

بررسی اثر سطوح مختلف کادمیوم بر ایزوله های بومی سینوریزوبیوم ملیوتی

مژگان سپهری، ناهید صالح راستین، هادی اسدی رحمانی، حسینعلی علیخانی

به ترتیب: دانشجوی کارشناسی ارشد و دانشیار گروه خاکشناسی دانشگاه تهران، عضو هیئت علمی مؤسسه تحقیقات خاک و آب و عضو هیئت علمی گروه خاکشناسی دانشگاه تهران

مقدمه

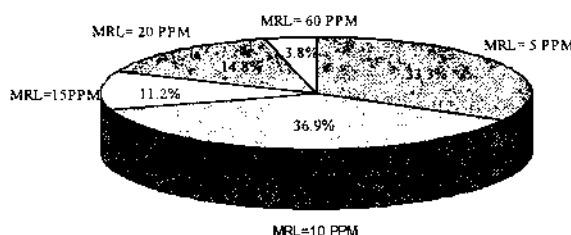
در شرایط کنونی، خاکهای زیرکشت از طرق مختلف مانند لجن فاضلابها، ضایعات و پسابهای کارخانه های صنعتی، کودهای شیمیایی و سایر آلاینده های محیطی، در معرض آلوده شدن به فلزات سنگین مانند کادمیوم، سرب، جیوه، نیکل و قرار دارند (۱). این عناصر علاوه بر خطر جذب شدن توسط گیاه و ورود به زنجیره های غذایی که سلامت انسان را مورد تهدید قرار می دهد دارای اثرات سمی بر موجودات مفید خاکری می باشند که سبب ایجاد اختلال در اکوسیستم طبیعی خاک و فرآیندهای بیولوژیک ضروری درون این سیستم می گردند. کادمیوم از رایج ترین فلزات سنگین آلاینده خاک است که یکی از راههای ورود این عنصر به خاکهای زراعی، مصرف کودهای فسفره می باشد. لگومینوزهای زراعی به ویژه حبوبات و همچنین سیستمهای همزیستی تثبیت کننده نیتروژن، نیاز وافر به کودهای فسفره دارند، بنابراین احتمال آلودگی زمینهای زیرکشت آنها به کادمیوم بیشتر از سایر گیاهان زراعی است (۲). سهولت جذب کادمیوم توسط گیاهان و اثرات مخرب آن بر سیستمهای زنده، حتی در غلظتهای بسیار جزئی، به اثبات رسیده است. براساس اطلاعات موجود، دامنه تحمل ریزوبیومها به فلزات سنگین و از جمله کادمیوم نه تنها بر حسب جنس و گونه بلکه بسته به سویه باکتری نیز تغییر می کند. در این تحقیق، دامنه تحمل ایزوله های سینوریزوبیوم ملیوتی بومی خاکهای ایران (همزیست با گیاه یونجه) به سطوح مختلف کادمیوم، مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روشها

به منظور تهیه ایزوله های بومی، نمونه هایی از گره های ریشه ای یونجه از استانهای مهم زیرکشت این گیاه در ایران برداشت شد. غده ها در آزمایشگاه ضد عفونی سطحی شدند و سوسپانسیون تهیه شده از خرد شده آنها، بر روی محیط غذایی متداول برای ریزوبیوم (YMA) حاوی کنگورد کشت گردید. پس از انجام آزمایشهای لازم (میکروسکوپی و بیوشیمیایی)، آزمون تلقیح گیاه با هر یک از ایزوله ها در شرایط استریل انجام گرفت و بعد از حذف ایزوله های غیر مؤثر، جمعاً ۵۷ ایزوله فعال و مؤثر سینوریزوبیوم ملیوتی به صورت کشت خالص آماده شدند. بررسی مقاومت این ایزوله ها به سطوح مختلف کادمیوم، با استفاده از محیط کشت اختصاصی HM حاوی مقادیر مختلف کادمیوم (۵، ۱۰، ۲۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) با رعایت چهار تکرار برای هر غلظت کادمیوم و مطالعه رشد کلنی های رویش یافته روی این محیطها، انجام گرفت.

