تأثیر باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه بر تغذیه گیاه کدو در یک خاک آلوده به مس

نازیلا ابراهیمی و پیمان عباس راده دهجی
۱ و ۲- دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار گروه خاکشناسی دانشگاه ولی‌عصر رفسنجان

چکیده

رشد گیاهان زراعی در زمین‌های آلوده به فلزات سنگین به کندی صورت می‌گیرد و یکی از راهکارهای بهبود رشد و تغذیه گیاهان در این شرایط، تلقیح گیاهان با باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه است. پژوهش حاضر به منظور مطالعه اثر دو سویه باکتری برشاخص جذب عناصر در گیاه کدو در خاک آلوده به مس در قالب طرح کاملا تصادفی با دو تیمار باکتری و یک تیمار شاهد با سه تکرار انجام گرفت. نتایج حاصل ازکشت نشان داد که کاربرد هر دو سویه باکتری تاثیر معنی‌داری بر جذب عناصر ماکرو و میکرو (به جز منگنز) توسط گیاه کدو داشتند. تلقیح گیاهان با باکتری‌های محرک رشد جذب فسفر و پتاسیم در مقایسه با شاهد را به طور معنی‌داری افزایش دادند. تلقیح باکتری نقش موثری در افزایش جذب مس و روی داشت. جذب آهن با کاربرد دو سویه A5 و K3 در مقایسه با شاهد به ترتیب افزایش معنی‌دار ۱۰۰ و ۷۳ درصدی یافت که می‌تواند ناشی از ترشح سیدروفور توسط این باکتری‌ها باشد.

واژه های کلیدی: خاک آلوده، مس، جذب عناصر سنگین، باکتری، رشد گیاه

مقدمه

آلودگی خاک‌ها به فلزات سنگین یکی از مهمترین مشکلات خاک در سال‌های اخیر می‌باشد. غلظت‌های بالای فلزات سنگین نه تنها فعالیت میکروارگانیسم‌ها را به خطر می‌اندازد، بلکه رشد گیاهان در منطقه را نیز کاهش می‌دهد (Boyd, 2010). در تحقیقات مختلف مشخص شده است که استفاده از باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه[1] (PGPR) می‌توانند نقش موثری در افزایش رشد گیاهان در شرایط بد تنش فلزات سنگین داشته باشند (Gadd, 2004; DeBashan *et al*., 2012).

ریزوسفر، لایه‌ی نازکی از خاک اطراف ریشه است (یک تا سه میلی‌متر) که موجودات زنده در آن ناحیه از نظر کمی و کیفی تحت تاثیر فعالیت ریشه مانند تنفس و ترشحات ریشه‌ای قرار دارند (Boven and Ravira, 1999). امروزه استفاده از ریزجانداران به منظور افزایش فراهمی عناصر غذایی برای گیاه از مهمترین ملزومات کشاورزی می‌باشد. از مهمترین ریزجانداران باکتری‌ها و قارچ‌ها می‌باشند. باکتری‌های ریزوسفری که به سرعت ریشه‌های گیاه را کلونیزه کرده و رشد گیاه را تحریک می‌کنند را به طور کلی باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه می‌نامند (Khan *et al*., 2000). جنس‌های مختلفی مانند *Azotobacter*، *Azospirillum*، *Pseudomonas*، *Burkholderia*، *Bacillus*، *Gluconacetobacter* و *Achromobacter* به‌عنوان باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه شناخته شده‌اند. این باکتری‌ها می‌توانند از طریق طریق مکانیسم‌های مختلف مانند تولید هورمون‌های گیاهی، سیدروفورها، و انحلال مواد معدنی مانند فسفر و روی باعث بهبود رشد گیاهان می شوند (Rajkumar *et al*., 2008; Sheng *et al*., 2008). به علاوه برخی از این باکتری‌ها دارای آنزیم ACC-دآمیناز هستند که با هیدرولیز کردن ACC، مقدار اتیلن در گیاه را کاهش می‌دهند که با کاهش مقدار اتیلن در گیاه، سرعت جوانه‌زنی دانه و رشد گیاه افزایش می‌یابد (Glick, 1995) .همچنین باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه با تولید هورمون‌های گیاهی مانند اکسین، باعث افزایش وزن توده‌ی ریشه‌ها، افزایش رشد طولی و انشعابات فرعی، تولید ریشه‌های نازک‌تر و افزایش تولید تارهای کشنده و در نتیجه افزایش سطح سیستم ریشه‌ای و جذب آب و عناصر غذایی می‌شوند (Glick *et al*., 2007). Wu و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کرده‌اند که تلقیح باکتری باعث افزایش رشد گیاه و بهبود جذب مواد مغذی گیاه مانند فسفر و پتاسیم در گیاهان شد. باکتری‌های محرک رشد گیاه قابلیت تبدیل عناصر غذایی از فرم غیر قابل دسترس به فرم قابل

