بیشترین مقدار اسانس را دارند و مقدار آن بین ۵–۲٪ گزارش شده است. مهمترین ماده مؤثره، اسانس شوید کاروون است که هم در پیکره رویشی و هم در بذر وجود دارد (Omidbaigi, 2000).

اما به‌علت آلوده بودن طیف زیادی از زمین‌های کشاورزی به فلزات سنگین و قطعاً با ورود این فلزات به گیاهان جنبه دارویی بودن آنها به مخاطره می‌افتد و سبب

بروز انواع بیماری‌ها در انسان می‌شود. با توجه به اینکه اهمیت شوید به‌عنوان یکی از سبزی‌های پرمصرف و همچنین یکی از گیاهان دارویی با اهمیت به‌شمار می‌آید و دستیابی به محصول و فرآورده سالم نقش به‌سزایی در سلامت انسان بازی می‌کند. با تأکید بر نکات ذکر شده این آزمایش به‌منظور بررسی تأثیرات باکتری‌های سودوموناس بر رشد گیاه شوید در شرایط حضور و عدم حضور سرب طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

آزمایشی در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۹۵-۱۳۹۴ به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار اجرا شد. فاکتورهای آزمایشی شامل سرب در غلظت‌های صفر و ۶۰۰ppm و باکتری‌های سودوموناس فلورسنس (*Pseodomonas fluorescens*) سویه ۱۵۰ و ۱۵۹ در نظر گرفته شد. خاک مناسب تهیه و برای اندازه‌گیری بافت خاک و اسیدیته نمونه‌ها به آزمایشگاه خاک‌شناسی دانشکده کشاورزی انتقال یافت.

به‌منظور ایجاد آلودگی خاک، ابتدا محلول نیترات سرب به‌طور یکنواخت با توده خاک مخلوط و بعد خاک آلوده به مدت چهار ماه در شرایط تر و خشک گردید تا به شرایط آلودگی درازمدت و طبیعی نزدیک‌تر شود. پس از انجام آزمایش آلودگی و اطمینان از آلوده بودن خاک‌ها بذرهای شوید در عمق ۰/۵ تا ۱ سانتی‌متری کشت شد. گلدان‌های کشت شده در شرایط کنترل شده در گلخانه با دمای ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۷۰-۶۰٪ و با ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار داده شدند و در فواصل زمانی دو روز یک‌بار آبیاری گردیدند.

مایه تلقیح با دو سویه ۱۵۰ و ۱۵۹ باکتری سودوموناس فلورسنس تهیه شده از دانشگاه رفسنجان در محیط نوترینت براث آماده و پس از رشد و استقرار گیاهان مایه تلقیح در محل طوقه گیاهان تزریق شد. در طول آزمایش عملیات داشت شامل سله‌شکنی، برداشت، وجین علف‌های هرز، مبارزه با بیماری و سایر عملیات به‌صورت مرسوم انجام گردید.

اندازه‌گیری صفات مورد مطالعه

گیاهان تا مرحله گلدهی نگهداری و بعد داده‌برداری از خصوصیات مورفولوژیک (تعداد برگ، ارتفاع بوته، وزن تر و خشک اندام هوایی و وزن خشک اندام هوایی) انجام شد.

محتوی نسبی آب برگ (RWC)

برای اندازه‌گیری این صفت ۰/۵ گرم از جوان‌ترین برگ توسعه یافته هر گیاه (FW) را جدا کرده و بعد نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در آب‌مقطر شناور گردید. پس از گذشت این مدت وزن اشباع برگ اندازه‌گیری گردید (TW). سپس برگ‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت در آون در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و بعد از گذشت این مدت وزن خشک (DW) آنها اندازه گرفته شد (Ritchie *et al.*, 1990).

$$\%RWC = \frac{FW - DW}{TW - DW}$$

پرولین

برای اندازه‌گیری محتوی پرولین مقدار ۰/۵ گرم بافت برگ تازه را به قطعات کوچکتر از ۵ میلی‌لیتر بریده و همراه با ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالسیلیک اسید ۳٪ در یک هاون چینی به‌مدت ۳ دقیقه ساییده شده و محلول هموژنیزه شده توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۲ صاف شد. در ادامه ۲ میلی‌لیتر از محلول صاف شده با ۲ میلی‌لیتر نین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال خالص در یک لوله آزمایش ریخته شده و لوله‌ها به‌مدت یک ساعت در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد بن‌ماری قرار گرفت. سپس به محلول واکنش در لوله

آزمایش پس از سرد شدن ۴ میلی‌لیتر تولوئن اضافه شد. هر یک از لوله‌ها، به‌مدت 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 شد و مقدار پرولین با استفاده از منحنی استاندارد آن بدست آمد (Bates *et al.*, 1973).

سنجش میزان کربوهیدرات

بدین‌منظور ۰/۱ گرم نمونه برگی با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۸۰٪ در هاون‌چینی کاملاً ساییده شد و به‌مدت ۱۰ دقیقه در بن‌ماری با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از جداشدن عصاره الکلی حاوی قندهای محلول و قسمت پایینی همراه با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۸۰٪ دوباره برای تکرار عصاره‌گیری به بن‌ماری منتقل شد. عصاره بدست‌آمده به‌مدت ۱۰ دقیقه در سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. قسمت شفاف بالایی جدا شده و برای اندازه‌گیری مقدار قندهای محلول مورد استفاده قرار گرفت. در مرحله بعد، ۳ میلی‌لیتر از محلول آنترون به ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره اضافه شد و به‌مدت ۲۰ دقیقه در بن‌ماری ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و مقدار قند محلول با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۲۵ نانومتر اندازه‌گیری شد (Irigoyen *et al.*, 1992).

فعالیت آنزیم کاتالاز

فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از روش Kar و Mishra (۱۹۷۶) اندازه‌گیری شد، به این ترتیب که ۶۰ میکرولیتر از عصاره پروتئینی را در ۲/۵ میلی‌لیتر بافرتریس ۵۰ میلی‌مولار با pH=۷ و ۰/۳ میلی‌لیتر آب اکسیژنه ۵ میلی‌مولار در حمام یخ اضافه نموده و در طول موج ۲۴۰ نانومتر قرائت شد.

فعالیت آنزیم پراکسیداز

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز نیز به روش Kar و Mishra (۱۹۷۶) انجام شد. به این صورت که ۵۰ میکرولیتر عصاره پروتئینی در ۲/۵ میلی‌لیتر بافر استخراج گردید که شامل بافر تریس ۱۰۰ میلی‌مولار و آب اکسیژنه ۵ میلی‌مولار و پیروگالل ۱۰ میلی‌مولار بود. بعد در حمام یخ قرار گرفته و جذب آن در طول موج ۴۲۵ نانومتر قرائت شد.

اندازه‌گیری برخی شاخص‌های زیستی خاک

تنفس پایه

برای انجام این آزمایش یک بشر کوچک حاوی ۲۰ میلی‌لیتر ۰/۰۵ سود نرمال در داخل یک ظرف پلاستیکی با گنجایش یک لیتر که حاوی ۲۰ گرم خاک مرطوب (با رطوبت حدود ۵۰٪ ظرفیت مزرعه بود) بود، قرار داده شد. درب ظرف کاملاً عایق‌بندی شد تا از تبادل گازی با اتمسفر ممانعت شود و به‌مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس محتویات بشر به داخل یک ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتر حاوی ۲ میلی‌لیتر کلرید باریم ۰/۵ مولار و سه تا چهار قطره معرف فنل‌فتالئین منتقل و با استفاده از اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال تیتر گردید. مقدار تنفس پایه خاک طبق رابطه ۳-۱ برحسب میلی‌گرم CO_2 در گرم خاک در روز محاسبه شد (Anderson & Domsch, 1990). میزان تنفس پایه ($mg\ CO_2\ g^{-1}soil.\ day^{-1}$) با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید.

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

که در آن، V_1: حجم اسید مصرفی برای نمونه شاهد (ml)، V_2: حجم اسید مصرفی برای نمونه خاک (ml)، N: نرمالیته

اسید کلریدریک و عدد ۲۲ نیز وزن اکی‌والانی گرم CO_2 برحسب گرم می‌باشد.

تنفس تحریک شده 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 ۰/۱ سود نرمال درون ظرف قرار داده و پس از بستن کامل درب ظرف، به‌مدت شش ساعت به‌همان 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 تیتر و میزان تنفس تحریک شده با بستره محاسبه گردید (Alef, 1995).

