برهمکنش باکتری‌های محرک رشد با لیگاند سیدروفور (DFOB) 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.استاد یار، عضو هیئت علمی دانشگاه ولیعصر (عج) رفسنجان

چکیده
در این پژوهش اثر باکتری‌های محرک رشد و لیگاند سیدروفور (DFOB) برخواص رویشی گیاه ذرت در یک خاک آلوده به عناصر سنگین، در آزمایشی درقالب طرح کاملا تصادفی با ۳ تکرار مورد بررسی قرار گرفت. تیمارها ش امل باکتری‌های محرک رشد در ۴ سطح (عدم تلقیح و تلقیح با سودوموناس‌های فلورسنت جدایه‌های P۱۸، P۱۵ و P۱۹) و تیمار لیگاند DFOB در ۳ سطح (۰ و ۷۰ و ۱۴۰ میکرومولار) 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 کاربرد تیمار باکتری وزن خشک ریشه، وزن خشک اندام هوایی و ارتفاع را نسبت به شاهد افزایش داد و کاربرد کلات باعث افزایش وزن خشک ریشه نسبت به شاهد شد.

واژه های کلیدی: گیاه پالایی، باکتری‌های محرک رشد، لیگاند آلی، سیدروفور

مقدمه
آلودگی خاك توسط فلزات سنگین مشکل زیست محیطی عمده در سراسر جهان محسوب می‌شود و خاك‌های آلوده به فلزات سنگین ممکن است سلامتی بشر و زیست بوم را به خطر بیندازند. پالایش خاك‌های آلوده به فلزات سنگین موضوع بحث برانگیزی است، زیرا فلزات سنگین قابل تخریب نیستند و خطر آنها به واسطه‌ی مقاومت تقریبا نامحدود آنها در محیط زیست می باشد.
گیاه پالایی یکی از فناوری‌هایی است که در آن از توانایی گیاهان و همزیستی گیاهان و میکروارگانیسم‌های خاک در جذب و پالایش آلاینده‌های خاک توسط گیاهان استفاده می‌شود(Zhang et al., ۲۰۱۰) . واکنش بین گیاهان و ریزجانداران مفید ریزوسفر می‌تواند تولید زیست توده و تحمل گیاه به فلزات سنگین را افزایش دهد بنابراین می‌تواند جزء مهّمی از تکنولوژی گیاه پالایی محسوب شود(Bernard and Glick , ۲۰۰۳) . باکتری‌های سودوموناس خاکزی به دلیل داشتن خصوصیاتی همچون تنوع کاتابولیکی توانایی بالا در کلونیزاسیون ریشه و قابلیت آنها در تولید محدوده‌ی وسیعی از آنزیمها (از جمله ACC- دِآمیناز)، سیدروفورها و مواد متابولیک از اهمیّت ویژه‌ای برخوردار هستند و از این نظر جزء مهمترین و پرشمارترین اعضاء جمعیت باکتریایی ریزوسفر محسوب می‌شوند (Glick, ۲۰۱۰).
در روش گیاه پالایی گزینش گیاه مناسب اهمیت ویژه‌ای دارد و به وضعیت اقلیمی منطقه و نوع و مقدار آلودگی خاک وابسته است؛ زیرا گونه‌های گیاهی مختلف توانایی متفاوتی در انباشت فلزات سنگین دارند. همچنین توانایی اندوزش فلز در بین واریته‌های مختلف یک گونه متفاوت است (رشیدشمالی و همکاران، ۱۳۹۱). برخی از گیاهان قادر به تحمل غلظت‌های بالای فلزات در خاک می‌باشند. این گیاهان که استثنائا فلزات را در غلظت‌های بالا در قسمت اندام هوایی به ویژه برگ‌ها نسبت به ریشه‌ها و بدون بروز هر گونه علایم سمیت فلز تجمع می‌دهند، گیاهان بیش اندوز[۱۰۵] نام دارند (Baker, ۱۹۸۱). بررسی‌ها نشان داده است که با اینکه گیاهان بیش اندوز قادرند مقادیر زیادی از فلزات را در خود تغلیظ کنند اما به دلیل رشد کند و تولید زیست توده پایین برای فرایند گیاه پالایی از نظر کاربردی چندان مناسب نیستند اما در مقایسه، گیاهان با جذب کمتر و تولید زیست توده بالاتر می‌توانند در فرایند گیاه پالایی مناسب تر باشند (Sahmurova et al., ۲۰۱۰).
سیدروفورها لیگاندهای آلی با وزن مولکولی کم هستند که درشرایط کمبود آهن به وسیله ریز جانداران‌های و ریشه برخی از گیاهان ترشح شده تا با کلات کردن آهن محلول خاک، قابلیت جذب آن را افزایش دهند. اغلب باکتری‌های هوازی و نیمه‌هوازی و قارچ‌ها توانایی تولید سیدروفور را دارند. گونه‌های متفاوتی از سیدروفور گزارش شده است که مهمترین نوع آن سیدروفوردسفروکسامین بی (DFOB) می‌باشد. این سیدروفور به عنوان یک لیگاند ۶ دندانه از گروه‌های سیدروفور هایدروکسامیت با سه گروه عامل هایدروکسامیک اسید هر یک با دو اتم دهنده الکترون می باشد.(Varma and Chincholkar, ۲۰۰۷)
هدف از این پژوهش بررسی نقش باکتری‌های محرک رشد و لیگاند سیدروفور و برهمکنش عوامل کلات کننده و باکتری‌های محرک رشد بر خواص رویشی گیاه ذرت یک خاک آلوده به عناصر سنگین بود.