[1]Plant Growth Promoting Rhizobacteria

دسترس را از طریق فعالیت‌های بیولوژیکی دارند (Vessey , 2003). هدف از این تحقیق تاثیر باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه بر رشد و تغذیه گیاه کدو در شرایط تنش فلزات سنگین.مس می‌باشد.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در قالب طرح کامل تصادفی با سه تیمار آزمایشی (شامل دو سویه باکتری و شاهد) برای بررسی اثر باکتری های ریزوسفری محرک رشد گیاه و بر رشد و تغذیه گیاه کدو در یک خاک آلوده به مس صورت گرفت. به همین منظور یک نمونه خاک آلوده به عناصر مس از اطراف کارخانه مس خاتون آباد شهر بابک تهیه شد و خاک به داخل گلدان‌های یک گیلوگرمی منتقل گردید. در این ازمون از بذر کدو پوست کاغذی استفاده گردید. ابتدا بذرها به مدت ۳۰ ثانیه در الکل ۹۶ درصد قرار داده شدند سپس با وایتکس ۳۰٪ درصد ضدعفونی سطحی گردیدند. برای حذف هیپوکلراید از سطح بذرها چندین بار با آب مقطر استریل شستوشو گردید. سپس به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۶ درجه سیلیسیوس بر روی محیط آب آگار قرار داده شدند تا جوانه‌دار شوند. دو سویه باکتری سودوموناس با صفات محرک رشدی موثر که صفات محرک رشدی آنها قبلا اندازه‌گیری شده بود از کلکسیون میکروبی گروه خاکشناسی دانشگاه ولی‌عصر (عج) انتخاب شدند (جدول ۱). برای انجام این ازمایش در شرایط گلخانه نه گلدان یک گیلوگرمی انتخاب و در هر گلدان تعداد هشت عدد بذر از هر کدام پس از جوانه‌زنی کشت و هر بذر با ۱۰۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری مورد نظر با جمعیت 10^8 سلول در هر میلی‌لیتر تلقیح گردید. بعد از چهار برگی شدن گیاهان بوته‌های اضافی در هر گلدان حذف و چهار بوته در هر گلدان نگهداری شد. ابیاری گلدان‌ها به صورت روزانه و بر اساس ۸۰ درصد ظرفیت زراعی انجام گردید. در طول دوره رشد محلول غذایی نیتروژن از منبع اوره به میزان ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک در سه مرحله به خاک اضافه گردید. پس از گذشت ۶۰ روز از کشت گیاهان برداشت شدند. اندام هوایی پس از شستشو با اب مقطر به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۶۵ درجه سلسیوس در اون قرار داده شدند. سپس نمونه‌ها توزین و به وسیله آسیاب پودر گردید و نیم گرم از پودر گیاه (اندام هوایی) با ترازو وزن و در بوته چینی ریخته شد نمونه‌ها در کوره به مدت نیم ساعت در دمای ۲۵۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند بعد از خروج دوده‌های اولیه حاصل از سوختن گیاه درجه حرارت کوره به ۵۵۰ درجه افزایش یافت. نمونه ها به صورت خاکستر و با اسیدکلریدریک دو نرمال به صورت محلول در آمدند. غلظت مس، آهن، منگنز و روی در عصاره با استفاده از دستگاه جذب اتمی gbc avanta ساخت استرالیا قرائت گردید. همچنین درصد فسفر با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر و پتاسیم توسط دستگاه فلیم‌فتومتر قرائت گردید.

