تأثیرپذیری برخی خصوصیات بیو-شیمیایی محیط ریزوسفر آفتابگردان از اصلاح‌کننده‌های زیستی وغیرزیستی مختلف در یک خاک آهکی با سطح آلودگی بالا

سید مجید موسوی*[۱]، بابک متشرع‌زاده[۱]، حسین میرسیدحسینی[۱]، حسینعلی علیخانی[۱]، علی اصغر ذوالفقاری[۲]
۱- گروه علوم و مهندسی خاک دانشگاه تهران، تهران، ایران ، ۲- گروه مدیریت مناطق خشک دانشکده کویر شناسی ، دانشگاه سمنان، سمنان ، ایران
(majidmousavi@ut.ac.ir)

چکیده

ریزوسفر به‌عنوان نقطه‌ی شروع ورود عناصر به زنجیرهای غذایی محسوب می‌شود. به منظور مطالعه‌ی برخی خصوصیات بیو-شیمیایی محیط ریزوسفر آفتابگردان در حضور اصلاح‌کننده‌های مختلف [نانوزئولیت و نانوسیلیس در سطح ۲۰۰میلی‌گرم در کیلوگرم و باکتری‌های *باسیلوس سیفنسیس* و *سودوموناس فلورسنس*] در یک خاک آهکی با سطح آلودگی بالا آزمایشی بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در شرایط گلخانه اجرا گردید. نتایج بدست آمده نشان داد که به استثنای pH اندازه‌گیری شده در تیمارهای جداگانه‌ی باکتریایی، تمامی خصوصیات بیو-شیمیایی در نتیجه‌ی اعمال تیمارهای اصلاح‌کننده افزایش یافتند. نقش تیمار نانوسیلیس در افزایش pH و EC بیشتر از سایر تیمارها بود در حالیکه بیشترین اثرگذاری مثبت بر روی کربن آلی محلول، جمعیت و تنفس میکروبی و فعالیت آنزیم دهیدروژناز در تیمار نانوسیلیس+ *سودوموناس فلورسنس* اتفاق افتاد.

واژه های کلیدی: ریزوسفر، نانوذرات، باکتری محرک رشد گیاه، فلزات سنگین.

مقدمه

فعالیت‌های انسانی متعددی منجر به ورود آلاینده‌های مختلف آلی و معدنی به محیط زیست می‌شوند که مدیریت ورود فلزات سنگین به زنجیره‌های غذایی یکی از چالش‌های این روزهای بشر محسوب می‌شود. ریزوسفر محیط کوچکی از خاک تعریف می‌شود که ویژگی های آن به وسیله‌ی برهم کنش بین فعالیت ریشه، ویژگی های خاک و پویایی جمعیت میکروبی تعیین می‌گردد (Lombi et al., 2001). تغییر در زیست‌فراهمی فلزات سنگین در ریزوسفر نتیجه‌ی برآیند شیب‌های بیوژئوشیمیایی غلظت فلز، pH، فشار جزئی گاز کربنیک و اکسیژن، غلظت لیگاندهای آلی و زیست‌توده‌ی میکروبی می‌باشد. نانوذرات به‌عنوان گروهی از مواد با مساحت سطح بالا و واکنش‌پذیری فیزیکی- شیمیایی قابل توجه یکی از اصلاح‌کننده‌های مورد توجه برای استفاده در خاک‌های آلوده به حساب می‌آیند. این مواد بر اساس ویژگی‌های اختصاصی که دارند رفتارهای کاملاً جدید و متفاوتی در مقایسه با ذرات درشت‌تر توده‌ی موادی که از آن ساخته شده‌اند از خود بروز می‌دهند (Perez et al., 2004). اکثر اتم‌های نانوذرات غیراشباع بوده و در سطح قرار دارند که می‌توانند به آسانی با یون‌های دیگر پیوند برقرار کرده و دارای واکنش‌پذیری قابل توجهی باشند (Liang et al., 2000). نقش سیلیسیوم از منابع مختلف در تعدیل اثرات خطرناک فلزات سنگین بر روی رشد گیاه گزارش شده است (Keller et al., 2015). زئولیت گروهی از آلومینوسیلیکات‌های دارای بار منفی بوده که معمولاً به عنوان یک عامل تثبیت کننده‌ی فلزات سنگین مورد استفاده قرار می‌گیرد (Navel and Martins, 2014). نقش این مواد در تعدیل تنش آلودگی فلزات سنگین به رسوب این فلزات بصورت کمپلکس‌های سیلیکاته (Putwattana et al., 2010)، تغییر شکل فلزات از حالت متحرک و قابل استفاده به ترکیبات با قابلیت استفاده‌ی محدود (Liang et al., 2005)، اثرگذاری بر اسیدیته‌ی خاک و نیز فعالیت جامعه‌ی میکروبی خاک بر می‌گردد (Keller et al., 2015) اما با این حال توجه کمی به اثرات این مواد در اندازه‌ی نانو بر روی خصوصیات بیو-شیمیایی محیط ریزوسفرشده است.