[۱۰۵] Hyperaccumulator

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 P۱۵، P۱۸ و P۱۹) و تیمار لیگاند سیدروفور(DFOB) در ۳ سطح (۰ و ۷۰ و ۱۴۰ میکرومول) 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 سیدروفور 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

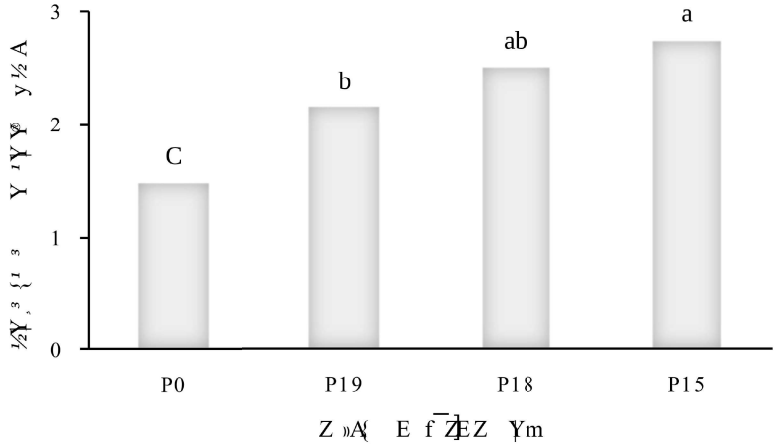
بر اساس نتایج بدست آمده از جدول تجزیه واریانس اثر اصلی کلات، وزن خشک ریشه و ارتفاع را تحت تأثیر قرار داد. همچنین تیمار باکتری بر وزن خشک ریشه و اندام هوایی و ارتفاع مؤثر بود اما هیچ یک از تیمارها تأثیر معنی‌داری بر شاخص سبزینگی (SPAD) نداشتند.

نتایج نشان داد برهمکنش بین تیمارهای کلات و باکتری هیچ یک از صفات وزن خشک ریشه، وزن خشک اندام هوایی، ارتفاع و شاخص سبزینگی راتحت تأثیر قرار ندادند.

وزن خشک اندام هوایی

نتایج مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن نشان داد، کاربرد تیمار باکتری باعث افزایش وزن خشک اندام هوایی نسبت به شاهد (عدم تلقیح باکتری) می‌شود. همچنین جدایه‌های مختلف باکتری سودوموناس نیز تفاوت معنی‌داری با یکدیگرداشتند (شکل ۱).

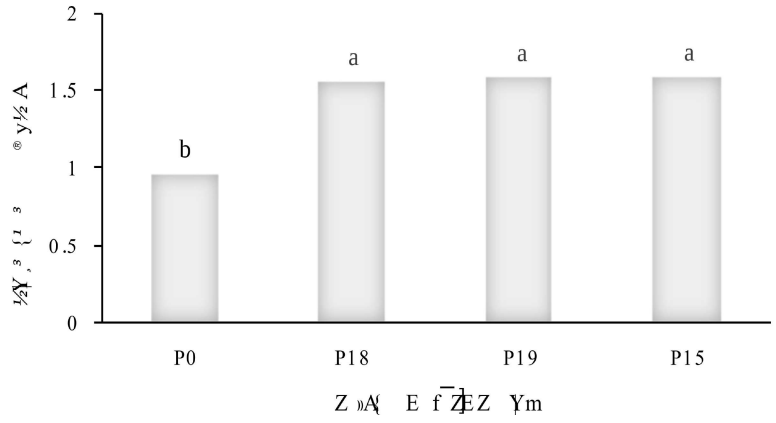
باکتری‌های محرک رشد گیاه، جذب عناصر غذایی برای رشد گیاه را از طریق مکانیسم‌های متعددی نظیر تثبیت زیستی نیتروژن، تولید هورمون‌های گیاهی، ویتامین‌ها، آنزیم‌ها، سیدروفورها، آنتی بیوتیک‌ها، تولید آنزیم Acc- دآمیناز و ممانعت از تولید اتیلن تنشی و انحلال فسفات‌های آلی و معدنی افزایش می‌دهند (Khan et al., ۲۰۰۸)؛ بنابراین میکروارگانیسم‌های ریزوسفری از طریق مکانیسم‌های مستقیم و غیرمستقیم می‌توانند زیست توده گیاهی و تحمل گیاهان را به فلزات افزایش دهند (Glick, ۲۰۰۳).



