اثر باکتری محرک رشد گیاه و تنش خشکی بر شکل‌های شیمیایی کادمیم در خاک پس از برداشت ذرت

شهرزاد کرمی [۱] ، جعفر یثربی [۲]
۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بخش علوم خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز، ۲- استادیار بخش علوم خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز

چکیده
زمین‌های کشاورزی افزایش قابل توجهی در مقدار فلزات سنگین از جمله کادمیم نشان می‌دهند. کاربرد باکتری‌های محرک رشد گیاه می‌تواند با تغییر شکل شیمیایی فلزات بر جذب گیاهی و کاهش یا افزایش سمیت فلز تأثیر بگذارد. آزمایشی گلخانه‌ای بصورت فاکتوریل ۳×۴×۲ شامل دو سطح باکتری (با و بدون مایه زنی باکتری)، چهار سطح کادمیم (۵، ۱۰، ۲۰، و ۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک)، و سه سطح تنش خشکی (بدون تنش، ۸۰، و ۶۵ درصد رطوبت ظرفیت مزرعه) و سه تکرار انجام شد. پس از برداشت ذرت، اثر مایه زنی باکتری بر شکل‌های شیمیایی کادمیم بررسی گردید. نتایج نشان داد که مایه‌زنی باکتری با تبدیل کادمیم به شکل‌های کم محلول تر و افزایش شکل تتمه سبب کاهش آلودگی محصول شد. بیشترین مقدار نسبی کادمیم مربوط به شکل کربناتی و سپس به ترتیب شکل‌های تتمه > متصل به اکسیدهای منگنز > متصل به اکسیدهای آهن بی شکل > آلی > تبادلی بود.

واژه های کلیدی: آلودگی کادمیم، فلزات سنگین، پالایش زیستی، عصاره گیری دنباله ای، *Micrococcus yunnanensis*

مقدمه
رفتار فلزات در خاک به شکل شیمیایی و گونه بندی آن‌ها بستگی دارد. تغییر در شکل شیمیایی ممکن است بر جذب گیاهی و کاهش یا افزایش سمیت فلز تأثیر بگذارد (خورانا و کانسال، ۲۰۱۴). شکل‌های مختلف عناصر سمی، رفته رفته در بین اجزاء گوناگون فاز جامد خاک توزیع می‌شود (اسپوزیتو و همکاران، ۱۹۸۲). فلزاتی که در شکل های محلول در آب و تبادلی وجود دارند، قابلیت دسترسی بیشتری نسبت به شکل‌های کم محلول تر دارند. فلزاتی که در شکل تتمه هستند، بصورت باندهای مستحکمی وجود دارند که در شرایط طبیعی آزاد نمی‌شوند و در نتیجه قابلیت دسترسی آن ها برای گیاه کمتر است (زیان، ۱۹۸۹). با توجه به آهکی بودن خاک های ایران انتظار میرود با ورود فلزات به خاک و با گذشت زمان، فلز از شکل‌های با حلالیت زیاد به شکل‌های با حلالیت کمتر تبدیل شود. تاکنون تحقیقات بسیاری در زمینه تعیین شکل‌های شیمیایی فلزات مختلف در خاک‌های ایران با استفاده از روش عصاره‌گیری دنباله‌ای صورت گرفته است (رجائی، ۱۳۸۵؛ قانع، ۱۳۸۲؛ دلیر و همکاران، ۲۰۱۳؛ صفاری و همکاران، ۲۰۰۹؛ و یثربی و همکاران، ۱۹۹۴). هدف از انجام این پژوهش بررسی تأثیر مایه‌زنی باکتری محرک رشد میکروکوکوس یونانیسیس و تنش خشکی بر شکل‌های شیمیایی مختلف کادمیم بود. تا آنجا که نگارندگان اطلاع دارند تاکنون درمورد اثر باکتری مورد مطالعه بر شکل‌های شیمیایی کادمیم تحقیق مشابهی صورت نگرفته است.

