

تأثیر کاربرد سودوموناس‌های فلورسنت حل‌کننده فسفات بر جذب کادمیوم توسط ذرت در یک خاک آلوده

عبدالرضا اخگر¹، الهام احمدی‌نیا، محسن حمیدپور و حسین شیرانی

دانشیار گروه علوم خاک دانشگاه ولی عصر رفسنجان؛ arakhgar@yahoo.com

دانشجوی سابق کارشناسی ارشد دانشگاه ولی عصر رفسنجان؛ elhami_eh8929@yahoo.com

دانشیار گروه علوم خاک دانشگاه ولی عصر رفسنجان؛ mohsen_hamidpour@yahoo.com

استاد گروه علوم خاک دانشگاه ولی عصر رفسنجان؛ shirani379@yahoo.com

دریافت: 98/5/22 پذیرش: 98/9/27

چکیده

کادمیوم بدلیل سمی بودن و نیمه عمر طولانی در بدن انسان و حیوان از اهمیت ویژه‌ای در کشاورزی برخوردار می‌باشد. امروزه سعی بر آن است تا از باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) برای افزایش زیست‌فراهمی و جذب فلزات سنگین در خاک‌های آلوده استفاده شود. هدف این پژوهش بررسی کارایی باکتری‌های سودوموناس فلورسنت مقاوم به کادمیوم با توانایی حل فسفات‌های معدنی بر جذب کادمیوم توسط ذرت در یک خاک آلوده بود. بدین منظور یک آزمایش گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار انجام گرفت. تیمارها شامل چهار سطح باکتری (بدون باکتری (P0)، تلقیح با سه جدایه P1، P169 و P108) و چهار سطح زمان بعد از کشت (سه، شش، نه و دوازده هفته) بودند. خاک‌ها بطور مصنوعی با 13 میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم از منبع نیترات کادمیوم آلوده گردیدند. نتایج نشان داد تلقیح ذرت با جدایه‌های منتخب به طور معنی‌داری وزن خشک بخش هوایی و ریشه و نیز جذب کادمیوم بخش هوایی و ریشه را افزایش داد. بیشترین وزن خشک بخش هوایی مربوط به زمان 12 هفته با تلقیح باکتری P169 بود (31/22 درصد افزایش نسبت به شاهد). باکتری‌های P1 و P108 در هفته 12 اختلاف معنی‌داری با باکتری P169 نداشتند. هم‌چنین این ایزوله‌ها (P1 و P108) وزن خشک بخش هوایی را نسبت به شاهد به ترتیب معادل 23/81 و 25/21 درصد افزایش دادند. بیشترین جذب کادمیوم بخش هوایی ذرت در 12 هفته با تلقیح باکتری P169 بدست آمد. در هفته 12، باکتری P169 جذب کادمیوم بخش هوایی را نسبت به شاهد معادل 150 درصد و نسبت به دو جدایه P1 و P108 به ترتیب به میزان 13/81 و 37/75 درصد افزایش داد. اگرچه کاربرد تمام جدایه‌های مورد استفاده در آزمون گلخانه‌ای به طور معنی‌داری باعث افزایش جذب کادمیوم توسط ذرت شدند؛ لیکن تأثیر و کارایی جدایه P169 بیشتر از سایر جدایه‌ها بود.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه، فسفر، فلزات سنگین

¹ نویسنده مسئول، آدرس: رفسنجان، دانشگاه ولی عصر، دانشکده کشاورزی، گروه مهندسی علوم خاک

مقدمه

بحرانی آن 5 تا 10 میلی گرم بر کیلوگرم وزن خشک است (کلر و همکاران، 2005).

زیست فراهمی و تحرک فلزات سنگین در خاکها و جذب آنها توسط گیاه به عوامل مختلفی مانند غلظت فلزات سنگین در محلول خاک، پی اچ خاک، ظرفیت تبادل کاتیونی خاک، شوری خاک، توانایی فلز در تشکیل کمپلکس با لیگاندهای آلی موجود در محیط ریشه گیاه (ریزوسفر) و نوع گیاه بستگی دارد (حمیدپور و همکاران، 1391). نتایج پژوهش لیو و همکاران (2015) نشان داد انتقال کادمیوم از خاک به رقم های مختلف گندم به شدت به پی اچ خاک بستگی دارد.