اندازه‌گیری غلظت سرب

برای اندازه‌گیری سرب، نمونه‌های گیاهی برداشت و بعد سه بار با آب‌مقطر شستشو شد و در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در آون خشک گردید، سپس ۰/۱ گرم از نمونه‌ها در کوره الکتریکی با دمای ۵۰۰ درجه به‌مدت ۵ ساعت انتقال یافت؛ پس از آن ۱۰cc اسید نیتریک به هر نمونه اضافه شد و بعد با کاغذ واتمن صاف گردید و مقدار سرب با دستگاه طیف‌سنج جذب اتمی مورد آنالیز قرار گرفت (Reeves & Brooks, 1983).

تجزیه‌وتحلیل آماری

داده‌های حاصل از این آزمایش با نرم‌افزار آماری SAS 9.4 مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ انجام شد.

نتایج

تنفس پایه و تحریک‌شده خاک

هدف از اندازه‌گیری این فاکتور بررسی پیامد آلودگی سرب و تلقیح با باکتری بر شاخص‌های زیستی خاک (تنفس پایه و تحریک شده) تحت تنش سرب و تلقیح با باکتری بود و نتایج نشان داد که هر دو شاخص ذکرشده تحت تنش سرب کاهش یافته، به‌طوری که کمترین میزان شاخص‌ها در تیمار ۶۰۰ppm سرب و شاهد بدون باکتری بود و تلقیح با باکتری سویه ۱۵۰ سودوموناس فلورسنس و شاهد بدون آلودگی سرب دارای بیشترین میزان شاخص‌های مورد آزمایش بود. البته کاهش در حدی بود که کارایی این باکتری‌ها در حد قابل قبولی بود و جمعیت مناسبی را داشتند، اما سویه ۱۵۰ کارایی بالاتری را نسبت به سویه دیگر نشان داد.

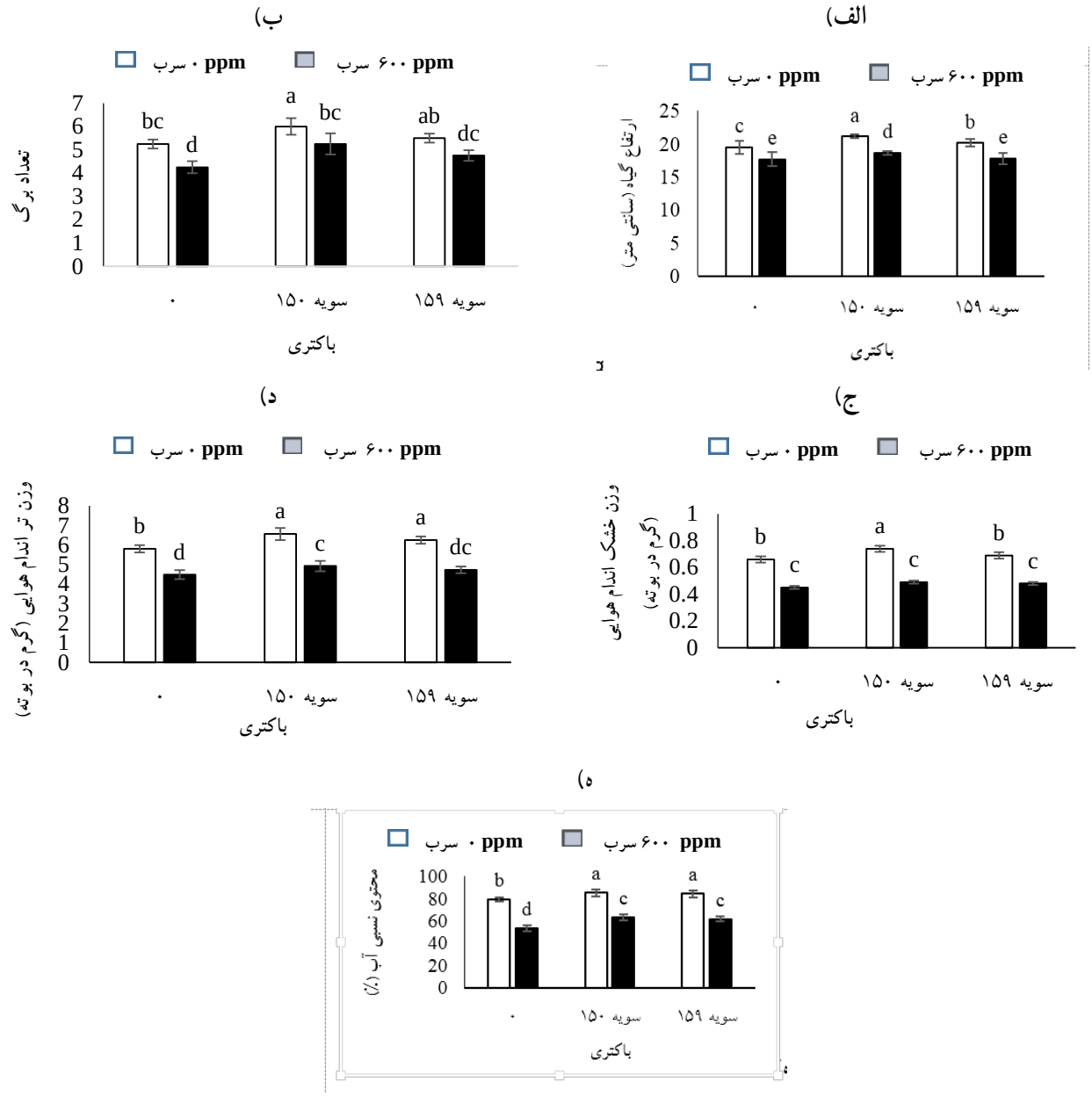
نتایج تجزیه واریانس

مطابق جدول تجزیه واریانس تمامی صفات اندازه‌گیری شده بجز کاتالاز تحت تأثیر سرب قرار گرفت. باکتری‌های محرک رشد نیز تمانی صفات را تحت تأثیر قرار دادند. اثرهای متقابل آنها نیز بجز در صفت سرب در تمامی صفات معنی‌دار بود.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس صفات گیاه شوید تحت تأثیر سرب

منبع تغییرات	درجه آزادی	تعداد برگ	ارتفاع گیاه	وزن تر اندام هوایی	وزن خشک اندام هوایی	محتوی آب نسبی	پرولین	کربوهیدرات	کاتالاز	پراکسیداز	سرب
سرب	۱	۴/۱۶**	۲۹۰/۴**	۱۳/۳۳**	۰/۲۹۰**	۳۳۶۷**	۰/۱۶۸**	۰/۰۸۸**	۰/۰۰^{ns}	۰/۱۵**	۷۱/۲۶**
باکتری	۲	۱/۵۴**	۳/۶۰**	۰/۷۲*	۰/۰۰۶**	۱۴۴/۶۱**	۰/۰۱۱**	۰/۰۶۴**	۰/۰۰۰*	۰/۱۱**	۳/۳۸**
اثر متقابل	۲	۰/۰۴۱*	۰/۲۲*	۰/۰۵۱*	۰/۰۰*	۸/۳۰*	۰/۰۰۰**	۰/۰۰**	۰/۰۰۰**	۰/۰۰۲**	۰/۰۸۱^{ns}
اشتباه آزمایشی	۱۸	۰/۰۶۳	۴/۰۰	۰/۰۶۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۴۸
ضریب تغییرات		۱/۳۱	۹/۱۲	۴/۵۲	۵/۰۶	۱/۹۰	۰/۹	۲/۰۵	۱۰/۱۹	۱/۴۷	۳/۴۴

**، * و ns: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح ۱٪ و ۵٪ و عدم تفاوت معنی‌دار



شکل ۱- تأثیر تلقیح با باکتری سودوموناس فلورسنس سویه ۱۵۰ و ۱۵۹ در حضور و عدم حضور سرب بر صفات الف) ارتفاع گیاه، ب) تعداد برگ، ج) وزن خشک اندام هوایی ، د) وزن تر اندام هوایی و ه) محتوی آب نسبی

صفات رویشی

مطابق شکل ۱ آلودگی سرب با غلظت ۶۰۰ppm صفات رویشی را در گیاه شوید به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار داد، به‌طوری که صفت وزن تر و خشک اندام هوایی، تعداد برگ و ارتفاع گیاه به‌ترتیب ۲۲، ۳۱، ۱۹ و ۹ درصد در مقایسه با شاهد کاهش نشان داد. تلقیح با سویه ۱۵۰ این باکتری در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده ارتفاع گیاه و تعداد برگ را در شرایط حضور سرب و بدون سرب به‌طور

معنی‌داری به‌ترتیب حدود ۱۲٪ و ۱۱٪ افزایش داد (شکل ۱- الف و ب). وزن تر و خشک اندام هوایی نیز به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تلقیح با باکتری سودوموناس قرار گرفتند و در شرایط تنش سرب تنها سویه ۱۵۰ توانست وزن تر اندام هوایی را نسبت به گیاهان تلقیح نشده به‌طور معنی‌داری به‌ترتیب ۲۵٪ و ۳۳٪ افزایش دهد. اثربخشی بیشتر باکتری سودوموناس سویه ۱۵۰ را می‌توان به تفاوت ژنتیکی ۲ سویه در تولید فاکتورهای محرک رشدی و زنده‌مانی بالاتر سویه ۱۵۰ نسبت به سویه ۱۵۹ نسبت داد.

