پانزدهمین کنگره علوم خاک ایران

۶ تا ۸ شهریور ۱۳۹۶ محور مقاله: شیمی و حاصلخیزی خاک و تغذیه گیاه

بررسی تاثیر تلقیح توأم قارچ میکوریز و باکتری‌حل‌کننده فسفات بر وزن تر و خشک گیاه ذرت درخاک‌های آلوده به سرب

فاطمه رستمی[۱]، احمد گلچین[۲]، فاطمه رخش[۳]

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، استاد و دانشجوی دکتری گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان

Email: fatemeh_rostami1990@yahoo.com

چکیده

به منظور مطالعه تاثیر کاربرد باکتری حل‌کننده فسفات *pseudomonas putida* و قارچ میکوریز *Glomus intraradices* بر وزن تر و خشک بخش هوایی و ریشه گیاه ذرت کشت شده در خاک‌های آلوده به سرب یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. فاکتورهای مورد بررسی شامل سطوح مختلف آلودگی خاک به سرب (صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) و سطوح تلقیح با باکتری و قارچ میکوریز (بدون تلقیح، تلقیح توأم با باکتری و قارچ) بودند. نتایج نشان داد که اثرات ساده و متقابل سطوح مختلف سرب و تلقیح بر وزن تر و خشک بخش هوایی و ریشه ذرت درسطح احتمال یک درصد معنی‌دار شدند. با افزایش غلظت سرب خاک تا ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک، وزن تر و خشک بخش هوایی (به ترتیب ۳۴/۴۶ و ۴۶/۵۴ درصد) و ریشه ذرت (به ترتیب ۲۵/۸۹ و ۳۴/۷۵ درصد) کاهش یافت. اما تلقیح توأم قارچ و باکتری سبب افزایش وزن تر و خشک بخش هوایی (به ترتیب۳۵/۴۱ و ۷۱/۲۰ درصد) و ریشه ذرت (به ترتیب۱۵/۲۲ و ۲۲/۱۴ درصد) شد.

کلمات کلیدی: تلقیح، سرب، *سودوموناس پوتیدا*، *گلوموس اینترارادیس*

مقدمه

حضور فلزات سنگین در محیط زیست یک خطر بالقوه برای سلامت موجودات زنده به شمار می‌آید. سرب فلز سنگینی با عدد اتمی ۸۹ است و ذخیره آن در استخوان‌ها شباهت زیادی به ذخیره کلسیم دارد و به صورت فسفات سرب ذخیره می‌شود. علائم مسمومیت سرب غالبا غیر اختصاصی و به صورت خستگی، تهوع، بی‌اشتهایی، تغییر و ضعیت خواب، اسهال، یبوست وافسردگی بروز می‌کند ولی با افزایش مقدار آن عوارض دیگری همچون افزایش فشارخون، تغییرخلق و خو و اختلالات حرکتی، کمخونی و عوارض عصبی بروز می‌کند (احمدی زاده، ۱۳۷۶). منابع حضور سرب در خاک شامل مواد مادری، سوخت‌های فسیلی، گازهای اگزوز، کارخانجات، معادن و سنگ‌های معدنی، فاضلاب‌ها، کودها، علف‌کش‌ها و لجن‌ها هستند (Yalcin et al.,2007). واکنش‌های بین گیاهان و ریز جانداران مفید ریزوسفر می‌تواند تحمل گیاهان به فلزات سنگین و تولیدزیست توده را افزایش دهد (Glick, 2010). در بین موجودات ریزوسفری که در افزایش تحمل گیاهان به فلزات سنگین و تولید زیست توده دخالت دارند باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) مانند باکتری‌های حل کننده فسفات وقارچ‌های میکوریزی بیشتر مورد توجه قرار گرفته‌اند(Varvara et (2000; Weller et al., 2003 گلیک (۲۰۱۰) اظهارنمود که ایندول استیک اسید ترشح شده توسط باکتری‌های حل‌کننده‌ی فسفات از طریق ایجاد تغییرات مورفولوژیک در گیاهان تحت تنش فلزات سنگین، سازش‌پذیری آنها را افزایش داده، به طوریکه می‌توانند در برابر غلظت بالای فلزات سنگین مقاومت کنند (Glick, 2010). اما برخی از محققان گزارش کرده‌اند که باکتری‌های حل‌کننده‌ی فسفات از طریق ترشح اسیدهای آلی با وزن مولکولی کم مانند لاکتیک، اسید سیتریک، اسید مالیک و اگزالیک، زیست فراهمی فلزات را افزایش و رشد گیاه را کاهش می‌دهند (Becerra-Castro et al., 2011). قارچ‌های میکوریزی از جمله میکروارگانیسم‌هایی هستند که با ریشه گیاهان مختلف ایجاد همزیستی می‌کنند و از مهم‌ترین فواید آن‌ها می توان به افزایش جذب آب، کمک به کاهش تنش‌های محیطی مثل شوری وغلظت زیاد فلزات سنگین اشاره نمود (Azcon and El-Atrash, 1997) . قارچ‌های میکوریزی با تشکیل شبکه‌هایی در

