مجله پژوهش‌های به زراعی
جلد ۱۴، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۱

مجله پژوهش‌های به زراعی

بررسی اثر سرب، آزوسپریلیوم و هیومیک اسید بر محتوی کلروفیل ، وزن ریشه و اندام هوایی گیاه کلزا

علیرضا پازکی*

دانشیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرری، گروه زراعت و اصلاح نباتات، تهران، ایران

دریافت: ۸۹/۱۰/۱۸ پذیرش: ۹۰/۱/۲۵

چکیده:

به منظور بررسی اثر کاربرد آزوسپریلیوم و هیومیک اسید بر محتوی کلروفیل ، وزن ریشه و اندام هوایی گیاه کلزا (*Brassica napus* L.) رقم Okapi آزمایشی در سال ۱۳۹۰ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرری به صورت فاکتوریل در قالب طرح آزمایشی کاملا تصادفی در ۴ تکرار انجام پذیرفت. عوامل آزمایشی شامل مصرف فلز سنگین سرب در ۴ سطح (۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی گرم سرب در کیلوگرم خاک)، عامل تلقیح باکتریایی آزوسپریلیوم در دو سطح (عدم کاربرد و کاربرد) و هومیک اسید در ۲ سطح (عدم کاربرد و کاربرد ۸ گرم در هکتار) در نظر گرفته شد. نتایج آزمایش نشان داد که اثر ساده سرب، باکتری های محرک رشد و هیومیک اسید بر تمامی صفات مورد آزمون معنی دار و اثرات متقابل غیر معنی دار بود. مقایسه میانگین اثرات ساده نشان داد، کاربرد ۷۵۰ کیلوگرم در هکتار سرب به ترتیب با ۰/۹۴ mg/L، ۳/۶۸ g و ۱۳/۱۲g کمترین میزان کلروفیل کل و میانگین وزن خشک ریشه و اندام هوایی هر گیاه خردل را از خود نشان داد. در این شرایط به دنبال مصرف باکتری آزوسپریلیوم وزن خشک ریشه و اندام هوایی به ترتیب ۱۰ و ۶/۵ درصد افزایش یافت. مصرف هیومیک اسید نیز موجب بهبود قابل توجه محتوی کلروفیل a (۰/۷۵ mg/L)، کلروفیل b (۰/۳۹ mg/L) و کلروفیل کل (۱/۱۲ mg/L) گردید.

واژه های کلیدی: سرب، آزوسپریلیوم، هیومیک اسید، کلزا

* نگارنده مسئول (pazoki@iausr.com)

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

فلز سنگین، عنوانی است که به گروهی از عناصر اطلاق می گردد که حجم واقعی آنها بیش از ۶ گرم بر سانتی متر مکعب می باشند. اگر چه این عناصر در تمام قمست های پوسته زمین یافت می شوند اما غلظت و قابلیت دسترسی به آنها در آب و خاک از کمتر از ppm ۱۰۰۰ تا چند ppm می باشد. تنها استثنا در این مورد منگنز است که غلظت آن در خاک از ۲۰ تا ppm ۱۰۰۰۰ می باشد.

البته خاک های فلزی می توانند حاوی مقادیر بسیار زیادی از عناصر معینی باشند (Gardea Torresdey *et al.*, 2005).

به لحاظ فیزیکی، سرب مانع از دسترسی ریشه به بیشتر یون های موجود می شود. اگرچه ممکن است سطوح سرب در قسمت انتهایی و پایه ریشه یکسان باشند. به طوری که پس از آلوده شدن گیاه به سرب، سطوح Ca، Fe و Zn در انتهای ریشه کاهش پیدا می کند. ۴۰٪ از کلسیم جذب شده در انتهای ریشه صنوبر نروژی صرف رشد این قسمت ها می شود. بازدارندگی از رشد ریشه پس از آلودگی به سرب، به دلیل کاهش Ca در قسمت های انتهایی ریشه می باشد که منجر به کاهش تقسیم سلولی یا طویل شدن سلول می گردد (Sharma & Dubey, 2005).

صلحی و همکاران (۱۳۸۴) میزان سمی سرب در خاک ها را ۱۰۰ تا ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم می دانند، مقدار سرب در گیاهان به میزان ۳۰ میلی گرم در لیتر در محلول غذایی برای گیاهان سمی است به طوری که میزان ۱۰ میلی گرم در لیتر موجب مرگ گیاه می گردد. مقدار سرب در خاک های طبیعی ۱۰ تا ۷۶ میلی گرم بر کیلوگرم (میانگین ۳۲ میلی گرم بر کیلوگرم) است که مقدار سرب قابل استفاده در خاک در عصاره اشباع برابر ۵ میکروگرم در لیتر می باشد.

ریشه ها از توانایی جذب مقادیر زیادی از سرب برخوردارند و در عین حال قادرند که این مقادیر را در اندام های هوایی متمرکز نمایند. گیاهان گونه *Zea mays* می توانند مقادیر قابل توجهی از سرب را در برگ های خود انباشته نمایند. مقدار ورود سرب از طریق برگ به گیاه به توانایی برگ ها در جذب Pb از هوا بستگی دارد که این خود به مرفولوژی ویژه برگ وابسته می باشد. برگ هایی که در قسمت های بالاتر گیاه قرار دارند، فلزات سنگین را از اتمسفر جذب می کنند. البته گفته می شود قسمت عمده سربی که توسط گیاهان جذب می شود، در ریشه ها باقی می ماند (Sharma & Dubey, 2005).