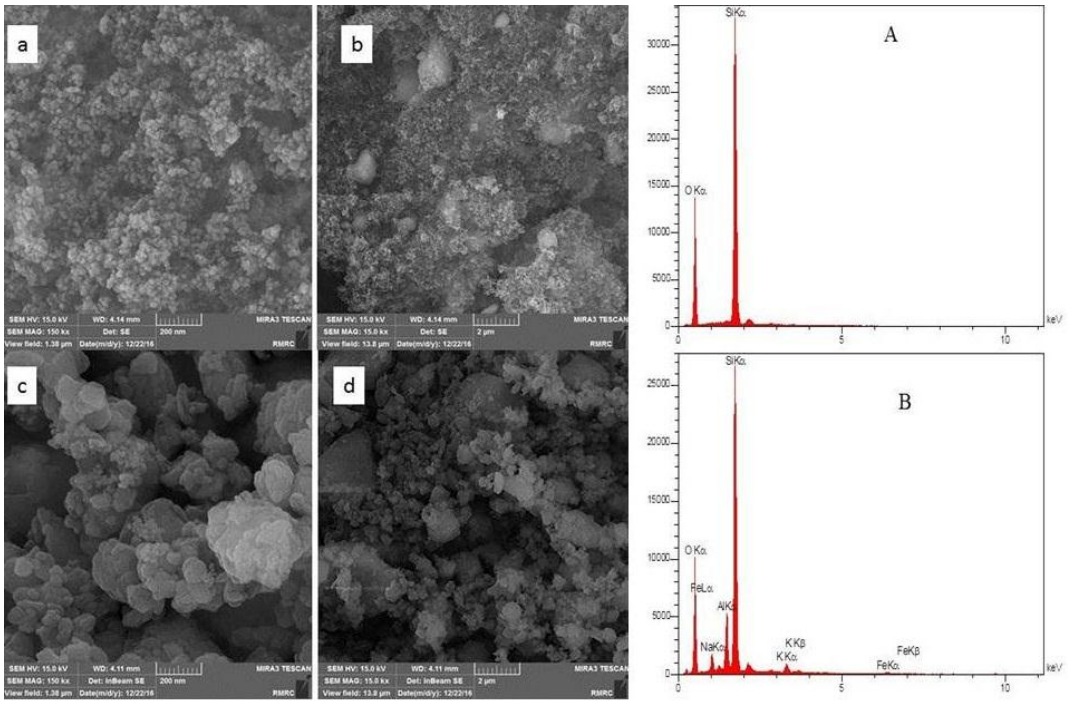
باکتری‌هایی که ریشه‌ی گیاه را کلونیزه کرده و سبب بهبود رشد گیاه می‌شوند باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه (PGPR[1]) خوانده می‌شوند (Beneduzi et al., 2012). آزادسازی عوامل کلات کننده و سیدروفورها، اسیدی کردن محیط ریشه، انحلال فسفات و تغییرات ریداکس به عنوان راهکارهای اصلی این باکتری‌ها برای اثرگذاری بر تحرک و زیست فراهمی فلزات سنگین گزارش شده است (Ma et al., 2011). با این وجود در خاک‌های آهکی با سطح آلودگی خیلی بالا کمتر به نحوه‌ی اثرگذاری این باکتری‌ها بر خصوصیات بیو شیمیایی محیط ریزوسفر بصورت جداگانه و در ترکیب با نانوذرات مختلف پرداخته شده است. بنابراین هدف از این تحقیق دستیابی به بینش بهتری درباره‌ی نحوه و میزان اثرگذاری نانوذرات سیلیس و زئولیت و باکتری‌های محرک رشد گیاه بصورت جداگانه و در ترکیب با همدگیر بر روی برخی خصوصیات بیو-شیمیایی محیط ریزوسفر گیاه آفتابگردان در شرایط آلودگی بالا می‌باشد.