محتوی آب نسبی برگ

در این پژوهش تنش سرب سبب کاهش معنی‌دار محتوی نسبی آب برگ شد و تلقیح با باکتری‌های محرک رشد سودوموناس سویه‌های ۱۵۰ و ۱۵۹ محتوی نسبی آب برگ را در گیاه شوید در شرایط بدون آلودگی سرب و همچنین در حضور آلودگی این عنصر افزایش دادند (شکل ۱- ه)، ولی سویه‌های مختلف باکتری در شرایط حضور و عدم حضور سرب برای این صفت تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند.

پرولین آزاد برگ

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که عنصر سنگین سرب و تلقیح با باکتری‌های سودوموناس توانست میزان پرولین را تحت تأثیر قرار دهد. مطابق شکل ۲- ب تنش سرب سبب افزایش ۵۰ درصدی محتوی پرولین در گیاهان شاهد شد و تلقیح با سویه‌های ۱۵۰ و ۱۵۹ باکتری سودوموناس در حضور سرب نیز سبب افزایش ۵۰ و ۵۲ درصدی محتوی پرولین در گیاه شوید نسبت به شرایط سرب به تنهایی شد، به‌طوری که مطابق نتایج داده‌های حاصل از این آزمایش سویه ۱۵۰ بالاترین میزان پرولین را در گیاه شوید به ثبت رساند.

کربوهیدرات

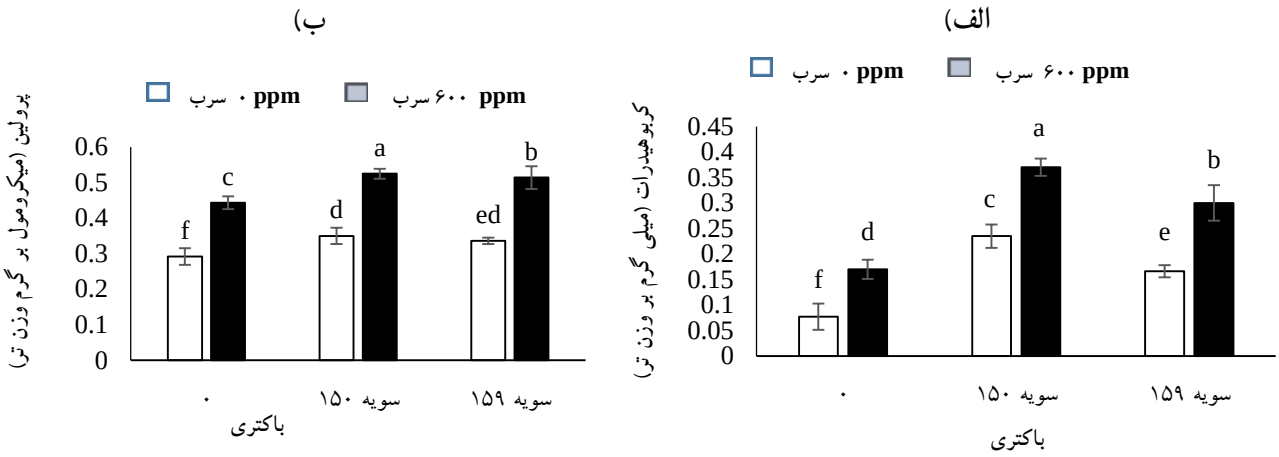
بررسی نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان کربوهیدرات کل در گیاه، بیانگر افزایش معنی‌دار این شاخص حدود ۱۲۰ تحت تأثیر تنش سرب و تلقیح با باکتری‌های سودوموناس ۱۵۰ و ۱۵۹ در گیاه شوید به‌ترتیب سبب افزایش ۵۷ و ۸۰ درصدی کربوهیدرات نسبت به تیمارهای همان غلظت از سرب شد (شکل ۲- الف). به‌طوری که بیشترین تأثیر مربوط به باکتری سودوموناس فلورسنس سویه ۱۵۰ بود. شاید بتوان یکی از دلایل رشد بهتر سویه ۱۵۰ در شرایط تنش سرب را به محتوی بالاتر کربوهیدرات در گیاهان تلقیح شده با سویه ۱۵۰ نسبت داد، زیرا با محتوی بالاتر کربوهیدرات شرایط تنش را بهتر تحمل می‌کنند.

آنزیم کاتالاز

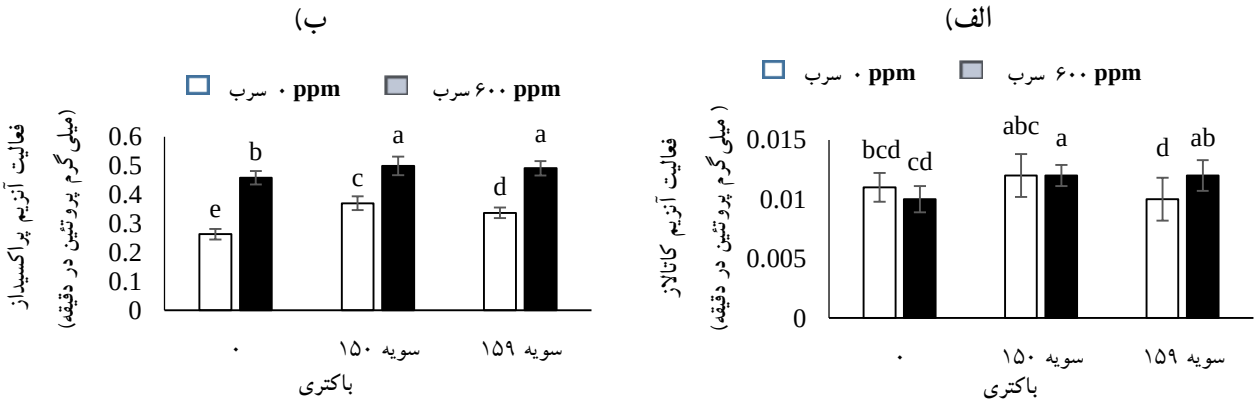
نتایج مقایسه میانگین حاصل از این پژوهش نشان داد که آلودگی خاک با سرب نتوانست به‌طور معنی‌داری محتوی آنزیم کاتالاز را تحت تأثیر قرار دهد، هرچند حدود ۹٪ باعث کاهش محتوی این آنزیم شد (شکل ۳- الف). تلقیح با باکتری‌های محرک رشد اثرهای متفاوتی داشت و سویه ۱۵۰ سبب شد تا محتوی آنزیم کاتالاز نسبت به شاهد افزایش یابد، اما سویه ۱۵۹ سبب کاهش این آنزیم شد. اما تلقیح این باکتری‌ها تحت تنش سرب سبب افزایش محتوی آنزیم کاتالاز شد، اما تفاوت معنی‌داری بین سویه‌ها مشاهده نشد.

آنزیم پراکسیداز

فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تأثیر فلز سرب قرار گرفت، به‌طوری که سبب افزایش ۷۴ درصدی فعالیت این آنزیم شد (شکل ۳- ب). تلقیح با باکتری‌های سودوموناس به‌ویژه سویه ۱۵۰ محتوی آنزیم پراکسیداز را به‌طور معنی‌داری در گیاهان در هر دو شرایط وجود و عدم سرب افزایش داد. سویه ۱۵۰ نسبت به سویه ۱۵۹ فعالیت این آنزیم را حدود ۳۴٪ و ۴۵٪ نسبت به گیاهان پرورش یافته در همان غلظت بدون تلقیح با باکتری بالاتر برد اما بین این دو سویه تفات معنی‌داری مشاهده نشد.



شکل ۲- تأثیر تلقیح با باکتری سودوموناس فلورسنس سویه ۱۵۰ و ۱۵۹ در حضور و عدم حضور سرب بر صفات الف) کربوهیدرات، ب) پرولین



شکل ۳- تأثیر تلقیح با باکتری سودوموناس فلورسنس سویه ۱۵۰ و ۱۵۹ در حضور و عدم حضور سرب بر صفات الف) فعالیت آنزیم کاتالاز و ب) فعالیت آنزیم پراکسیداز

غلظت سرب

حضور سرب و تلقیح با باکتری‌های محرک رشد بر محتوی سرب در برگ تأثیر گذاشت، اما اثرهای متقابل آنها تفاوت معنی‌داری نشان نداد. اثرهای ساده سرب نشان داد که بالاترین میزان سرب در غلظت ۶۰۰ppm سرب بدست آمد که تفاوت معنی‌داری را با شاهد نشان داد و تلقیح با هر دو سویه سبب تفاوت معنی‌دار با گیاهان شاهد شد اما سویه ۱۵۰ میزان کاهش بیشتری نشان داد.

