نقش باکتری‌های مفید خاکزی در افزایش کارایی پالایش سبز یک خاک آلوده به کادمیوم

پویا استوار[۱]*، کاظم خاوازی و محمد جعفر ملکوتی

دانش آموخته کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس؛ **p.ostovar@yahoo.com**

دانشیار پژوهش، موسسه تحقیقات خاک و آب ،کرج؛ **kkhavazi@yahoo.com**

استاد گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس؛ **mjmalakouti@hotmail.com**

چکیده

کادمیم (Cd) از جمله آلاینده‌های خطرناکی است که امروزه با مصرف بی‌رویه کودهای شیمیایی فسفاته، غلظت آن در خاک‌های زراعی رو به افزایش می‌باشد. گیاه‌پالایی که همانا استفاده از گیاهان برای جذب، تجمع و سمیت‌زدایی آلاینده‌های خاک از طریق فرآیندهای فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی می‌باشد؛ از جمله راه‌کارهای کم هزینه و مطمئنی است که همواره برای حذف و یا کاهش غلظت‌های عناصر سنگین در خاک توصیه می‌گردد. یکی از معایب این روش رشد کم گیاهان منتخب برای زیست پالایی می‌باشد. استفاده از باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه (PGPR) بالاخص انواع مولد آنزیم ACC د آمیناز می‌تواند محدودیت رشد ناشی از وجود (Cd) را تعدیل بخشیده و با بهبود شاخص‌های رشد به زیست‌پالایی بهتر کادمیم در خاک کمک نماید. لذا به منظور بررسی تأثیر باکتری-های محرک رشد بر کارایی زیست پالایی Cd توسط کلم زینتی (*Brassica oleraceae* var. *viridis*)، آزمایش گلدانی به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس در سال ۱۳۸۸ اجرا شد. در این آزمایش فاکتورهای تلقیح شامل، (۱) تیمارشاهد بدون تلقیح، تیمار (۲) تلقیح باکتری *Pseudomonas fluorescens* strain 169؛ تیمار (۳) تلقیح باکتری *P. putida* strain 108؛ تیمار (۴) تلقیح باکتری *P. putida* strain 11 تیمار (۵) تلقیح باکتری *P. putida* strain 159؛ تیمار (۶) تلقیح باکتری *P. putida* strain 4 و فاکتور غلظت Cd شامل سطوح صفر، ۵، ۱۰، ۱۵، ۳۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم بود. پس از تلقیح باکتری‌ها با بذر و کشت آنها در خاک، مدیریت داشت در گلخانه انجام گرفت. پس از هفت ماه، برداشت اندام هوایی و ریشه کلم زینتی به طور مجزا انجام و در تمامی نمونه‌ها میزان Cd با استفاده از دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری گردید. نتایج این تحقیق نشان داد که فاکتورهای تلقیح و غلظت Cd تاثیر معنی‌داری ($P<0.01$) بر رشد و تجمع غلظت Cd دراندام هوایی، ریشه و همچنین فاکتور جذب داشتند. با افزایش غلظت Cd، رشد اندام هوایی و ریشه کاهش یافت. تلقیح با باکتری‌ها به خصوص تیمار ۵ توانست تا حدی این اثر را تعدیل کند. حداکثر غلظت Cd در ریشه ۱۳۶ و در اندام هوایی ۵۸ میلی‌گرم در کیلوگرم بر مبنای وزن خشک در بالاترین غلظت Cd (۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) با تیمار ۶ بدست آمد. در حالی‌که حداکثر وزن خشک ریشه ۱/۹۶ گرم و وزن خشک اندام هوایی ۱۲/۵۳ گرم به ترتیب مربوط به تیمارهای ۳ و ۴ باکتریایی و سطوح ۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم Cd خاک بود. در مجموع با توجه به تأثیر مایه تلقیح‌ها در افزایش جذب Cd توسط کلم زینتی، استفاده از مایه تلقیح می‌تواند به عنوان گزینه‌ای برای پالایش خاک‌های آلوده به Cd در غلظت‌های کم تا متوسط (کمتر از ۵۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک) باشد. در خاک‌های با غلظت بالای آلاینده، به علت افت زیاد قدرت انتقال Cd به شاخساره حتی در حضور باکتری، کاشت کلم زینتی توصیه نمی‌شود.

واژه‌های کلیدی: کلم زینتی (*Brassica oleraceae* var. *viridis*)، کادمیوم (Cd)، باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR، ACC دآمیناز، پالایش سبز

---

[۱] نویسنده مسئول، آدرس: شیراز، بین چهار راه باغ تخت و فلکه اطلسی، موسسه پژوهشی راهبر

* دریافت: خرداد ۱۳۹۰ و پذیرش: اردیبهشت ۱۳۹۱

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

انباشت Cd در اراضی و محصولات کشاورزی کشور به یک مشکل زیست‌محیطی و امنیتی تبدیل شده است. افزایش غلظت Cd در خاک باعث افزایش جذب آن به‌وسیله گیاه می‌گردد. گیاهان مهم‌ترین مسیر انتقال Cd به زنجیرهٔ غذایی انسان بوده و تجمع آن در محصولات کشاورزی موجب سمیت شده و بیماری‌های حاد و مزمنی را ایجاد می‌نماید. غلظت این عنصر در خاک‌های زراعی و باغی کشور، به دلیل مصرف بیش از حد کودهای فسفاتی در سال‌های اخیر افزایش یافته است (قهرمانی، ۱۳۸۷؛ کریمیان، ۱۳۷۷؛ گلچین و شفیعی، ۱۳۸۵؛ ملکوتی، ۱۳۷۵؛ ملکوتی و همکاران، ۱۳۷۹ و ملکوتی و همکاران، ۱۳۸۷).

