برهمکنش باکتری‌های محرک رشد با لیگاند EDTA بر برخی خواص رویشی گیاه ذرت در یک خاک آلوده به فلزات سنگین

حمیده نعمتی [۱]، محسن حمیدپور [۲]، پیمان عباس زاده دهجی [۳]، حمیدرضا روستا [۲]
۱-دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه ولیعصر(عج) رفسنجان، ۲-دانشیار عضو هیئت علمی دانشگاه ولیعصر (عج)رفسنجان، ۳-استادیار عضو هیئت علمی دانشگاه ولیعصر(عج) رفسنجان

چکیده
در این پژوهش اثر باکتری‌های محرک رشد و لیگاند EDTA برخواص رویشی گیاه ذرت در یک خاک آلوده به عناصر سنگین، در آزمایشی درقالب طرح کاملاً تصادفی با ۳تکرار مورد بررسی قرار گرفت. تیمارها شامل باکتری‌های محرک رشد در ۴ سطح (عدم تلقیح و تلقیح با سودوموناس‌های فلورسنت جدایه‌های P۱۸، P۱۵ و P۱۹) و تیمار لیگاند EDTA در ۳ سطح (۰ و ۵/۱ و ۳ میلی مولار) بود. پس از کشت گیاه در گلدان‌ها و تلقیح باکتری صورت گرفت. بعد ازگذشت ۴۵ روز تیمار لیگاند نیز اضافه و گیاه پس از مدت ۶۰ روز برداشت شد. نتایج نشان داد در تیمارهای حاوی باکتری $P_{۱۹}$، کاربرد کلات در هر دو سطح باعث افزایش معنی دار وزن خشک اندام هوایی گیاه نسبت به شاهد گردید. ولی در سایر تیمارها، افزودن کلات در سطح ۵/۱ میلی‌مولار باعث افزایش وزن خشک اندام هوایی شد.

واژه های کلیدی: گیاه پالایی، باکتری محرک رشد، لیگاند آلی

مقدمه
آلودگی خاک به فلزات سنگین طی دهه‌های اخیر رو به افزایش بوده و در حال حاضر تقریباً ده درصد از خاک‌های کره زمین آلوده به فلزات سنگین می‌باشد (Eijsackers, ۲۰۱۰). ورود فلزات سنگین به محیط زیست و چرخه غذایی به دلیل سمیت و اثرات زیانبار که به سلامتی بشر می‌نهد، بسیار مورد توجه قرار گرفته است. مقادیر بیش از حد طبیعی فلزات سنگین درخاک به دلیل جذب توسط گیاهان و ورود به زنجیره‌ی غذایی، آلودگی به شمار می‌رود که می‌توانند به گیاهان و استفاده‌کنندگان آنها صدمه بزنند (Shaw, ۱۹۸۹).
گیاه پالایی [۴۶] یکی از روش‌های زیست پالایی خاک است که در دهه‌های اخیر به آن توجه زیادی شده است. گیاه پالایی به کاربرد گیاهان به تنهایی و یا به همراه میکروب‌های خاک برای تجزیه، نگه‌داری و یا تثبیت آلاینده‌های گوناگون موجود در منطقه اطلاق می‌شود (خداوردی لو و همایی، ۱۳۸۶). گیاه پالایی به عنوان یک روش مورد قبول برای جابجایی و یا غیر فعال کردن فلزات در خاک‌های آلوده توصیه می‌شود. کارایی گیاهان استفاده شده در این روش در صورت همزیستی با میکروارگانیسم های مفید خاکزی می‌تواند تشدید شود (Gohre and Paszkowski, ۲۰۰۶).
باکتری‌های محرک رشد گیاه، جذب عناصر غذایی برای رشد گیاه را از طریق مکانیسم‌های متعددی نظیر تثبیت زیستی نیتروژن، تولید هورمون‌های گیاهی، ویتامین‌ها، آنزیم‌ها، سیدروفورها، آنتی بیوتیک‌ها، تولید آنزیم Acc- دآمیناز و ممانعت از تولید اتیلن تنشی و انحلال فسفات‌های آلی و معدنی افزایش می‌دهند (Khan et al., ۲۰۰۸)؛ بنابراین میکروارگانیسم‌های ریزوسفری از طریق مکانیسم‌های مستقیم و غیرمستقیم می‌توانند زیست توده گیاهی و تحمل گیاهان را به فلزات سنگین افزایش دهند (Glick, ۲۰۰۳). کلات EDTA یکی از موثرترین کلات‌کننده هایی است که در گیاه پالایی استفاده می شود. کارایی گیاهان در این روش در صورت همزیستی با میکروارگانیسم های مفید خاکزی می تواند افزایش یابد(Sudova and Vosatka,۲۰۰۷)
با وجود اینکه تحقیقات متعددی درمورد پالایش خاک های آلوده به عناصر سنگین توسط گیاهان مختلف و همچنین اثر باکتری های محرک رشد گیاه بر گیاه پالایی انجام پذیرفته، اطلاعات کمی درباره برهمکنش عوامل کلات کننده و باکتری‌های محرک رشد بر خواص رویشی گیاه در خاکهای آلوده وجود دارد. لذا، هدف از این پژوهش بررسی نقش باکتری‌های محرک رشد و لیگاند آلی EDTA بر خواص رویشی گیاه ذرت یک خاک آلوده به عناصر سنگین بود.

