محور مقاله: آلودگی زیست‌بوم، سلامت انسان و زیست‌پالایی

تأثیر استرپتومایسس و اسیدهیومیک بر فاکتور انتقال و تجمع زیستی کادمیوم و سرب در اکالیپتوس

مریم صدیقی مورنانی [۱*]، سمیه قاسمی [۲]

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم خاک دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه یزد

[۲] دانشیار گروه علوم خاک دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه یزد

چکیده

در این پژوهش به منظور بررسی تأثیر اسیدهیومیک و تلقیح استرپتومایسس بر فاکتور انتقال و تجمع زیستی کادمیوم وسرب توسط اکالیپتوس در باطله‌های (مواد باقی‌مانده حاصل از طلاگیری خاک) کارخانه معدن طلای موته، آزمایشی گلدانی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارها شامل دو سطح اسیدهیومیک (صفر و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) و سه سطح باکتری (بدون تلقیح و تلقیح با *استرپتومایسس گریزئوس* و *استرپتومایسس* ریموسوس) بودند. نتایج نشان داد که تأثیر استرپتومایسس بر فاکتور انتقال و تجمع زیستی کادمیوم و سرب معنی‌دار بود. همچنین کاربرد اسیدهیومیک، تأثیر معنی‌داری بر ضریب انتقال سرب در اکالیپتوس داشت. استرپتومایسس ریموسوس در مقایسه با تیمار شاهد و استرپتومایسس گریزئوس، باعث افزایش معنی‌دار ضریب انتقال کادمیوم و تجمع زیستی آن در اکالیپتوس شد. ضریب انتقال سرب و تجمع زیستی آن نیز در گیاهان تلقیح شده با *استرپتومایسس گریزئوس* و *استرپتومایسس ریموسوس* به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد بود. همچنین، کاربرد اسیدهیومیک باعث افزایش معنی‌دار ضریب انتقال سرب در اکالیپتوس گردید.

کلمات کلیدی: *استرپتومایسس گریزئوس*، *استرپتومایسس ریموسوس*، فلزات سنگین، معدن طلای موته

مقدمه

با پیشرفت و توسعه فناوری و افزایش جمعیت، گسترش آلودگی در مناطق مختلف جهان به‌ویژه مناطق صنعتی، معدنی و کشاورزی رشد چشمگیری داشته است. آلودگی فلزات سنگین، یکی از عوامل اصلی تخریب محیط زیست محسوب می‌گردد. گیاه‌پالایی به عنوان یک فناوری نوظهور و مقرون به صرفه، یکی از مهم‌ترین روش‌های زیستی مورد استفاده جهت پاکسازی خاکهای آلوده به فلزات سنگین است. این فناوری مستلزم استفاده از گیاهان انباشتگر فلزات به منظور پالایش، جا به جایی و یا تثبیت آلاینده‌های فلزی موجود در خاک می‌باشد، با این وجود زمانبر بودن این تکنیک یکی از معایب اصلی آن محسوب می‌شود. تکنیک گیاه‌پالایی تحت تأثیر فعالیت میکروب‌های ریزوسفری، گونه‌ی شیمیایی فلز و غلظت عناصر فلزی موجود در خاک قرار می‌گیرد (Khan 2005). کاربرد باکتریهای ریزوسفری محرک رشد گیاه، یکی از سودمندترین و در عین حال، کم خطرترین تکنیک‌ها برای محیط زیست می‌باشد که به تازگی جهت بهبود کارآیی فرآیند پالایش فلزات سنگین توسط گیاهان مد نظر قرار گرفته است (Kong and Glick 2017). در این ارتباط، Joner and Leyval (1997) نشان دادند که افزودن باکتری به محیط رشد گیاه باعث انتقال بهتر فلزات از ریشه به اندام هوایی شد.