استفاده از گیاهان و یا میکروارگانیسم ها (باکتریها و قارچ ها) به منظور پالایش محیط زیست از آلودگی هایی نظیر فلزات سنگین، آفت کش ها، کودها، مواد منفجره و مواد نفتی فناوری جدیدی است که به آن " گیاه پالایی " یا " زیست پالایی[1]" اطلاق می شود. تاریخچه استفاده از این تکنیک قدمت چندانی ندارد. در این روش امکان رفع آلودگی از آب و خاک فراهم شده است. البته همه گیاهان توانایی رفع آلودگی از محیط را ندارند. بلکه گیاهانی با توانایی جذب و تحمل غلظت بالای عناصر سنگین به عنوان گیاهان فرا انباشت برای این منظور استفاده می شوند. این گیاهان۱۰ تا۵۰۰ برابر بیشتر از گیاهان دیگر فلزات را جذب می کنند. در این میان تحقیقات قبلی مؤید آنست که برخی از گونه‌های زراعی اصلاح کننده خاک های آلوده می‌باشند، بطوری که که این گیاهان در برابر فلزات سنگین از تحمل بالایی برخوردار می‌باشند و تحت شرایط تنش‌های غیر زنده فلزات سنگین می‌توانند، بیوماس مناسبی تولید کنند و همچنین توانایی بالایی برای جذب فلزات سنگین از خاک را دارا می‌باشند.

1 - Bio-remediation

Archive of SID

www.SID.ir

پاکسازی گیاهی در مقایسه با سایر روش های اصلاح خاک از هزینه بسیار پایین‌تری برخوردار می‌باشد و خطرات آلوده شدن آب های زیرزمینی برای این روش مطرح نمی‌باشد، همچنین روشی پایدار و منطبق با محیط زیست که با اصول کشاورزی پایدار مطابقت دارد، می‌باشد. لذا شناخت و گزینش گونه‌های گیاهی و از جمله گونه های زراعی با توانایی پاکسازی مستلزم بررسی پاسخ‌های این گیاهان در برابر تنش غیر زنده فلزات سنگین می‌باشد و مطالعه ترکیبی از صفات کل گیاهی و سلولی تحت این شرایط می‌تواند ما را در دستیابی به این مهم یاری نماید و زمینه را برای تحقیقات بعدی مهندسی ژنتیک به منظور اصلاح گیاهان متحمل در برابر فلزات سنگین مساعد نماید.

تفاوت زیاد بین غلظت سرب در ریشه و برگ را بیانگر محدودیت در انتقال داخلی فلزات از ریشه به سمت برگ های سبز می دانند (Kadukova & Kalogerakis, 2007).

یکی از دلایل وقوع طبیعی ریشه پالایی این است که فلاونوئیدها و سایر ترکیباتی که از ریشه آزاد می شوند، می توانند رشد و فعالیت باکتری های تجزیه کننده PCB و PAH را تحریک نمایند. بعلاوه، رشد و مرگ ریشه، تهویه خاک را افزایش می دهد که این می تواند تجزیه اکسیدی ترکیبات آلی را افزایش دهد. ریشه پالایی به عنوان یکی از موثرترین روش ها در نظر گرفته می شود که گیاهان با استفاده از آن می توانند برای احیاء ترکیبات آلی به ویژه ترکیبات کلسیتی بزرگ مؤثر باشند. در این مورد، بر همکنش های پیچیده بین ریشه ها، ترشحات ریشه، خاک ریزوسفرو میکروب ها منجر به تجزیه مواد آلی و تبدیل آنها به ترکیبات غیرسمی یا ترکیباتی که سمیت آنها کم است، می شود. این حجم از میکروب ها مزایایی را برای گیاه دارد از آن جمله می توان به سنتز ترکیباتی اشاره کرد که با کاهش سطح هورمون های تنش زای گیاهی از گیاهان محافظت به عمل می آورند (Gerhardt *et al.*, 2009).

باکتری آزوسپیریلوم به صورت میله ای شکل، کمی خمیده و اغلب با انتهای نقطه ای شکل، به ابعاد ۱/۰ میکرومتر قطر و ۳/۸-۲/۱ میکرومتر طول دیده می شود. همچنین آزوسپیریلوم باکتری گرم منفی است که قادر به تولید اسپور داخلی نیست (بهزاد،۱۳۸۷). باکتری های جنس آزوسپیریلوم از تثبیت کننده های همیار نیتروژن بویژه در گیاهانی مانند غلات می باشند که به صورت همیاری با ریشه، تثبیت زیستی نیتروژن را انجام می دهد (Swedrznka and Sawicka, 2000 ; مستأجران و همکاران، ۱۳۸۴).

رخزادی و همکاران (۱۳۸۷) تحقیقی را به منظور بررسی اثر باکتری های آزوسپیریلوم، ازوتوباکتر، سودوموناس و مزوریزوبیوم به صورت تلقیح انفرادی، دوتایی، سه تایی و چهارتایی بر عملکرد نخود انجام دادند و بیان کردند که کاربرد این باکتری ها موجب افزایش عملکرد دانه و بیوماس بوته نخود می شود. بیشترین و کمترین عملکرد دانه و بیوماس بوته به ترتیب از تیمار تلقیح حاوی چهار باکتری و تیمار شاهد به دست آمد. این نتیجه نشان می دهد، بین این باکتری ها اثرات سینرژیستی وجود دارد.

Khan & Zaiad (2007) طی آزمایشات مزرعه ای خود تأثیر سینرژیستی رایزوباکتری های محرک رشد گیاه و یک قارچ مایکورایزا (AM) بنام *Glomus fasciculatum* را در رشد و عملکرد و جذب عناصر غذایی گندم بررسی کردند. نتایج حاصل نشان داد که تلقیح سه تایی *Azotobacter chroococcum* همراه با *Bacillus* sp و *G. fasciculatum* به طور معنی داری ماده خشک گیاه و عملکرد دانه را نسبت به تیمار شاهد افزایش داد.