آلودگی خاک با فلزات سنگین در حال تبدیل شدن به یکی از مسائل بسیار مهم زیست محیطی است (جیانگ و همکاران، 2008). کارایی گیاهان در جذب فلزات سنگین، تنها به گیاه مورد نظر وابسته نیست، بلکه به روابط متقابل میان ریشه گیاه با میکروارگانیسم های خاک و غلظت قابل جذب فلزات سنگین نیز بستگی دارد (ونگ و همکاران، 1989). باکتری های ریزوسفری مفید خاک و از جمله باکتری های ریزوسفری محرک رشد گیاه (PGPR) می توانند از طریق اعمال مکانیسم های محرک رشد ضمن افزایش زیست فراهمی فلزات سنگین باعث افزایش تولید زیست توده گیاهی و همچنین افزایش تحمل گیاهان به فلزات سنگین شوند (چن و همکاران، 2010).

روابط متقابل میان ریشه گیاه و میکروارگانیسم های خاک می تواند موجب بهبود قابلیت جذب زیستی فلزات سنگین موجود در ریزوسفر گیاه گردد (ساروانا و همکاران، 2007). باکتری های PGPR، قادرند از طریق تولید کلات ها و نیز ترشح اسیدهای آلی باعث افزایش حلالیت فرم های غیر قابل دسترس ترکیبات معدنی دارای فلز سنگین شوند (کالینوسکی و همکاران، 2000). گونه های سودوموناس فلورسنت نیز به دلیل دارا بودن سازوکارهای مختلفی از جمله تولید هورمون های گیاهی، انحلال فسفات های نامحلول، تولید سیدروفور و آنزیم ACC دآمیناز که مقدار اتیلن در گیاه را تنظیم می کند، سبب تحریک رشد گیاه شده (عبدل جلیل و همکاران، 2007). زیست توده گیاهی را افزایش می دهند. این باکتری ها همچنین از طریق ترشح اسیدهای آلی قادرند انحلال پذیری شکل های غیر قابل دسترس کانی های معدنی حاوی فلز سنگین را بالا برده فراهمی آنها را در خاک افزایش دهند (کالینوسکی و همکاران، 2000).

با عنایت به مطالب فوق و با توجه به نقش باکتری های PGPR و بخصوص حل کننده های فسفات های معدنی در افزایش زیست توده گیاهی و فراهمی عناصر در

خاک به عنوان جزئی از بیوسفر، نقش مهمی در تولید غذا و پایداری محیط زیست دارد. افزایش جمعیت و به همراه آن گسترش صنایع بدون رعایت مسائل و استانداردهای زیست محیطی سبب آلودگی محیط زیست می گردد (زارعی و همکاران، 1390). به طور کلی هر نوع تغییر در ویژگی های اجزای تشکیل دهنده محیط به طوری که عملکرد طبیعی و تعادل زیستی آن مختل گردد و به طور مستقیم یا غیر مستقیم منافع و حیات موجودات زنده را به مخاطره اندازد، آلودگی محیط زیست گفته می شود (دبیری، 1375). در یک نوع تقسیم بندی، منابع آلاینده را به دو دسته نقطه ای (در یک نقطه متمرکز و معمولاً دارای غلظت بالای آلاینده ها) و غیرنقطه ای (دارای غلظت کمتر و دامنه انتشار وسیع تر) تقسیم می کنند (عرفان منش و افیونی، 1379). در حال حاضر منابع آلاینده های غیرنقطه ای به عنوان مهم ترین عوامل آلوده کننده ی آب و خاک در مقیاس جهانی به شمار می روند و کشاورزی و حمل و نقل، بیشترین سهم را در ایجاد این نوع آلاینده ها دارند (وهابزاده، 1372).