فاکتور انتقال گیاهی یک شاخص ساده برای ارزیابی کمی انتقال عناصر از خاک به گیاه و از جمله فاکتورهای مؤثر در شناسایی مناسب برای استخراج گیاهی است که بیانگر نسبت غلظت عنصر فلزی در اندام هوایی گیاه به غلظت همان عنصر در ریشه است. فاکتور انتقال گیاهی بیشتر از یک نشان‌دهنده انتقال آسان فلز از ریشه به اندام هوایی و در نتیجه انباشتگی فلزات سنگین در اندام هوایی گیاه است، درحالی‌که مقادیر کمتر از یک این فاکتور نشانه غیرانباشتگر بودن گیاهان است (رسولی صدقیانی و همکاران ۱۳۹۷). دو مکانیسم اصلی انتقال سیمپلاستی و فشار ریشه‌ای، سبب انتقال عناصر سنگین از ریشه به اندام هوایی می‌شوند. در بیشتر گیاهان غیرانباشتگر، عناصر سنگین در ریشه باقی می‌ماند و مقدار ناچیزی از آن از مسیر سیمپلاستی به اندام هوایی انتقال می‌یابد. در این گیاهان، عناصر سنگین با گروه‌های عامل پکتین‌های دیواره سلولی پیوند برقرار می‌کند و دیواره سلولی به عنوان اولین سد دفاعی از انتقال سرب ریشه به اندام هوایی جلوگیری می‌کند. یکی از عواملی که می‌تواند بر جذب و انتقال فلزات سنگین تأثیر بگذارد، استفاده از

* ایمیل نویسنده مسئول: m71.sedighi@gmail.com

کودهای آلی و عوامل کمپلکس کننده فلزات از جمله اسیدهیومیک می‌باشد. تشکیل کمپلکسهای فلز- اسید هیومیک در خاک‌های آلوده، از یک سو از تثبیت فلزات توسط ذرات رس و تبدیل آنها به اشکال نامحلول ممانعت می‌کند و از سوی دیگر با افزایش حلالیت فلزات سنگین، قابلیت دسترسی آنها برای گیاهان را افزایش می‌دهد (رسولی صدقیانی و همکاران ۱۳۹۷). مطالعه حاضر نیز با هدف بررسی تأثیر محلول‌پاشی اسیدهیومیک و تلقیح *استرپتومایسس ریموسوس* و *استرپتومایسس گریزئوس* بر فاکتور انتقال و تجمع زیستی کادمیوم و سرب توسط اکالیپتوس در باطله‌های معدن طلای موته انجام شد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های خاک از باطله‌های معدن طلای موته واقع در استان اصفهان تهیه شد. غلظت کل کادمیوم و سرب در این خاک به ترتیب ۴/۴ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. در این پژوهش، جهت بررسی تأثیر اسیدهیومیک و استرپتومایسس بر ضریب انتقال و تجمع زیستی کادمیوم و سرب توسط اکالیپتوس (*Eucalyptus camadulensis*)، آزمایشی گلدانی در قالب طرح کاملاً تصادفی به صورت فاکتوریل با سه تکرار در گلخانه پژوهشی دانشگاه یزد، انجام شد. تیمارها شامل دو سطح اسیدهیومیک (صفر و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) و سه سطح باکتری (بدون تلقیح و تلقیح با *استرپتومایسس گریزئوس* و *استرپتومایسس ریموسوس*) بودند. ابتدا نهال‌های یکساله اکالیپتوس به گلدان‌های پلاستیکی حاوی باطله‌های کارخانه معدن طلای موته انتقال یافتند. سپس به منظور اعمال تیمارهای باکتری، مقدار ۵۰ میلی‌لیتر مایه تلقیح (10^8 Colony Forming Units/ml) حاوی *استرپتومایسس ریموسوس* و *استرپتومایسس گریزئوس* به گلدان‌ها اضافه شد. یک روز پس از اعمال تیمارهای باکتری، اسیدهیومیک در دو سطح صفر و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر بر روی سطح برگ و ساقه نهال اکالیپتوس طی دو مرحله به فاصله زمانی دو هفته محلول‌پاشی شد. پس از گذشت حدود شش ماه از کشت، گیاهان برداشت شده و غلظت کادمیوم و سرب به وسیله دستگاه جذب اتمی مدل Analytik Jena Novaa300 اندازه‌گیری شد. شاخص‌های ضریب انتقال فلز و ضریب تجمع زیستی نیز به ترتیب با استفاده از روابط ۱ و ۲ محاسبه گردید.