اطراف ریشه‌ی گیاهان،سطح تماس آن‌ها با خاک و رطوبت را بین ۱۰۰-۱۰ برابر افزایش می‌دهند و به این ترتیب گیاه توانایی بیشتری در استفاده از منابع موجود در محیط اطراف خود پیدا می‌کند (Sharma, 2002). سادات و همکاران (۱۳۸۹) بیان کردند تلقیح توأم قارچ *Glomus intraradices* و باکتری *Pseudomonas fluorescens* میزان کلروفیل و رشد گندم را به طور معنی‌داری نسبت به تلقیح مجزای قارچ افزایش داد. با توجه به افزایش روز افزون آلودگی خاک‌های ایران به سرب و اهمیت بکارگیری روش‌های مناسب برای کاهش اثرات سوء آن، هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر مصرف توأم قارچ میکوریزی *Glomus intraradices* و باکتری *pseudomonas putida* بر عملکرد گیاه ذرت تحت تنش سرب بود.

موادوروش‌ها

به منظور بررسی تأثیر توأم باکتری حل‌کننده‌ی فسفات *pseudomonas putida* و قارچ آربوسکولار میکوریز *Glomus intraradices* بر وزن تر و خشک بخش هوایی و ریشه گیاه ذرت تحت تنش سرب آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۰ تیمار و سه تکرار در مجموع ۳۰ واحد آزمایشی صورت گرفت. فاکتورهای مورد بررسی شامل سطوح مختلف آلودگی خاک به سرب (صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) و سطوح تلقیح با باکتری و قارچ میکوریز (بدون تلقیح، تلقیح خاک با باکتری سودوموناس و قارچ اینترارادیس بصورت توأم) بودند. نمونه مرکب خاک از عمق صفر تا ۲۰ سانتی‌متری تهیه و پس از بررسی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی، خاک مناسب جهت انجام آزمایش انتخاب شد (جدول ۱). خاک از الک ۲ میلی‌متری گذرانده شده و سپس چهار کیلوگرم خاک برای هر گلدان توزین و اقدام به آلوده کردن خاک‌ها با سطوح مختلف سرب شد. برای این منظور از نمک نیترات سرب $Pb(NO_3)_2$ استفاده گردید. نمونه خاک‌های آلوده شده به سرب به داخل گلدان‌ها منتقل شده و به مدت یک ماه در گلخانه در رطوبت ظرفیت مزرعه خوابانیده شدند. پس از مرحله‌ی خوابانیدن نمونه‌های خاک، ۵۰ گرم از کود میکروبی حاوی قارچ اینترارادیس و باکتری *سودوموناس پوتیدا* (دو سی‌سی به ازای بوته) به درون حفره‌های ایجاد شده درگلدان‌ها به منظور کشت بذر ذرت، اضافه شدند. در داخل هر گلدان سه عدد بذر ذرت رقم ماکسیما کشت گردید. گیاهان به مدت ۶۰ روز (اتمام رشد رویشی وقبل از وارد شدن به رشد زایشی) در شرایط گلخانه‌ای در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و تحت دامنه رطوبت ظرفیت مزرعه تا ۰/۸ رطوبت ظرفیت مزرعه نگهداری شدند. رطوبت گلدان‌ها از طریق توزین کنترل شد. سپس قسمت هوایی و ریشه گیاه برداشت و وزن تر نمونه‌ها توزین شدند. نمونه ها پس از شستشو با آب مقطر، به مدت ۷۲ ساعت در آون در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد خشک و توزین گردیدند. داده ها با کمک نرم‌افزار آماری SAS 9.4 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک درصد استفاده شد.