Archive of SID

www.SID.ir

مواد و روش ها

به منظور به منظور بررسی اثر کاربرد آزوسپریلیوم و هیومیک اسید بر محتوی کلروفیل، وزن ریشه و اندام هوایی گیاه کلزا (*Brassica napus* L.) آزمایشی در سال ۱۳۹۰ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج و آزمایشگاه های دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر ری به صورت کشت گلدانی با استفاده از گلدان های پلاستیکی با ارتفاع ۳۰ و قطر ۳۰ سانتی متر (به وزن ۷ کیلوگرم) و به صورت فاکتوریل در قالب کاملا تصادفی در ۴ تکرار انجام پذیرفت. عوامل آزمایشی شامل مصرف فلز سنگین سرب در ۴ سطح (بدون کاربرد و ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی گرم استات سرب در کیلوگرم خاک) و عامل تلقیح باکتریایی در دو سطح (عدم کاربرد آزوسپریلیوم و کاربرد آزوسپریلیوم) و اسید هومیک در دو سطح (عدم کاربرد و کاربرد ۸ لیتر در هکتار) در نظر گرفته شد. رقم کلزای مورد آزمایش Okapi بود.

خاک مورد آزمایش از الک ۲ میلی متر عبور داده شده و کلیه خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک و غلظت عنصر سرب قبل از شروع آزمایش تعیین گردید. استات سرب مورد استفاده از نوع دی استات سرب[1] آنهیدراته بوده که فرمول شیمیایی آن به صورت $Pb(C_2H_3O_2)_2$، جرم مولکولی آن ۳۲۵/۲۹ گرم و حلالیت آن در دمای ۲۰ درجه در آب به میزان ۴۴/۳۹ g/100 mL بود. برای تیمارهای بدون کاربرد فلز سنگین اسپری تنها با آب معمولی انجام پذیرفت. پس از تهیه باکتری آزوسپیریلوم از مؤسسه تحقیقات خاک و آب به میزان توصیه شده با بذور تلقیح گردید و قبل از خشک شدن آنها کاشت در عمق ۲ سانتی متری گلدان ها انجام شد به صورتی که در هر گلدان۲۰-۱۵ عدد بذر کلزا کاشته شد.

مصرف هیومیک اسید در سه مرحله ۲ ، ۴ و ۶ برگی با حجم یکسان و محاسبه شده در گلدان ها انجام پذیرفت. در زمان برداشت ریشه و قسمت هوایی از هم جدا شده و در ابتدا وزن تازه و خشک اندام های هوایی و سپس به دنبال مرحله اول و مرحله دوم ریشه شویی با استفاده از الک وزن تازه ریشه محاسبه گردید و پس از قرار دادن در آون ۷۵ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت، وزن خشک آن محاسبه شد.

محتوای کلروفیل a، b و a+b

به این متظور از روش آرنون (۱۹۷۹) و دستگاه اسپکتروفتومتر ماورای بنفش استفاده گردید به این ترتیب که ابتدا ۰/۵ گرم برگ از هر گلدان انتخاب و درون یک بوته چینی ریخته و به آن یک گرم سولفات منیزیم و ۱۰ میلی لیتر استون ۱۰۰٪ اضافه گردید و آنقدر در هاون ساییده شد تا خمیری شل حاصل گردید. خمیر شل حاصله را برداشته و به مدت ۵ دقیقه در داخل سانتریفوژ ۲۵۰۰ دور در دقیقه قرار گرفت، سپس مقدار ۱ میلی لیتر از این عصاره هموژن (سوپرنانت) را با ۹ میلی لیتر استن داخل سل‌های دستگاه اسپکتروفتومتر ریخته و در طول موج های ۶۴۷ و ۶۶۳ نانومتر میزان جذب نور قرائت شده و از روابط زیر میزان کلروفیل a, b تعیین گردید.

$$Chl.a(mgl^{-1}) = (12.25 \times A663 - 2.79 \times A647) \times D$$

$$Chl.b(mgl^{-1}) = (21.5 \times A647 - 5.1 \times A663) \times D$$

D = ضخامت سل های دستگاه اسپکتروفوتومتر

در پایان آزمایش با استفاده از نرم افزارSAS تجزیه واریانس و مقایسه میانگین ها در سطح احتمال ۵ درصد انجام و نمودارها بوسیله نرم افزار EXCEL ترسیم گردید.

1 -Lead(II) acetate (anhydrous)

Archive of SID

www.SID.ir

نتایج و بحث

کلروفیلa

نتایج تحقیق نشان داد که از نظر میزان کلروفیل a بین سطوح مصرف سرب تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد مشاهده گردید (جدول-۱). در این‌شرایط بیشترین میزان کلروفیل a با ۰/۸۴ mg/L در شرایط عدم مصرف سرب و کمترین میزان آن با mg/L ۰/۶۱ در وضعیت مصرف ۷۵۰ میلی گرم بر گرم سرب حاصل گردید (جدول-۲). اثرات مخرب سرب بر سنتز کلروفیل به دلیل جلوگیری از جذب عناصر ضروری مثل Mg و Fe است. دستگاه فتوسنتز نیز به دلیل محدودیت لیگاندهای پروتئینی S و N تخریب می شود. افزایش فعالیت کلروفیلاز نیز سبب توسعه تخریب کلروفیل در شرایط فراوانی سرب می گردد (Sharma & Dubey, 2005)، بدین ترتیب که کلروفیلاز با جدا کردن فیتول از کلروفیل و جدا کردن منیزیوم از کلروفیلید و تشکیل فائو فوربیز ها[1] و بالاخره متلاشی شدن حلقه چهار پیرولی موجب تجزیه کلروفیل می شود (Boyer *et al.*, 1987).