مواد و روش‌ها

خاک مورد مطالعه در این تحقیق از اطراف شرکت ملی سرب و روی زنجان (۳۰-۰ سانتی‌متر) نمونه‌برداری شد ("۴۰ ´۳۶ °۳۶ و "۴۰ ´۳۸ °۳۶ شمالی و "۳۳ ´۳۷ °۴۸ و "۵۴ ´۳۸ °۴۸) و برخی خصوصیات فیزیکی (بافت خاک)، خصوصیات شیمیایی (pH، قابلیت هدایت الکتریکی، ظرفیت تبادل کاتیونی، درصد کربن آلی، درصد آهک و غلظت سرب و روی کل) با استفاده از روش‌های استاندارد (Sparks, 1996) و خصوصیات زیستی [جمعیت میکروبی (Alexander, 1982)؛ تنفس میکروبی (Anderson and John, 1982)؛ فعالیت آنزیم دهیدروژناز (Ohlinger, 1996)] تعیین گردید که نتایج بدست آمده عبارت بودند از: بافت خاک لومی، pH ۷/۵۳، EC ۴/۶۴ds m^{-1}، ظرفیت تبادل کاتیونی ۱۷/۹۴ meq $100g^{-1}$، کربن آلی ۰/۳۹ درصد، آهک ۱۵/۲۵ درصد، روی کل ۷۰۲۷/۵۴ میلی‌گرم در کیلوگرم، سرب کل ۴۷۵۲/۴۸ میلی‌گرم در کیلوگرم، جمعیت میکروبی ۱۵×10^4 MPN g^{-1} ، تنفس میکروبی ۰/۲۵ میلی‌گرم در گرم، فعالیت دهیدروژناز ۲/۰۴ µg TPF$g^{-1}.d_m.24h^{-1}$. پودر کلینوپتیلولایت-زئولیت طبیعی با اندازه ذرات کمتر از ۶۰ میکرون و درجه‌ی خلوص بیشتر از ۹۵ درصد از شرکت افرند توسکا، تهران تهیه و سپس در پژوهشگاه مواد و انرژی، کرج (https://en.merc.ac.ir) با استفاده از بالمیل سیاره‌ای (PM600) به ذرات با اندازه‌ی کمتر از ۱۰۰ نانومتر تبدیل گردید. نانوسیلیس مورد مطالعه نیز با درجه‌ی خلوص بیشتر از ۹۵ درصد از سیگما آلدریچ خریداری شد (شکل ۱). تیمارهای باکتریایی مورد مطالعه در این تحقیق نیز دو جدایه‌ی بومی به نام‌های *Bacillus safensis* FO-036b(T) و *Pseudomonas fluorescens* بودند که برخی خصوصیات PGPR آن‌ها شامل توان تولید سیدروفور (Schwyn and Neilands, 1987)، ACC-دی‌آمیناز (Penrose and Glick 2001)، ایندول-۳-استیک اسید (Patten and Glick 2002) و نیز مقاومت آنها به سطوح بالای سرب، روی و کادمیم مورد آزمون قرار گرفت (جدول ۱). برای اجرای آزمایش گلدان‌های زهکش‌دار استفاده و با ۳ کیلوگرم خاک هواخشک پر شدند. تیمار غیرزیستی به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم با روش اسپری یکنواخت و در سه سطح نانوزئولیت، نانوسیلیس و شاهد اعمال گردید و سپس به مدت ۲ ماه در حالت گرماگزاری قرار گرفتند. در این تحقیق رایزوبگ‌های استوانه‌ای (۱۳/۵×۶/۵ سانتیمتر) ساخته شده از پارچه‌ی مخصوص با اندازه‌ی مش ۶۰ میکرون مورد استفاده و با قرارگیری در مرکز گلدان‌ها با خاک مورد مطالعه احاطه گردید (Silva Gonzaga et al., 2006) مقدار خاک موجود در هر رایزوبگ برابر و معادل با ۵۰۰ گرم بود. بذرهای آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) رقم آذرگل مورد استفاده در این تحقیق نیز از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه گردید. بعد از اتمام دوره‌ی گرماگزاری بذرهای مورد نظر استریل و بعد از جوانه دار کردن به تعداد مساوی در هر رایزوبگ نشاء گردیدند. برای تلقیح باکتریایی، باکتری‌های مورد مطالعه در سه سطح *سودوموناس فلورسنس*، *باسیلوس سیفنسیس* و شاهد به میزان ۱ میلی‌لیتر مایه تلقیح (با جمعیت باکتریایی معادل ۵×10^8 cfu ml^{-1} به ازای هر نشاء استفاده گردید. بعد از حدود ۲ ماه از نشاءکاری نمونه برداری از خاک گلدان‌ها در منطقه‌ی ریزوسفر انجام و جمعیت میکروبی، تنفس میکروبی، فعالیت دهیدروژناز، کربن آلی محلول (Brandstette et al., 1996)، pH و قابلیت هدایت الکتریکی (EC) آنها تعیین گردید. برای تجزیه آماری داده‌های