از علائم عمومی ناشی از جذب مقادیر اضافی کادمیم در گیاه می‌توان به کاهش و توقف رشد ریشه، چوب پنبه‌ای شدن، صدمه به ساختمان ریشه، کاهش هدایت هیدرولیکی آب در ریشه، تداخل با جذب و انتقال طبیعی عناصر غذایی، کاهش میزان کلروفیل؛ کلروز برگ و اختلال در فعالیت‌های آنزیمی به ویژه آنزیم‌های دخیل در فتوسنتز اشاره نمود. کادمیم آلاینده خطرناکی است که در بدن انسان تجمع یافته و از سیستم گوارشی بدن دفع نمی‌گردد. در مسمومیت حاد، به‌واسطه اختلال در موازنه فسفر و کلسیم در مجاری ادراری، می‌توان بیماری ایتای-ایتای[1] که با درد در ناحیه شکم و پشت و مفاصل و استخوان‌ها، کوتاهی قد، سرطان‌زائی و ناباروری در انسان را نام برد (کریمیان، ۱۳۷۷ ؛ ملکوتی و همایی، ۱۳۸۳؛ ملکوتی و همکاران، ۱۳۷۹ و لین و اسکور،۱۹۹۷).

خاک‌های آلوده به عناصر کمیاب از جمله Cd علاوه بر تهدید سلامتی، به هزینه‌های زیادی برای حذف و جایگزینی نیاز دارند. یکی از روش‌های مطمئن در این راه، استفاده از گیاه پالایی[2] است (بروکس، ۱۹۹۸). منظور از گیاه پالایی استفاده از گیاهان برای جذب، تجمع و سمیت زدایی آلاینده‌های خاک از طریق فرایندهای فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی است (ساکسنا و همکاران، ۱۹۹۹).

از آنجا که پاکسازی محیط بوسیله گیاهان تجمع دهنده فلزات به تولید زیست توده گیاهی زیاد، همچنین به مدت زمان نسبتاً طولانی برای برداشت و حذف مقدار کافی زیست توده ی آلوده نیاز دارد، تلاش‌های مختلفی برای افزایش کارایی گیاه پالایی انجام شده است. که یکی از این فعالیت‌ها، توجه به پتانسیل‌های ریشه و محیط پیرامون آن بوده است (کیرخام، ۲۰۰۶). ریشه گیاهان با تعداد زیادی از موجودات زنده مختلف در ارتباط است. در بین موجودات ریزوسفر[3] که در واکنش گیاه با خاک اطرافش دخالت دارند، باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه[4] مانند حل کننده‌های فسفر و پتاسیم، باکتری‌های آزادزی تثبیت کننده نیتروژن، ریزوبیوم‌ها، قارچ میکوریزای آربسکولار[5] از توجه ویژه‌ای بر خوردارند (گلیک، ۱۹۹۵). این باکتری‌ها از طریق تعدادی مکانیسم مانند کاهش یا توقف اثر مخرب اندام‌های انگلی، تثبیت ازت، تولید سیدروفور[6] و افزایش جذب آهن، تولید هورمون‌های مختلف گیاهی مانند اکسین، سیتوکینین، جیبرلین و افزایش حلالیت عناصر غذایی معدنی مانند فسفر، تولید آنزیم‌ها و کاهش سطح اتیلن در گیاه اثرات عمیقی بر رشد و تغذیه گیاه دارند. زمانی که گیاهان در خاک‌های آلوده به فلزات کشت می‌شوند، تجمع اتیلن در گیاه و همچنین کمبود آهن، دو ویژگی است که باعث کاهش رشد آنها می‌شود (راجکومار و همکاران، ۲۰۰۶). بنابراین رفع این محدودیت‌ها می‌تواند به رشد بیشتر گیاه در این شرایط کمک نماید. متناسب با هر دو ویژگی ذکر شده، باکتری-های محرک رشد گیاه قادر به تولید متابولیتی می‌باشند که در شرایط معینی می‌تواند به رفع محدودیت‌های مذکور کمک نماید. در خصوص کاهش تجمع اتیلن در گیاه، باکتری‌های محرک رشد گیاه با توانایی تولید آنزیم ACC دآمیناز می‌توانند با پائین نگه‌داشتن غلظت ACC در گیاه، خطر تجمع اتیلن را کاهش دهند (گلیک، ۲۰۰۳) و همچنین در خصوص ویژگی کمبود آهن نیز می‌توانند در شرایط معینی با تولید سیدروفور کمبود آهن را رفع کند.

تاکنون مطالعات ارزنده‌ای در خصوص جداسازی و شناسایی باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه با ویژگی‌های تولید ACC دآمیناز و سیدروفور در ایران انجام شده است. رسولی صدقیانی و همکاران در سال ۱۳۸۴ به منظور شناسایی و بررسی جمعیت سودوموناس‌های فلورسنت در ریزوسفر گندم، از نقاط مختلف گندم‌خیز کشور تعداد ۵۲ نمونه خاک ریزوسفری تهیه کردند. نتایج نشان داد که تراکم جمعیت این باکتری‌ها از ۱/۵۱×۱۰۵ تا ۶×۱۰۸ سلول در هر گرم خاک ریزوسفری متغیر بود. همچنین نتایج آزمایش‌های میکروسکوپی، آزمون‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی نشان داد که ۵۲/۷۳، ۴۴/۲۷ و ۳ درصد از جدایه‌ها به ترتیب متعلق به گونه‌های *P. putida* ، *P. fluorescenes* و *P.*

[1] Itai Itai
[2] Phytoremediation
[3] Rhizosphere
[4] Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)
[5] Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AFM)
[6] Siderophore

Archive of SID

www.SID.ir

aeruginosa بودند. بنابراین پیشنهاد کردند، کلونیزاسیون مؤثر گونه‌های پوتیدا و فلورسنس در ریزوسفر گندم، این سویه‌ها می‌توانند از نمونه‌های مفید برای ادامه بررسی به منظور تولید مایه تلقیح PGPR باشند.