جدول ۱- خصوصیات باکتری محرک رشدی سویه‌های مورد استفاده

سطح	اکسین	انحلال ترکیبات نامحلول فسفر	سیدروفور	تولید آنزیم ACC-دآمیناز
		$mg.L^{-1}$	$Halo.colony^{-1}$	
Pseudomonas sp A5	۳/۰۰	۶۵۰	۱/۲	+
Pseudomonas sp K3	۱/۵	۵۸۰	۱/۰	+

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که اثر باکتری بر جذب عناصر غذایی اثر معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد داشت و جذب تمامی عناصر (به جز منگنز) را در گیاه کدو در حضور مس افزایش داد.

جدول ۲- تجزیه واریانس تاثیر باکتری بر جذب عناصر در اندام هوایی گیاه کدو در شرایط سمیت مس

منابع تغییرات	درجه آزادی	K	P	Fe	Zn	Mn	Cu
باکتری	۲	۴۸/۲*	۲/۸۲*	۵۷۰۴۶*	۳۶۱۵*	۱۵۵۴ns	۸۹۱*
خطا	۴	۸/۹۸	۰/۲۷	۲۹۲۱	۷۱۵	۶۵۶	۵۵/۴
ضریب تغییرات	_	۷/۹۵	۱۲/۰	۱۲/۹	۲۲/۹	۲۹/۰	۱۰/۵

ns و * به ترتیب نشان دهنده‌ی عدم معنی‌دار بودن و و معنی‌دار بودن در سطح احتمال پنج درصد آماری بر اساس آزمون دانکن

اثر باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه بر جذب عناصر ماکرو در گیاه کدو

با توجه به جدول مقایسه میانگین (جدول ۳) تلقیح گیاهان با سویه‌های باکتری جذب پتاسیم اندام هوایی را نسبت به شاهد به طور معنی‌داری افزایش داد. بین سویه‌های A5 و K3 اختلاف معنی‌داری در افزایش جذب پتاسیم اندام هوایی وجود نداشت و هر دو سویه تقریبا به یک میزان موثر بودند. تلقیح گیاهان کدو با باکتری‌های سویه‌های A5 و K3 سودوموناس به ترتیب باعث افزایش معنی‌دار و ۴۷ و ۵۵ درصدی جذب فسفر در گیاهان شد (جدول ۳). باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد می‌توانند با استفاده از مکانیسم‌های مختلفی به طور مستقیم در افزایش رشد و عملکرد گیاه ایفای نقش کنند. افزایش انحلال عناصر غذایی کم محلول مانند فسفر، تولید آنزیم ACC-دآمیناز، تولید هورمون‌های رشد گیاهی مانند اکسین، تثبیت نیتروژن و تولید سیدروفور از اهم مکانیسم‌های مورد استفاده در این روش می‌باشند (Ping and Boland, 2004). وقتی باکتری‌های محرک رشد گیاه به خاک آلوده به فلزات سنگین اضافه می‌شوند آن‌ها پتانسل گیاه را برای رشد افزایش می‌دهند. این باکتری ها می‌توانند با سم‌زدایی مواد شیمیایی، کنترل بیماری‌ها و آفات همچنین کاهش سمیت فلزات سنگین بوسیله‌ی تغییر فراهمی زیستی آن‌ها در گیاه باعث افزایش رشد گیاه و به‌تبع آن افزایش کارایی گیاه شوند (Han *et al*., 2005; Babaloba, 2010).