مواد و روش‌ها
در سال ۱۳۹۲ آزمایشی در گلخانه بخش علوم خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز و بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمار ها شامل دو سطح PGPR (با و بدون باکتری)، چهار سطح کادمیم (۵ (به عنوان سطح شاهد)، ۱۰، ۲۰، و ۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک)، و سه سطح تنش خشکی (بدون تنش، ۸۰، و ۶۵ درصد رطوبت ظرفیت مزرعه) بود. با توجه به آزمون خاک عناصر غذایی نیتروژن، فسفر، روی، آهن، مس، و منگنز به صورت محلول به خاک گلدان‌ها (۳ کیلوگرمی) افزوده شد. سپس تیمارهای کادمیم از منبع سولفات کادمیم به خاک اعمال شد. بذرهای ذرت (رقم HIDO) با ۲ میلی لیتر محیط کشت حاوی ۱×۱۰^{۸} CFU $mL^{-۱}$ باکتری میکروکوکوس یونانیسیس به ازای هر بذر مایه زنی و با خاک پوشانده شد. پس از دو هفته تعداد گیاهان را به سه عدد در هر گلدان تقلیل داده و تنش خشکی با وزن کردن گلدان‌ها و افزودن آب مقطر تا رسیدن به وزن از پیش تعیین شده اعمال شد. پس از گذشتن ۸ هفته گیاهان از طوقه جدا شدند و خاک هر گلدان جهت تعیین شکل‌های شیمیایی کادمیم به روش سینگ و همکاران (سینگ و همکاران، ۱۹۸۸) به آزمایشگاه منتقل شدند. میزان کادمیم استخراج شده در شکل‌های شیمیایی مختلف به‌وسیله دستگاه جذب اتمی (مدل Analytik Jena Nova AA۳۵۰) قرائت شد.

نتایج و بحث
اثر مایه زنی باکتری، سطوح کادمیم و رطوبت خاک بر شکل های شیمیایی مختلف کادمیم بصورت خلاصه در جدول ۱ آورده شده است. نتایج نشان داد که با افزایش سطوح کادمیم کاربردی، مقادیر شکل‌های شیمیایی مختلف کادمیم نیز در هر دو حالت مایه زنی شده و بدون مایه زنی باکتری افزایش یافت (جدول ۱).

جدول ۱ - اثر مایه زنی باکتری، سطوح کادمیم و رطوبت خاک بر شکل های شیمیایی مختلف کادمیم (mg.kg^{-1})

PGPR	سطوح کادمیم (mg.kg^{-1})				رطوبت خاک			میانگین اثر باکتری
	۵	۱۰	۲۰	۴۰	FC	۸/۰ FC	۶۵/۰ FC	
					تبادلی			
B.*	۱۶/۰ D	۲۰/۰ C	۲۶/۰ B	۴۳/۰ A	۲۵/۰ B	۲۹/۰ A	۲۶/۰ B	۲۷/۰ A
B۱	۰۷/۰ E	۰۹/۰ E	۱۸/۰ CD	۲۹/۰ B	۱۸/۰ C	۱۴/۰ D	۱۶/۰ CD	۱۶/۰ B
					کربناتی			
B.	۰۹/۲ E	۹۷/۳ D	۲۲/۹ C	۰/۲۵ A	۲/۱۰ A	۴/۱۰ A	۶۲/۹ B	۱/۱۰ A
B۱	۱۸/۲ E	۸۵/۳ D	۹۷/۸ C	۵/۲۱ B	۶۰/۸ C	۳۶/۹ B	۴۳/۹ B	۱۳/۹ B
					آلی			
B.	۳۰/۰ E	۸۸/۰ C	۰۲/۱ C	۴۴/۲ A	۴۷/۱ A	۰۵/۱ B	۹۵/۰ BC	۱۶/۱ A
B۱	۳۵/۰ DE	۵۳/۰ D	۰۷/۱ C	۹۱/۱ B	۸۵/۰ C	۱۲/۱ B	۹۴/۰ BC	۹۷/۰ B
					متصل به اکسید های منگنز			
B.	۶۵/۰ G	۰۹/۱ E	۲۲/۲ C	۷۶/۳ A	۹۵/۱ AB	۰۳/۲ A	۸۲/۱ B	۹۳/۱ A
B۱	۵۴/۰ G	۹۱/۰ F	۷۴/۱ D	۳۵/۳ B	۵۸/۱ C	۵۱/۱ C	۸۱/۱ B	۶۴/۱ B
					متصل به اکسید های آهن بی شکل			
B.	۹۹/۰ D	۴۰/۱ C	۲۹/۲ B	۷۵/۳ A	۲۱/۲ B	۲۰/۲ B	۹۳/۱ C	۱۱/۲ A
B۱	۱۵/۱ D	۳۴/۱ C	۳۵/۲ B	۷۱/۳ A	۹۷/۱ C	۰۵/۲ C	۳۹/۲ A	۱۴/۲ A
					تتمه			
B.	۳۲/۰ F	۸۹/۱ E	۴۱/۴ C	۰۶/۴ C	۱۲/۲ D	۲۰/۲ D	۶۹/۳ BC	۶۷/۲ B
B۱	۳۲/۰ F	۸۴/۲ D	۱۳/۵ B	۶۴/۸ A	۹۸/۴ A	۱۴/۴ B	۵۸/۳ C	۲۰/۴ A