اثر سطوح باکتری محرک رشد آزوسپریلیوم بر میزان کلروفیل a درسطح پنج درصد معنی‌دار گردید (جدول- ۱). به‌صورتی که کاربرد باکتری با mg/L ۰/۷۴ بیشترین و عدم کاربرد آن با mg/L ۰/۶۷ کمترین میزان کلروفیلa را نشان داد (جدول ۲). اثر مصرف هیومیک اسید بر میزان کلروفیل a در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۱). به صورتی که کاربرد هیومیک اسید با mg/L ۰/۷۵ بیشترین و عدم کاربرد آن با mg/L ۰/۶۵ کمترین میزان کلروفیل a را نشان داد (جدول ۲). نتایج این تحقیق بیانگر ارتباط میان پراکسیداسیون لیپید بر ظرفیت کلروفیل در این گیاهان بود، به طوری که نتایج این مشاهده با تحقیق Ali *et al* (2003) مطابقت دارد. در شرایط تنش فلزات سنگین، اثرات سمی پراکسیداسیون لیپید بر ظرفیت کلروفیل و کاهش سنتز کلروفیل در گونه های مختلف گیاهی به دلیل برهمکنش فلزات سمی با گروه SH- آنزیم های ضروری مشاهده شده است، چنین استنباط می شود که کاهش ظرفیت کلروفیل کل احتمالا به دلیل برهمکنش این فلزات با گروه SH- آنزیم های ساخت کلروفیل و همچنین تخریب در نتیجه پراکسیداسیون لیپید بوده است (Ali *et al.*, 2003). بر اساس مشاهدات باکتری های محرک رشد با ایجاد شرایط مطلوب تر برای رشد و نمو و افزایش تولیدات سبزینه ای و نیز افزایش جذب آب و مواد غذایی و نیز توانایی در تجزیه ترکیبات سمی می توانند، ضمن رشد مطلوب تر گیاه بر محتوای کلروفیل نیز اثر مثبت داشته و تا حدودی از تخریب آن جلوگیری نمایند (Bashan & Holguin,1997).

کلروفیلb

نتایج تحقیق نشان داد که از نظر میزان کلروفیلb بین سطوح مصرف سرب تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد مشاهده گردید (جدول-۱). در این‌شرایط بیشترین میزان کلروفیلb با mg/L ۰/۴۱ در شرایط عدم مصرف سرب و کمترین میزان آن با mg/L ۰/۳۲ در شرایط مصرف ۷۵۰ میلی گرم بر گرم سرب حاصل گردید (جدول-۲). سرب علاوه بر کاهش بیوماس، باعث کاهش ساخت کلروفیل b، جلوگیری از فتوسنتز، تخریب سلول و آسیب به کروموزوم می شود (Sharma & Dubey 2005, Garnczarska & Ratajczak 2000, Estrella-Gomez *et al.*, 2009). اثر سطوح باکتری محرک رشد بر میزان کلروفیلb درسطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۱)، به صورتی که کاربرد باکتری با mg/L ۰/۳۸ بیشترین و عدم کاربرد باکتری با mg/L ۰/۳۵ کمترین میزان کلروفیل b را نشان داد (جدول ۲). اثر مصرف

1 - Phaophorbids

Archive of SID

www.SID.ir

هیومیک اسید بر میزان کلروفیلb درسطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۱)، به صورتی که کاربرد هیومیک اسید با ۰/۳۹ mg/L بیشترین و عدم کاربرد باکتری با ۰/۳۴ mg/g کمترین میزان کلروفیل b را نشان داد (جدول ۲).

اثر متقابل سرب و هیومیک اسید بر میزان کلروفیل b در سطح یک درصد معنی دار گردید (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین ها نشان داد، عدم مصرف سرب و کاربرد هیومیک اسید با ۰/۴۴ mg/L بیشترین میزان کلروفیل b را تولید نمود (شکل ۱). سرب علاوه بر کاهش بیوماس، باعث کاهش سنتز کلروفیل، جلوگیری از فتوسنتز، جلوگیری از بیوسنتز کلروفیل و نیز تخریب سلول و آسیب به کروموزوم می شود (Sharma & Dubey 2005, Garnczarska & Ratajczak 2000, Estrella-Gomez *et al.*, 2009). استفاده از پساب های صنعتی که دارای فلزات سنگین (آهن، کبالت، نیکل و کادمیوم) با درصدهای ترکیبی ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد آب آبیاری در طی دوره‌های ۱۰ تا ۳۰ روزگی گیاهچه‌های بادام زمینی نشان داد که در غلظت ۱۰۰درصد آبیاری با پساب، صفات مرتبط با رشد شدیداً کاهش یافتند ولی در غلظت ۲۵ درصد، طول ریشه، ساقه و همچنین درصد جوانه زنی و محتوای کلروفیل نیز تا روز بیستم بصورت قابل توجهی افزایش نشان داد ولی بعد از آن کاهش یافت (Nagaiyoti, 2008).

کلروفیلa+b

نتایج تحقیق نشان داد که از نظر میزان کلروفیل a+b بین سطوح مخلف مصرف سرب تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد مشاهده گردید (جدول۱)، در این شرایط بیشترین میزان کلروفیل a+b در شرایط عدم مصرف سرب mg/L ۱/۲۵ و کمترین مقدار آن با mg/L ۰/۹۴ در شرایط مصرف ۷۵۰ میلی گرم بر گرم سرب حاصل گردید (جدول۲).