[۴۶] Phytoremediation

مواد و روش‌ها

این آزمایش در محیط گلخانه و در قالب طرح کاملا تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. تیمارها شامل، باکتری‌های محرک رشد گیاه در ۴ سطح (عدم تلقیح و تلقیح با سودوموناس‌های فلورسنت جدایه‌های P۱۸، P۱۵ و P۱۹) و تیمار لیگاند EDTA در ۳ سطح (۰ و ۵/۱ و ۳ میلی مولار) استفاده شد. پس از تهیه یک خاک آلوده به فلزات سنگین کادمیم، سرب و روی از اطراف کارخانه روی زنجان، نمونه‌های یک کیلوگرمی از خاک آماده شد و به گلدان‌ها منتقل گردید. در هر گلدان تعداد ۵ عدد بذر گیاه کشت شد و تلقیح باکتری های محرک رشد به گلدان‌ها هنگام کاشت با جمعیت 10^8 سلول به ازای هر بذر صورت گرفت. بعد از چند برگی شدن گیاه، بوته‌های اضافی در هر گلدان حذف گردید، ۳ بوته در هر گلدان نگهداری شد. آبیاری گلدان‌ها با آب مقطر به صورت روزانه و بر اساس ۸۰ درصد ظرفیت زراعی انجام گردید. تیمار لیگاند آلی EDTA پس از استقرار کامل گیاه پس از ۴۵ روز از کشت گیاه به صورت محلول همراه با آب آبیاری به گلدان‌ها اضافه گردید. گیاهان پس ازگذشت ۶۰ روز برداشت شدند و پس ازاتمام دوره رشد، گیاهان ازسطح خاک قطع شده و سپس شاخص‌های رویشی شامل وزن خشک اندام هوایی و ریشه، ارتفاع اندام هوایی و شاخص سبزینگی (SPAD) اندازه‌گیری شد.