در تحقیق دیگری لادن و همکاران در سال ۱۳۸۸، امکان پالایش خاک‌های آلوده به آرسنیک توسط پیازچه و کلم زینتی را مورد مطالعه قرار دادند. در این تحقیق از دو مایه تلقیح ترکیبی A (حاوی *Pseudomonas putida* strains 4, 11) و مایه تلقیح B (حاوی *P. putida* strain 158 و *P. fluorescens* strain 169) همراه با بذور گیاهان استفاده شد. نتایج نشان داد که در هر دو گیاه تیمارهای تلقیح شده با مایه تلقیح B جذب آرسنیک را در مقایسه با مایه تلقیح A و شاهد به صورت معنی‌داری افزایش داد ($P<0.05$) و حداکثر جذب در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم آرسنیک خاک اتفاق افتاد. در خصوص گیاه پیازچه این حداکثر جذب، معادل ۴۹/۶۸ میلی‌گرم در کیلوگرم بودکه به ترتیب ۳۷/۸۸ و ۶۱/۹۷ درصد بیشتر از تیمارهای A و شاهد بود. با وجود افزایش کارایی زیست پالایی توسط مایه تلقیح باکتری، آنها به این نتیجه رسیدند که، به دلیل جذب کم آرسنیک، این گیاه به منظور پالایش خاک‌های آلوده به آرسنیک توصیه نمی‌شود. حداکثر جذب آرسنیک در کلم زینتی ۶۹/۱۷ میلی‌گرم در کیلوگرم بود که به ترتیب ۴۹/۲۵ و ۶۹/۸۵ درصد بیشتر از تیمارهای A و شاهد بود. بنابراین گزارش نمودند که از ترکیب گیاه کلم زینتی و مایه تلقیح می‌توان به عنوان گزینه‌ای برای پالایش خاک‌های آلوده به آرسنیک استفاده کرد، ولی تأثیر این باکتری‌ها در کاهش اثرات منفی آلودگی ناشی از کادمیم بر گیاه انجام نشده است.

هدف از این پژوهش بررسی اثر باکتری‌های سودوموناس مولد آنزیم ACC دآمیناز در افزایش قدرت کلم زینتی در تجمع کادمیم در گیاه، بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت گلدانی و در مجموعه گلخانه‌های تحقیقاتی دانشگاه تربیت مدرس انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک کامل تصادفی و با سه تکرار اجرا شد. فاکتورهای این آزمایش شامل فاکتور غلظت کادمیم و فاکتور تلقیح بود. فاکتور غلظت کادمیم شامل سطوح صفر، ۵، ۱۰، ۱۵، ۳۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک بود. فاکتور تلقیح نیز شامل تیمارهای یک (شاهد بدون تلقیح)، ۲، ۳، ۴، ۵ و ۶ بود که به ترتیب مربوط به تلقیح با مایه تلقیح‌های حاوی *Pseudomonas fluorescens* strain 169؛ *P. putida* strain 108؛ *P. putida* strain 11؛ *P. putida* strain 159 و *P. putida* strain 4 بود. باکتری‌های مورد نظر از بانک میکروبی موسسه تحقیقات خاک و آب کرج تهیه شد. توانایی تولید آنزیم ACC دآمیناز سویه ها (جدول ۱) و میزان مقاومت آنها به کادمیم در تحقیقات جداگانه‌ای مورد بررسی قرار گرفته بود (جلیلی و همکاران، ۲۰۰۹ و بهارلویی و همکاران، ۲۰۱۱). به منظور آلوده کردن خاک و تهیه سطوح مختلف کادمیم ابتدا مقدار لازم کلرورکادمیم ($CdCl_2.H_2O$) به ازای هر سطح آلاینده و برای مجموع ۳ تکرار وزن محاسبه و به صورت جامد به یک کیلوگرم خاک افزوده و کاملاً با آن مخلوط گردید تا پیش‌ماده همگنی بدست آید. این پیش‌ماده‌ی آلوده سپس کاملاً با توده خاک مخلوط گردید. خاک کاملاً همگن شد و با تراکم معادل ۱۳۰۰ کیلوگرم بر مترمکعب در گلدان‌های ۸ کیلوگرمی به ارتفاع ۲۲ و قطر ۲۴/۵ سانتی‌متر انتقال یافت. گلدان‌ها به مدت دو هفته در رطوبت اشباع و هشت هفته در رطوبت ظرفیت زراعی رها شدند که تا حد امکان بر-هم‌کنش آلاینده و خاک تکوین یافته و شرایط آلودگی طبیعی‌تر شود. پس از اتمام دوره آلوده نمودن خاک، بذرهای کلم زینتی با قوه نامیه ۹۰ درصد به تعداد ۹ عدد در هر گلدان کاشته شد. لازم به ذکر است برای تلقیح بذرها با مایه تلقیح، بذرها پس از ضدعفونی به مدت ۲۴ ساعت در مایه تلقیح مایع، قرار داده شدند. پس از جوانه زدن بذرها، بوته‌ها تنک شده و ۳ عدد از بوته‌های سالم و قوی نگه داشته شدند. پس از گذشت هفت ماه از کاشت بذرهای کلم زینتی، گیاه برداشت شد. سپس اندام هوایی از ریشه جدا شده و پس از شستشوی متوالی با آب و آب مقطر به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتیگراد خشک شدند. پس از توزین وزن خشک نمونه‌ها و میزان کادمیم آن با استفاده از روش اکسیداسیون تر(گوپتا، ۲۰۰۰) و قرائت، توسط دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد. سپس داده‌ها به‌وسیله نرم‌افزارهای SAS تجزیه و نمودارها توسط Excel ترسیم شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس وزن خشک شاخساره، ریشه و کل گیاه نشان داد که هر دو فاکتور مورد مطالعه یعنی غلظت کادمیم و تلقیح باکتری اثر معنی‌داری در سطح یک درصد بر میزان وزن خشک شاخساره و ریشه داشت (جدول ۲). همچنین اثر متقابل دو فاکتور غلظت کادمیم و تلقیح با باکتری نیز در سطح یک درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین‌های وزن خشک شاخساره، ریشه و کل گیاه در سطوح مختلف کادمیم خاک در جداول ۳، ۴ و ۵ نشان داده شده است. نتایج تجزیه واریانس غلظت کادمیم

Archive of SID

www.SID.ir

شاخساره، ریشه و کل گیاه نیز نشان داد که فاکتورهای غلظت کادمیم و تلقیح باکتری‌ها اثر معنی‌داری در سطح یک درصد بر میزان تجمع کادمیم در هر یک از اندام‌های گیاه داشت (جدول ۶).