اثر سطوح باکتری محرک رشد بر میزان کلروفیل a+b درسطح پنج درصد معنی‌دار گردید (جدول ۱)، به‌صورتی که کاربرد باکتری با mg/L ۱/۱۰ بیشترین و عدم کاربرد آن با mg/L ۱/۰۳ کمترین میزان کلروفیلa+b را نشان داد (جدول ۲). اثر مصرف هیومیک اسید بر میزان کلروفیل a+b درسطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۱). در این شرایط کاربرد هیومیک اسید با mg/L ۱/۱۲ بیشترین و عدم کاربرد آن با mg/L ۱/۰۱ کمترین میزان کلروفیلa+b را نشان داد (جدول ۲). بررسی اثر غلظت های ۰/۲۵ و ۱ میلی مولاری از فلز سنگین بر روی تربچه (*Raphanus Sativus*) حاکی از افت میزان فتوسنتز به دلیل صدمه دیدن و تغییر شکل کلروپلاست، کلروفیل ها، میتوکندری و هسته بود که خود احتمالاً ناشی از اثرات هیدروژن پراکساید (H_2O_2) بر روی غشاء ها می باشد (Vitoria *et al.*, 2006). Rai *et al* (2005) در تحقیقات خود دریافتند که بکارگیری فلز سنگین در آزمایش گلدانی بر روی گیاه *Phyllanthus amarus* موجب کاهش معنی دار محتوای پروتئین، کاروتنوئید و کلروفیل ها گردید. بررسی اثر ترکیبات سنگین کلریدنیکل و سولفات کادمیوم بر وضعیت کلروفیل های گیاهان آبزی گونه هایی نظیر *Ceratophyllum demersum, Lemna trisculcal, Myrophyllum spicatum* حاکی از آن بود که به دلیل جایگزینی این عناصر سنگین با منیزیم موجود در مرکز حلقه پورفیرینی، مقدار آن کاهش می یابد (Kupper *et al.*, 1996).

وزن خشک اندام هوایی

نتایج تحقیق نشان داد که از نظر وزن خشک اندام هوایی بین سطوح مصرف سرب تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد مشاهده گردید (جدول ۱). در این شرایط متوسط وزن خشک اندام هوایی هر گیاه در شرایط عدم مصرف سرب ۱۸/۰۷ گرم و کمترین میزان آن با ۱۳/۱۲ گرم در شرایط مصرف ۷۵۰

Archive of SID

www.SID.ir

میلی گرم بر گرم سرب حاصل گردید (جدول۲). در آزمایش گلدانی بر روی گیاه *Phyllanthus amarus* ، مصرف فلزات سنگین موجب کاهش معنی دار وزن تر و خشک گیاه، طول ساقه و ریشه گردید و همچنین باعث افزایش شکاف روزنه ای و واکسی شدن هر دوسطح برگ شد (Rai *et al.*, 2005). اثر سطوح باکتری محرک رشد بر وزن خشک اندام هوایی درسطح پنج درصد معنی‌دار گردید (جدول ۱)، به صورتی که کاربرد باکتری با ۱۶/۱۴ گرم بیشترین و عدم کاربرد آن با ۱۵/۰۹ گرم کمترین میزان متوسط وزن خشک اندام هوایی را برای هر گیاه نشان داد (جدول ۲). بر اساس تحقیقات بهزاد (۱۳۸۷)، تلقیح بذر ذرت با باکتری های محرک رشد گیاه (آزوسپیریلوم لیپوفروم به علاوه سودوموناس پوتیدا) موجب افزایش عملکرد دانه، عملکرد بیولوژیک، تعداد ردیف در بلال و تعداد دانه در بلال می شود. درحالیکه تأثیر معنی داری بر قطر بلال، طول بلال، وزن هزار دانه، شاخص برداشت و ارتفاع بوته مشاهده نشد.

اثر مصرف هیومیک اسید بر وزن خشک اندام هوایی در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۱). به صورتی که کاربرد هیومیک اسید با ۱۶/۵۹ گرم بیشترین و عدم کاربرد باکتری با ۱۴/۶۳ گرم کمترین میزان متوسط وزن خشک اندام هوایی هر گیاه را نشان داد (جدول ۲). تلقیح با آزوسپیریلوم پارامترهای رشدی مختلف از جمله افزایش بیوماس، جذب مواد غذایی، N بافت، ارتفاع گیاه، اندازه برگ و طول ریشه را به طور قابل توجهی افزایش می دهد (Nezarat & Golami, 2009).

Swesrzynska & Sawicka (2000) تثبیت N_2 را توسط باکتری آزوسپیریلوم در ذرت گزارش نمودند، این باکتری باعث افزایش رشد و تکامل بهتر گیاه ذرت شده است. تأثیرات مثبت آزوسپیریلوم بر رشد ذرت عمدتاً از تغییرات فیزیولوژیکی ریشه گیاه تلقیح شده نشأت می گیرد که جذب آب و مواد غذایی را افزایش می دهد، این تغییرات مستقیماً به تراکم جمعیت مایه تلقیح بستگی دارند. آزوسپیریلوم می تواند ریشه ها را از خارج و از داخل آلوده نماید، در تلقیح خارجی باکتری عمدتاً به شکل توده های کوچک دیده می شوند و در تلقیح داخلی، سلولهای آزوسپیریلوم می توانند با نفوذ به درون فضاهای بین سلولی ریشه، ریشه ها را تلقیح کند، در غلات تمرکز باکتری عمدتاً بر سطح ریشه است و به ندرت به صورت درون ریشه ای است (Bashan & Levanony, 1990). رخزادی و همکاران (۱۳۸۷) تحقیقی را به منظور بررسی اثر باکتری های آزوسپیریلوم، ازتوباکتر، سودوموناس و مزوریزوبیوم به صورت تلقیح انفرادی، دوتایی، سه تایی و چهارتایی بر عملکرد نخود انجام دادند و بیان کردند که کاربرد این باکتری ها موجب افزایش عملکرد دانه و بیوماس بوته نخود می شود. بیشترین و کمترین عملکرد دانه و بیوماس بوته به ترتیب از تیمار تلقیح حاوی چهار باکتری و تیمار شاهد به دست آمد. این نتیجه نشان می دهد، بین این باکتری ها اثرات سینرژیستی وجود دارد. یکی از بارزترین و حیاتی ترین خصوصیات فیزیولوژیکی گونه های ازتوباکتر، توانایی تثبیت نیتروژن است. علاوه بر آن ازتوباکترها دارای سنتز و تراوش هورمون محرک رشد، اسید های آمینه و انواع ویتأمین گروه B می باشد (آستارایی و کوچکی، ۱۳۷۵).