تیمار مایه زنی شده با باکتری می باشد و Bنشان دهنده تیمار بدون مایه زنی باکتری محرک رشد گیاه و B۱ . *
.نشان دهنده رطوبت ظرفیت مزرعه است FC

داده های جدول ۱ نشان می‌دهد که با مایه‌زنی با باکتری شکل‌های تبادلی (۷/۴۰ درصد)، کربناتی (۶/۹ درصد)، آلی (۴/۱۶ درصد)، متصل به اکسیدهای منگنز (۱۵ درصد) کاهش اما شکل تتمه افزایش معناداری (۳/۵۷ درصد) یافت و کادمیم به شکل‌های کم محلول تر تبدیل شد که با نتایج مشاهده شده در جذب کادمیم توسط گیاه ذرت نیز تطابق دارد به این معنا که مایه‌زنی باکتری سبب کاهش کادمیم قابل استخراج با DTPA خاک پس از برداشت گیاه ذرت و کاهش جذب کل کادمیم به‌وسیله اندام هوایی ذرت شد (نتایج در اینجا گزارش داده نشده است). اعداد قرائت شده به‌وسیله دستگاه جذب اتمی در بخش متصل به اکسیدهای آهن بلورین هر دو تیمارهای مایه زنی شده و بدون مایه زنی باکتری کمتر از حد خطای دستگاه (۰۳/۰ میلی گرم در لیتر) بود که به نظر می‌رسد به این دلیل باشد که اکسیدهای آهن بلورین در خاک‌های مورد آزمایش و مناطق ما کم است. میزان کادمیم قابل دسترس به شدت تحت تاثیر پ-هاش خاک و به خصوص حضور عوامل کلات کننده می‌باشد. در خاک‌های آلوده به عناصر سمی، مقدار این عناصر به همراه کربنات‌ها و اکسی هیدروکسیدها و بخش تتمه با گذشت زمان افزایش می‌یابد در حالیکه مقدار این فلزات در بخش تبادلی و جذب شده به‌وسیله مواد آلی کاهش می‌یابد (مک گرث و سیگارا، ۱۹۹۲؛ مک لارن و ریتچی، ۱۹۹۳؛ سوون، ۱۹۹۴).
با کاهش رطوبت خاک، در شرایط بدون مایه‌زنی شکل‌های آلی و متصل به اکسیدهای آهن بی‌شکل کاهش و در شرایط مایه‌زنی شده شکل‌های متصل به اکسیدهای آهن بی‌شکل و منگنز افزایش یافت. بیشترین مقدار نسبی کادمیم مربوط به شکل کربناتی و

سپس به ترتیب شکل‌های تتمه > متصل به اکسیدهای منگنز > متصل به اکسیدهای آهن بی شکل > آلی > تبادلی بود (جدول ۱). رجائی (۱۳۸۵) گزارش کرد که در مناطق خشک که پ-هاش بالا دارند، به دلیل جذب سطحی و ظرفیت بافری بالا، تحرک فلزات کمتر شده و رسوب اتفاق می افتد. به نظر می رسد کربناتها در رفتار شیمیایی عناصر سنگین در خاک های نواحی خشک نقش مهمی دارند (کوچی و همکاران، ۱۳۸۵).

همبستگی بالایی بین شکل‌های مختلف کادمیم به استثنای کادمیم متصل به اکسیدهای آهن بلورین وجود داشت که بطور خلاصه در جدول ۲ آورده شده است.