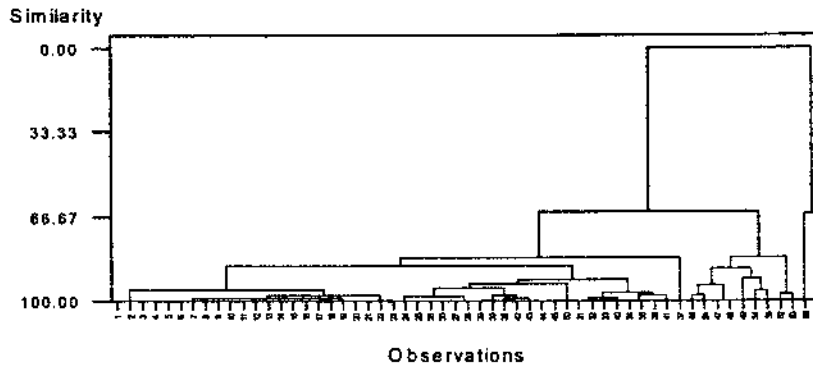
نتایج و بحث

نتایج حاصل از این پژوهش بیانگر وجود اختلافات معنی دار ($P < 0.05$) در بین ایزوله های بومی سینوریزوبیوم ملیوتی از نظر مقاومت به کادمیوم است. برای هر یک از ایزوله ها پارامتر MRL (بالاترین غلظتی از کادمیوم که در آن یک رشد قابل مشاهده ایجاد شده بود)، تعیین شده و تعداد ایزوله هایی که در یک غلظتهای مختلف از کادمیوم، دارای رشد قابل مشاهده بودند، ارزیابی شد (شکل ۱).



شکل ۱- درصد سویه های دارای رشد قابل مشاهده در غلظتهای مختلف از کادمیوم

بر اساس مقاومت ایزوله‌ها به سطوح مختلف کادمیوم و با استفاده از نرم افزار آماری Minitab و کاربرد روش دورترین همسایه‌ها (فاصله انتخابی Manhattan) دندروگرامی (شکل ۲) به صورت زیر ترسیم شد. با توجه به دندروگرام حاصل، می‌توان در بین ایزوله‌های ریزوبیومی به وجود سه کلاستر پی برد و آنها را به سه گروه حساس، متوسط و مقاوم تفکیک نمود.



شکل ۲- دندروگرام حاصل از طبقه‌بندی ۵۷ ایزوله سینوریزوبیوم ملیوتی بر اساس میزان مقاومت آنها به سطوح مختلف کادمیوم

با توجه به نتایج حاصل، می‌توان اظهار داشت که اکثر ایزوله‌های مورد مطالعه در این تحقیق (حدود ۷۰٪) دارای تحمل کم نسبت به کادمیوم و از گروه حساس بودند که تنها در محدوده غلظت ۱۰-۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم، رشد قابل مشاهده‌ای نشان دادند. ۲/۱۸٪ از ایزوله‌ها توانایی تحمل سطوح ۷۰-۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم را دارا بودند و تحت عنوان ایزوله‌های مقاوم معرفی گردیدند. در رابطه با مکانیسم تحمل این ایزوله‌ها نظریه‌های متفاوتی وجود دارد، بی‌تون و همکاران بر این باورند که وجود پوشش پلی‌ساکاریدی نسبتاً ضخیم در اطراف سلول اکثر گونه‌های ریزوبیومی، محافظ مناسبی در مقابل اکثر فلزات می‌باشد. گریل و ویناکر به ترشح ترکیباتی به نام فیتوکلاتین توسط برخی ریزوبیوم‌ها اشاره کردند این ترکیبات پپتیدهای غنی از سیستئین با وزن مولکولی کم می‌باشند که با فلزات ترکیب شده و سبب کاهش فعالیت این فلزات در سلول ریزوبیومی می‌گردند (۳).

نتیجه‌گیری

امروزه، با توجه به رشد روزافزون صنایع و مصرف کودهای فسفوره، نگرانی‌های خاصی در خصوص مقدار کادمیوم موجود در خاکها و اثرات سوء این عنصر بر جامعه زیستی خاک از جمله ریزوبیومها، ابراز شده است. روشهای مهندسی ژنتیک در جهت تولید ریزوبیومهای مقاوم به فلزات سنگین نظیر کادمیوم، دشوار و پرهزینه می‌باشند، بنابراین، شناخت و معرفی ایزوله‌های ریزوبیومی مقاوم به کادمیوم و در عین حال دارای کارایی قابل توجه از نظر تثبیت ازت مولکولی، می‌تواند دورنمایی جهت تهیه مایه تلقیح برای گیاهانی باشد که در مناطق آلوده به این فلز، کاشته می‌شوند.

منابع مورد استفاده

- 1- McLaughlin, M. J. and B.R. Singh. 1999. Cadmium in soil and plants. Kluwer Academic Press, London.
- 2- Mulla, D.J., A.L. Page, and T.J. Ganje. 1980. Cadmium accumulation and bioavailability in soil from long-term phosphorous fertilization.
- 3- J. Environ. Qual. 9:408-412.
- 4- EL-Aziz, J. S. Angle and R. L. Chaney. 1991. Metal tolerance of rhizobium meliloti isolated from heavy-metal contaminated soils. Soil Biol. Biochem. 9:795-798.