وزن خشک ریشه

نتایج تحقیق نشان داد که از نظر وزن خشک ریشه بین سطوح مصرف سرب تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد مشاهده گردید (جدول ۱)، در این شرایط بیشترین میزان متوسط وزن خشک ریشه در شرایط عدم مصرف سرب ۴/۹۶ گرم حاصل گردید (جدول۲). Togay *et al* (2008) گزارش کردند که غلظت عناصر سنگینی مانند مس، روی، کرم، سرب و نیکل در دانه و ساقه لوبیا کمتر از آستانه

Archive of SID

www.SID.ir

مسمومیت بود. آنها همچنین اعلام کردند که تجمع این فلزات در دانه و ساقه لوبیا به یک نسبت بود.

Zhu *et al* (2007) در مطالعه خود به این نتیجه رسید که گیاه لوبیا یک انباشتگر مناسب برای آلودگی ناشی از فلز سنگین در ریشه و اندام هوایی می باشد که البته این خاصیت بستگی به وضعیت ژنتیکی ارقام دارد. اثر سطوح باکتری محرک رشد بر وزن خشک ریشه درسطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۱). به‌صورتی که کاربرد باکتری با ۴/۴۹ گرم بیشترین و عدم کاربرد باکتری با ۴/۰۴ گرم کمترین میزان متوسط وزن خشک ریشه را نشان داد (جدول ۲). همچنین افزایش طول و سطح ریشه و اثر باکتری های افزاینده رشد گیاه، از مهمترین اثرات و سازوکارهای باکتری ها محسوب می شود (Klopper *et al*.,1991).

اثر مصرف هیومیک اسید بر وزن خشک ریشه درسطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۱)، بصورتی که کاربرد هیومیک اسید با ۴/۶۰ گرم بیشترین و عدم کاربرد باکتری با ۳/۹۴ گرم کمترین میزان وزن خشک ریشه را نشان داد (جدول ۲).

اثر متقابل باکتری و هیومیک اسید بر میزان وزن خشک ریشه در سطح پنج درصد معنی دار گردید (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین ها نشان داد، مصرف توأم باکتری و هیومیک اسید با ۴/۷۰ گرم بیشترین متوسط وزن خشک ریشه هر گیاه تولید نمود (شکل ۲). اسمعیل دوست و همکاران (۱۳۸۵) کاربرد باکتری های محرک رشد گیاه را در سه رقم ذرت (۷۰۴، ۶۴۷ و ۳۰۱) بررسی کرده و اظهار نمودند، باکتری های آزوسپیریلوم اثرات مثبتی بر رشد و عملکرد گیاهان زراعی دارند. در گیاه تلقیح شده با آزوسپیریلوم معمولا تغییراتی در مرفولوژی سیستم ریشه ای ایجاد می شود، طول ریشه های فرعی و تعداد انشعابات آنها و نیز تعداد و طول تارهای کشنده و انشعابات سر آن ها افزایش پیدا می کند، افزایش سطح جذب ریشه ها موجب افزایش جذب آب و عناصر غذایی توسط گیاه می گردد (صالح راستین، ۱۳۸۰).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول۱ ـ تجزیه واریانس تأثیر سرب، باکتری و هیومیک اسید بر صفات مورد آزمون

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		کلروفیل a	کلروفیلb	کلروفیل a+b	وزن خشک اندام های هوایی	وزن خشک ریشه
سرب (L)	۳	۰/۱۶۲ **	۰/۰۱۹۹ **	۰/۲۹۹ **	۶۸/۸۸ **	۴/۹۸ **
باکتری (B)	۱	۰/۰۶۶ *	۰/۰۱۵۳ **	۰/۰۷۳ *	۱۷/۷۰ *	۳/۲۸ **
هیومیک اسید (H)	۱	۰/۱۶۴ **	۰/۰۳۵۶ **	۰/۱۷۳ **	۶۱/۳۰ **	۶/۹۵ **
سرب × باکتری (L × B)	۳	۰/۰۰۲ ns	۰/۰۰۰۷ ns	۰/۰۰۱ ns	۲/۷۰ ns	۰/۰۲ ns
سرب × هیومیک اسید (L × H)	۳	۰/۰۰۶ ns	۰/۰۰۲۲ *	۰/۰۱۰ ns	۰/۴۲ ns	۰/۳۳ ns
باکتری × هیومیک اسید (B × H)	۱	۰/۰۰۴ ns	۰/۰۰۰۲ ns	۰/۰۰۵ ns	۰/۳۶ ns	۰/۹۲ *
سرب × باکتری×هیومیک اسید (L × B × H)	۳	۰/۰۰۱ ns	۰/۰۰۱۶ ns	۰/۰۰۱ ns	۰/۵۶ ns	۰/۱۰ ns
خطا	۴۸	۰/۰۱۴	۰/۰۰۰۸	۰/۰۱۲	۴/۴۹	۰/۲۳
ضریب تغییرات (درصد)		۱۶/۷۷	۷/۷۹	۱۰/۵۵	۱۳/۵۷	۱۱/۴۵