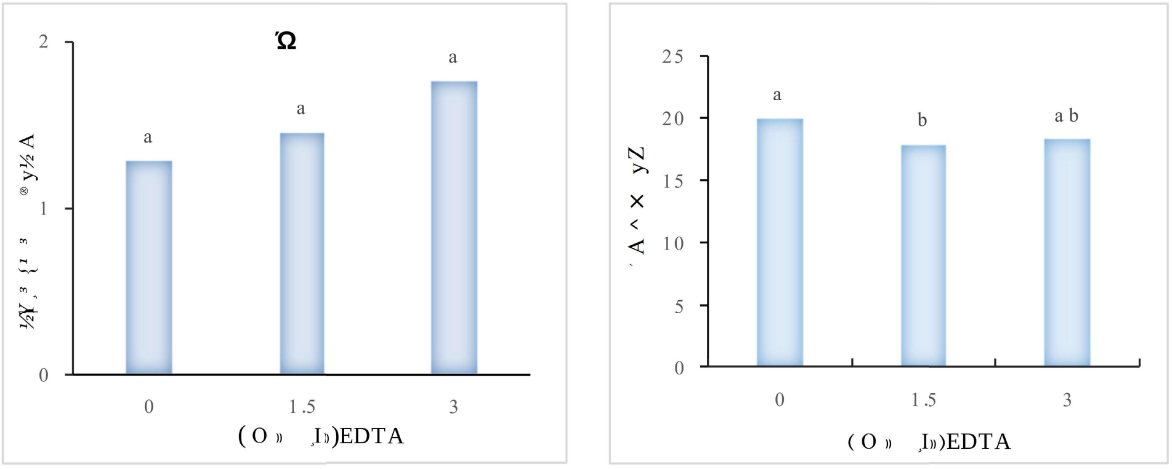
داده‌های آزمایش با استفاده از نرم افزار SAS ۹.۱ مورد تجزیه وتحلیل قرارگرفتند و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد(P ۰.۰۵) انجام شد.

نتایج و بحث

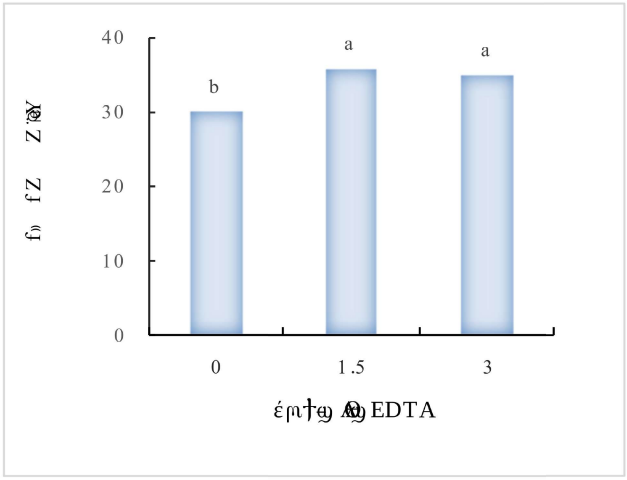
بر اساس نتایج بدست آمده از جدول تجزیه واریانس تیمارهای کلات و باکتری تاثیر معنی‌داری روی صفات وزن خشک ریشه و شاخص سبزینگی (SPAD) نداشت. همچنین نتایج تجزیه واریانس نشان داد تیمار کلات وزن خشک اندام هوایی و ارتفاع را تحت تأثیر قرار داد. برهمکنش باکتری وکلات تنها بر وزن خشک اندام هوایی مؤثر بود.

همانطور که نتایج نشان داد تیمار کلات اثر معنی‌داری بر وزن خشک ریشه و شاخص سبزینگی نداشت اما این تیمار به طور غیر معنی دار شاخص سبزینگی را نسبت به شاهد (سطح صفرکلات) کاهش (شکل ۱-الف) و وزن خشک ریشه را نسبت به شاهد افزایش (شکل ۱-ب) داد.

نتایج مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن نشان داد، با کاربرد این کلات میزان ارتفاع نسبت به حالت شاهد افزایش یافت اما سطوح مختلف این کلات تفاوتی با یکدیگر نداشتند (شکل ا-الف).



بر (الف) شاخص سبزینگی گیاه و (ب) وزن خشک ریشه در گیاه ذرت EDTA شکل ۱- مقایسه میانگین سطوح مختلف کلات



