پانزدهمین کنگره علوم خاک ایران
۶ تا ۸ شهریور ۱۳۹۶ محور مقاله: آلودگی خاک

بهبود تغذیه گیاه آفتابگردان در خاک آلوده به فلزات سنگین با استفاده از باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه

آیدا بنی‌اسد و پیمان عباس‌زاده دهجی
به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار گروه خاکشناسی دانشگاه ولی‌عصر (عج) رفسنجان
Email: P.abbaszadeh@vru.ac.ir

چکیده

تلقیح گیاهان کشت شده در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین با باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه به منظور بهبود کیفیت و کمیت محصول یک امر ضروری می‌باشد. پژوهش حاضر به منظور مطالعه اثر دو سویه باکتری برشاخص جذب عناصر غذایی در گیاه آفتابگردان انجام گرفت. این آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با دو تیمار باکتری و یک تیمار شاهد در سه تکرار انجام شد. نتایج حاصل ازکشت نشان داد که کاربرد هر دو سویه باکتری به عنوان مایه تلقیح نسبت به شاهد باعث افزایش معنی‌دار جذب عناصر ماکرو و میکرو در اندام هوایی گردید. تلقیح دو سویه A5 و K3 به ترتیب باعث افزایش معنی‌دار و ۴۲/۰ و ۳۵/۴ درصدی جذب فسفر در گیاهان شد. هر دو سویه جذب عناصر آهن، مس، روی و منگنز را در اندام هوایی گیاه آفتابگردان افزایش دادند. کاربرد سویه K3 بیشترین تاثیر را بر جذب روی داشت و باعث افزایش ۱۰۵ درصدی جذب روی در گیاهان گردید.

واژه های کلیدی: عناصر ماکرو و میکرو، مس، منگنز

مقدمه

آلودگی خاک‌ها به فلزات سنگین باعث کاهش رشد و عملکرد گیاهان می‌شود. وقتی باکتری‌های محرک رشد گیاه به خاک آلوده اضافه می‌شوند آن‌ها پتانسل گیاه را برای رشد افزایش می‌دهند. این باکتری‌ها 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 گیاه‌پالایی شوند (Babalola, 2010). باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه[1] (PGPR) به گروه از باکتری‌هایی که در خاک ریزوسفر تحت تأثیر محیط اطراف ریشه قرار دارند و می‌توانند از طریق مکانیسم‌های مستقیم و غیرمستقیم تأثیرات مثبتی بر روی رشد و توسعه گیاه داشته باشند، اطلاق می‌شوند (Kloepper et al., 1991). این باکتری‌های مفید را باکتری‌های افزایش دهنده محصول نیز می‌نامند (Asghar et al., 2002). آنها رشد گیاه را از طریق متحرک ساختن عناصر غذایی در خاک، تولید تنظیم کننده‌های رشد متعدد، حفاظت از گیاهان در برابر پاتوژن‌های گیاهی با کنترل یا مهار آنها و بهبود ساختمان خاک بهبود می‌بخشند (Rajkumar et al., 2010). باکتری‌های محرک رشد گیاه، همچنین توان تولید هورمون‌های مختلف گیاهی شامل اکسین (IAA) و سیتوکینین را دارند و نیز میتوانند با انحلال مواد معدنی کم محلول همچون فسفر، فراهمی آنها را برای گیاه افزایش داده و باعث افزایش رشد گیاه شوند. همچنین این ریزموجودات حاوی آنزیمی مانند ACC-دآمیناز هستند که رشد گیاه را در شرایط تنش تنظیم کرده و رشد گیاهان را افزایش می‌دهند (Sheng and Xia, 2006) باکتری‌های محرک رشد گیاه نقش مهمی در ارائه مواد مغذی و کاهش اثرات مضر فلزات سنگین دارند (Gadd, 2010). این ریز جانداران مکانیسم‌های ویژه‌ای شامل: پمپ کردن یون فلز به فضای خارج سلولی، تجمع و انباشت یون‌های فلزی در داخل سلول، تبدیل فلزات سمی به فرم‌های با سمیت کمتر و جذب و واجذب فلزات به منظور جذب و تحمل یون فلز و کاستن از شدت تنش فلزات سنگین توسعه داده‌اند (Wani et al ., 2010). پژوهشگران نشان دادند که کاربرد باکتری‌های محرک رشد تولید کننده آنزیم ACC-دآمیناز در شرایط آلودگی خاک به فلزات سنگین نقش موثری بر افزایش طول و وزن خشک اندام

[1]Plant Growth Promoting Rhizobacteria

هوایی و ریشه داشت (Ma et al., 2013). هدف از این تحقیق بررسی نقش باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد بر رشد و تغذیه گیاه ذرت در شرایط تنش فلزات سنگین 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 شهربابک تهیه شد. نمونه خاک پس از هوا خشک شدن در گلخانه از الک دو میلی‌متری عبور داده و به منظور آماده‌سازی گلدان‌ها برای کاشت گیاه به گلخانه انتقال داده 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 به 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 چار برگی شدن گیاهان بوته‌های اضافی در هر گلدان حذف و چهار بوته در هر گلدان نگهداری شد. ابیاری گلدان‌ها بصورت 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 محرک رشدی سویه‌ها استفاده شده در این تحقیق

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 تجزیه واریانس نشان داد که اثر سویه‌های باکتری بر جذب تمامی عنصر غذایی شامل پتاسیم، فسفر، آهن، روی، منگنز و مس اندام هوایی در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲).