جدول ۳- مقایسه میانگین تاثیر باکتری بر جذب عناصر در اندام هوایی گیاه کدو در شرایط آلودگی مس

تیمارها	K	P	Fe	Zn	Mn	Cu
	mg.Pot^{-1}		µg.Pot^{-1}			
Control (B0)	۳۳/۱^{b}	۳/۲۷^{b}	۲۶۳^{b}	۷۷/۰^{b}	۶۱/۹^{a}	۵۱/۴^{b}
Pseudomonas sp A5	۴۰/۵^{a}	۴/۸۲^{a}	۵۳۰^{a}	۱۳۰^{a}	۱۰۰^{a}	۸۴/۵^{a}
Pseudomonas sp K3	۳۹/۵^{a}	۵/۰۶^{a}	۴۵۷^{a}	۱۴۲^{a}	۱۰۲^{a}	۷۶/۳^{a}

در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن می‌باشند.

اثر باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه بر جذب عناصر میکرو در گیاه کدو

نتایج تجزیه واریانس تاثیر باکتری بر غلظت آهن اندام هوایی در جدول دو نشان داده شده است. با توجه به جدول مقایسه میانگین (جدول ۳) مشاهده شد که اضافه کردن سویه‌های باکتری جذب آهن اندام هوایی را نسبت به شاهد به طور معنی‌داری افزایش داد و بین سویه‌های A5 و K3 اختلاف معنی‌داری در افزایش جذب آهن اندام هوایی وجود نداشت. برخی از باکتری‌های محرک مواد کلات کننده‌ای با وزن مولکولی کم به نام سیدروفور ترشح می‌کنند که تمایل زیادی به جذب آهن دارند. سیدروفور ترشح شده توسط باکتری‌ها با بخش اعظم آهن فریک موجود در خاک کمپلکس‌های پایدار تشکیل می‌دهد که این امر می‌تواند به تغذیه‌ی آهن گیاه کمک نماید (Glick, 1995). تلقیح گیاهان کدو با باکتری‌های سویه‌های A5 و K3 سودوموناس به ترتیب باعث افزایش معنی‌دار و ۶۹ و ۸۴ درصدی جذب روی در گیاهان شد (جدول ۳). تلقیح گیاهان با باکتری‌های محرک رشد باعث افزایش جذب منگنز گردید، اما این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبود.

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) اثر باکتری بر جذب مس نشان داد که اثر جدایه باکتری در سطح پنج درصد معنی‌دار شد. مقایسه میانگین (جدول ۳) تاثیر باکتری بر جذب مس اندام هوایی نشان داد که هر دو جدایه باکتری باعث افزایش جذب مس اندام هوایی شدند. یکی از دلایل افزایش جذب عناصر غذایی در گیاه کدو را می‌توان به توان این سویه‌ها در تولید آنزیم ACC-دآمیناز و احتمالا کاهش اتیلن تنشی ناشی از حضور مس در خاک بوده است. گزارش شده است که استفاده از باکتری‌های تولید کننده آنزیم ACC-دآمیناز می‌تواند باعث ارتقاء رشد گیاه و حفاظت از گیاهان در برابر سمیت فلزات سنگین در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین، شود (Belimov *et al*., 2005; Madhaiyan *et al*., 2007). میکروارگانیسم‌های ریزوسفری مفید می‌توانند در شرایط استرس، تولید زیست‌توده و تحمل به فلزات سنگین در گیاه را افزایش دهند (Dell'Amico *et al.*, 2008). باکتری‌های محرک رشد گیاه می¬توانند رشد گیاه را بوسیله‌ی تولید سیدروفور، سنتز هورمون های گیاهی و آنزیم‌ها یا حل فسفات‌های نامحلول در خاک تحریک کنند (Verma *et al.*, 2001).

منابع

Babalola O.O. 2010. Beneficial bacteria of agricultural importance. Biotechnology Letters, 32(11): 1559–1570.

Belimov A.A., Hontzeas N., Safronova V.I., Demchinskaya S.V., Piluzza G., Bullitta S. and Glick B.R. 2005. Cadmium-tolerant plant growth-promoting bacteria associated with the roots of Indian mustard (*Brassica juncea* L. *Czern*.). Soil Biology Biochemistry, 37: 241–250.

Boven G.D. and Rovira A.D. 1999. The rhizosphere and its management to improve plant growth. Adv Agron, 66: 1–102.