الف) غلظت کادمیم در شاخساره

با وجود معنی‌دار بودن تأثیر تلقیح بر غلظت کادمیم در شاخساره، تأثیر باکتری‌ها در سطوح مختلف کادمیم متفاوت بود (جدول ۷). با توجه به این جدول بیشترین میزان غلظت کادمیم در شاخساره کلم زینتی در حضور مایه تلقیح ۶ (*P. putida* strain 4) و معادل ۵۸/۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک گیاه بود. این حداکثر مقدار در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم درکیلوگرم کادمیم خاک اتفاق افتاد که اختلاف معنی‌داری را در سطح یک درصد در مقایسه با تیمار شاهد را نشان داد.

ب) غلظت کادمیم در ریشه

همانگونه که از جدول (۸) دریافت می‌شود، بیشترین غلظت کادمیم در ریشه کلم زینتی در تیمار ۶ (*P. putida* strain 4) و در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیم خاک اتفاق افتاد که این حداکثر غلظت معادل ۱۳۵/۵۸ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک گیاه است. قابل ذکر است که این مقدار بیش از دو برابر از مقدار حداکثر در شاخساره بیشتر بود، بدین معنی که میزان غلظت کادمیم در ریشه کلم زینتی بیشتر از میزان غلظت آن در شاخساره بود.

ج) غلظت کادمیم در کل گیاه (ریشه و شاخساره)

با توجه به جدول (۹) حداکثر غلظت کادمیم در کل گیاه کلم زینتی اعم از ریشه و شاخساره در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیم خاک و معادل ۱۹۳/۷۳ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک گیاه بود. این حداکثر مقدار غلظت در حضور تیمار ۶ اتفاق افتاد.

د) فاکتور انتقال کادمیم در گیاه (نسبت انتقال آلاینده کادمیم)

فاکتور انتقال کادمیم در گیاه از تقسیم کردن میزان غلظت کادمیم در شاخساره به میزان غلظت آن در ریشه به دست می‌آید (هاکو و همکاران، ۲۰۰۸). فاکتور انتقال در واقع بیانگر این است که فلز یا شبه فلز مورد نظر در کدام قسمت گیاه (ریشه یا شاخساره) تجمع بیشتری داشته است. گیاهی که برای استخراج سبز مورد استفاده قرار می‌گیرد، غلظت عنصر در شاخساره‌ی آن گیاه در مقایسه با ریشه بیشتر است (هاکو و همکاران، ۲۰۰۸). نتایج تجزیه واریانس فاکتور انتقال کادمیم در گیاه نشان داد که هر دو فاکتور مورد مطالعه یعنی غلظت کادمیم و تلقیح باکتری اثر معنی‌داری در سطح یک درصد بر میزان این فاکتور داشت (جدول ۶).

همانگونه که در جدول (۱۰) مشاهده می‌شود، در غلظت‌هایی از کادمیم که فاکتور انتقال این عنصر بالای یک بود، کلم زینتی توانسته به طور مؤثری در انتقال کادمیم از ریشه به شاخساره و افزایش غلظت آن در شاخساره مؤثر باشد. با توجه به جدول (۱۰) حداکثر میزان فاکتور انتقال کادمیم در گیاه کلم زینتی در حضور تیمار باکتریایی *P. fluorescens* strain 169 و در غیاب کادمیم معادل ۱/۴۳۲ بود. اما در غلظت‌هایی از کادمیم که این فاکتور کمتر از یک بود، غلظت کادمیم در ریشه‌ی کلم زینتی بیشتر از اندام هوایی آن بود. هرچه غلظت کادمیم موجود در خاک افزایش یافت، چه در حضور باکتری و چه در شرایط نبود باکتری، فاکتور انتقال کاهش یافت و کلم زینتی تمایل به انباشت کادمیم در ریشه‌ی خود نشان داد. به بیان دیگر کلم زینتی در غلظت‌های بالای کادمیم خاک به نوعی به غیر متحرک سازی فلز در خاک و تثبیت آن در ریشه‌های خود پرداخت که می‌تواند به عنوان نکته‌ای مثبت در پالایش سبز مورد توجه قرار گیرد.

در این راستا وو و همکاران (۲۰۰۶) نیز، در قالب یک آزمایش گلخانه‌ای اثرات مایه تلقیح باکتری را بر روی میزان جذب سرب و روی توسط گیاه خردل هندی (*Brassica juncea*) بررسی کردند. آنها گزارش کردند که استفاده از باکتری محرک رشد گیاه شامل باکتری‌های تثبیت‌کننده‌ی نیتروژن و باکتری‌های محلول کننده پتاسیم و فسفات نقش مؤثری در بهبود پالایش سبز داشت. نتایج آنها نشان داد که اگرچه تأثیر تلقیح این باکتری‌ها بر میزان تجمع فلزات در بافت‌های گیاهی کم بود ولی از طریق افزایش زیست توده، موجب افزایش تجمع کل فلزات در گیاه شده ودر مجموع تیمارهای تلقیح شده کارایی بیشتری در مقایسه با تیمارهای شاهد نشان دادند.

دل آمیکو و همکاران (۲۰۰۸)، نیز طی آزمایشی ۴ نوع باکتری دارای توانایی تولید آنزیم ACC deaminase (*Pseudomonas tolaasii* ACC23، *Pseudomonas fluorescens* ACC9، *Alcaligenes sp.* N4 و *Mycobacterium sp.* ACC14) را از خاک آلوده به کادمیم جداسازی کرده و تأثیر آنها بر رشد کلزا در شرایط آلوده را بررسی نمودند. نتایج تحقیق آنها نشان داد که تلقیح با باکتری *Pseudomonas tolaasii* موجب افزایش زیست‌توده گیاهی و در نهایت افزایش میزان تجمع کادمیم در گیاه شد.