یکی از مهم ترین آلاینده های خاک، فلزات سنگین می باشند. فلزات سنگین به فلزاتی گفته می شود که وزن مخصوص آنها بیشتر از 5/5 گرم بر سانتی متر مکعب باشد. فلزات سنگین پایدار، غیر قابل تجزیه و در غلظت بالا سمی هستند (ایجاگمی و همکاران، 2009). پایداری فلزات سنگین باعث تجمع آنها در مواد غذایی و محیط زیست شده، صدمات مهم و جبران ناپذیری را ایجاد می کنند (فو و همکاران، 2008). در بین فلزات سنگین، کادمیوم به علت نیمه عمر طولانی در بدن انسان و حیوانات و نیز سمی بودن، از اهمیت ویژه ای برخوردار است (گوپتا و باتاچاریا، 2008). کودهای فسفاته و لجن فاضلاب از مهم ترین منابع کادمیوم در خاکها به شمار می روند (کاباتا-پندیاس و پندیاس، 2001). متوسط جهانی غلظت کادمیم در خاک 0/06 - 1/1 میلی گرم در کیلوگرم گزارش شده است (کاباتا-پندیاس و پندیاس، 2001). متوسط مقایسه گزارش شده این عنصر در خاک های ایران قابل مقایسه با متوسط جهانی است. امینی و همکاران (2005) متوسط غلظت کادمیوم در خاک های مناطق مرکزی ایران را 1/7 میلی گرم در کیلوگرم گزارش و مهم ترین مسیر ورود کادمیوم به خاک های زراعی اصفهان را استفاده از کودهای فسفاته ذکر کردند.

غلظت مجاز کادمیوم کل از 1 تا 5 میلی گرم در کیلوگرم خاک می باشد (کارینی، 1995). همچنین غلظت کادمیوم در گیاه بین 0/03 تا 2 میلی گرم بر کیلوگرم و حد

مدت، pH نمونه‌ها قرائت و بلافاصله سوسپانسیون باکتری سانتیفریوژ و یک میلی‌لیتر از محلول رویی با سه میلی‌لیتر آب مقطر و یک میلی‌لیتر معرف آمونیوم مولیبدات-وانادات مخلوط گردید. پس از گذشت 20 دقیقه، میزان جذب نور با استفاده از اسپکتروفتومتر در 470 نانومتر قرائت و مقدار فسفر آزاد شده توسط هر جدایه با استفاده از منحنی استاندارد تهیه‌شده از غلظت‌های 0، 5، 10، 15، 20 و 25 میلی‌گرم در لیتر KH_2PO_4 محاسبه گردید.

اندازه‌گیری توانایی تولید اکسین

به منظور اندازه‌گیری میزان تولید اکسین (IAA^1) جدایه‌ها از روش بنت و همکاران (2001) با کمی تغییرات استفاده شد. 50 میکرولیتر از سوسپانسیون هر یک از جدایه‌ها به 25 میلی‌لیتر محیط NB حاوی 50 میکروگرم در میلی‌لیتر ال-تریپتوفان منتقل و برای 72 ساعت شیکر گردید. پس از گذشت این مدت سوسپانسیون مذکور سانتیفریوژ و یک میلی‌لیتر از محلول رویی با 4 میلی‌لیتر از معرف سالکوفسکی مخلوط و به مدت 20 دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. میزان جذب نور در طول موج 535 نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر قرائت گردید. مقدار تولید اکسین توسط هر جدایه از مقایسه جذب نور با منحنی استاندارد تهیه شده با غلظت-های 0، 5، 10، 15، 20 و 30 میلی‌گرم در لیتر از ایندول استیک اسید محاسبه گردید.

اندازه‌گیری توانایی تولید سیدروفور

به منظور ارزیابی توان جدایه‌ها در تولید سیدروفور از محیط Cas Blue Agar استفاده شد (الکساندر و زوبر؛ 1991). در این روش سوسپانسیون جدایه‌ها تهیه و از طریق لکه‌گذاری در محیط Cas-Agar کشت داده شدند. هم‌زمان با تلقیح جدایه‌های مورد آزمایش، از یک سویه واجد توان تولید سیدروفور به عنوان شاهد مثبت و از یک سویه فاقد توان تولید سیدروفور به عنوان شاهد منفی نیز استفاده گردید. توانایی تولید سیدروفور جدایه‌ها از طریق اندازه‌گیری هاله نارنجی رنگ تشکیل شده در اطراف کلنی باکتری‌ها و در فواصل زمانی مختلف ارزیابی گردید.