[1] -plant growth promoting rhizobacteria

اندازه‌گیری شده از نرم‌افزار های SPSS 16.0 و MSTATC استفاده و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن ($P<۰/۰۵$) استفاده شد.



شکل ۱ – اسکن میکروسکوپ الکترونی (SEM) از (a) نانو سیلیس در بزرگنمایی ۲۰۰ نانومتر؛ (b) نانوسیلیس در بزرگنمایی ۲ میکرومتر؛ (c) نانوزئولیت در بزرگنمایی ۲۰۰ نانومتر؛ (d) نانوزئولیت در بزرگنمایی ۲ میکرومتر؛ (A) نتیجه پراش اشعه ایکس (EDS) نانوسیلیس و (B) نتیجه پراش اشعه ایکس (EDS) نانوزئولیت.

جدول ۱- برخی خصوصیات PGPR جدایه‌های مورد مطالعه

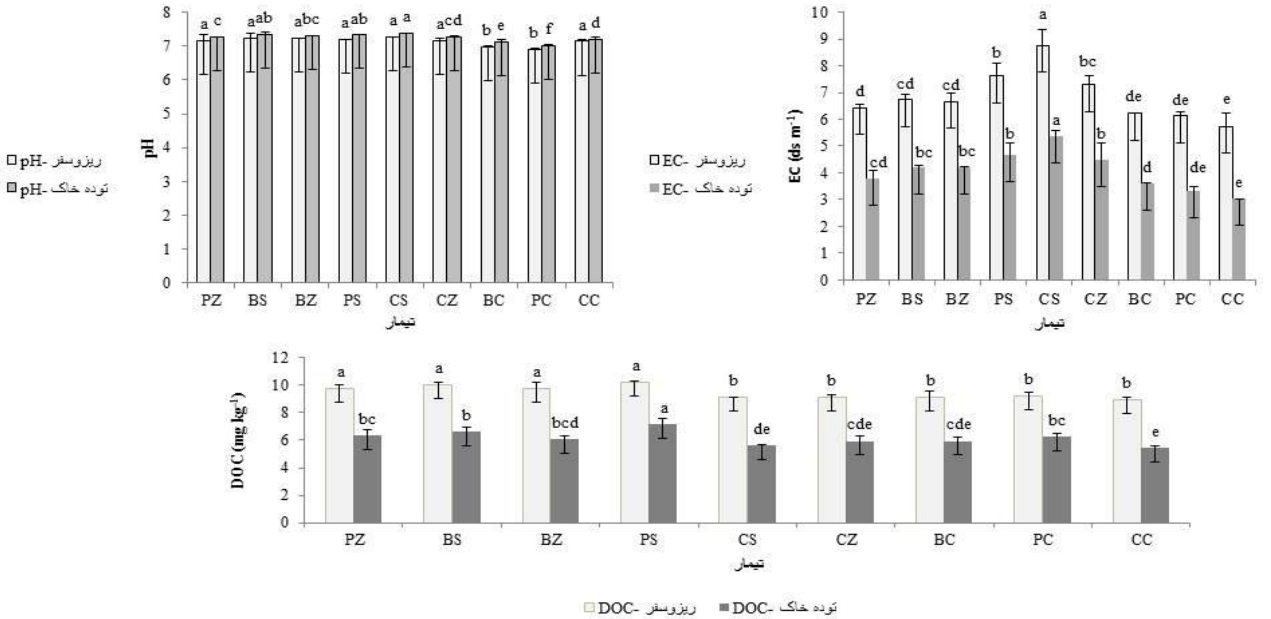
باکتری	گرم مثبت یا منفی	سیدروفور	ACC-دی-آمیناز	ایندول-۳-استیک اسید	مقاومت به سرب $mg\ kg^{-1}$ ۲۰۰۰	مقاومت به روی $mg\ kg^{-1}$ ۲۵۰۰	مقاومت به کادمیم $mg\ kg^{-1}$ ۲۰۰۰
B1		-	-	-	-	-	-
B2	+	+	+	+	+	+	+
B3	-	+	+	+	+	+	+