جدول ۱: برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش

عمق خاک	هدایت الکتریکی	pH	سرب قابل جذب	پتاسیم	فسفر	منگنز	آهک	کربن آلی جذب
سانتی‌متر	دسی‌زیمنس بر متر	-	میلی‌گرم بر کیلوگرم				درصد	
۰-۲۰	۰/۲۵	۷/۷۴	۵	۲۳	۱۴	۴/۷۲	۱۴/۷	۱/۱

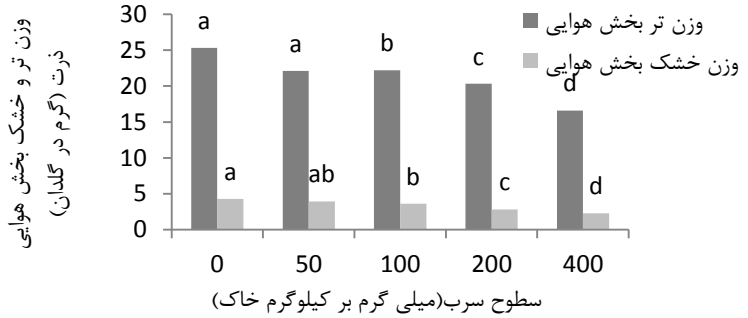
نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تاثیر سطوح مختلف آلودگی سرب بر وزن تر و خشک بخش هوایی و ریشه گیاه ذرت در سطح احتمال یک درصد معنی‌دارشد (جدول ۲). باافزایش غلظت سرب خاک وزن تر و خشک بخش هوایی و ریشه گیاه ذرت کاهش یافت (شکل‌های ۱ و ۲). بیش‌ترین وزن تر و خشک بخش هوایی گیاه ذرت در تیمار شاهد (به ترتیب به میزان۲۵/۳۲و ۴/۲

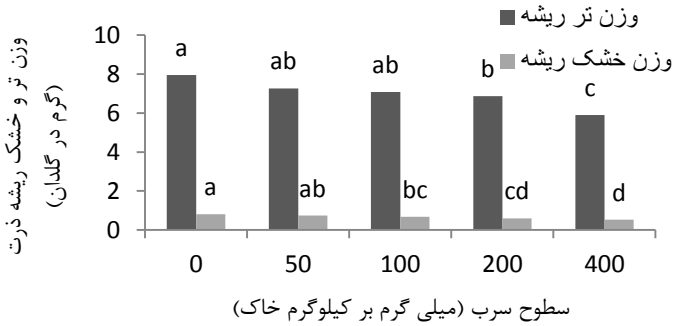
گرم درگلدان) و کمترین وزن تر و خشک آن در سطح ۴۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم (به ترتیب به میزان ۱۶/۵۹و ۲/۲۹ گرم در گلدان) اندازه‌گیری شدند (شکل ۱). هم‌چنین بیش‌ترین وزن تر و خشک ریشه ذرت در تیمار شاهد (به ترتیب به میزان ۷/۹۵ و ۰/۸ گرم در گلدان) و کمترین وزن تر و خشک آن در سطح ۴۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم (به میزان ۵/۸۹ و ۰/۵۲ گرم در گلدان) به‌دست آمدند (شکل ۲). کاهش میزان پارامترهای رشد و نمو در پاسخ به افزایش غلظت سرب در محیط رشد گیاهان دلایل متعددی از قبیل اثر بازدارنده‌ی سرب بر فتوسنتز، کاهش توانایی تثبیت گاز دی‌اکسیدکربن، افزایش هزینه‌ی متابولیکی گیاه در مقابله با تنش فلز سنگین، بر هم‌زدن تعادل یونی و روابط آبی گیاه با محیط و کاهش میزان تبادلات گازی به علت کاهش سطح برگ دارد.