بحث

هر دو سویه باکتری‌های سودوموناس مورد استفاده در این پژوهش در حضور سرب به‌شدت کاهش یافتند اما جمعیت قابل قبولی حتی در حضور سرب نشان دادند و سویه ۱۵۰ کارایی بالاتری را نسبت به سویه ۱۵۹ نشان داد. به‌طور میانگین در هر گرم خاک، دو میلیون موجود زنده وجود دارد، با افزایش شناخت و درک این ارتباط پیچیده، می‌توان خاک و میکروارگانیسم‌های آن را برای نگهداری و

بهبود وضعیت خاک، بدون آسیب رساندن به این منبع حیاتی بهتر مدیریت کرد. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی و حتی بیولوژیکی خاک و اثرهای متقابل آنها با مجموعه میکروارگانیسم‌های مقیم در خاک، تأثیر مهمی بر رشد و فعالیت میکروارگانیزم‌ها و به‌دنبال آن حاصلخیزی خاک دارد (Probst *et al*., 2007). ریزجانداران خاک کارکرد ویژه‌ای در چرخه عناصر غذایی و تغذیه گیاه، پیدایش و نگهداری ساختمان خاک، سم‌زدایی مواد شیمیایی زیانبار، کاهش بیماری‌های گیاهی و رشد گیاه دارند (Belimove *et al*., 2015). زیست‌توده میکروبی در تجزیه مواد آلی، چرخه عناصر و پایداری اکوسیستم نقش به‌سزایی دارد و به غلظت آلاینده‌ها در خاک حساس است، به‌طوری که با رسیدن آلاینده‌ها به اکوسیستم خاک، ریزجانداران خاک به شدت تحت تأثیر قرار می‌گیرند. در بوم‌شناسی میکروبی، تنفس پایه و تنفس برانگیخته به خوبی شناخته شده و به گونه وسیعی برای اندازه‌گیری و ارزیابی فعالیت میکروبی خاک استفاده شده است. افزون بر این، تنفس برانگیخته یکی از روش‌های پایه‌ای برای برآورد کمّی زیست‌توده میکروبی خاک به‌عنوان بخش بسیار فعال و ناپایدار کربن آلی خاک بررسی شده است. تنفس می‌تواند نشان‌دهنده شدت آلودگی خاک باشد که در آن سطوح مصرفی اکسیژن یا دی‌اکسیدکربن رها شده از یک وزن ویژه خاک اندازه‌گیری می‌شود. در بررسی تأثیر سرب بر تنفس میکروبی خاک، کاهش تنفس میکروبی خاک در اثر افزایش سمّیت ناشی از سرب را نشان دادند. فلزات سنگین، تأثیر مخربی بر فعالیت میکروبی، باروری خاک و رشد و عملکرد گیاهان دارند (Lenart & Wolny-Koadka, 2013). در واقع در غلظت‌های بالای سرب، ممکن است تغییرات شدید ژنتیکی و فیزیولوژیک در جامعه میکروبی خاک دیده شود (Aliasgharzad *et al*., 2011). در تنش فلزات سنگین ممکن است که گونه‌های حساس که گاهی گونه‌های مفید خاکزی هم هستند، از میان رفته و گونه‌های متحمل در برابر فلزات سنگین ایجاد شود و در نتیجه باعث کاهش تنوع عملکردی و تنوع گونه‌ای شود (Li *et al*., 2016)، در این حالت ممکن است جامعه تغییر یافته میکروبی نتواند همه وظایف عملکردی مربوط به کل ریزجانداران خاک را انجام بدهد (Yu *et al*., 2017)، در نتیجه باعث ایجاد اختلال در چرخه عناصر غذایی شود. بنابراین انباشتگی ترکیب‌های آلی در خاک و کاهش اندوخته کربنی فراهم خاک رخ خواهد داد، در نتیجه بسیاری از ریزجانداران هتروتروفیک خاک با مشکل کمبود مواد غذایی روبرو شده و با کاهش فراوانی این باکتری‌ها، تجزیه مواد سمّی در خاک کاهش می‌یابد و بدین ترتیب کیفیت اکوسیستم خاک کاهش خواهد یافت (Ghorbanpour *et al*., 2016). همچنین بررسی‌ها نشان می‌دهند که قرار دادن کوتاه‌مدت جمعیت میکروبی خاک در معرض فلزهای سنگین، باعث کاهش زیادی در فعالیت میکروبی خاک می‌شود (Renault *et al*., 2013). تنفس تحریک شده واکنش تنفسی موجودات زنده خاک را در اثر افزودن گلوکز نشان می‌دهد. به همین دلیل روش تنفس تحریک شده بیوماس میکروبی را آشکار می‌کند (Shi *et al*., 2017). بنابراین به‌نظر می‌رسد میکروارگانیزم‌ها از طریق محیط خاک ریزوسفری و تولید متابولیت‌های خاص شرایط لازم را برای تعدیل یا کاهش اثر فلز سنگین بر میکروب‌های خاک فراهم می‌کنند. تلقیح گیاهان با باکتری‌های محرک رشد گیاه بر جامعه میکروبی ریزوسفر، با تولید ترکیبات آلی غنی از انرژی و کاهش اسیدیته ریزوسفر، تأثیر می‌گذارند. مایه‌زنی گیاهان با جدایه‌های مقاوم در خاک آلوده به سرب سبب افزایش تنفس شده و در مناطق آلوده تلقیح گیاهان با باکتری‌ها در بهبود رشد گیاهان و برهم‌کنش میکروبی نقش مهمی را در پاکسازی خاک دارد (Braud *et al*., 2009).

مطابق نتایج حاصل از این پژوهش با افزایش غلظت سرب در خاک و به‌دنبال آن افزایش غلظت سرب در شاخساره گیاه، رشد و عملکرد ماده تر و خشک شاخساره و ریشه گیاه کاهش می‌یابد. ازاین‌رو به‌نظر می‌رسد یکی از مهمترین سازوکارهای سرب در کاهش رشد مربوط به اثرهای سمی آن باشد. 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 تحت تأثیر قرار می‌دهد (Bharwana *et al*., 2013). سرب به دلیل انباشت زیاد در بخش‌های سطحی خاک به راحتی در دسترس گیاهان قرار می‌گیرد (Piotrowska *et al*., 2010). کاهش میزان فتوسنتز یکی از عوامل مهم در کاهش رشد در شرایط حضور فلزات سنگین است، زیرا در این شرایط آسیب به فتوسنتز اساساً در اثر کاهش کلروفیل و افزایش پراکسیداسیون لیپیدها رخ می‌دهد (Cencki *et al*., 2010). ریزوباکترهای محرک رشد گیاه می‌توانند رشد گیاه، رقابت و مقاومت آن را در برابر فاکتورهای تنش‌زای خارجی افزایش دهند (Manzoni *et al*., 2012). بررسی تأثیر باکتری‌های محرک رشد در گیاه سیاهدانه (*Nigella sativa*) نشان داده شد که میزان وزن تر و خشک بوته در حضور باکتری نسبت به تیمار عدم تلقیح افزایش یافت که با نتایج این آزمایش مطابقت داشت (Khoramdel *et al*., 2008). در ریزجاندارانی که از لحاظ کشاورزی دارای اهمیت هستند، سازوکارهای ویژه‌ای را به‌منظور تحمل جذب یون‌های فلزی و کاستن از شدت تنش فلزات سنگین توسعه داده‌اند. این سازوکارها 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 سمّیت کمتر و ۴- جذب یا واجذب فلزات می‌باشند (Wani *et al*., 2008). کاهش رشد مشاهده شده در گیاه چمن شور (*Aehuropus littralis* L.) در پاسخ به تنش فلزات سنگین در خاک، هورمون اتیلن را تولید می‌کنند که این هورمون رشد ریشه گیاهان را کاهش می‌دهد. در این شرایط باکتری‌های سودوموناس می‌توانند با تولید آنزیم ACC دآمیناز و کاهش اثرهای تنشی اتیلن، رشد ریشه گیاهان را افزایش دهند (Ma *et al*., 2011). کاربرد باسیلوس روی گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*) سبب افزایش عملکرد و زیست‌توده ریحان شده و میزان رشد گیاه را دو برابر افزایش داد (Banchio *et al*., 2009). باکتری‌های سودوموناس نیز با تولید انواع ویتامین‌ها، افزایش جذب عناصر غذایی ضروری و در نتیجه عملکرد گیاهان را در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین افزایش می‌دهند (Ma *et al*., 2011). نتایج چند بررسی در مورد استفاده از باکتری‌های محرک رشد گیاهی نشان می‌دهد که باکتری‌های مورد استفاده، گیاهان را در مقابل تنش فلزات سنگین حفاظت می‌کند و از کمبود مواد مغذی در نتیجه تنش‌ها جلوگیری کرده و سبب تسریع رشد گیاهان می‌شود (Ullah *et al*., 2015). باکتری‌ها این قابلیت را دارند که تحمل گیاه به فلز سنگین را افزایش دهند و باعث افزایش زیست‌توده گیاه شوند و از فعالیت پاتوژن‌های گیاهی جلوگیری کرده و از گیاهان محافظت کنند (Luo *et al*., 2012). مقاومت به تنش فلز سنگین در گیاهان تلقیح شده با باکتری در گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicom*) بسیار بیشتر از گیاهان بدون تلقیح بود (Han *et al*., 2014). باکتری‌های سودوموناس درصد جوانه‌زنی بذر و سرعت جوانه‌زنی بذر را در گیاهان زالزالک قرمز (*Crataegus pseudoheterophylla*) در شرایط دوره‌های مختلف چینه سرمایی به‌طور چشمگیری افزایش دادند (Fatemeh *et al*., 2014).