B1: شاهد (آب مقطر)؛ B2: *Bacillus safensis*؛ B3: *Pseudomonas fluorescens*

نتایج و بحث

نتایج بدست آمده از این تحقیق نشان داد که اعمال تیمارهای معدنی و باکتریایی خصوصیات شیمیایی و زیستی مورد نظر را در محیط ریزوسفر تحت تأثیر قرار می‌دهد. اعمال تیمارهای باکتریایی در غیاب نانوذرات بطور معنی‌داری pH ریزوسفر را در مقایسه با تیمار شاهد کاهش داد در حالی‌که در سایر تیمارها علی‌رغم عدم وجود اختلاف معنی‌دار با تیمار شاهد، در نتیجه‌ی اعمال آنها pH افزایش نشان داد (شکل ۲). در میان خصوصیات خاک، pH یکی از مهمترین فاکتورهای کنترل‌کننده‌ی زیست-فراهمی فلزات سنگین می‌باشد و نشان داده شده که سیلیسیوم با کاهش اسیدیته‌ی خاک فراهمی فلز را کاهش می‌دهد (Gu et al., 2011). تجزیه‌ی اکسیدهای فلزی (مانند CaO, K_2O, MgO) موجود در زئولیت و نیز حضور گروه‌های عاملی $-O^-$ در سطح زئولیت (شکل ۱) و برقراری پیوند با پروتون‌های موجود در محلول خاک از دلایل اصلی افزایش pH خاک تحت تیمار می‌باشد هرچند به دلیل ظرفیت بافری بالای خاک‌های آهکی این اثرگذاری در مقایسه با تیمار شاهد معنی‌دار نبود. کاهش در

pH خاک در حضور تیمارهای باکتریایی می‌تواند ناشی از تولید پروتون، آمینواسیدها و اسیدهای آلی از طریق فعالیت‌های متابولیکی باکتریایی باشد (Wu et al., 2006). بیشترین EC اندازه‌گیری شده در محیط ریزوسفر به تیمار نانوسیلیس اختصاص داشت که حدود ۵۳/۳ درصد بیشتر از میزان اندازه‌گیری شده در تیمار شاهد بود (شکل ۲). نقش سیلیسیوم در تعدیل تنش فلزات سنگین بر فعالیت جامعه‌ی میکروبی خاک و افزایش فعالیت‌های متابولیکی آنها می‌تواند یکی از علل اصلی افزایش در EC خاک تحت تیمار باشد. ضمن اینکه کاهش pH در ریزوسفر در مقایسه با توده‌ی خاک باعث افزایش انحلال و آزادسازی یون‌های عناصر از ترکیبات آلی و غیرآلی مختلف به درون محلول خاک شده که در نتیجه‌ی وقوع این فرایند افزایش در EC خاک چندان دور از انتظار نخواهد بود (Wu et al., 2006). کربن آلی محلول (DOC[۲]) شامل ترکیبات آلی با وزن مولکولی کم از قبیل پلی‌فنول‌ها، اسیدهای آلیفاتیک ساده، آمینواسیدها و اسیدهای قندی می‌باشد و یکی از مهمترین عوامل موثر بر تحرک و زیست فراهمی فلزات در خاک‌ها محسوب می‌شود (Kaiser et al., 2002). اعمال تیمارهای باکتریایی و نانوذرات مقدار DOC خاک را در مقایسه با تیمار شاهد افزایش داد که این افزایش در محیط ریزوسفر بیشتر از توده‌ی خاک بود (شکل ۲). تمامی باکتری‌های هتروتروفی که به عرضه‌ی ترکیبات آلی برای تأمین انرژی و رشد خود احتیاج دارند، می‌توانند از طریق تجزیه‌ی ترکیبات آلی و آزادسازی ترکیبات محلول با وزن مولکولی پایین، مانند اسیدهای آلی به درون خاک، باعث افزایش محتوای DOCخاک شوند (Bosecker, 1997). با این وجود این اثر افزایشی در نتیجه‌ی حضور سطوح بالای آلاینده‌ها در خاک به میزان قابل توجهی می‌تواند تضعیف شود. در ریزوسفر و در غیاب هر گونه اصلاح‌کننده (تیمار شاهد) مقدار DOC اندازه-گیری شده حدود ۶۵/۵ درصد بیشتر از میزان اندازه‌گیری در تیمار همتای خود در توده‌ی خاک بود. که این نشان‌دهنده‌ی اثر فرایندهای ریزوسفری بر افزایش محتوای کربن آلای محلول می‌باشد. بیشترین DOC اندازه‌گیری شده در ریزوسفر و توده‌ی خاک به تیمار *سودوموناس*+ نانوسیلیس اختصاص داشت که به ترتیب حدود ۱۱/۴۹ و ۳۲/۲۹ درصد بیشتر از تیمار شاهد بود (شکل ۲). بر اساس نتایج ارائه شده توسط Wu et al., (2006) اثر مستقیم ریزوسفر بر روی فعالیت و جمعیت میکروبی و نیز اثر تعدیل‌کنندگی قابل توجه تیمارهای اعمال شده بعنوان اصلاح‌کننده‌ی خاک دلایل اصلی برای افزایش محتوای DOC در خاک ریزوسفری می‌باشد.