Boyd R.S. 2010. Heavy metal pollutants and chemical ecology: exploring new frontiers. J Chem Ecol, 36(1):46–58.

DeBashan L.E., Hernandez J.P. and Bashan Y. 2012. The potential contribution of plant growth promoting bacteria to reduce environmental degradation. A comprehensive evaluation. Appl Soil Ecol, 61:171–189.

Dell'Amico E., Cavalca L. and Andreoni V. 2008. Improvement of *Brassica napus* growth under cadmium stress by cadmium-resistant rhizobacteria. Soil Biology Biochemistry, 40: 74–84.

Gadd G.M. 2004. Microbial influence on metal mobility and application for bioremediation. Geoderma, 122: 109–119.

Glick B.R. 1995. The enhancement of plant-growth by free-living bacteria. Canadian Journal of Microbiology, 41: 109-117.

Glick B.R., Cheng Z. and Czarny J. 2007. Promoting of plant growth by ACC deaminase producing soil bacteria. European Journal of Plant Pathology, 119: 329-339.

Han J., Sun L., Dong X., Cai Z., Sun X., Yang H., Wang Y. and Song W. 2005. Characterization of a novel plant growth-promoting bacteria strain *Delftia tsuruhatensi* s HR4 both as a diazotroph and a potential biocontrol agent against various plant pathogens. System Applied Microbiology, 28: 66–76.

Khan A.G., Kuek C., Chaudhry T.M., Khoo C.S. and Hayes W.J. 2000. Role of plants, mycorrhizae and phytochelators in heavy metal contaminated land Remediation chemosphere, 41: 197–207.

Madhaiyan M., Poonguzhali S. and Sa, T. 2007. Metal tolerating methylotrophic bacteria reduces nickel and cadmium toxicity and promotes plant growth of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.). Chemosphere, 69: 220–228.

Ping L. and Boland W. 2004.Signals from the underground: bacterial volatiles promote growth in Arabidopsis.Trends. Plant Science, 9: 263-266.

Rajkumar M., Ma Y. and Freitas H. 2008. Characterization of metal-resistant plant growth promoting Bacillus weihenstephanensis isolated from serpentine soil in Portugal. J. Basic Microbiol, 48(6): 500-508.

Sheng X.F., Xia J.J., Jiang C.Y., He L.Y. and Qian M. 2008. Characterization of heavy metal-resistant endophytic bacteria from rape (*Brassica napus*) roots and their potential in promoting the growth and lead accumulation of rape. Environmental Pollution, 156: 1164-1170.

Verma S.C., Ladha J.K. and Tripathi A.K. 2001. Evaluation of plant growth promoting and colonization ability of endophytic diazotrophs from deep water rice. Journal of Biotechnology, 91: 127–141.

Vessey J.K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant Soil, 255: 571–586.

Wu S.C., Caob Z.H., Lib Z.G., Cheunga K.C. and Wonga M.H. 2005. Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. Geoderma, 125: 155–166.

The effect of plant growth promoting rhizobacteria on *Cucurbita pepo* (pumpkin) nutrition in a Cu-contaminated soil

N. Ebrahimi and P. Abbaszadeh Dehji
M.Sc. Student and Assistant Professor. Soil Sceince Department, Vali-e-Asr University

Abstract
Crop growth in heavy metal contaminated areas is slow and inoculation of plants with plant growth promoting rhizobacteria is one of the strategies to improve growth and nutrition of plants in these conditions. This study was done in a completely randomized design with two bacteria treatments and a control with three replications to investigate the effects of two bacteria strains on pumpkin nutrient uptake in cu-contaminated soil. The results showed that both bacteria strains had a significant effect on the uptake of macro and micro elements (except Mn) by the pumpkin plant. Inoculation of plants with plant growth promoting rhizobacteria significantly increased P and K uptake in comparison with blank. Bacterial Inoculation plays an important role in increasing the copper and zinc uptake. Application of A5 and K3 strains compared with blank significantly increased Fe uptake 100 and 73% that could be due to siderophore production by these strains.

Keywords: Contaminated soil, copper, heavy metal uptake, bacterium, plant growth