در این پژوهش گیاه شوید کاهش معنی‌دار محتوی آب نسبی را در حضور ۶۰۰ppm سرب از خود نشان داد. برخی محققان معتقدند که کاهش میزان محتوی رطوبت نسبی برگ در اثر تنش، مربوط به انسداد روزنه‌ها می‌باشد و این انسداد روزنه‌ها در اثر تجمع هورمون آبسیزیک اسید می‌باشد، به‌طوری که این هورمون در شرایط تنش در ریشه ساخته شده و در سلول‌های روزنه‌ای تجمع می‌یابد. سرب در گیاه می‌تواند با کاهش اندازه و تعداد سلول‌های نگهبان روزنه، کاهش انتقال آب به برگ‌ها و کاهش سطح برگ، آسیب دیواره سلولی و در نتیجه اختلال در سرعت تعرق برگ و بروز تغییرات فراساختاری در اندامک‌های سلول، RWC (محتوی نسبی آب) برگ را کاهش دهد (Cencki *et al*., 2010). باکتری‌های محرک رشد می‌توانند با توسعه سیستم ریشه‌ای گیاه، جذب آب و ظرفیت نگهداری آب توسط گیاه را در خاک‌های آلوده به سرب بیفزایند (Zhang *et al*.,

2010). افزایش محتوی نسبی آب توسط تلقیح باکتری‌های محرک رشد گیاهی در شرایط تنش عناصر سنگین را می‌توان به افزایش دسترسی به آب و مواد غذایی و تأمین شرایط بهینه رشد و فتوسنتز توسط باکتری، تولید اکسین و افزایش ریشه‌دهی و عمق ریشه‌دوانی گیاه و افزایش محتوی نسبی آب تحت شرایط تنش نسبت داد و از سویی از تولید ACC دآمیناز جلوگیری و از تولید بیش از حد اتیلن، بهبود شرایط فیزیکی و ساختمان خاک توسط باکتری‌ها نسبت داد (Nagananda *et al*., 2010؛ Karlidag *et al*., 2011).

با قرار دادن نتایج این آزمایش در کنار هم می‌توان نتیجه گرفت که یکی دیگر از سازوکارهای رشد بالاتر در تلقیح با سویه ۱۵۰ مربوط به بالاتر بودن تولید پرولین در این سویه است. به‌طور کلی اسیدآمینه پرولین به‌عنوان یک ماده اسمزی، برای خنثی کردن اثر تنش فلزات سنگین در گیاه تجمع می‌یابد. به این صورت که گیاه آب درون بافتی خود را در سطح بالایی نگه می‌دارد و می‌تواند اعمال حیاتی خود را انجام دهد. علاوه‌براین، پرولین سه نقش مهم را به‌عنوان کلاته‌کننده فلز، مولکول دفاعی آنتی‌اکسیداتیو و مولکول پیام‌رسان در طول تنش ایفاء می‌کند (Hayat *et al*., 2012). افزایش پرولین به‌دلیل قابلیت کلات شدن این اسیدآمینه با یون‌های فلزی و افزودن بر سازوکار دفاعی برای بقای بیشتر است (Ashraf *et al*., 2017). افزایش پرولین در گیاهان سبب محافظت از آنزیم‌های سیتوزول و ساختارهای سلولی می‌شود. پرولین افزون بر تنظیم pH سلول و پایداری پروتئین‌ها در گیاهان در شرایط تنش‌های محیطی به‌ویژه تنش فلزات سنگین با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ازجمله سوپراکسید دیسموتاز سبب کاهش آسیب‌های ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود (Zhang *et al*., 2010). تحریک تولید پرولین از گلوتامیک اسید و افزایش مقدار آن در گیاه در خاک‌های آلوده به سرب توسط پژوهشگران مختلفی گزارش شده است. تولید بیشتر پرولین در تیمار باکتری نسبت به تیمار شاهد احتمالاً به دلیل تولید هورمون آبسیزیک‌اسید توسط این میکروارگانیسم‌ها است، زیرا این هورمون تولید اسیدهای آمینه به‌ویژه پرولین را افزایش می‌دهد و سازش با تنش را بهبود می‌بخشد (Ashraf *et al*., 2017).

میزان کربوهیدرات در گیاه شوید در حضور سرب به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد، بسیاری از شرایط تنش‌زای محیطی بر متابولیسم کربوهیدرات‌های گیاهان در حال رشد اثر می‌گذارند (Asareh & Shariat, 2009). در شرایط تنش‌زای محیطی گیاهان متابولیسم قندها را افزایش می‌دهند. با کاهش انتقال آب به برگ‌ها و اختلال در سرعت تعرق برگ باعث تغییرات فراساختاری در اندامک‌های سلول و تغییر در رفتار آنزیم‌های کلیدی ازجمله مسیر متابولیسم قند می‌شود. با تجمع قندهای محلول، گیاه ذخیره کربوهیدراتی خود را برای حفظ متابولیسم پایه سلول در شرایط محیطی تحت تنش، در حد مطلوب نگه می‌دارد (Maleki *et al*., 2017). نتایج مربوط به تحقیقات مختلف نشان می‌دهد که میزان کربوهیدرات محلول و نامحلول در گیاهان رشد کرده تحت تنش فلزات سنگین، با توجه به غلظت بکار رفته از فلزات می‌تواند افزایش یا کاهش یابد (John *et al*., 2008). افزایش میزان کربوهیدرات در گیاه نشان‌دهنده کاهش میزان آب در سلول‌ها می‌باشد و کاهش میزان آب نیز عامل مهمی در کاهش رشد گیاه بشمار می‌رود (Arora *et al*., 2016). بسیاری از فلزات سنگین فعالیت پروتئین‌های کانالی آب را در گیاهان تغییر می‌دهند، روزنه‌های برگ را می‌بندند و در نتیجه جریان آب را در گیاه متوقف می‌سازند. در شرایط تنش، افزایش کربوهیدرات‌های محلول به حفظ متابولیسم پایه مطلوب کمک می‌کند (Nikalje & Suprasanna, 2018). بیوسنتز بیشتر کلروفیل و فتوسنتز در برگ گیاهان تیمار شده با باکتری‌های محرک رشد می‌تواند از دلایل تولید بیشتر کربوهیدرات‌ها در برگ‌ها باشد. گزارش‌شده که باکترهای محرک رشد می‌توانند بر بیوسنتز کربوهیدرات‌ها در برگ‌ها مؤثر واقع شوند (Adediran *et al*., 2015). دلیل دیگر برای تأثیر باکتری‌ها در افزایش محتوای قند، افزایش سطح هورمون‌های گیاهی مانند سیتوکینین و جیبرلین در گیاهان تلقیحی می‌باشد. افزایش در میزان این هورمون‌ها به‌ویژه

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 محتوی کربوهیدرات‌ها در گیاهان شود (Belimove *et al*., 2015). Demir (۲۰۰۴) نشان داد که میزان محتوای قند کل در گیاه فلفل همزیست با باکتری‌های محرک رشد به‌صورت معنی‌داری بالاتر از گیاهان شاهد بوده است. علاوه‌براین، باکتری‌های محرک رشد گیاه بیوسنتز قندها، آنزیم‌ها و اسیدهای آلی منجر به تنش فلزات سنگین در گیاهان می‌شوند (Ulah *et al*., 2015).