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایشی بر وزن تر و خشک بخش هوایی و ریشه گیاه ذرت

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		وزن تر بخش هوایی	وزن خشک بخش هوایی	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه
		گرم در گلدان			
سطوح سرب	۴	۷۰/۴۹۴**	۲۳/۷۰۹**	۳/۳۴۰**	۰/۲۶۵**
کود زیستی	۱	۲۴۲/۰۲۴**	۴/۰۴۵**	۱۲/۹۲۳**	۰/۰۷۳**
سطوح سرب × کودزیستی	۴	۱۴/۵۴۳**	۰/۴۰۲۰**	۰/۳۵۴^{ns}	۰/۰۰۱^{ns}
خطا	۲۰	۲/۰۹۸	۰/۱۶۵	۰/۵۷۳	۰/۰۰۵
درصد ضریب تغییرات	-	۶/۶۷۳	۱۲/۰۱۳	۱۰/۷۹۶	۱۰/۶۶۶



شکل ۱. تأثیرسطوح مختلف سرب بر وزن تر و خشک بخش هوایی گیاه ذرت

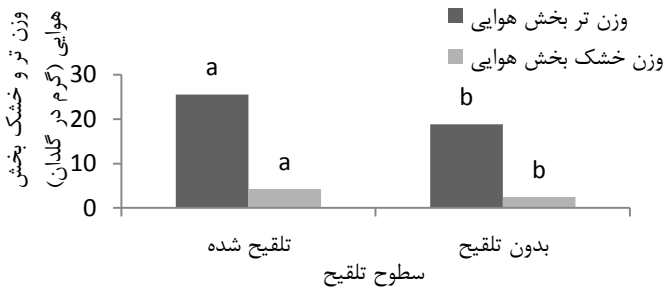


شکل ۲. تأثیر سطوح مختلف سرب بر وزن تر و خشک ریشه گیاه ذرت

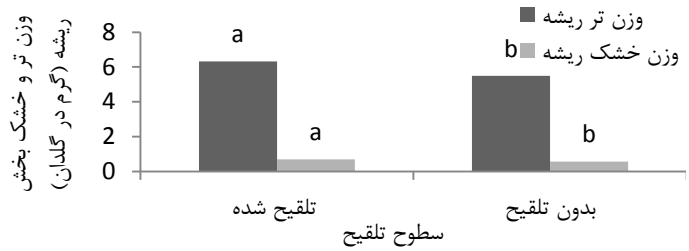
با توجه به نتایج حاصل از تجزیه‌ی واریانس داده‌ها (جدول ۲) تأثیرتلقیح خاک با قارچ میکوریز گلوموس اینترارادیس و باکتری سودوموناس، بر وزن تر و خشک بخش هوایی و ریشه ذرت در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. وزن تر و خشک بخش هوایی و ریشه گیاه ذرت در اثر تلقیح با قارچ میکوریز و باکتری افزایش یافت. بیشترین وزن تر و خشک بخش هوایی ذرت (به ترتیب۲۴/۵۴

و ۴/۲۷ گرم در گلدان) و ریشه ذرت (به‌ترتیب ۶/۳۲ و ۰/۶۹ گرم در گلدان) از تیمار تلقیح با قارچ و باکتری به دست آمدند (شکل‌های ۳ و ۴).