برارتفاع در گیاه ذرت EDTA شکل۲- مقایسه میانگین سطوح مختلف کلات

بر اساس نتایج تجزیه واریانس بر همکنش تیمار باکتری وکلات EDTA بر وزن خشک اندام هـوایی معنی‌دار گردیـد. همـان‌گونه کـه نتایج درجدول ۱ نشان می‌دهد در تیمارهای حاوی باکتری P_{19}، کاربرد کلات در هـر دو سـطح بـاعث افزایـش معنـی دار وزن خشـک اندام هوایی گیاه نسبت به شاهد گردید. ولی در سایر تیمارها، افزودن کلات در سطح ۵/۱ میلی‌مولار باعث افزایش وزن خشک اندام هوایی شد و بیشترین وزن خشک نسبت به شاهد در این سطح از کلات بـود. احتمـالاً کـاربرد کلات در سـطح ۵/۱ میلی‌مـولار بـاعث افزایش قابلیت دسترسی عناصر کـم مصـرف بـرای گیـاه و افزایـش وزن خشـک شـده اسـت در صـورتی کـه کـاربرد کلات درسـطح ۳ میلی‌مولار همانند شاهد (سطح صفر کلات) باعث افزیش قابلیت دسترسی عناصر سنگین وکـاهش وزن خشـک انـدام هـوایی شـده است.

جدول۱: مقایسه میانگین برهمکنش باکتری‌های محرک رشد و کلات بر وزن خشک اندام هوایی گیاه (میلی گرم درگلدان)

	کلات EDTA (میلی مولار)		
باکتری	۰	۵/۱	۳
P.	^{b}۰۶/۲	^{a}۰۷/۳	^{b}۸۸/۱
P۱۵	^{ab}۳۶/۲	^{a}۰۸/۳	^{ab}۵۲/۲
P۱۸	^{b}۹۹/۱	^{a}۰۱/۳	^{b}۹۸/۱
P۱۹	^{b}۹۴/۱	^{ab}۳۲/۲	^{a}۹۲/۲

.میانگین‌های حداقل با یک حرف مشترک، فاقد تفاوت معنی‌دار می باشند

منابع

خداوردی لـو، ح. و همـایی، م. ۱۳۸۶. مـدل سـازی پـالایش سـبز خاک‌هـای آلـوده بـه سـرب و کـادمیم. مجلـه علـوم وفنـون و منـابع طبیعی،جلدیازده، شماره ۴۲، صفحه ۴۱۷ تا ۴۲۶

Eijsackers H. ۲۰۱۰. Earthworms as colonisers: Primary colonisation of contaminated land, and sediment and soil waste deposits. Sci. Total Environ. ۴۰۸: ۱۷۵۹-۱۷۶۹.

Shaw A.J. ۱۹۸۹. *Heavy Metal Tolerance in Plants*: Evolutionary Aspecta. CRC Press. Inc. Florida.

Glick B.R. ۲۰۰۳. Phytoremediation: synergistic use of plants and bacteria to clean up the environment. Biotechnology Advances. ۲۱: ۳۸۳-۳۹۳.

Khan M.S., Zaidi A., Wain P.A. and Oves M. ۲۰۰۸. Role of plant growth promoting rhizobacteria in the remediation of metal contaminated soils. Environ. Chem. Lett. ۷: ۱-۱۹.

Gohre V. and Paszkowski U. ۲۰۰۶. Contribution of the arbuscularmycorrhizal symbiosis to heavy metal phytoremediation. Planta. ۲۲۳: ۱۱۱۵-۱۱۲۲.

Sudova, R. and Vosatka, M. (۲۰۰۷) Differences in the effects of three *arbuscularmycorrhiza* fungal strains on P and Pb accumulation by maize plants. Plant and Soil ۲۹۶: ۷۷- ۸۳

Abstrac

Heavy metal pollution of soil is a significant environmental problem and has its negative impact on human health and agriculture. In order to investigate the effectiveness of EDTA (chelating agent) and PGPR bacteria on some growth parameters of corn in a multi-element polluted soil, a factorial experiment was conducted based on a completely randomized basic design with two factors of EDTA at ۳ concentrations (۰, ۱.۵ and ۳ mM) and PGPR bacteria isolates at ۴ levels (P۰ (control), P۱۵, P۱۸ and P۱۹) with three replications. Results indicated that in the presence of P۱۹ isolate, EDTA in both levels of ۱.۵ and ۳ mM increased increase in dry weight of shoots. While, in the presence of P۱۸ and P ۹ isolates, only concentration of ۱.۵ mM increased shoot dry weight.