آزمون گلخانه‌ای

آزمون گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با 4 تکرار انجام گرفت. فاکتورها شامل باکتری در چهار سطح (بدون باکتری (P0)، تلقیح با سه جدایه P1، P169 و P108) و زمان در چهار سطح (3، 6، 9 و 12 هفته) بودند.

خاک؛ این پژوهش به منظور بررسی اثر برخی باکتری‌های سودوموناس فلورسنت حل‌کننده فسفات بر جذب کادمیوم توسط ذرت در یک خاک آلوده انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری

به منظور جداسازی باکتری‌های سودوموناس فلورسنت مقاوم به کادمیوم از ریزوسفر، تعداد 7 نمونه از خاک ریزوسفری گیاهان زراعی و غیرزراعی از اراضی آلوده به کادمیوم اطراف معدن باما واقع در منطقه آب نیل اصفهان با مختصات $24^{\circ}34'51''\text{E}$ و $48^{\circ}30'32''\text{N}$ برداشته و به آزمایشگاه بیولوژی خاک دانشگاه ولی عصر رفسنجان منتقل شد.

جداسازی باکتری‌های سودوموناس فلورسنت ریزوسفری

به منظور جداسازی باکتری‌های ریزوسفری، ابتدا خاک‌های اضافی اطراف ریشه ذرت با دقت جدا شدند و برای هر نمونه، مقدار 10 گرم از خاک ریزوسفری به همراه مقادیری ریشه فرعی به ارلن 250 میلی‌لیتری حاوی 90 میلی‌لیتر سرم فیزیولوژیک (کلرید سدیم 0/85 درصد) منتقل و پس از افزودن یک قطره توئین 20 به مدت نیم‌ساعت شیکر گردید. سپس از سوسپانسیون حاصل، رقت‌های مختلف (10^{-3} تا 10^{-7}) تهیه و یک‌دهم میلی‌لیتر از هر رقت بر سطح محیط کشت جامد king B پخش گردید. پس از 48 ساعت از رشد باکتری‌ها، مجموعاً 7 کلونی از بالاترین رقت‌های نمونه‌ها که در معرض نور UV دارای تلائو فلورسانس بودند انتخاب و خالص‌سازی شدند (برگی، 1984).

ارزیابی مقاومت جدایه‌ها به کادمیوم

به منظور ارزیابی مقاومت جدایه‌ها به کادمیوم، هر نمونه باکتریایی در 30 میلی‌لیتر محیط کشت king B حاوی سطوح مختلف کادمیوم (0، 15، 30، 45، 60، 75 و 90 میلی‌گرم در لیتر از منبع کادمیوم کلرید) در دو تکرار کشت داده شد. رشد باکتری در محیط کشت حاوی غلظت معین کادمیوم به منزله مقاومت باکتری به کادمیوم در آن غلظت در نظر گرفته شد.

توانایی جدایه‌های مقاوم به کادمیوم در حل تری‌کلسیم

فسفات

به منظور بررسی توان جدایه‌ها در انحلال فسفات‌های معدنی نامحلول، از محیط کشت اسپربر استفاده گردید (اسپربر، 1958). 100 میکرولیتر از سوسپانسیون هر باکتری به 30 میلی‌لیتر محیط اسپربر مایع انتقال یافت. نمونه‌ها به مدت 120 ساعت بر روی شیکر با 150 دور در دقیقه و دمای 28 درجه سلسیوس تکان داده شدند. پس از این

¹ Indole 3-acetic acid

بخش کوچکی از خاک اضافه و سپس خاک آلوده حاصل با تمام خاک مخلوط شد تا توزیع یکنواختی در خاک ایجاد گردد. به منظور تعادل بین محلول خاک محتوی کادمیوم با فاز جامد خاک، خاکها در کیسه پلاستیکی به مدت سه ماه در رطوبت مناسب و دمای گلخانه خوابانده شدند.