بهارلویی و همکاران (۲۰۱۱) نیز نشان دادند که در خاک آلوده به کادمیم، تلقیح کلزا با باکتری‌های

Archive of SID

www.SID.ir

Pseudomonas fluorescens strain 169 و *Pseudomonas putida* strain 11 وزن خشک اندام هوائی را به طور معنی‌داری در سطح پنج درصد نسبت به تیمار بدون تلقیح افزایش داد. همچنین تلقیح کلزا با باکتری‌های *Pseudomonas fluorescens* strain 169 و *Pseudomonas putida* strain 11 جذب کادمیم اندام هوائی را به طور معنی‌داری افزایش و تلقیح جو با باکتری‌های *Pseudomonas fluorescens* strain 169 و *Pseudomonas putida* strain 4جذب کادمیم اندام هوائی را به طور معنی‌داری در سطح پنج درصد نسبت به تیمار بدون تلقیح کاهش داد. علاوه بر این تلقیح کلزا با باکتری *Pseudomonas fluorescens* strain 169 باعث افزایش معنی‌دار فاکتور انتقال کادمیم نسبت به تیمار بدون تلقیح شد. محققین فوق *Pseudomonas fluorescens* strain 169 را برای پاکسازی کادمیم از خاک، با استفاده از کلزا پیشنهاد کردند.

علاوه بر تنش‌های مربوط به آلودگی از این باکتری‌ها برای سایر تنش‌های غیر زنده مانند شوری نیز استفاده شده است. در این راستا جلیلی و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که در شرایط شور تلقیح بذر کلزا با سویه‌های مورد مطالعه سرعت جوانه زنی بذر را به طور معنی‌داری افزایش داد. همچنین در آزمایش گلخانه‌ای دیگری تلقیح کلزا در شرایط شور به طور معنی‌داری شاخص‌های رشد را نسبت به شاهد بدون تلقیح افزایش داد (جلیلی و همکاران، ۱۳۹۰).

نتایج بدست آمده از این آزمایش نیز نشان داد که با افزایش مقدار کادمیم در خاک از صفر تا ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک، جذب آن توسط کلم زینتی افزایش یافت، اما در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیم، به دلیل بروز سمیت کادمیم رشد گیاهان شدیداً کاهش یافت و زیست‌توده کمی تولید نمودند. با توجه به جداول، جذب کادمیم با بکارگیری مایه‌های تلقیح در مقایسه با تیمارهای شاهد تقریباً بیشتر بود و غلظت کادمیم در ریشه‌ها در غلظت‌های بالای کادمیم در خاک بیشتر از اندام‌های هوایی بود. با افزایش غلظت Cd، رشد اندام هوایی و ریشه کاهش پیدا نمود. تلقیح با باکتری‌ها توانست تا حدی این اثر را تعدیل کند. اما در خاک‌های با آلودگی زیاد، به علت افت زیاد قدرت انتقال Cd به شاخساره و کاهش مقاومت گیاه حتی در حضور باکتری، کاشت کلم زینتی توصیه نمی‌شود. در مجموع با توجه به تأثیر مایه‌های تلقیح در افزایش جذب Cd توسط کلم زینتی، استفاده از مایه تلقیح می‌تواند به عنوان گزینه‌ای برای پالایش خاک‌های آلوده به Cd در غلظت‌های کم تا متوسط (کمتر از ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) استفاده نمود.

پیشنهادها

۱- با توجه به اثرات مثبت این باکتری‌ها بر رشد گیاه در شرایط خاک آلوده به کامیم، پیشنهاد می‌شود تا باکتری‌های با توانایی تولید آنزیم ACC deaminase از خاک‌های آلوده به کادمیم جدا سازی و در پالایش سبز مورد استفاده قرار گیرند.

۲- به منظور استفاده از این باکتری‌ها در غلظت‌های بالای کادمیم، باکتری‌ها از نظر میزان تحمل به کادمیم غربالگری و سپس مقاومترین آنها در پالایش سبز استفاده گردد.

۳- از سایر گیاهان نیز در تحقیقات مشابه استفاده گردد.

جدول ۱- میزان تولید آنزیم ACC Deaminase توسط باکتری‌های سودوموناس (جلیلی و همکاران، ۲۰۰۹)

ردیف	نام باکتری	میزان تولید آنزیم (میکرومول آلفا کتوبوتیرات در میلی‌گرم پروتئین در ساعت)
۱	*P. fluorescens* strain 169	۳/۵۱
۲	*P. putida* strain 108	۵/۰۳
۳	*P. putida* strain 11	۲/۴۱
۴	*P. putida* strain 159	۲/۹۸
۵	*P. putida* strain 4	۲/۳۱

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲- تجزیه واریانس میانگین مربعات وزن خشک شاخساره، وزن خشک ریشه و وزن کل گیاه

منابع تغییرات	درجه آزادی	وزن خشک شاخساره ($g\ pot^{-1}$)	وزن خشک ریشه ($g\ pot^{-1}$)	وزن کل ($g\ pot^{-1}$)
کادمیم	۶	۳۰/۲۴۲**	۱/۳۰۰**	۴۳/۴۸۸**
باکتری	۵	۲۰/۸۹۶**	۱/۶۵۹**	۳۳/۱۳۰**
تکرار	۲	۱/۹۰۵*	۰/۰۳۲^{ns}	۲/۴۲۳*
کادمیم*باکتری	۳۰	۳/۴۰۷**	۰/۰۵۸**	۳/۷۹۲**
خطای آزمایش	۸۲	۰/۵۰۹۸	۰/۰۱۲	۰/۵۷۵
ضریب تغییرات		۸/۷۳۶	۹/۱۱۳	۸/۰۶۶