جدول ۲- همبستگی بین شکل‌های مختلف کادمیم

Res	AFe-ox	Mn-ox	Om	Car	
بدون مایه زنی باکتری					
۲۷۳/۰ ns	۸۴۸/۰**	۸۷۹/۰**	۷۳۳/۰**	۸۴۱/۰**	Ex
۴۹۶/۰**	۹۶۷/۰**	۹۶۱/۰**	۹۰۳/۰**		Car
۳۸۴/۰*	۸۹۵/۰**	۸۶۴/۰**			Om
۵۳۲/۰**	۹۸۵/۰**				Mn-ox
۵۱۸/۰**					AFe-ox
مایه زنی شده با باکتری					
۸۲۴/۰**	۸۹۱/۰**	۹۲۰/۰**	۷۷۷/۰**	۸۹۸/۰**	Ex
۷۴۸/۰**	۹۶۶/۰**	۹۸۳/۰**	۹۰۳/۰**		Car
۶۳۵/۰**	۸۶۷/۰**	۸۹۴/۰**			Om
۷۶۹/۰**	۹۷۷/۰**				Mn-ox
۷۰۷/۰**					AFe-ox

* و ** به ترتیب در سطح ۵ و ۱ درصد معنی دار است و ns به لحاظ آماری معنی دار نمی باشد.

به ترتیب بیانگر شکل های تبادلی، کربناتی، Res و AFe-ox، Mn-ox، Om، Car، Ex علائم اختصاری .آلی، متصل به اکسید های منگنز، متصل به اکسید های آهن بی شکل و تتمه می‌باشند

نتایج تجزیه واریانس نیز در جدول ۳ خلاصه شده است. تمامی اثرات سه تایی باکتری، تنش خشکی و کادمیم بر شکل‌های مختلف کادمیم در سطح ۱ درصد آزمون دانکن معنی دار بود.

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر باکتری، تنش خشکی و کادمیم بر شکل های مختلف کادمیم استخراج شده

		میانگین مربعات					
منابع تغییرات	درجه آزادی	تبادلی	کربناتی	آلی	متصل به اکسیدهای منگنز	متصل به اکسیدهای آهن بی شکل	تتمه
باکتری	۱	۲۰۹/۰**	۸۸۹/۱۵**	۶۷۴/۰**	۵۸۱/۱**	۰۱۳۳/۰ ns	۹۷۶/۴۳**
کادمیم	۳	۲۰۸/۰**	۱۶/۱۶۴۹**	۴۳۷/۱۱**	۲۰۶/۳۱**	۷۴۱/۲۵**	۷۳۷/۱۲۶**
تنش خشکی	۲	۰۰۰۴/۰ ns	۷۳۸/۱**	۲۷۵/۰**	۰۱۹/۰ ns	۰۲۸/۰ ns	۴۵۳/۱*
باکتری × کادمیم	۳	۰۰۳۸/۰**	۰۱۳/۱۳**	۳۷۸/۰**	۱۴۱/۰*	۰۴۳/۰ ns	۰۵۳/۱۹**
باکتری × تنش خشکی	۲	۰۱۰/۰**	۸۴۵/۲**	۸۴۱/۰**	۴۰۸/۰**	۸۶۶/۰**	۸۲۶/۱۳**
کادمیم × تنش خشکی	۶	۰۱۱۶/۰**	۰۸۸/۳**	۲۳۸/۰**	۰۶۰/۰ ns	۰۳۲/۰ ns	۱۷۶/۵**
باکتری × کادمیم × تنش خشکی	۶	۰۱۵۱/۰**	۳۴۷/۶**	۳۲۸/۰**	۲۴۵/۰**	۳۳۱/۰**	۰۱۵/۱۶**
خطا	۴۸	۰۰۰۷/۰	۳۲۲۰/۰	۰۴۴۰/۰	۰۳۳۷/۰	۰۲۹/۰	۳۶۲/۰
کل	۷۱	...	...	...	...	...	...

نتایج به دست امده از این پژوهش حاکی از این است که باکتری سبب کاهش شکل‌های شیمیایی محلول تر و افزایش شکل‌های با قابلیت استفاده کمتر شده است و بدین ترتیب باکتری مورد نظر توانسته مقدار تجمع کادمیم در محصول را کاهش دهد که این نتایج با نتایج حاصل آمده از تجزیه خاک و اندام هوایی گیاه مورد مطالعه (نتایج در این مقاله ذکر نشده) همخوانی دارد.

منابع

رجائی، م. ۱۳۸۵. تأثیر زمان، سطوح و منابع کادمیم و نیکل بر شکل های شیمیایی، رشد و جذب این دو عنصر توسط اسفناج. پایان نامه دکتری تخصصی، بخش علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز.