ns : غیر معنی‌دار * : معنی دار در سطح ۵ درصد ** : معنی دار در سطح ۱ درصد

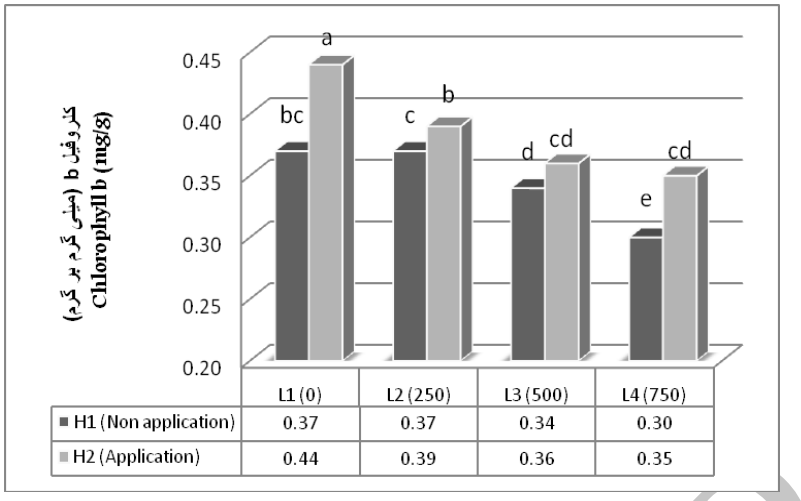
جدول۲ ـ مقایسه میانگین تأثیر سرب، باکتری و هیومیک اسید بر بر صفات مورد آزمون

تیمار	میانگین				
	کلروفیل a (mg/L)	کلروفیل b (mg/L)	کلروفیل a+b (mg/L)	وزن خشک اندام های هوایی(گرم)	وزن خشک ریشه (گرم)
سرب(L) mg/g					
۰ (L1)	۰/۸۴ **a**	۰/۴۱ **a**	۱/۲۵ **a**	۱۸/۰۷ **a**	۴/۹۶ **a**
۲۵۰ (L2)	۰/۷۲ **b**	۰/۳۸ **b**	۱/۰۸ **b**	۱۶/۲۰ **b**	۴/۴۳ **b**
۵۰۰ (L3)	۰/۶۵ **bc**	۰/۳۵ **c**	۰/۹۹ **c**	۱۵/۰۶ **b**	۳/۹۸ **c**
۷۵۰ (L4)	۰/۶۱ **c**	۰/۳۲ **d**	۰/۹۴ **c**	۱۳/۱۲ **c**	۳/۶۸ **c**
باکتری (آزوسپریلیوم)					
عدم کاربرد (B 1)	۰/۶۷ **b**	۰/۳۵ **b**	۱/۰۳ **b**	۱۵/۰۹ **a**	۴/۰۴ **b**
کاربرد (B 2)	۰/۷۴ **a**	۰/۳۸ **a**	۱/۱۰ **a**	۱۶/۱۴ **a**	۴/۴۹ **a**
هیومیک اسید					
۰ (H 1)	۰/۶۵ **b**	۰/۳۴ **b**	۱/۰۱ **b**	۱۴/۶۳ **b**	۳/۹۴ **b**
۸ لیتر در هکتار (H 2)	۰/۷۵ **a**	۰/۳۹ **a**	۱/۱۲ **a**	۱۶/۵۹ **a**	۴/۶۰ **a**

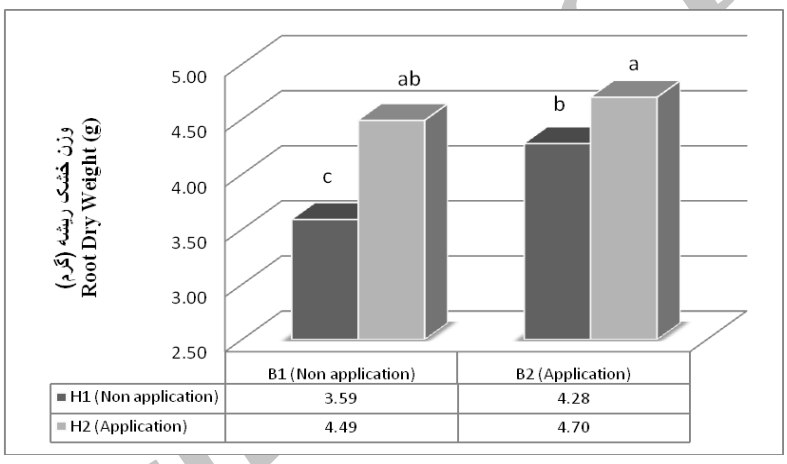
حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد می باشند.

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل سرب و هیومیک اسید بر میزان کلروفیل b در گیاه کلزا



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل باکتری و هیومیک اسید بر وزن خشک ریشه گیاه کلزا

منابع

آستارایی، ع و ع. کوچکی. ۱۳۷۵. کاربرد کود های بیولوژیک در کشاورزی پایدار. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. ۲۰۵ ص.

اسمعیل دوست، م. ۱۳۸۵. بررسی تأثیر استفاده از کودهای بیولوژیک بر روی رشد و عملکرد سه رقم ذرت هیبرید سینگل کراس. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج.

بهزاد، ا. ۱۳۸۷. بررسی تأثیر کاربرد باکتری های محرک رشد گیاه (PGPR) و کود نیتروژن بر عملکرد و اجزای عملکرد ذرت هیبرید دبل کراس (DC370). پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج.