آنزیم کاتالاز در گیاه گشنیز با حضور سرب (۶۰۰ppm) تحت تأثیر قرار گرفت. کاتالاز آنزیم مهمی است که در شرایط تنش اکسیدی فعال می‌شود، این آنزیم قادر به هضم و حذف آب اکسیژنه می‌باشد (Khatun *et al*., 2008). از آنجایی که کاتالاز به حفظ هموستازی اکسیژن فعال در زمان تنش‌های زنده و غیر زنده کمک می‌کند، بنابراین فعالیت آن نیز در گیاه به هنگام تنش افزایش می‌یابد. ازاین‌رو بر اثر تنش فلزات سنگین، سیستم‌های دفاعی گیاهان در پاسخ به تنش، اکسیژن‌های رادیکالی فعال تولید می‌کنند که ازجمله این سیستم‌های دفاعی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند کاتالاز و پراکسیداز است (Maleki *et al*., 2017). غلظت‌های بالای فلزات سنگین با تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن، به سلول‌های گیاهی آسیب وارد می‌کند، رادیکال‌های آزاد هیدروکسیل آغازگر واکنش‌هایی است که موجب پراکسیداسیون چربی می‌شود (Chen *et al*., 2007). کاتالاز در سیستم دفاعی و پدیده القای پیری در گیاهان نقش دارد (Mura *et al*., 2007).

آنزیم پراکسیداز اثر تخریب یون‌های سوپراکسید را دفع می‌کند، این آنزیم سیستم دفاعی را برای بقاء موجودات هوازی فراهم می‌کند (Pandey *et al*., 2009). پراکسیدازها نقش بسیار مهمی در پاسخ به انواع تنش‌ها داشته و مسئول حذف مقادیر اضافی پراکسید هیدروژن می‌باشند. تحقیق در مورد کلم‌پیچ (*Brassica oleracea* var. *capitata f. rubra*)، به‌عنوان گیاهی سرشار از آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی و آنزیمی، افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌هایی مانند پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز را در تنش فلزات سنگین نشان داد (Posmyk *et al*., 2008). در تحقیقی دیگر نیز همین افزایش فعالیت در گیاه اسفناج (*Spinacia oleracea*) اثبات گردید (Pandey *et al*., 2009). در بسیاری از گونه‌های گیاهی افزایش جذب فلزات سنگینی مانند سرب، افزایش بسیار زیاد فعالیت پراکسیداز را القاء می‌کند و باعث تغییرات کیفیتی در ایزوآنزیم‌های آن می‌شود (Posmyk *et al*., 2008). برای کنترل میزان تشکیل اکسیژن‌های واکنشگر و حفظ سلول‌های گیاهی در شرایط تنش فلزات سنگین، تعدادی آنزیم آنتی‌اکسیدان ازجمله پراکسیدازها از اندام هوایی و ریشه گیاهان در نتیجه افزایش غلظت فلزات خاک افزایش می‌یابد. باکتری‌های محرک رشد از طریق افزایش برخی آنزیم‌ها مانند آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در کاهش خسارت‌های ناشی از گونه‌های فعال و تنش اکسیداتیو در گیاهان تحت تنش مؤثرند (Saravanakumar *et al*., 2010). احتمالاً تولید متابولیت‌ها توسط باکتری‌های محرک رشد ازجمله هورمون‌های محرک رشد نقش ویژه‌ای در تحریک و بیان پروتئین‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان ایفاء می‌کند. تنش اکسایشی ناشی از افزایش گونه‌های فعال اکسیژن در سلول، یکی از مهمترین اثرهای نامطلوب تنش بر گیاه و فرایندهای فیزیولوژیکی مهم گیاهی می‌باشد. با توجه به نقش مهم آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در حذف رادیکال سمی پراکسید هیدروژن در شرایط تنش‌های مختلف، افزایش فعالیت این آنزیم در اثر تلقیح باکتری، می‌تواند عاملی مؤثر در حذف گونه‌های فعال اکسیژن و در نتیجه افزایش مقاومت گیاهان به تنش باشد. پراکسیدازها با تبدیل پراکسید هیدروژن به آب از گیاه محافظت می‌کنند، پراکسیداز یک آنزیم مهم در مورفوژنز و اکسیداسیون اکسین است. این آنزیم حساس به نوسانهای زیست‌محیطی است و به‌عنوان اندازه‌گیری مقاومت گیاهان به استرس‌های غیر زنده در نظر گرفته می‌شود. نتایج این بررسی نشان داد که افزایش در میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز می‌تواند دلیلی بر القای این ترکیب‌های دفاعی در گیاهچه خیار توسط سویه‌ها

فلورسانس باشد که با نتایج سایر محققان مطابقت دارد (Harish *et al*., 2008). نتایج یک آزمایش نشان داد که تلقیح با باکتری‌ها با گیاهان گندم و برنج موجب افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در شرایط تنش شد (Turan *et al*., 2013). افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاه چغندر تلقیح شده با باکتری محرک رشد گیاه در شرایط تنش گزارش شده است (Gururani *et al*., 2012).

همچنین گزارش شده است که کاربرد باکتری‌های محرک رشد با پاکسازی رادیکال‌های آزاد اکسیژن سبب کاهش خسارت به اسیدهای چرب و آنزیم‌ها شده، در نتیجه اثر مخرب تنش را کاهش می‌دهند (Belimove *et al*., 2015). افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه چغندر تلقیح شده با باکتری محرک رشد گیاه نسبت به گیاهان شاهد باکتری در شرایط تنش گزارش شده است (Gururani *et al*., 2012). به‌طور کلی باکتری سودوموناس به‌عنوان یک کاتابولیسم عمل می‌کند، علاوه‌براین فعالیت آنزیم‌هایی مانند سوپراکسیداز و کاتالاز را افزایش می‌دهد (Bianco & Defez, 2009). برهم‌کنش‌های بین گیاهان و باکتری‌های مفید نشان داده است که این باکتری‌ها با سازوکارهای مختلف در برابر تنش‌های محدودکننده محیطی، از گیاهان محافظت می‌کنند. یکی از این سازوکارها تغییر در مورفولوژی ریشه است که هورمون‌های گیاهی به‌ویژه ایندول استیک اسید نقش مهمی در این فرایند دارند. میکروارگانیسم‌ها، به‌ویژه باکتری‌های محرک رشد گیاه می‌توانند با استفاده از روش‌هایی، عوامل محدود کننده رشد گیاه مانند فلزات سنگین را کاهش دهند (Tangahu *et al*., 2011). ازجمله این روش‌ها کاهش سطح اتیلن در گیاهان، تولید آنزیم ACC–دآمیناز و آنزیم‌هایی مانند کاتالاز باعث افزایش رشد گیاه می‌شود (Ullah *et al*., 2015).

در این پژوهش غلظت سرب در حضور سویه‌های باکتری در شاخساره شوید کاهش یافت. در نتایج محققان دیگر نیز تلقیح با باکتری‌های محرک رشد سبب کاهش محتوای فلزات سنگین در گیاه می‌شود که برخی علت این پدیده را به تولید سیدروفورها و کلات شدن فلزات سنگین با این سیدروفورها و در نتیجه کاهش ورود به سلول نسبت داده‌اند (Mesa *et al*., 2015).

به‌عنوان نتیجه‌گیری کلی می‌توان گفت که مطابق نتایج حاصل از این پژوهش سرب به‌شدت صفات رشدی از قبیل تعداد برگ، ارتفاع بوته، وزن تر و خشک اندام هوایی گیاه شوید را تحت تأثیر قرار داد و کاهش محتوی پرولین، کربوهیدرات و فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز در حضور سرب افزایش یافت. نتایج این پژوهش نشان داد که باکتری‌های سودوموناس فلورسنس توانایی کمک به بهبود رشد گیاه شوید را در حضور سرب دارند، به‌طوری که تلقیح با باکتری سودوموناس به‌ویژه سویه ۱۵۰ سبب بهبود خسارت ناشی از سرب بر صفات رشدی شد که دلیل اول این قضیه را زنده‌مانی بالاتر این سویه در حضور سرب در خاک می‌توان بیان کرد. مطابق نتایج این تحقیق شاید بتوان گفت سویه سودوموناس به دلیل بالاتر بردن محتوی پرولین و کربوهیدرات سبب بالا بردن تحمل گیاه به حضور سرب در محیط شد و از این طریق به رشد بهتر گیاه شوید کمک کرد و همین‌طور فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تأثیر این باکتری‌ها افزایش یافت. هرچند برای اثبات این ادعا نیاز به تحقیقات بیشتر با سویه‌های دیگر و بررسی مولکولی این سویه‌ها از لحاظ تفاوت‌های ژنتیکی و تولید متابولیت‌ها در تحقیقات بعدی توصیه می‌شود.