شکل ۲- اثر تیمارهای مختلف بر pH، EC و کربن آلی محلول (DOC). حروف مشابه در بالای هر ستون نشان‌دهنده‌ی عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارهاست. PZ: سودوموناس+نانوزئولیت، BS: باسیولوس+نانوسیلیس؛ BZ: باسیلوس+نانوزئولیت؛ PS: سودوموناس+نانوسیلیس؛ CS: نانوسیلیس؛ CZ: نانوزئولیت؛ BC: باسیلوس؛ PC: سودوموناس و CC: شاهد

[2] - dissolved organic carbon

حضور غلظت‌های بالای فلزات سنگین در خاک اثرات نامطلوبی بر روی میکروارگانیسم‌ها و فعالیت آن‌ها دارد (Lemire et al., 2013). کمترین جمعیت میکروبی اندازه‌گیری شده در این تحقیق در تیمار شاهد اندازه‌گیری شد (۷۴۵۵۰۰ MPN g^{-1}) و تیمارهای *سودوموناس* + نانوسیلیس و *باسیلوس*+ نانوسیلیس بیشترین افزایش جمعیت میکروبی را هم در خاک ریزوسفری و هم در توده‌ی خاک باعث شدند (داده‌ها ارائه نشده است). همچنین، نتایج اندازه‌گیری تنفس میکروبی نشان داد که تیمارهای مذبور بیشترین افزایش را در تنفس میکروبی خاک دارند (به ترتیب ۳۸/۲۳ و ۳۲/۶ درصد افزایش در مقایسه با شاهد) (داده‌ها ارائه نشده است). بنابراین این نکته بیشتر قوت می‌گیرد که با افزایش فعالیت میکروبی در ریزوسفر، اکسیداسیون مواد آلی نیز افزایش یافته که در نتیجه‌ی آن افزایش غلظت کربن آلی محلول اتفاق خواهد افتاد (شکل ۲). فعالیت آنزیم دهیدروژناز از دیگر فاکتورهای زیستی مورد اندازه‌گیری در این تحقیق بود. اثرات کاهنده‌ی فعالیت آنزیم دهیدروژناز توسط فلزات سنگین در خاک‌های آلوده نشان داده شده است (Friedlova, 2010). از اندازه‌گیری فعالیت این آنزیم می‌توان به عنوان شاخصی جهت تعیین فعالیت زیستی خاک و میزان آلودگی خاک‌ها بهره جست. نتایج بدست آمده نشان داد که در تمامی تیمارهای اعمال شده فعالیت این آنزیم بطور قابل توجهی در مقایسه با تیمار شاهد افزایش یافت که میزان این افزایش در محیط ریزوسفر به طور معنی‌داری بیشتر از توده‌ی خاک بود. تیمار *سودوموناس*+ نانوسیلیس بیشترین اثرگذاری را بر افزایش فعالیت این آنزیم هم در ریزوسفر و هم در توده‌ی خاک نشان داد (به ترتیب حدود ۱۲/۵ برابر و ۵/۲۵ برابر میزان اندازه‌گیری شده در تیمار شاهد بود) و نقش تیمارهای باکتریایی در مقایسه با تیمارهای نانو در افزایش فعالیت دهیدروژناز در محیط ریزوسفر پررنگ‌تر بود. بطوری‌که فعالیت آنزیم دهیدروژناز در تیمارهای مستقل باکتریایی، یعنی تیمارهای *باسیلوس* و *سودوموناس* در غیاب نانوذرات بطور متوسط ۴/۸ برابر میزان اندازه‌گیری شده در تیمار شاهد بود در حالی‌که فعالیت این آنزیم در تیمارهای مستقل نانوذرات به طور متوسط ۳/۱۲ برابر میزان اندازه‌گیری شده در تیمار شاهد بود.