تهیه و آماده سازی خاک برای کشت

هر گلدان با مخلوط یک کیلوگرم خاک الک شده و یک کیلوگرم ماسه بادی شسته شده پر شدند. برخی از ویژگی های فیزیکی و شیمیایی خاک در جدول 1 آمده است. برای آلوده کردن خاک از 13 میلی گرم بر کیلوگرم کادمیوم از منبع نترات کادمیوم (Cd(NO₃)₂) استفاده گردید. بدین منظور مقدار معینی از محلول مورد نظر به

جدول 1- برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه

پارامتر	خصوصیت
بافت	لوم شنی
فسفر (میلی گرم در کیلوگرم)	10/67
pH کل اشباع	7/90
قابلیت هدایت الکتریکی (dS/m)	1/1
ماده آلی (درصد)	0/4
ظرفیت تبادل کاتیونی (mmol/kg)	8/5

اندازه گیری محتوای کلروفیل

یک روز قبل از برداشت، مقدار کلروفیل به روش آرنون (1949) و بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر اندازه گیری شد. برای این کار ابتدا، 0/25 گرم از برگ تازه گیاه با 10 میلی لیتر استن 80 درصد در هاون چینی سائیده شد. سوسپانسیون حاصل به مدت 10 دقیقه در 3500 دور در دقیقه در دمای 4 درجه سلسیوس سانتریفیوژ و محلول فوقانی صاف گردید. مقدار جذب محلول فوقانی با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل T80UV/VIS در طول موج های 663/6، 646/6 و 470 نانومتر قرائت گردید در نهایت مقادیر کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها با استفاده از فرمول های زیر بدست آمد.

$$\text{Chlorophyll a (mg/g)} = \frac{(12.7 (A_{663}) - 2.69 (A_{645})) \times (V/1000W)}{V}$$

$$\text{Chlorophyll b (mg/g)} = \frac{(22.9 (A_{645}) - 4.68 (A_{663})) \times (V/1000W)}{V}$$

$$\text{Total chlorophyll (mg/g)} = \frac{(20.2 (A_{645}) + 8.02 (A_{663})) \times (V/1000W)}{V}$$

$$\text{Carotenoids (mg/g)} = \frac{((1000 (A_{470}) - 3.27[\text{chl a}] - 104[\text{chl b}])/227) \times (V/1000W)}{V}$$

$$V = \text{حجم نهایی عصاره (میلی لیتر)}$$

$$W = \text{وزن تر نمونه (گرم)}$$

$$A = \text{میزان جذب نور}$$

برداشت و اندازه گیری عناصر

برای عملیات برداشت، ابتدا بخش هوایی گیاه از محل طوقه قطع شد. ریشه ها نیز از خاک خارج و پس از شستشو با آب مقطر مورفولوژیکی آنها بررسی گردید. بخش هوایی و ریشه گیاهان بطور جداگانه درون آون در دمای 65 درجه سلسیوس خشک و سپس توزین شدند. نمونه ها توسط آسیاب برقی پودر گردیدند. نیم گرم از هر نمونه پودر شده به داخل بوتله چینی منتقل و در دمای

تهیه مایه تلقیح

جدایه های منتخب به مدت 48 ساعت درون محیط کشت مایع TSB¹ کشت و پس از هم سان نمودن تراکم سوسپانسیون ها با جمعیت 10⁸ cfu/ml به عنوان مایه تلقیح مورد استفاده قرار گرفتند.

جوانه دار کردن بذرها

در این آزمون از بذرهای ذرت رقم سینگل گراس 704 استفاده گردید. بذرها پس از ضد عفونی سطحی به مدت 48 ساعت در دمای 25 درجه سلسیوس بر روی محیط آب-آگار قرار داده شدند تا جوانه دار شوند.