منابع مورد استفاده

- Adediran, G.A., Ngwenya, B.T., Mosselmans, J.F.W., Heal, K.V. and Harvie, B.A., 2015. Mechanism behind bacteria induced plant growth promotion and Zn accumulation in *Brassica juncea*. Journal of Hazardious Matereials, 283: 490-499.
- Alef, K., 1995. Field methods: 463-490. In: Alef, K. and Nannipieri, P., (Eds.) Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry. Academic Press, 608p.
- Ali, B., Mwamba, T.M., Gill, R.A., Yang, C., Ali, S. and Daud, M.K., 2014. Improvement of element uptake and antioxidative defense in *Brassica napus* under lead stress by application of hydrogen sulfide. Plant Growth Regulation, 74(3): 261-273.

- Aliasgharzad, N., Molaei, A. and Oustan, S., 2011. Pollution induced community tolerance (PICT) of microorganisms in soil incubated with different levels of Pb. World Academy of Science, Engineering and Technology, 5(12): 438-442.
- Anderson, T.H. and Domsch, K., 1990. Application of eco-physiological quotients (qCO_2 and qD) on microbial biomasses from soils of different cropping histories. Soil Biology and Biochemistry, 22: 251-255.
- Arora, K., Sharma, S. and Monti, A., 2016. Bio-remediation of Pb and Cd polluted soils by switch grass: a case study in India. Intenational Journal of Phytoremediation, 18: 704-709.
- Ashraf, M.A., Hussain, I., Rasheed, R., Iqbal, M., Riaz, M. and Arif, M.S., 2017. Advances in microbe-assisted reclamation of heavy metal contaminated soils over the last decade: a review. Journal of Environmental ManageMent, 198: 132-143.
- Banchio, E., Xie, X., Zhang, H. and Pare, P.W., 2009. Soil bacteria elevate essential oil accumulation and emissions in sweet basil. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 57: 653-657.
- Bates, L.S., Waldren, R.P. and Teare, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies Plant and Soil, 39: 205-207.
- Belimove, A.A., Puhalsky, I.V., Safronova, V.I., Shaposhnikov, A.I., Vishnyakova, M.A. and Semenova, E.V., 2015. Role of plant genotype and soil conditions in symbiotic plant-microbe interactions for adaptation of plants to cadmium polluted soils. Water and Air and Soil Pollution, 226(264): 1-15.
- Bharwana, S., Ali, S., Farooq, M., Iqbal, N., Abbas, F. and Ahmad, M., 2013. Alleviation of lead toxicity by silicon is related to elevated photosynthesis, antioxidant enzymes suppressed lead uptake and oxidative stress in cotton. Journal of Bioremediation & Biodegradation, 4: 187.
- Bianco, C. and Defez, R., 2009. Medicago truncatula improves salt tolerance when nodulated by an indole3-acetic acidoverproducing Sinorhizobium meliloti strain. Journal of Experimental Botany, 60: 3097-3107.
- Braud, A., Jezequel, K., Bazot, S. and Lebeau, T., 2009. Enhanced phytoextraction of an agricultural Cr and Pb-contaminated soil by bioaugmentation with siderophore -producing bacteria. Chemosphere, 74: 280-286.
- Cencki, S., Cioerci, I.H., Yildiz, M., Oezay, C., Bozdao, A. and Terzi, H., 2010. Lead contamination reduces chlorophyll biosynthesis and genomic template stability in *Brassica rapa* L. Environmental Exprimental Botany, 67: 467-473.
- Chen, J., Zhu, C., Lin, D. and Sun, Z.X., 2007. The effects of Cd on lipid peroxidation, hydrogen peroxide content and antioxidant enzyme activities in Cd-sensitive mutant rice seedlings. Canadian Journal of Plant Science, 87: 49-57.
- Demir, S., 2004. Influence of arbuscular mycorrhiza on some physiological growth parameters of pepper. Turkish Journal Biology, 28: 85-90.
- Fatemeh, A., Masoud, T., Pejman, A. and Aidin, H., 2014. Effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) and stratification on germination traits of *Crataegus pseudoheterophylla* Pojark seeds. Scientia Horticulture, 172: 61-67.
- Ghnaya, T., Zaier, H., Baioui, R., Sghaier, S., Lucchini, G. and Sacchi, G.A., 2013. Implication of organic acids in the long-distance transport and the accumulation of lead in Sesuvium portulacastrum and *Brassica juncea*. Chemosphere, 90(4): 1449-1454.
- Ghorbanpour, M., Asgari Lajayer, H. and Hadian, J., 2016. Influence of copper and zinc on growth, metal accumulation and chemical composition of essential oils in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 3: 132-144.
- Gururani, M.A., Upadhyaya, C.P., Baskar, V., Nookaraju, A., Venkatesh, J. and Park, S.W., 2012. Plant growth-promoting rhizobacteria enhance abiotic stress tolerance in *Solanum tuberosum* through inducing changes in the expression of ROS-scavenging enzymes and improved photosynthetic performance. Journal of Plant Growth Regulator, 32: 245-258.
- 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., Xu, W.B. and Wang, Z.L., 2014. Beneficial soil bacterium Bacillus subtilis (GB03) augments salt tolerance of white clover. Frontier Plant Science, 5: 525.
- Harish, S., Kavino, M., Kumar, N., Saravana Kumar, D., Soorianathasundaram, K. and Samiyappan, R., 2008. Biohardening with plant growth promoting rhizosphere and endophytic bacteria induces systemic resistance against banana bunchy top virus. Applied Soil Ecology, 39: 187-200.
- Hayat, S.H., Hayat, Q., Alyemeni, M.N., Shafi Wani, A., Pichtel, J. and Aqil Ahmad, A., 2012. Role of proline under changing environments. Plant and Behavior, 7(11): 1456-1466.
- Irigoyen, J.J., Einerich, D.W. and Sánchez-Díaz, M., 1992. Water stress induced changes in

production and metal-uptake of energy crop sweet sorghum by plant-growth-promoting endophyte *Bacillus* sp. SLS18. Appllied Microbiology Biotechnology, 93: 1745-1753.