شکل ۱ - مقایسه میانگین جدایه‌های مختلف باکتری سودوموناس فلورسنت بر وزن خشک اندام هوایی گیاه ذرت

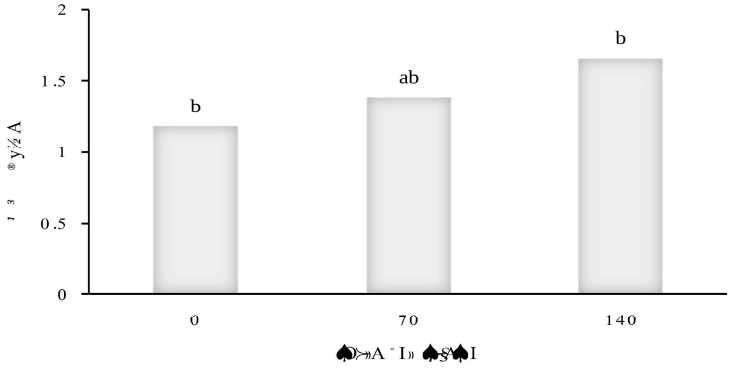
وزن خشک ریشه

نتایج مقایسه میانگین مرتبط با اثرات اصلی تیمار باکتری و کلات بر وزن خشک ریشه درشکل ۲ و ۳ نشان داده شده است. براساس این نتایج کاربرد باکتری باعث افزایش وزن خشک ریشه نسبت به شاهد (عدم تلقیح باکتری) شده اما جدایه‌های مختلف باکتری سودوموناس تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (شکل ۲).



شکل۲- اثر جدایه‌های مختلف باکتری سودوموناس فلورسنت بر وزن خشک ریشه گیاه ذرت

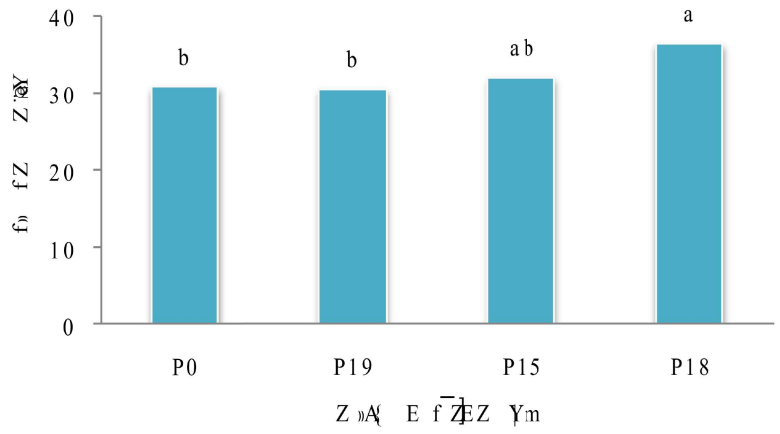
در خاک آلوده باکتری‌های محرک رشد به عنوان باکتری‌های کمک کننده میکوریزی عمل می‌کنند و با تولید آنزیم ACC- دآمیناز سطح اتیلن تنشی را در ریشه گیاه کاهش و به این ترتیب بر رشد و توسعه ریشه گیاه کمک می‌کنند (ملک زاده و همکاران، ۱۳۹۰). نتایج مقایسه میانگین نشان داد بیشترین وزن خشک ریشه مانند اندام هوایی مربوط به جدایه P_{15} باکتری سودوموناس می باشد. کاربرد کلات در سطوح مختلف باعث افزایش وزن خشک ریشه نسبت به شاهد (سطح صفر کلات) شده است و بیشترین وزن خشک مربوط به بالاترین سطح کلات (۱۴۰ میکرومولار) می‌باشد (شکل ۳). احتمالا کاربرد کلات در این سطح باعث افزایش قابلیت دسترسی عناصر کم مصرف برای گیاه و افزایش وزن خشک ریشه شده است.