رابطه (۱) $TF= C_{Shoot}/C_{Root}$

رابطه (۲) $BAC= C_{Shoot}/C_{Soil}$

C_{Shoot}: غلظت عنصر در اندام هوایی (mg/kg)

C_{Root}: غلظت عنصر در ریشه (mg/kg)

C_{Soil}: غلظت عنصر در خاک (mg/kg)

نتایج و بحث

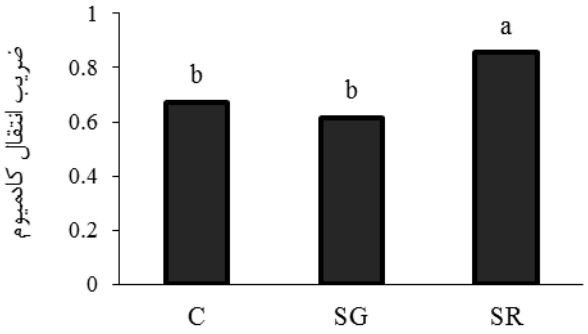
بر اساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، تأثیر استرپتومایسس بر ضریب انتقال و تجمع زیستی کادمیوم در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود، اما کاربرد اسیدهیومیک و اثر متقابل آن با استرپتومایسس، تأثیر معنی‌داری بر ضریب انتقال و تجمع زیستی کادمیوم در اکالیپتوس نداشت (جدول ۱).

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس تأثیر استرپتومایسس و اسیدهیومیک بر ضریب انتقال و تجمع زیستی کادمیوم دراکالیپتوس

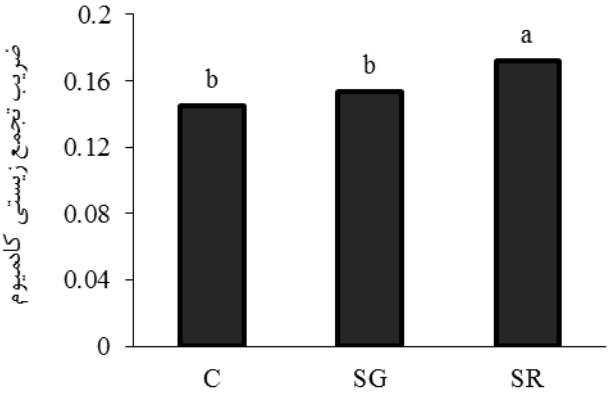
منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		ضریب انتقال کادمیوم	ضریب تجمع زیستی کادمیوم
استرپتومایسس (S)	۲	۰/۰۹**	۰/۰۰**
اسیدهیومیک (HA)	۱	۰/۰۱^{ns}	۰/۰۰^{ns}
S×HA	۲	۰/۰۱^{ns}	۰/۰۰ ^{ns}
خطای آزمایش	۱۲	۰/۰۱	۰/۰۰
ضریب تغییرات		۰/۲۰	۰/۰۸

^{ns} و ** به ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح یک درصد.