در واقع قارچ با تجمع عناصر سنگین در هیف‌ها و میسیلیوم‌های خود باعث کاهش شکل قابل جذب سرب در ریزوسفر گیاه و متعاقباً کاهش جذب آن توسط گیاه و افزایش رشد و وزن گیاه شده است. باکتری حل کننده فسفات با تبدیل فسفر نامحلول به فسفر محلول امکان رسوب سرب با فسفات و متعاقباً کاهش شکل قابل جذب سرب وجذب آن توسط گیاه و افزایش رشد و وزن گیاه را فراهم آورده است. حسنین و صابری (۱۹۹۶) گزارش کردند که تلقیح گیاه خردل هندی به باکتری سودوموناس، گیاه را در برابر اثرات بازدارندگی کروم حفاظت نمود و علت آن را مربوط به تولید ایندول استیک اسید، سیدروفور و محلول کردن فسفات توسط این باکتری دانستند (Hasnain and Sabri, 1996).



شکل ۳. تأثیر تلقیح با قارچ و باکتری بر وزن‌های تر و خشک بخش هوایی گیاه ذرت



شکل۴.تأثیر تلقیح با قارچ و باکتری بر وزن‌های تر و خشک ریشه گیاه ذرت

اثر متقابل سطوح مختلف سرب و تلقیح قارچ و باکتری بر وزن تر و خشک بخش هوایی ذرت در سطح احتمال یک درصد معنی‌داربود ولی تاثیر معنی‌داری بروزن تر و خشک ریشه نداشت (جدول ۲). بیش‌ترین وزن تر و خشک بخش هوایی ذرت (۲۹/۳۸و ۵/۱۶ گرم در گلدان) به ترتیب در تیمارهای تلقیح شده و عدم مصرف سرب وکمترین میزان وزن تر و خشک بخش هوایی (۱۶/۳۵ و ۱/۶۴ گرم در گلدان) درتیمارهای بدون تلقیح و سطح۴۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک اندازه‌گیری شدند (جدول ۳).

میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشترک با هم دارند، ازلحاظ آماری اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

جدول ۳: مقایسه میانگین اثر متقابل سرب و قارچ و باکتری بر وزن تر و خشک بخش هوایی گیاه ذرت

قارچ میکوریز	سطوح سرب میلی‌گرم بر کیلوگرم	وزن تر بخش هوایی گرم در گلدان	وزن خشک بخش هوایی
بدون تلقیح	صفر	۲۱/۲۶de	۳/۵۴b
	۵۰	۲۰/۰۵def	۱/۵۹c
	۱۰۰	۱۹/۳۹efg	۲/۵۱bc
	۲۰۰	۱۷/۲۳fg	۲/۰۹cd
	۴۰۰	۱۶/۳۵g	۱/۶۴d
تلقیح شده	صفر	۲۹/۳۸a	۵/۰۵a
	۵۰	۲۸/۱۲ab	۵/۱۶a
	۱۰۰	۲۵bc	۴/۶۹۳۳a
	۲۰۰	۲۳/۳۷dc	۳/۵۱b
	۴۰۰	۱۶/۸۴fg	۲/۹۵b

نتایج این پژوهش نشان داد که با افزایش سطح آلودگی وزن تر و خشک کاهش می‌یابد و رشد گیاه نیز کمتر می‌شود. ولی تلقیح قارچ و باکتری به دلیل این که قارچ باعث بهبود تغذیه‌ی گیاه ازطریق جذب موادغذایی و باکتری نیز به دلیل انحلال فسفر نامحلول و افزایش مقدار فسفر باعث افزایش تثبیت نیتروژن شده باعث افزایش رشد گیاه می‌شوند.