** و * به ترتیب معنی‌دار در سطح ۱ و ۵ درصد، ns عدم وجود اختلاف معنی‌دار

جدول ۳- مقایسه میانگین‌های وزن خشک شاخساره ($g\ pot^{-1}$) در حضور تیمارهای باکتریایی

	سطوح کادمیم ($mg\ kg^{-1}$)						
تیمار	صفر	۵	۱۰	۱۵	۳۰	۵۰	۱۰۰
Cont.	۷/۷۲۷	۷/۸۷	۷/۷۱	۹/۱۸	۷/۱۹	۸/۴	۴/۹
P169	۸/۶۱	۹/۲۲	۷/۷۶	۸/۵	۸/۶۳	۷/۹۶	۵/۸۰
P108	۹/۴۲	۹/۷۷	۸/۶۱	۱۱/۸۳	۱۲/۵۳	۷/۳۷	۶/۸۸
P11	۱۰/۱۰۷	۸/۷۴	۹/۸۳۶	۹/۵۶	۹/۲	۷/۵۴	۵/۳۹
P159	۱۰/۴۶۷	۱۰/۶۳۷	۱۰/۱۷	۷/۷۲	۸/۶۵	۷/۰۵	۶/۰
P4	۷/۹۸۷	۶/۶۸	۷/۸۷	۵/۵۸	۷/۵۳	۶/۸۲	۳/۸۵

LSD= ۱/۵۳۷

جدول ۴- مقایسه میانگین‌های وزن خشک ریشه ($g\ pot^{-1}$) در حضور تیمارهای باکتریایی

	سطوح کادمیم ($mg\ kg^{-1}$)						
تیمار	صفر	۵	۱۰	۱۵	۳۰	۵۰	۱۰۰
Cont.	۱/۲۶	۱/۲۶	۱/۱۷	۱/۲۱	۱/۱۳	۱/۱۴	۰/۴۳۱
P169	۱/۳۳	۱/۴۳۵	۱/۲۷	۱/۵۴	۱/۳۹	۱/۲۲	۰/۹۳۸
P108	۱/۴۷	۱/۴	۱/۴۶	۱/۷۳	۱/۶۳	۱/۲۶	۰/۶۶۵
P11	۱/۵۸	۱/۵۴	۱/۴۱	۱/۹۶	۱/۳۴	۱/۳۹	۰/۷۸۶
P159	۱/۸۹	۱/۵۳	۱/۵۱	۱/۷۲	۱/۴۶	۱/۳۲	۰/۷۹۲
P4	۰/۹۹۹	۰/۹۳	۰/۸۱۱	۰/۷۲۵	۰/۶۲۴	۰/۵۶۱	۰/۴۳۲ o

LSD= ۰/۲۴۱

جدول ۵- مقایسه میانگین‌های وزن خشک کل گیاه ($g\ pot^{-1}$) در حضور تیمارهای باکتریایی

	سطوح کادمیم ($mg\ kg^{-1}$)						
تیمار	صفر	۵	۱۰	۱۵	۳۰	۵۰	۱۰۰
Cont.	۸/۹۹	۹/۱۳	۸/۸۸	۱۰/۳۹	۸/۳۳	۹/۵۴	۵/۳۳
P169	۹/۹۴	۱۰/۶۶	۹/۰۳	۱۰/۰۳۶۳	۱۰/۰۲	۹/۱۸	۶/۷۴
P108	۱۰/۸۹	۱۱/۱۷	۱۰/۰۷	۱۳/۵۷	۱۴/۱۶	۸/۹۲	۷/۵۴
P11	۱۱/۶۹	۱۰/۲۹	۱۱/۲۵	۱۱/۵۲	۱۰/۵۴	۸/۶۳	۶/۱۷
P159	۱۲/۳۶	۱۲/۱۷	۱۱/۶۸	۹/۴۴	۱۰/۱۱	۸/۳۷	۶/۸
P4	۸/۹۹	۷/۶۱	۸/۶۸	۶/۳۱	۸/۱۵	۷/۳۸	۴/۲۸

LSD= ۱/۶۳۲

Archive of SID

www.SID.ir

جدول۶- تجزیه واریانس میانگین مربعات غلظت کادمیم شاخساره، ریشه، کل گیاه و فاکتور انتقال آن

منابع تغییرات	درجه آزادی	غلظت کادمیم شاخساره ($mg\ kg^{-1}$)	غلظت کادمیم ریشه ($mg\ kg^{-1}$)	غلظت کادمیم کل ($mg\ kg^{-1}$)	فاکتور انتقال کادمیم
کادمیم	۶	۵۰۹۵/۹۱۱**	۳۰۶۰۹/۵۷۲**	۶۰۰۰۶۵/۹۳۵**	۱/۱۹۹۶**
باکتری	۵	۲۷/۱۱۲**	۳۱۴/۸۴۹*	۴۵۸/۱۰۱**	۰/۰۹۸۱**
تکرار	۲	۰/۵۸۴۱ns	۱/۱۷۳ns	۰/۲۷۶ns	۰/۰۲۴۴ns
کادمیم*باکتری	۳۰	۱۵/۴۹۸**	۴۲/۶۳۳**	۷۳/۹۹۰**	۰/۰۳۶۲**
خطای آزمایش	۸۲	۲/۸۰۳	۱/۷۰۳	۴/۷۵۸	۰/۰۱۸۴
ضریب تغییرات		۷/۵۵۲	۳/۴۲۲	۳/۶۱۷	۱۶/۹۵۵۵

** و * به ترتیب معنی‌دار در سطح ۱ و ۵ درصد، ns عدم وجود اختلاف معنی‌دار

جدول ۷- مقایسه میانگین‌های غلظت کادمیم ($mg\ kg^{-1}$) در شاخساره در حضور تیمارهای باکتریایی