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که ضریب انتقال کادمیوم (شکل ۱) و تجمع زیستی آن (شکل۲) در گیاهان تلقیح شده با *استرپتومایسس ریموسوس* به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمارهای شاهد و *استرپتومایسس گریزئوس* بود. باکتری‌ها از طریق آزادسازی عوامل کلاته‌کننده، کاهش pH، انحلال فسفات‌های نامحلول و تغییر شرایط اکسیداسیون و احیا، بر پویایی و قابلیت دسترسی فلزات سنگین برای گیاهان تأثیر گذاشته و در نتیجه دارای پتانسیل افزایش کارایی فرآیند گیاه‌پالایی می‌باشند (Jing و همکاران، ۲۰۰۷). نتایج مطالعه انجام شده توسط Motesharezadeh و همکاران (۲۰۱۷) نیز نشان داد که کاربرد عوامل بیولوژیکی (قارچ و باکتری) باعث افزایش توان اکالیپتوس (*Eucalypyus Camaldulensis* L.) در پالایش خاک‌های آلوده به کادمیوم شد.



شکل ۱. تأثیر کاربرد استرپتومایسس بر ضریب انتقال کادمیوم در اکالیپتوس. میانگین‌های با حداقل یک حرف مشترک، بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار در سطح پنج درصد آزمون دانکن می‌باشند.



شکل ۲. تأثیر کاربرد استرپتومایسس بر ضریب تجمع زیستی کادمیوم در اکالیپتوس. میانگین‌های با حداقل یک حرف مشترک، بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار در سطح پنج درصد آزمون دانکن می‌باشند.

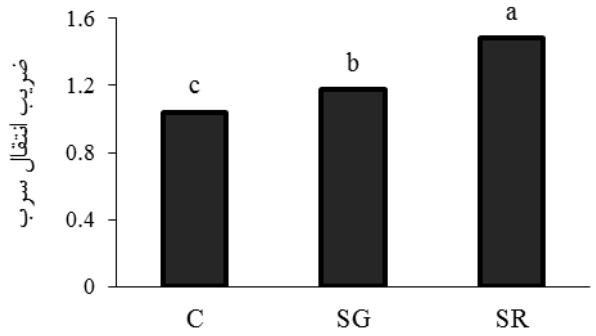
تأثیر تلقیح استرپتومایسس بر ضریب انتقال و تجمع زیستی سرب در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). همچنین کاربرد اسیدهیومیک تأثیر معنی‌داری بر ضریب انتقال سرب در اکالیپتوس داشت (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که تلقیح *استرپتومایسس گریزئوس* و *استرپتومایسس ریموسوس* در مقایسه با تیمار شاهد، باعث افزایش معنی‌دار ضریب انتقال (شکل۳) و تجمع زیستی سرب (شکل۴) در اکالیپتوس شد. تأثیر *استرپتومایسس ریموسوس* در افزایش ضریب انتقال و تجمع زیستی سرب، بیشتر از *استرپتومایسس گریزئوس* بود. کاربرد اسیدهیومیک نیز باعث افزایش معنی‌دار ضریب انتقال سرب در اکالیپتوس گردید (شکل ۵)، به طوری‌که با افزایش سطح اسیدهیومیک از صفر به ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر، ضریب انتقال سرب ۱/۱۰برابر افزایش یافت. خداوردی‌لو و همکاران (۱۳۹۲) نشان دادند که استفاده از باکتری‌های محرک رشد سبب افزایش معنی‌دار غلظت

سرب در شاخساره گیاه گل گندم نسبت به تیمار شاهد شد. Bandieraa و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که کاربرد اسـید هیومیک باعث افزایش مقدار جـذب فلـزات سنگین به‌ویژه مس و سرب توسط ریشه و انتقال آنها به اندام هوایی گیاه شد. همچنین، رسولی صدقیانی و همکاران (۱۳۹۷) گزارش کردند که اسیدهیومیک در کاهش آلودگی سرب و افزایش قابلیت دسترسی سرب توسط گیاه افسنتین (*Artemicia absantium*) مؤثر بود.