منابع

احمدی‌زاده،م.۱۳۷۶. سم شناسی صنعتی «فلزات سنگین». نشر هزاران، چاپ اول، صفحه ۲۷-۴۷.

سادات،ع.،ثوابقی،غ.،رجالی،ف.،فرحبخش،م.،خاوازی،ک.وشیرمردی،م.۱۳۸۹. تأثیر چند نوع قارچ میکوریز آربسکولار و باکتری محرک رشد گیاه بر شاخص‌های رشد و عملکرد دو رقم گندم در یک خاک شور. نشریه آب وخاک. علوم و صنایع کشاورزی. ۲۴(۱): ۵۳-۶۲.

Azcon R. and El-Atrash F. 1997. Influence of arbuscular mycorrhizae and phosphorus fertilization on growth, nodulation and fixation (N15) in Medicago sativa at four salinity levels. Biology and Fertility of Soils,24: 81-86.

Becerra-Castro C., Prieto-Ferna´ndez A., Alvarez-Lopez V., Monterroso C., Cabello-Conejo M.I., Acea M.J. and Kidd P.S. 2011. Nickel solubilizing capacity and characterization of rhizobacteria isolated from hyperaccumulating and non-hyperaccumulating subspecies of Alyssum serpyllifolium. International Jornal of Phytoremedation,1: 24-229.

Glick B.R. 2010. Using soil bacteria to facilitate phytoremediation. Biotechology Advances,28: 367–374.

Hasnain S. and Sabri A.N. 1996. Growth Stimulation of *Triticum aestivum* seedlings under Cr- Stresses by non rhizospheric Pseudomonad strains. P.36. Abstracts of the 7th International Symposium on Biological Nitrogen Fixation with Non-Legumes. Kluwer Academic Publishers, the Netherlands.

Varvara P. Grichko. Brendan F. Bernard and Glick R. 2000. Increased ability of transgenic plants expressing the bacterial enzyme ACC deaminase to accumulate Cd, Co, Cu, Ni, Pb, and Zn. Jornal of Biotechnology. 81: 45-53.

Weller D., Linda M. and Thomashow S. 1993. Use of rhizobacteria for biocontrol. Current OpinionBiotechnology,4: 306-311.

Yalcin M.G., Battaloglu R. and Ilhan S. 2007. Heavy metal sources in Sultan Marsh and its neighborhood, Kayseri, Turkey. Environmental Geology,53 (2): 399-415.

Sharma A.K. 2002. Biofertilizers for sustainable agriculture. Agrobios, India.4078p.

The effects of a phosphate solubilizing bacteriumand mycorrhizal fungico inoculation on fresh and dry weights of above and below ground parts of corn in lead contaminated soils

F. Rostami[1], A. Golchin[2], F. Rakhsh[3]

1-2, 3: Master student, professor and PhD student, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan

Email: fatemeh_rostami1990@yahoo.com

Abstract

In order to evaluate the effects of phosphate solubilizing bacterium(*pseudomonas putida*) and mycorrhizal inoculation (*Glomus intraradices*) on fresh and dry weights of above and below ground parts of corn planted in lead contaminated soils, a factorial experiment was conducted using a completely randomized design and three replications. The experimental factors were the levels of soil lead (0, 50, 100, 200 and 400 mg/kg) and two microbial inoculations including control and co-inoculation of bacterium and mycorrhizal.The results showed that the simple and interactive effects of the microbial inoculations and lead levels were significant on fresh and dry weights of above and below ground parts of corn ($p< 0.01$). With increasing the level of soil lead up to 400 mg/kg, the fresh and dry weights of above and below ground parts of corn decreased (respectively 34.46 and 46.54% and 25.89 and 34.75%). But co-inoculation increased the fresh and dry weights of above and below ground parts respectively 35.41 and 71.20% and 15.22 and 22.14%.

Keywords: *Glomus intraradices*, Inoculation, Lead, *Pseudomonas putida*