- Ma, Y., Prasad, M.N.V., Rajkumar, M. and Freitas, H., 2011. Plant growth promoting rhizobacteria and endophytes accelerate phytoremediation of metalliferous soils. Biotechnology Advance, 29: 248-258.
- Maleki, M., Ghorbanpour, M. and Kariman, K., 2017. Physiological and antioxidative responses of medicinal plants exposed to heavy metals stress. Plant Genetics, 11: 247-254.
- Manzoni, S., Schimel, J.P. and Porporato, A., 2012. Responses of soil microbial communities to water stress: Results from a meta-analysis. Ecology, 93: 930-938.
- Mesa, J., Mateos-Naranjo, E., Caviedes, M.A., Redondo-Gómez, S., Pajuelo, E. and Rodríguez-Llorente, I.D., 2015. Scouting contaminated estuaries: heavy metal resistant and plant growth promoting rhizobacteria in the native metal rhizoaccumulator *Spartina maritima*. Marine Pollution Bulletin, 90: 150-159.
- Mura, A., Pintus, F., Medda, R., Floris, G., Rinaldi, A.C. and Padiglia, A., 2007. Catalase and antiquitin from *Euphorbia characias*: Two proteins involved in plant defense. Journal of Biochemistry, 72: 501-508.
- Nagananda, G.S., Das, A., Bhattacharya, S. and Kalpana, T., 2010. In vitro studies on the effects of biofertilizers (Azotobacter and Rhizobium) on seed germination and development of *Trigonella foenum-graecum* L. using a novel glass marble containing liquid medium. International Journal of Botany, 6: 394-403.
- Nikalje, G.C. and Suprasanna, P., 2018. Coping with metal toxicity-cues from halophytes. Frontiers in Plant Science, 9: 777.
- Omidbaigi, R., 2000. Apporaches Production and Processing of Medicinal Plant (Vol 3). Mashhad Publications, Astan Quds Razavi, 397p.
- Asareh, M.H. and Shariat. A. 2009. Salinity resistance in germination stage and growth stage in some *Eucalyptus* species. Journal Agriculture Science and Natural Resources, 15(6): 145-157.
- Pandey, N., Pathak, G.C., Pandey, D.K. and Pandey, R., 2009. Heavy metals, Co, Ni, Cu, Zn and Cd produce oxidative damage and evoke differential antioxidant responses in spinach. Brazilian Journal of Plant Physiology, 21(2): 103-111.
- Piotrowska, A., Bajguz, A., Godlewska-Zyłkiewicz, B. and Zambrzycka, E., 2010. Changes in growth, concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. Physiologia Plantarum, 84: 55-60.
- Jiang, M., Liu, S., Li, Y., Li, X., Luo, Z. Song, H. and Chen, Q., 2019. EDTA-facilitated toxic tolerance, absorption and translocation and phytoremediation of lead by dwarf bamboos. Ecotoxicology and Environmental Safety, 170: 502-512.
- John, R., Ahmad, P., Gadgil, K. and Sharm, S., 2008. Effect of cadmium and lead on growth, biochemical parameters and uptake in *Lemna polyrrhiza* L. Plant Soil and Environment, 54(6): 262-270.
- Kar, M. and Mishra, D., 1976. Catalase, peroxidase and polyphenolxidase activities during rice leaf senescence. Plant Phsiology, 57: 315-319.
- Karlidag, H., Esitken, A., Yildirim, E., Figen Donmez, M. and Turan, M., 2011. Effects of plant growth promoting bacteria on yield, growth, leaf water content, membrane permeability and ionic composition of strawberry under saline conditions. Journal of Plant Nutrition, 34: 34-45.
- Khatun, S., Ali, E.J., Hahn, K. and Paek, Y., 2008. Cooper toxicity in withania somnifera: growth and antioxidant enzymes responses of in vitro grown plants. Environmental and Experimental Botany, 64: 279-285.
- Khoramdel, S., Koocheki, A., Nassiri Mohalatiand, M. and Gorbani, R., 2008. Effects of biological fertilizers application on growth indices of *Nigella sativa* L. Iranian Agronomy Research, 6: 285-294.
- Kumar, R., Mishra, R.K., Mishra, V., Qidwai, A., Pandey, A., Shukla, S.K. and Dikshit, A., 2016. Detoxification and tolerance of heavy metals in plants: 335-359. In: Ahmad, P., (Ed.). Plant Metal Interaction, Elsevier, 652p.
- Laidlaw, M.A., Filippelli, G.M., Sadler, R.C., Gonzales, C.R., Ball, A.S. and Mielke, H.W., 2016. Children's blood lead seasonality in flint, Michigan (USA), and soil-sourced lead hazard risks. International Journal of Environmental Research and Public Health, 13(4): 358.
- Lenart, K. and Wolny-Koadka, B., 2013. The effect of heavy metal concentration and soil pH on the abundance of selected microbial groups within ArcelorMittal Poland steelworks in Cracow. Contamination Toxicology, 90: 85-90.
- Li, Y., Niu, W., Wang, J., Liu, L., Zhang, M. and Xu, J., 2016. Effects of artificial soil aeration volume and frequency on soil enzyme activity and microbial abundance when cultivating greenhouse tomato. Soil Science Society American Journal, 80: 1208-1221.
-Luo, S., Xu, T., Chen, L., Chen, J., Rao, C. and Xiao, X., 2012. Endophyte-assisted promotion of biomass

grown with waste water in southern suburb of Tehran-Iran. Vegetable Science, 43: 156-162.
- Tangahu, B.V., Sheikh Abdullah, S.R., Basri, H., Idris, M., Anuar, N. and Mukhlisin, M., 2011. A review on heavy metals (As, Pb, and Hg) uptake by plants through phytoremediation. International Journal Chemistry Enginering, 2011: 1-31.
- TayebRezvani, H., Moradi, P. and Soltani, F., 2013. The effect of nitrogen fixation and phosphorus solvent bacteria on growth physiology and vitamin C content of *Capsicum annum* L. Iranian Journal of Plant Physiology, 3(2): 673-682.
- Turan, M., Güllüce, M., Çakmak, R. and Şahin, F., 2013. Effect of plant growth-promoting rhizobacteria strain on freezing injury and antioxidant enzyme activity of wheat and barley. Journal of Plant Nutrition, 36: 731-748.
- 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 Scioiety Pollution Reserch, 22: 2505-2514.
- 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: 159-163.
- Yu, C.L., Hui, D., Deng, Q., Dzantor, E.K., Fay, P.A., Shen, W. and Luo, Y., 2017. Responses of switchgrass soil respiration and its components to precipitation gradient in a mesocosm study. Plant and Soil, 420: 105-117.
- Zhang, H.H., Tang, M. and Zheng, 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. European Journal of Soil Biology, 46: 306-311.

biochemical components, and antioxidant activity in aquatic plant wolffia arrhiza (Lemnaceae) exposed to cadmium and lead. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 58: 594-604.
- Posmyk, M.M., Kontek, R. and Janas, K.M., 2008. Antioxidant Enzymes activity and phenolic compounds content in red cabbage seedlings exposed to copper stress. Ecotoxicology and Environmental Safety, 72(2): 596-602.
- Probst, B., Schuler, C. and Joergensen, R.G., 2007. Vineyard soils under organic and conventional managementmicrobial biomass and activity indices and their relation to soil chemical properties. Biology and Fertility of Soils, 44: 443-450.
- Reeves, R.D. and Brooks, R.R. 1983. Hyperaccumulation of lead and zinc by two metallophytes from mining areas of central Europe. Environmental Polluttion, 31: 277-285.
- Renault, P., Ben-Sassi, M. and Berard, A., 2013. Improving the MicroResp™ substrate-induced respiration method by a more complete description of CO_2 behavior in closed incubation wells. Geoderma, 207: 82-91.
- Ritchie, S.W., Nguyen, H.T. and Holaday, A.S., 1990. Leaf water content and gas-exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. Crop Science, 30: 105-111.
- Saravanakumar, D., Kavino, M., Raguchander, T., Subbian, P. and Samiyappan, R., 2010. Plant growth promoting bacteria enhance water stress resistance in green gram plants. Plant Physiology, 33: 203-209.
- Shi, W.Y., Du, S., Morina, J.C., Guan, J.H., Wang, K.B., Ma, M.G., Yamanaka, N. and Tateno, R., 2017. Physical and biogeochemical controls on soil respiration along a topographical gradient in a semiarid forestary and. Agricultural Meteorology, 247: 1-11.
- Souri, M.K., Alipanahi, N. and Tohidloo, G., 2016. Heavy metal content of some leafy egetable crops

Effects of different strains of bacterium *Pseudomonas fluorescens* on morphological and biochemical factors and antioxidant enzymes activities of Dill (*Anethum graveolens* L.) under Pb stress

A. Rahbary[1], H. Fatemi[2*] and B. Esmailpour[3]

1- M.Sc. student, Department of Horticultural Science, Mohaghegh Ardabili University, Ardebil, Iran

2*- Corresponding author, Ph.D. student, Department of Horticultural Science, Mohaghegh Ardabili University, Ardebil, Iran E-mail: Ha.fatemi@uma.ac.ir; Ha.fatemi@yahoo.com

3- Department of Horticultural Science, Mohaghegh Ardabili University, University, Ardebil, Iran

Received: October 2019 Revised: February 2020 Accepted: February 2020

Abstract

Recently, various methods have been used to alleviate the detrimental effects of pollutants. The application of biofertilizers with respect to their positive impacts on soil characteristics and environment can be served as a suitable alternative to many of these methods. In order to investigate the two-way effect of bacterium *Pseudomonas fluorescens* on plant growth, physiological and biochemical characteristics of dill (*Anethum graveolens* L.) under Pb stress conditions, a factorial experiment based on a completely randomized design with three replications was conducted at Mohaghegh Ardabili University. Experimental treatments included Pb stress at two levels (0 and 600 ppm) and bacterial inoculation at three levels (inoculation with *Pseudomonas fluorescens* strains150 and 159 separately and without inoculation (control)). The results of this study showed that the growth characteristics such as leaf number, plant height, and shoot fresh and dry weight were significantly affected by Pb contamination and shoot fresh and dry weight, leaf number and plant height decreased by 22, 31, 19 and 9%, respectively. The content of proline and carbohydrates in dill showed a significant increase under the influence of lead. Bacterial inoculation also increased the content of proline and plant carbohydrates, which was more pronounced in inoculation with strain150. The activity of antioxidant enzymes was significantly influenced by Pb contamination and bacterial inoculation. Pb increased peroxidase but decreased catalase activity, but inoculation with *Pseudomonas* bacteria, especially strain 150, significantly increased the activity of both enzymes. In addition, the bacteria were able to reduce the amount of Pb in dill. In general, the results of this experiment indicated that *Pseudomonas* bacterial inoculation was effective in alleviating the effects of Pb stress on dill via growth promotion and improving enzymatic activity.

Keywords: Proline, heavy metal, biofertilizers, dry weight.