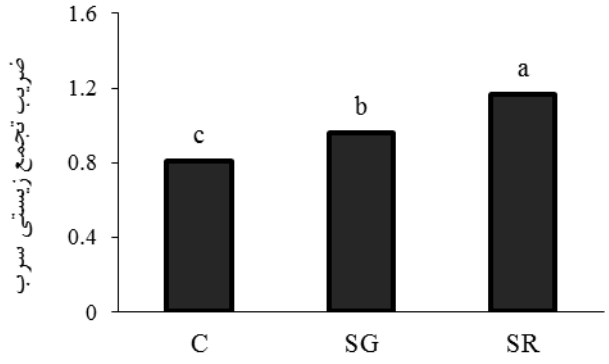
جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس تأثیر استرپتومایسس و اسیدهیومیک بر ضریب انتقال، تجمع زیستی در اکالیپتوس

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		ضریب انتقال سرب	ضریب تجمع زیستی سرب
استرپتومایسس (S)	۲	۰/۳۱**	۰/۲۰**
اسیدهیومیک (HA)	۱	۰/۰۶*	۰/۰۴^{ns}
S×HA	۲	۰/۰۲^{ns}	۰/۰۰ ^{ns}
خطای آزمایش	۱۲	۰/۰۱	۰/۰۱
ضریب تغییرات		۰/۱۸	۰/۱۹

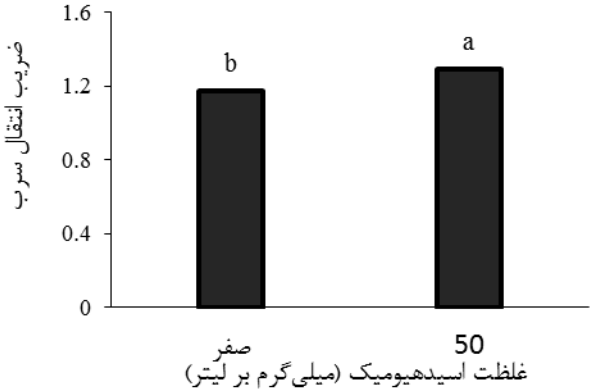
^{ns} ، * و ** به ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح پنج درصد و معنی‌دار در سطح یک درصد.



شکل ۳. تأثیر کاربرد استرپتومایسس بر ضریب انتقال سرب در اکالیپتوس. میانگین‌های با حداقل یک حرف مشترک، بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار در سطح پنج درصد آزمون دانکن می‌باشند.



شکل ۴. تأثیر کاربرد استرپتومایسس بر ضریب تجمع زیستی سرب در اکالیپتوس. میانگین‌های با حداقل یک حرف مشترک، بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار در سطح پنج درصد آزمون دانکن می‌باشند.



شکل ۵. تأثیر کاربرد اسیدهیومیک بر ضریب انتقال سرب در اکالیپتوس. میانگین‌های با حداقل یک حرف مشترک، بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار در سطح پنج درصد آزمون دانکن می‌باشند.

نتیجه‌گیری

اگرچه اکالیپتوس ممکن است یک گیاه بیش‌انباشتگر فلزات سنگین نباشد، اما نتایج این مطالعه نشان داد که تلقیح *استرپتومایسس گریزئوس* و *استرپتومایسس ریموسوس* می‌تواند تأثیر معنی‌داری بر افزایش انتقال و تجمع زیستی کادمیوم و سرب در اکالیپتوس داشته باشد، بنابراین اکالیپتوس تیمار شده با استرپتومایسس می‌تواند در پالایش خاک‌های آلوده به فلزات سنگین بسیار مؤثرتر باشد. براساس نتایج حاصل از این پژوهش، برای افزایش راندمان گیاه‌پالایی می‌توان از اسیدهیومیک و باکترهای محرک رشد گیاه مانند استرپتومایسس‌ها به‌ویژه *استرپتومایسس ریموسوس* استفاده کرد.