نتایج بدست آمده از این تحقیق نشان داد که اعمال تیمارهای باکتریایی و نانوذرات فرایندهای ریزوسفری محیط ریشه را از طریق اثرگذاری بر خصوصیات مهم شیمیایی و زیستی آن تحت تأثیر قرار می‌دهد. اگرچه به دلیل ظرفیت بافری بالای خاک آهکی تغییرات pH در تیمارهای مختلف در مقایسه با شاهد معنی‌دار نبود اما در تیمارهای باکتریایی و در عدم ترکیب با نانوذرات، pH بطور معنی‌داری در مقایسه با شاهد کاهش نشان داد. اثرگذاری مثبت تیمارهای اعمال شده بر میزان کربن آلی محلول، جمعیت/تنفس میکروبی و فعالیت آنزیم دهیدروژناز از دیگر نتایج بدست آمده در این تحقیق بود که میزان این افزایش در خاک ریزوسفری در مقایسه با توده‌ی خاک بیشتر بود که از این یافته می‌توان برای مدیریت خاک‌های آلوده بهره جست. یافته‌ی منفی این تحقیق اثرگذاری قابل توجه تیمارهای اعمال شده بر افزایش EC محیط ریزوسفر در مقایسه با توده-ی خاک بود و فرضیه‌ی این افزایش را می‌توان تحریک جامعه‌ی میکروبی محیط ریزوسفر و تراوشات ریشه‌ای در نتیجه‌ی حضور عامل تعدیل کننده‌ی تنش و نیز آزادسازی یون‌ها از ترکیبات مختلف آلی و معدنی دانست که نیاز به انجام تحقیقات بیشتر در این زمینه پیشنهاد می‌گردد.

منابع

Alexander M. 1982. Most probable number method for microbial populations. In: Page AL., Miller RH., Keeney DR. (Eds.), Methods of Soil Analysis Part2. Amer. Soc. for Agron, Madison USA: 815–820.

Anderson E. and John, P. 1982. Soil respiration. Methods of Soil Analysis Part2. Amer. Soc. for Agron, Madison USA: 831–870.

Beneduzi A., Ambrosini A. and Passaglia L.M.P. 2012. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Their potential as antagonists and biocontrol agents. Genetics and Molecular Biology, 35, 4 (suppl), 1044-1051.

Bosecker K. 1997. Bioleaching: metal solubilization by microorganisms. FEMS Microbiol. Rev., 20: 591-604.

Brandstetter A., Sletten R.S., Mentler A. and Wenzel W. 1996. Estimating dissolved organic carbon in natural waters by UV absorbance (254 nm). Z. Pflanzenerna¨hr. Bodenk. 159: 605–607.

Friedlova M. 2010. The influence of heavy metals in soil biological and chemical properties. Soil and water research, 5 (1): 21-27.

Kaiser K., Guggenberger G., Haumaier L. and Zech W. 2002. The composition of dissolved organic matter in forest soil solutions: changes induced by seasons and passage through the mineral soil, Org. Geochem., 33: 307–318.

Keller C., Rizwan M., Davidian J.C., Pokrovsky O.S., Bovet N., Chaurand P. and Meunier J.D. 2015. Effect of silicon on wheat seedlings (*Triticum turgidum* L.) grown in hydroponics and exposed to 0 to 30 mM Cu. Planta, 241: 847–860.

Lemire J.A., Harrison J.J. and Turner R.J. 2013. Antimicrobial activity of metals: mechanisms, molecular targets and applications. Nature Reviews Microbiology, 11: 371–384, doi: 10.1038/nrmicro3028.

Liang P., Qin Y., Hu B., Li C., Peng T. and Jiang Z. 2000, Study of the adsorption behavior of heavy metal ions on nanometer-size titanium dioxide with ICP-AES. Fresenius J. Anal. Chem., 368: 638–640.