شکل۳- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف سیدروفور بر وزن خشک ریشه گیاه ذرت

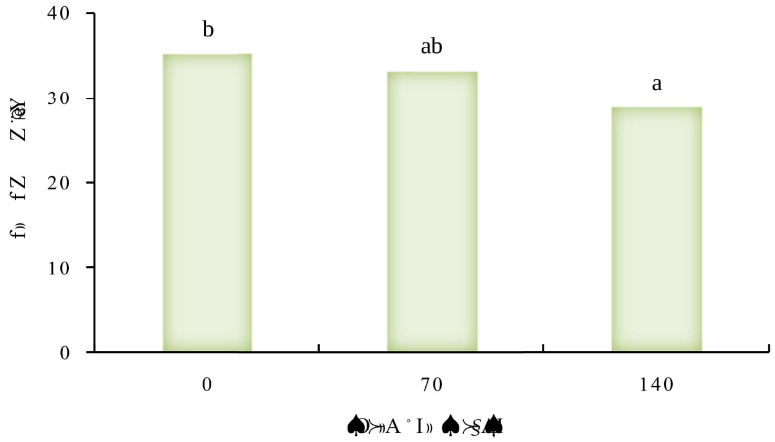
ارتفاع

نتایج مقایسه میانگین مرتبط با تأثیر تلقیح باکتری بر ارتفاع گیاه ذرت در شکل ۴ نشان می‌دهد که به جز جدایه P_{18}، تلقیح باکتری تأثیر معنی‌داری بر اتفاع ندارد.



شکل۴- مقایسه میانگین اثر جدایه‌های مختلف باکتری سودوموناس بر ارتفاع گیاه ذرت

همانطور که شکل ۵ نشان می‌دهد کاربرد کلات در سطوح مختلف باعث کاهش ارتفاع گیاه ذرت نسبت به شاهد درسطوح مختلف شده است. احتمالا افزودن کلات باعث افزایش قابلیت دسترسی عناصر سنگین و انتقال این عناصر به اندام هوایی گیاه شده و باعث کاهش ارتفاع گیاه می‌شود.



شکل۵-مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف سیدروفور بر ارتفاع گیاه ذرت

منابع

رشید شمالی، آ. خداوردی لو، ح. صمدی، ع. ۱۳۹۱. بردباری گیاه و جذب فلز روی توسط بزخی از گیاهان وحشی در یک خاک آلوده به روی. نشریه آب و خاک. جلد ۲۶. شماره ۳. صفحه‌های ۷۱۷-۷۰۸.

ملک‌زاده، ا. علیخانی، ح. ع ثوابقی فیروزآبادی، غ. ر زارعی، م. ۱۳۹۰. برهمکنش قارچ‌های میکوریز آربوسکولار و باکتری‌های PGPR مقاوم به کادمیوم در گیاه‌پالایی کادمیوم. نشریه آب و خاک. جلد ۲۵ شماره ۲ . صفحه‌های ۲۶۶-۲۷۴

Zhang H. H., Tang M. and Zheng C. ۲۰۱۰. Effect of inoculation with AM fungi on lead uptake, translocation and stress alleviation of *Zea mays* L. seedlings planting in soil with increasing lead concentrations. european journal of soil biology, ۴۶: ۳۰۶-۳۱۱.

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

Glick B.R. ۲۰۱۰. Using soil bacteria to facilitate phytoremediation. Biotechnology Advances, ۲۸: ۳۶۷-۳۷۴.

Sahmurova A., Celik M. and Allahverdiyev S. ۲۰۱۰. Determination of the accumulator plant in Kucukcekmece Lake (Istanbul). Africcan Journal of Biotechnology, ۳۹: ۶۵۴۵-۶۵۵۱.

Baker A. J. M. ۱۹۸۱. Accumulators and excluders-strategies in the response to heavy metals. Journal of Plant Nutrition, ۳: ۶۴۳-۶۴۵.

Varma A. and Chincholkar S (Eds). ۲۰۰۷. Microbial Siderophores. Springer-Verlag, B

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. Environmental Chemistry Letters, ۷: ۱-۱۹.

Abstract

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 DFOB (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 DFOB at ۳ concentrations (۰, ۷۰ and ۱۴۰ M) and PGPR bacteria isolates at ۴ levels (P۰ (control), P۱۵, P۱۸ and P۱۹) with three replications. Results indicated that applying factor PGPR bacteria increased dry weight of shoots, dry weight of roots and height compared to control and DFOB ligand increased root dry weight compared to control.