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

منابع تغییرات	درجه آزادی	K	P	Fe	Zn	Mn	Cu
باکتری	۲	۸۵/۲*	۰/۱۳*	۹۱۳*	۱۳۱۱*	۱۷۲۸**	۱۴۰*
خطا	۴	۱/۸۶	۰/۰۲	۲۳۳	۳۲/۴	۷۳/۸	۸/۴۷
ضریب تغییرات	_	۳/۰۸	۱۳/۱	۱۰/۱	۹/۶۸	۱۰/۲	۷/۰۲

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

اثر سویه‌های باکتری بر جذب عناصر ماکرو توسط گیاه آفتابگردان

نتایج مقایسه میانگین (جدول ۳) نشان داد که تیمار باکتری جذب عناصر ماکرو را در گیاه آفتابگردان به‌طور معنی‌داری افزایش داد. .تلقیح گیاهان آفتابگردان با سویه‌های A5 و K3 به‌ترتیب باعث افزایش معنی‌دار و ۲۴/۸ و ۲۲/۵ درصدی جذب پتاسیم در این گیاهان در مقایسه با شاهد بدون تلقیح شدند. تیمار گیاهان با باکتری‌های محرک رشد گیاه جذب فسفر را به‌طور معنی‌داری افزایش داد اما بین دو سویه اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. یکی از مهمترین مکانیسم‌های باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه افزایش فراهمی عناصری مانند فسفر با کاهش پ‌هاش ریزوسفر گیاهان است (Rajkumar et al. 2009). با توجه به اینکه فلزات حضور فلزات سنگین باعث کاهش فراهمی و رسوب فسفر در خاک می‌شود، این افزایش جذب را می‌توان به نقش باکتری‌های محرک رشد در افزایش فراهمی فسفر نسبت داد. همچنین توانایی این باکتری‌ها در تولید اکسین را دلیل دیگر افزایش جذب فسفر و پتاسیم دانست. اکسین میکروبی می‌تواند با افزایش سطح و طول ریشه باعث افزایش جذب عناصر غذایی توسط گیاهان شود (Ahmad et al. 2008).

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

تیمارها	K	P	Fe	Zn	Mn	Cu
	mg.Pot^{-1}		μg.Pot^{-1}			
Control (B0)	۳۸/۳^{b}	۰/۹۲۳^{b}	۱۳۱^{b}	۳۹/۵^{b}	۵۷/۶^{b}	۳۳/۸^{b}
Pseudomonas sp A5	۴۷/۸^{a}	۱/۳۱^{a}	۱۶۴^{a}	۵۵/۸^{a}	۹۲/۳^{a}	۴۶/۸^{a}
Pseudomonas sp K3	۴۶/۹^{a}	۱/۲۵^{a}	۱۵۸^{a}	۸۱/۰^{a}	۱۰۴^{a}	۴۴/۰^{a}

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

اثر سویه‌های باکتری بر جذب عناصر میکرو توسط گیاه آفتابگردان

هر دو سویه جذب آهن را در مقایسه با شاهد افزایش دادند. باکتری‌های سودوموناس از مهمترین باکتری‌های تولید کننده سیدروفور هستند (Abbaszadeh *et al.*, 2010) که این تولید سیدروفور می‌تواند نقش موثری در افزایش فراهمی آهن در ریزوسفر گیاهان و جذب آهن توسط گیاهان داشته باشد. نتایج مقایسه میانگین تاثیر سویه‌هایی باکتری بر جذب روی اندام هوایی نشان داد که هر دو جدایه باکتری توانستند میزان جذب این عنصر را نسبت به شاهد به‌طور معنی‌دار بهبود بخشند و بیشترین جذب روی اندام هوایی در تیمار K3 مشاهده گردید (جدول ۳). مقایسه میانگین (جدول ۳) نشان داد تاثیر باکتری بر جذب منگنز اندام هوایی معنی‌دار بود و هر دو جدایه باکتری باعث افزایش جذب منگنز اندام هوایی شدند. علت افزایش جذب عناصر میکرو را علاوه بر تولید سیدروفور می‌توان به کاهش پ‌هاش ریزوسفر توسط باکتری‌ها نسبت داد. در یک پژوهش Goteti و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که تمامی سویه‌های حل کننده‌ی نمک‌های کم محلول روی و فسفر pH محیط را با تولید اسیدهای آلی کاهش دادند. تاثیر باکتری بر جذب مس اندام هوایی نشان داد که هر دو جدایه باکتری باعث افزایش معنی‌دار جذب مس اندام هوایی شدند. در یک گزارش وو و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که غلظت و جذب مس در اندام هوایی گیاه *Brassica juncea* در حالی که با باکتری محرک رشد تلقیح شده بود افزایش یافت. همچنین با توجه به اینکه باکتری‌های محرک رشد دارای آنزیم ACC-دآمیناز می‌توانند تنش‌های محیطی را در گیاه کاهش دهند (Penrose and Glick, 2001) این افزایش جذب را می‌توان به کاهش تنش ناشی از فلزات سنگین توسط باکتری‌ها در گیاهان نسبت داد.