Archive of SID

www.SID.ir

رخزادی، ا.، ا. اصغرزاده، ف. درویش، ق. نورمحمدی، ا. مجیدی و و. توشیح. ۱۳۸۷. ارزیابی اثر کودهای بیولوژیک آزوسپیریلوم، ازوتوباکتر، پسوومونواس و مزوریزوبیوم بر تجمع ماده ی خشک و عملکرد نخود (*Cicer arietinum* L.). دهمین کنگره علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران.

صالح راستین، ن. ۱۳۸۰. کودهای بیولوژیک و نقش آنها در راستای نیل به کشاورزی پایدار. مجموعه مقالات: ضروری تولید کودهای بیولوژیک در کشور. تدوین ک. خاوازی و م. ج. ملکوتی. نشر آموزش کشاورزی. ۱۵۰ ص.

صلحی، م.، م. ج. ملکوتی و س. سماوات. ۱۳۸۴. پراکنش و غلظت مجاز فلزات سنگین در چرخه حیات (خاک، آب، گیاه، دام، انسان). نشریه فنی شماره ۴۷۰، موسسه تحقیقات خاک و آب، انتشارات سنا، تهران، ایران.

Ali, B. M., P. Vajpayee, R. D. Tripathi, U. N. Rai, S. N. Singht, and S. P. Singhgh. 2003. Phytoremediation of lead, nickel, and copper by *Salix acmophylla boiss*. : Role of Antioxidant Enzymes and Antixidant substances. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 70: 462-469.

Bashan,Y. and H. Levanony. 1990. Current status of Azospirillum inoculation technology: Azospirillum as challenge for agriculture. Canadian journal of Microbiology. 36: 561-607

Boyer, J., Ort, D., and A. Ortiz-Lepez. 1987. Photophosphorylation at low water potential. Current Topics in Plant Biochemistry and Physiology. 6: 69-73.

Estrella–Gomez, N., D. Mendoza–Cozatl, R. Moreno–Sanchez, D. Gonzalez–Mendoza, O. Zapata– Perez, A. Martinez–Hernandez, and J. M. Santamaria. 2009. The pb-hyperaccumulator aquatic fern *Salvinia minima* baker, responds to pb^{2+} by increasing phytochelatins via changes in smpcs expression and in phytochelatin synthase activity. Aquatic Toxicology. 91: 320-328.

Gardrea–Torresdey, J. L., G. D. Rosa, and J. R. Peralta–Videa. 2004. Use of phytofiltration technologies in the removal of heavy metals: Areviewe. Pure Apple. Chem. 76: 801-813.

Garnczarska, M. and L. Ratajczak. 2000. Metabolic responses of *Lemna minor* to lead ions, II. Induction of antioxidant enzymes in roots. Acta physiologiae plantarum. 22: 429-432.

Gerhardt, K. E., H. Xiao–Dong, B. R. Gilck, and B. M. Greenberg. 2009. Phytoremediation and rhizoremediation of organic soil contaminants: potential and challenges. Plant Science. 176: 20-30.

Kadukova, J. and N. Kalogerakis. 2007. Lead accumulation from non-saline and saline environment by *Tamarix smyrnesis* Bunge. European Jornal of soil biology. 43: 216-223.

Khan, M . S. and A. Zaidi. 2007. Synergistic Effects of the Inoculation with Plant Growth-Promoting Rhizobacteria and an Arbuscular Mycorrhizal Fungs on the performance of Wheat. Turkish Journal of Agriculture and. 31: 35-362.

Klopper, J. W., R. M. Zablotowicz, E. M. Tipping, and R. Lifshitz. 1991. Plant growth promoting mediated by bacterial rhizosphere colonizers. In: the rhizosphere and plant growth, eds., Keister, D. L. and P. B. Cregan, Kluwer Academic Publishers, Netherlands.

Kupper, H., F. Kiipper, and M. Spiller. 1996. Environmental relevance of heavy metal-substituted chlorophylls using the example of water plants. Journal of Experimental Botany. 47: 259-266.

Archive of SID

www.SID.ir

Togay, N., Y. Togay, and Y.Dogan. 2008. Effects of municipal sewage sludge doses on the yield, some yield components and heavy metal concentration of dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.). African.J.of Biotech.7: 3026-3030.

Vitoria. A. P., M. D. Cunhab, and R. A. Azevedo. 2006. Ultrastructural changes of radish leaf exposed to cadmium. Environmental and Experimental Botany. 58: 47–52.

Zhu, Y.,H. Yu, J. L. Wang, W. Fang, J. G. Yuan , and Z. Y. Yang. 2007. Heavy metal accumulations of 24 bean cultivars grown in soil contaminated with cd alone and with multiple metals (Cd, Pb, and Zn). J of Agric. Food Chemistry. 55: 1045-1052.

Nagajyoti , P.C., N. Dinakar, T. N. Prasad, C. Suresh, and T. Damodharam. 2008. Heavy metal toxicity: Industrial Effluent Effect on Groundnut (*Arachis hypogaea* L.) Seedlings. Journal of Applied Sciences Research. 4: 110-121.

Rai, V., S. Khatoon, S. S. Bisht, and S. Mehrotra. 2005. Effect of cadmium on growth, ultramorphology of leaf and secondary metabolites of *Phyllanthus amarus* Schum. and Thonn. Chemosphere. 61: 1644–1650.

Sharma P. and R. S. Dubey. 2005. Lead Toxicity in plants. Plant physiol. 17: 35-52.

Swesrzynska, D. and A. Sawicka. 2000. Effect of inoculation with Azospirillum brasilense on development and yielding of maize (*Zea mays ssp. Saccharata* L.) under Different Cultivation Conditions. Polish Journal of Environmental Studies. 9 (6): 505- 509.

Archive of SID

www.SID.ir