منابع

خداوردی‌لو، ح.، رسولی صدقیانی، م. ح.، کریمی، ا. ۱۳۹۲. تأثیر مایه‌زنی میکروبی یک خاک آلوده به سرب بر رشد، برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک و جذب و انتقال سرب، آهن و روی توسط گل گندم (*centaurea cyanus*). نشریه مدیریت خاک و تولید پایدار. جلد سوم. شماره دوم.

رسولی صدقیانی، م. ح.، خداوردیلو، ح.، برین، م. و کاظم علیلو، س. ۱۳۹۷. بررسی پتانسیل قارچ ریشه‌ها و باکتری‌های سودوموناس در پالایش سبز کادمیم از یک خاک آلوده. نشریه علوم آب و خاک، ۲۲ (۱)، ۳۱۶-۳۰۵.

Bandieraa, M., Moscaa, G., Vamerali, T. 2009. Humic acid affect root characteristics of fodder radish (*Raphanus sativus* L., var. oleiformis Pers.) in metal polluted wastes. Journal of Desalination, 246, 78-91.

Cheng, J., Li, Y., Gao, W., Chen, Y., Pan, W., Lee, X., Tang, Y. 2018. Effects of biochar on Cd and Pb mobility and microbial community composition in a calcareous soil planted with tobacco. Biology and Fertility of Soils, 54(3), 373-383.

Jing, Y. D., He, Z. L., Yang, X. E. 2007. Role of soil rhizobacteria in phytoremediation of heavy metal contaminated soils. Journal of Zhejiang University Science B, 8, 192–207.

Joner, E. J., Leyval, C. 1997. Uptake of Cd by roots and hyphae of *Glomus mosseae/Trifolium subterraneum* mycorrhiza from soil amended with high and low concentration of cadmium. New Phytology, 135: 353-360.

Khan, A. G. 2005. Role of soil microbes in the rhizospheres of plants growing on trace metal contaminated soils in phytoremediation. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 18, 355-364.

Kong, Z., Glick, B. R. 2017. The role of plant growth-promoting bacteria in metal phytoremediation. Advances in Microbial Physiology, 71, 97-132.

Motesharezadeh, H., Kamal-poor, S., Alikhani, H. A., Zarei, M., Azimi, S. 2017. Investigating the effects of plant growth promoting bacteria and *Glomus Mosseae* on cadmium phytoremediation by *Eucalyptus camaldulensis* L. Pollution, 3, 575-588.

Topic for submission: Ecosystem Pollution, Human Health and Bioremediation

Effect of *Streptomyces* and humic acid on the translocation and bio concentration factor of cadmium and lead by eucalyptus

Sedighi Mournani*[1], M., Ghasemi[2], S.

[1] M. Sc. Student, Soil Science Department, Faculty of Natural Resources University of Yazd, Iran
[2] Associate Prof., Soil Science Department, Faculty of Natural Resources University of Yazd, Iran

Abstract

In this study in order to investigate the effect of humic acid and Streptomyces inoculation on the translocation and bio concentration factor of Cd and Pb by eucalyptus in Muteh gold factory tailing, a pot experiment was set up in a completely randomized factorial design with three replications. Treatments included two levels of humic acid (0, 50 mg/L) and three levels of bacteria (without inoculation, inoculated with *Streptomyces griseus* and *Streptomyces rimosus*). The results showed that the effect of Streptomyces on translocation and bio concentration factor of Cd and Pb was significant. Also, application of humic acid had significant effect on translocation factor of Pb. *Streptomyces rimosus* caused a significant increase in translocation and bio concentration factor of Cd compared to control treatment and *Streptomyces griseus*. translocation and bio concentration factor of Pb in plants inoculated with *Streptomyces griseus* and *Streptomyces rimosus* were higher than control treatment. Also, application of humic acid caused a significant increase in translocation factor of Pb in eucalyptus.

Keywords: *Streptomyces griseus*, *Streptomyces rimosus*, Heavy metals, Muteh gold mine

* Corresponding author, Email: m71.sedighi@gmail.com