قانع، ه. ۱۳۸۲. ارزیابی دو روش بررسی توزیع شکل های شیمیایی روی در خاک های آهکی استان فارس و تعیین رابطه این شکل ها با رشد و ترکیب شیمیایی ذرت. پایان نامه کارشناسی ارشد بخش علوم خاک، دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز.

کوچی، م. فتوت، الف. حق نیا، غ. و لکزیان، الف. ۱۳۸۵. بررسی شکل های شیمیایی عناصر سنگین سرب، کبالت، کادمیم، نیکل، روی و مس در خاک های آبیاری شده با فاضلاب. مجله علوم و صنایع کشاورزی، جلد بیستم، شماره ۲، صفحه های ۴۵ تا ۵۴.

Dalir N., Karimian N., Yasrebi J. and Ronaghi A. ۲۰۱۳. Chemical forms of cadmium in a calcareous soil treated with different levels of phosphorus and cadmium and planted to spinach. Archives of Agronomy and Soil Science. ۵۹(۴): ۵۵۹-۵۷۱.

Khurana M.P.S. and Kansal B.D. ۲۰۱۴. Effect of farm yard manure on chemical fractionation of cadmium and its bio-availability to maize crop grown on sewage irrigated coarse textured soil. Journal of Environmental Biology. ۳۵: ۴۳۱-۳۷.

Mc Grath S.P. and Cegarra J. ۱۹۹۲. Chemical extractability of heavy metals during and after long-term applications of sewage sludge to soil. Journal of Soil Science. ۴۳: ۳۱۳-۳۲۱.

Mc Laren R.G. and Ritchie G.S.P. ۱۹۹۳. The long term fate of copper fertilizer applied to a lateristic sandy soil in Western Australia. Australian Journal of Soil Research. ۹۳: ۳۹-۵۰.

Saffari M., Yasrebi J., Karimian N. and Shan X.Q. ۲۰۰۹. Evaluation of three sequential extraction methods for fractionation of zinc in calcareous and acidic soils. Biological Sciences. ۴(۷): ۸۴۸-۸۵۷.

Sing J.P., Karwasra P.S. and Sing M. ۱۹۸۸. Distribution and forms of copper, iron, manganese and zinc in calcareous soils of India. Soil Science. ۱۴۶:۳۵۹-۳۶۶.

Soon Y.K. ۱۹۹۴. Changes in forms of soil zinc after ۲۳ years of cropping following clearing of a boreal forest. Canadian Journal of Soil Science. ۷۴: ۱۷۹-۱۸۳.

Sposito G., LeVesque C.S., LeClaire J.P. and Chang A.C. ۱۹۸۲. Trace elements chemistry in arid-zone field soils amended with sewage sludge: III. Effect of the time on the extraction of trace metals. Soil Science Society of America Journal. ۴۷: ۸۹۸-۹۰۲.

Xian X. ۱۹۸۹. Effect of chemical forms of cadmium, zinc, and lead in polluted soils on their uptake by cabbage plants. Plant and Soil. ۱۱۳: ۲۵۷-۲۶۴.

Yasrebi J., Karimian N., Maftoon M., Abtahi A. and Sameni A.M. ۱۹۹۴. Distribution of zinc forms in highly calcareous soils as influenced by soil physical and chemical properties and application of zinc sulfate. Commun. Soil Science and Plant Analysis. ۲۵: ۲۱۳۳-۲۱۴۵.

Abstract

Farms significantly show an increase in the amount of heavy metals such as cadmium. Application of plant growth promoting rhizobacteria can modify chemical forms of Cd and affect its uptake and increase or decrease the toxicity of metal. A greenhouse experiment was conducted with a ۲×۴×۳ factorial arranged design with three replications. Treatments consisted of two levels of bacteria (with and without inoculation), four levels of Cd (۵, ۱۰, ۲۰, and ۴۰ mg kg^{-1}), and three levels of drought stress (without stress, ۸۰, and ۶۵% of field capacity). After corn harvesting, amount of chemical forms of Cd were evaluated inorder to determine the effect of inoculation of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on chemical forms of Cd in the soil. Results indicate that inoculation of bacteria increased residual (Res) fraction and converted soluble forms of Cd to less soluble chemical forms and consequently decreased Cd accumulation in corn. Highest contents of Cd were associated with Car-bound fraction, with the order being: Res > Mn ox-bound > AFe-ox- bound > Om -bound > Ex fractions.