منابع

Abbaszadeh P., Saleh-Rastin N., Asadi-Rahmani H., Khavazi K., Soltani A., Shoary-Nejati A.R. and Miransari M. 2010. Plant growth-promoting activities of fluorescent pseudomonads, isolated from the Iranian soils. Acta Physiol Plant, 32: 281–288.

Ahmad F., Ahmad I. and Khan M. 2008. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. Microbiol Res, 163: 173–181.

Asghar H.N., Zahir Z.A., Arshad M. and Khali, A. 2002. Relationship between in vitro production of auxins by rhizobacteria and their growth-promoting activities in *Brassica juncea* L. Biology Fertility Soils, 35: 231-237.

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

Gadd G.M. 2010. Metals: minerals and microbes: geomicrobiology and bioremediation. Microbiology, 156: 609–643.

Goteti P.K., Emmanuel L.D.A., Desai S. and Shaik M.H.A. 2013. Prospective Zinc Solubilising Bacteria for Enhanced Nutrient Uptake and Growth Promotion in Maize (*Zea mays* L.). International Journal of Microbiology, 2013: 1-7.

Kloepper J.W., Zablotowick R.M., Tipping E.M. and Lifshitz R. 1991. Plant growth promotion mediated by bacterial rhizosphere colonizers. In: Keister, D. L., Cregan, P. B. (Eds.), The Rhizosphere and Plant Growth. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, pp: 315–326

Ma Y., Rajkumar M., Luo Y. and Freitas H. 2013. Phytoextraction of heavy metal polluted soils using Sedum plumbizincicola inoculated with metal mobilizing *Phyllobacterium myrsinacearum* RC6b. Chemosphere, 93: 1383–1392.

Penrose D.M. and Glick B.R. 2001. Levels of 1-aminocyclopropane-1- carboxylic acid (ACC) in exudates and extracts of canola seeds treated with plant growth-promoting bacteria. Canadian Journal of Microbiology, 47: 368-372.

Rajkumar M., Ae N. and Freitas H. 2009. Endophytic bacteria and their potential to enhance heavy metal phytoextraction. Chemosphere, 77: 153–160.

Rajkumar M., Ae N., Prasa, M.N.V. and Freitas H. 2010. Potential of siderophore-producing bacteria for improving heavy metal phytoextraction. Trends Biotechnology, 28: 142–149.

Sheng X.F. and Xia J.J. 2006. Improvement of rape (*Brassica napus* L.) plant growth and cadmium uptake by cadmium-resistant bacteria. Chemosphere, 64: 1036–1042.

Wani P.A. and Khan M.S. 2010. *Bacillus* species enhance growth parameters of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in chromium stressed soils. Food Chem. Toxicology, 48: 3262–3267.

Wu S.C., Cheung K.C., Luo Y.M. and Wong M.H. 2006. Effects of inoculation of plant growth-promoting rhizobacteria on metal uptake by *Brassica juncea*. Environmental Pollution, 140: 124-135.

Improvement the sunflower nutrition in soil contaminated with heavy metals using plant growth promoting rhizobacteria

A .baniasad and P. Abbaszadeh dahaji

M.Sc. Student and assistant professor respectively, Department of Soil Science, Vali-e-Asr University

Abstract

Inoculation plants grown in heavy metals contaminated soils with plant growth promoting rhizobacteria is essential to improve the quality and quantity of products. This study aimed to investigate the effect of two strains of bacteria on sunflower nutrient uptake. This experiment was done in a completely randomized design with two bacteria treatments and a control with three replications. Cultivation results showed that application of both bacteria strains as inoculum significantly increased macro and micro elements shoot uptake compared to control. Inoculation plants with strains A5 and K3, significantly increased phosphorus uptake 42.0 and 35.4 percent respectively. Both strains increased Iron, Copper, Zinc and Manganese sunflower shoot uptakes. Strain K3 had greatest impact on the level of zinc uptake and increased the uptake of Zn up to 105 percent.

Keywords: Macro and micronutrient, Copper, Manganese