Liang Y.C., Wong J.W.C. and Long W. 2005. Silicon-mediated enhancement of cadmium tolerance in maize (*Zea mays* L.) grown in cadmium contaminated soil. Chemosphere 58, 475–483.

Lombi E., Wenzel W.W., Gobran G.R. and Adriano D.C. 2001. Dependency of phytoavailability metal on indigenous and induced rhizosphere processes, P 165-185. In: Gobran, G.R., Wenzel, W.W., and Lombi, E. (eds.), Trace elements in the rhizosphere. Boca Raton, FL: CRC Press.

Ma Y., Prasad M., Rajkumar M. and Freitas H. 2011. Plant growth promoting rhizobacteria and endophytes accelerate phytoremediation of metalliferous soils. Biotechnol Adv. 29:248–258.

Navel A. and Martins J.M.F. 2014. Effect of long term organic amendments and vegetation of vineyard soils on the microscale distribution and biogeochemistry of copper. Sci. Total Environ. 466–467, 681–689.

Öhlinger R. 1996. Dehydrogenase activity with the substrate TTC. Methods in soil biology, 1: 241-243.

Patten C.L. and Glick B.R. 2002. Role of Pseudomonas putida indole acetic acid in development of the host plant root system. Applied and Environmental Microbiology, 68(8): 3795-3801.

Penrose D.M. and Glick B.R. 2001. Levels of ACC and related compounds in exudates and extracts of canola seeds treated with ACC-deaminase- containing plant growth promoting bacteria. Can. J. Microbiol. 47: 368-372.

Perez J., Bax L. and Escolano C. 2004. Roadmaps at 2015 on nanotechnology application in the sectors of: materials, health and medical systems, energy. Willems & van den Wildenberg (W&W), Barcelona, Spain.

Putwattana N., Kruatrachue M., Pokethitiyook P. and Chaiyarat R. 2010. Immobilization of cadmium in soil by cow manure and silicate fertilizer, and reduced accumulation of cadmium in sweet basil (Ocimum basilicum). Sci. Asia, 36: 349–354.

Schwyn B. and Neilands J.B. 1987. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. Anal Biochem., 160: 47–56.

Silva Gonzaga M.I., Santos J.A.G., Ma L.Q. 2006. Arsenic chemistry in the rhizosphere of Pteris vittataL. and Nephrolepis exaltata L. Environ. Pollut., 143:254-260.

Sparks D.L. 1996 (ed). Methods of soil Analysis: chemical methods. Part 3. Soil Science Society of America, Inc. American society of Agronomy, Inc, Madison, Wisconsin, USA.

Wu F.B., Dong J., Jia G.X., Zheng S.J. and Zhang G.P., 2006. Genotypic difference in the responses of seedling growth and Cd toxicity in rice (Oryza sativa L.). Agric. Sci. Chin., 5(1): 68–76.

Impressibility of some bio-chemical properties of sunflower rhizosphere soil from different biotic and abiotic amendments in a calcareous heavily contaminated soil

S. M. Mousavi[*1], B. Motesharezadeh[1], H. Mirseyed Hosseini[1], H. Alikhani[1] and A. A. zolfaghari[2]
1-Department of Soil Science University of Tehran, Tehran, Iran (Corresponding Author: majidmousavi@ut.ac.ir),
2- Faculty of Desert Studies, University of Semnan, Semnan, Iran

Abstract

The rhizosphere is considered as the start point of elements entry to food chains. In order to study some bio-chemical properties of sunflower rhizosphere in presence of different amendments [nano zeolite and nano SiO_2 at a rate of 200 mg kg^{-1} and *Bacillus safensis* and *Pseudomonas fluorescens*] in a calcareous heavily contaminated soil it was conducted a research in the greenhouse condition as a factorial experiment arranged in a completely randomized design. Obtained results showed that with the exception of the measured pH in the separately bacteria inoculation, all of the studied bio-chemical properties were increased affected by application of amendment treatments. The role of separately nano SiO_2 application in respect to promote in pH and EC was more than other treatments while, the maximum positive impressibility on dissolved organic carbon, microbial population and respiration and dehydrogenase activity happened in nano SiO_2+ *Pseudomonas fluorescens* treatment.

Keywords: rhizosphere, nano particles, plant growth promoting bacteria, heavy metals.