تیمار	سطوح کادمیم ($mg\ kg^{-1}$)					
	صفر	۵	۱۰	۱۵	۳۰	۵۰	۱۰۰
Cont.	۱/۶۳	۷/۲۵	۱۳/۳۳	۱۸/۱۲	۲۲/۰۹	۳۱/۲۵	۴۶/۷۷
P169	۲/۲۳	۸/۶۴	۱۴/۴۷	۲۰/۱۷	۲۵/۴	۳۲/۸	۵۱/۵۵
P108	۲/۰۸۳	۱۰/۱۳	۱۶/۵	۱۶/۵۲	۲۴/۸۷	۳۳/۶۷	۵۲/۲۲
P11	۲/۵	۸/۸۸	۱۴/۲۵	۱۸/۹۲	۲۴/۵	۴۱/۲	۵۳/۶۲
P159	۲/۲۱۷	۱۱/۵۵	۱۶/۷۳	۱۶/۷۷	۲۴/۱۳	۳۸/۴	۵۰/۱۵
P4	۱/۷۳	۸/۳۹۷	۱۷/۱	۱۵/۲۵	۲۳/۳۱	۳۱/۶۸	۵۸/۱۵

LSD= ۳/۶۰۳

جدول ۸- مقایسه میانگین‌های غلظت کادمیم ($mg\ kg^{-1}$) در ریشه در حضور تیمارهای باکتریایی

تیمار	سطوح کادمیم ($mg\ kg^{-1}$)					
	صفر	۵	۱۰	۱۵	۳۰	۵۰	۱۰۰
Cont.	۱/۳۸۶	۷/۷۲۹	۱۲/۴۶	۱۶/۸۳	۳۰/۸۳	۵۱/۶۱	۱۰۴/۳
P169	۱/۵۸۷	۹/۴۳	۱۶/۷۱۴	۲۱/۸۵	۳۴/۵۰	۵۴/۴۳	۱۱۴/۰۳
P108	۲/۱۴	۸/۸۶	۱۶/۸۵	۲۳/۶۷	۳۸/۱۷	۵۸/۱۹	۱۲۶/۲
P11	۲/۱۷۴	۸/۹۷	۱۴/۰۹	۲۳/۰۳۵	۳۵/۳۷	۵۶/۹۲	۱۲۰/۹۴
P159	۲/۰۲۷	۱۱/۱۴	۱۵/۷	۲۸/۴۱	۳۹/۱۱۷	۵۹/۳۲	۱۲۹/۶
P4	۱/۵۲	۱۱/۳۹	۱۸/۸۳	۲۸/۸۲	۴۳/۸۶	۶۲/۹۹	۱۳۵/۵۸

LSD= ۲/۸۰۸

جدول ۹- مقایسه میانگین‌های غلظت کادمیم (mg kg-1) در کل گیاه در حضور تیمارهای باکتریایی

تیمار	سطوح کادمیم ($mg\ kg^{-1}$)					
	صفر	۵	۱۰	۱۵	۳۰	۵۰	۱۰۰
Cont.	۳/۰۱۹	۱۴/۹۷	۲۵/۷۹	۳۴/۹۴	۵۲/۹۲	۸۲/۸۶	۱۵۱/۰۶
P169	۳/۸۲	۱۸/۰۷	۳۱/۱۸	۴۲/۰۱	۵۹/۹۰	۸۷/۲۳	۱۶۵/۵۸
P108	۴/۲۲	۱۸/۹۹	۳۳/۳۵	۴۰/۱۸	۶۳/۰۳	۹۱/۸۶	۱۷۸/۴۱
P11	۴/۶۷	۱۷/۸۶	۲۸/۳۴	۴۱/۹۵	۵۹/۸۷	۹۸/۱۲	۱۷۴/۶
P159	۴/۲۴	۲۲/۶۹	۳۲/۴۳	۴۵/۱۸	۶۳/۲۵	۹۷/۷۲	۱۷۹/۷۵
P4	۳/۲۵	۱۹/۷۹	۳۵/۹۳	۴۴/۰۷	۶۷/۱۸	۹۴/۶۸	۱۹۳/۷۳

LSD= ۴/۶۹۴

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱۰- مقایسه میانگین‌های فاکتور انتقال کادمیم گیاه*، در حضور تیمارهای باکتریایی

	سطوح کادمیم ($mg\ kg^{-1}$)					
تیمار	صفر	۵	۱۰	۱۵	۳۰	۵۰	۱۰۰
Cont	۱/۰۲۰۸	۰/۹۳۹	۱/۰۷۲	۱/۰۸۲	۰/۷۱۷	۰/۶۰۶	۰/۴۴۸
P169	۱/۴۳۲	۰/۹۲۱	۰/۸۶۳	۰/۹۳۰	۰/۷۳۷	۰/۶۰۳	۰/۴۵۲
P108	۰/۹۷۳	۱/۱۵۲	۰/۹۷۹	۰/۷۰۲	۰/۶۵۳	۰/۵۷۹	۰/۴۱۴
P11	۱/۲۲۴	۰/۹۹۲	۱/۰۱۴	۰/۸۲۲	۰/۶۹۳	۰/۷۲۶	۰/۴۴۳
P159	۱/۱۰۲	۱/۰۳۸	۱/۰۷۰	۰/۵۹۰	۰/۶۱۷	۰/۶۴۸	۰/۳۸۷
P4	۱/۱۴۰	۰/۷۴۱	۰/۹۱۱	۰/۵۲۹	۰/۵۳۲	۰/۵۰۳	۰/۴۲۹

LSD= ۰/۲۹۲

* فاکتور انتقال کادمیم در گیاه از تقسیم کردن میزان غلظت کادمیم در شاخساره به میزان غلظت آن در ریشه به دست می‌آید.

فهرست منابع:

۱. جلیلی،ف.، خاوازی، ک. واسدی رحمانی، ه.(۱۳۹۰). تأثیر سودوموناس‌های فلورسنت با فعالیت آنزیم ACC- دآمیناز بر شاخص‌های رشد کلزا در شرایط شور. مجله دانش آب و خاک، جلد ۲۱، شماره ۲، صفحات ۱۸۸-۱۷۵.

۲. رسولی صدقیانی، م. ح.، رحیمیان، ح . خاوازی، ک. ملکوتی، م. ج. و اسدی رحمانی، ه.(۱۳۸۴). بررسی تراکم جمعیت و شناسایی سودوموناس‌های فلورسنت در ریزوسفر گندم مناطق مختلف ایران. مجله علوم خاک و آب، جلد ۱۹، صفحات ۲۳۴-۲۲۴.

۳. قهرمانی، ر. (۱۳۸۷). بررسی شدت آلودگی خاک‌های جنوب تهران به کادمیم و میزان جذب آن توسط اسفناج. پایان‌نامه کارشناسی ارشد گروه خاکشناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، ایران.

۴. کریمیان، ن. (۱۳۷۷). پیامدهای زیادەروی در مصرف کودهای فسفاتی. مجله علوم خاک و آب، جلد۱۲، صفحات ۱-۱۴.

۵. گلچین، ا. و شفیعی، س. (۱۳۸۵). بررسی تأثیر کارخانجات سرب و روی زنجان بر آلودگی محصولات زراعی و باغی به فلزات سنگین. مجموعه مقالات همایش خاک، محیط زیست و توسعه پایدار، صفحات ۲۱-۲۲. دانشکده مهندسی آب و خاک پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران.

۶. لادن، ش. (۱۳۸۸). بررسی زیست‌پالایی خاک‌های آلوده به آرسنیک توسط پیازچه و کلم زینتی. پایان‌نامه دوره ارشد خاکشناسی. دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس. تهران، ایران.

۷. ملکوتی، م .ج. (۱۳۷۵). کشاورزی پایدار و افزایش عملکرد با بهینه سازی مصرف کود در ایران. انتشارات معاونت آموزش و تجهیز نیروی انسانی وزارت کشاورزی، ص ۲۷۹. کرج، ایران.

۸. ملکوتی، م. ج، بغوری،ا.، گلچین، ا .و خانی، م .ر. (۱۳۷۹). کنترل کیفی کودهای فسفاتی ضرورتی انکارناپذیر در راستای نیل به کشاورزی پایدار. مجله علوم خاک و آب،جلد ۱۲،صفحات ۶- ۱۱.

۹. ملکوتی ،م. ج.، کشاورز، پ. و کریمیان، ن .(۱۳۸۷). روش جامع تشخیص و توصیه بهینه کود برای کشاورزی پایدار «چاپ هفتم با بازنگری کامل». انتشارات دانشگاه تربیت مدرس، ص. ایران.

۱۰. ملکوتی ،م. ج. و همایی م. (۱۳۸۳). حاصلخیزی خاک‌های مناطق خشک و نیمه خشک (مشکلات و راه‌حل ها). چاپ دوم با بازنگری کامل. انتشارات دانشگاه تربیت مدرس، ۴۸۲ ص. تهران، ایران

11. Baharlouei, J., khavazi, K., Pazira, E., and Solhi, M. 2011. Evaluation of inoculation of plant growth-promoting rhizobacteria on cadmium and lead uptake by canola and barley. African Journal of Microbiology Research 14:1747-1754.

Archive of SID

www.SID.ir

12. Brooks, R. R. 1998. Plants that Hyperaccumulate Heavy Metals. CAB. International, Oxon, UK. P. 356.
13. Dell'Amico, E., Cavalca, L., and Andreoni, V. 2008. Improvement of *Brassica napus* growth under cadmium stress by cadmium-resistant rhizobacteria. Journal of Soil Biology and Biochemistry 40:74-84.
14. Glick, B. R. 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. Can. J. Microbiol. 41: 109-117.
15. Glick, B. R. 2003. Phytoremediation: Synergistic use of plants and bacteria to clean up the environment. Biotechnol. Adv. 21: 383-393.
16. Gupta, P.K. (2000). Soil, plant, water and fertilizer analysis. Agrobios, New Delhi, India. P. 438.
17. Haque, N., J. R. Peralta-Videa, G. L. Jones, T. E. Gill., and J. L. Gardea-Torresdey. 2008. Screening the phytoremediation potential of desert broom (Baccharis sarothroides Gray) growing on mine tailing in Arizona, USA. Environmental Pollution. 153: 362-368
18. Jalili, F., Khavazi, K., Pazira, E., Nejati, A., AsadiRahmani, H., RasuliSedghiani, H., and Miransari, M. 2009. Isolation and characterization of ACC deaminase- producing *fluorescent pseudomonads*,to alleviate salinity stress on canola(*Brassica napus L*.) growth . Journal of Plant Physiology 166: 667—674.
19. Kirkham, M.B. 2006. Cadmium in plants on polluted soils: Effects of soil factors, hyperaccumulation, and amendments. Geoderma 137:19–32.
20. Lin, J., and M. Schorr. 1997. A challenge for the phosphate industry: Cadmium removal Phosphorus and Potassium 208:27-31.
21. Rajkumar, M., Nagendran, R.,Lee., K. J. ,Lee., W H. and Kim. S .Z. 2006. Influence of plant growth promoting bacteria and Cr^{6+} on the growth of Indian mustard. Chemosphere 62:741-748.
22. Saxena, P. K., Krishnaraj, S., Dan, T., Perras, M. R. and Vettaakkorumakankav, N. N. 1999. Phytoremediation of heavy metal contaminated and polluted soils, In: Prasad, M. N. V., Hagemeyer, J. (eds.), Heavy Metal Stress in Plants: from Molecules to Ecosystems. Springer, Berlin, pp. 305-329.
23. Wu, S. C., Cheung, K. C., Luo, Y. M., and Wong, M. H. 2006. Effects of inoculation of plant growth-promoting rhizobacteria on metal uptake by *Brassica juncea*. Journal of Environmental Pollution 140: 124-135

Archive of SID

www.SID.ir