کشت در گلدانها

در این آزمون از گلدان های پلاستیکی دو کیلوگرمی استفاده شد. کوددهی خاک گلدانها با عناصر غذایی نیتروژن از منبع اوره (در دو نوبت) و پتاسیم از منبع سولفات پتاسیم و براساس آزمون خاک صورت گرفت. در هر گلدان تعداد 8 بذر ذرت جوانه دار شده کشت شد. هنگام کاشت، هر بذر با یک میلی لیتر از سوسپانسیون باکتری مورد نظر تلقیح گردید و گلدانها با آب مقطر و به روش وزنی در حد 70 درصد ظرفیت زراعی آبیاری شدند. پس از استقرار کامل نهالها (حدود دو هفته پس از کشت)، در هر گلدان تعداد 5 نهال که از نظر اندازه مشابه بودند نگه داشته و بقیه نهالها از گلدانها خارج گردیدند. گلدانها به مدت دو ماه و نیم در شرایط گلخانه با نور طبیعی و دمای 25 ± 1 نگه داری شدند.

¹ Trypton Soya Bean

نتایج و بحث

مقاومت جدایه‌ها به کادمیوم

مقاومت باکتری‌ها به کادمیوم در جدول (2) نشان داده شده است. جدایه P5 بیشترین مقاومت به کادمیوم (75 میلی‌گرم در لیتر) را داشت. دو جدایه P4 و P7 تا سطح 45 میلی‌گرم در لیتر و سایر جدایه‌ها تا سطح 30 میلی‌گرم در لیتر مقاوم بودند. هم‌چنین از بین سه باکتری، باکتری P169 تا سطح 60 میلی‌گرم در میلی‌لیتر و دو باکتری P108 و P11 تا سطح 30 میلی‌گرم در لیتر مقاوم به کادمیوم بودند. گزارش شده است که حدود 50 درصد از باکتری‌های جدا شده از خاک لوم شنی آلوده به فلزات سنگین، مقاوم به کادمیوم هستند (بیوتروسکا و همکاران، 2005).

550 درجه سلسیوس داخل کوره به‌روش خشک‌سوزانی خاکستر شدند. برای تهیه عصاره، 5 میلی‌لیتر اسیدکلریدریک 2 نرمال به هر یک از نمونه‌ها افزوده و پس از عبور از کاغذ صافی به حجم 50 میلی‌لیتر رسانده شد. کادمیوم بوسیله جذب اتمی Awanta مدل GBC_932 اندازه‌گیری شد (کوئینی، 1980).

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه واریانس تمامی داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS صورت گرفت و مقایسه میانگین‌ها بر مبنای آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. هم‌چنین نمودارها و جدول‌های مربوطه با استفاده از برنامه‌های Word و Excel رسم گردید.

جدول 2- ارزیابی مقاومت جدایه‌ها به سطوح کادمیوم

جدایه	سطوح کادمیوم (mg l^{-1})						
	90	75	60	45	30	15	0
P ₁	-	-	-	-	+	+	+
P ₂	-	-	-	-	+	+	+
P ₃	-	-	-	-	+	+	+
P ₄	-	-	-	+	+	+	+
P ₅	-	+	+	+	+	+	+
P ₆	-	-	-	-	+	+	+
P ₇	-	-	-	+	+	+	+
P ₁₆₉	-	-	+	+	+	+	+
P ₁₀₈	-	-	-	-	+	+	+
P ₁₁	-	-	-	-	+	+	+

+ و - : به ترتیب وجود و عدم وجود ویژگی مورد نظر

توانایی جدایه‌ها در حل فسفات‌های معدنی

در جدول 3 نشان داده شده است. با توجه به نتایج این جدول جدایه‌ها اثر معنی‌داری در سطح یک درصد بر حلالیت فسفر و pH محیط کشت داشتند.

نتایج تجزیه واریانس تأثیر جدایه‌ها بر حلالیت تری-کلسیم فسفات در محیط اسپریر مایع و pH محیط کشت

جدول 3- تجزیه واریانس حلالیت تری کلسیم فسفات و pH در محیط کشت اسپریر

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		غلظت فسفر آزاد شده (mg L^{-1})	pH
جدایه	9	34748/69*	1/64*
خطا	20	208/3	0/016
CV	-	7/47	2/82

* * معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

قادر به انحلال تری‌کلسیم فسفات در این محیط بودند. بیشترین حلالیت فسفر با 401/44 میلی‌گرم در لیتر از

نتایج مقایسه میانگین تأثیر جدایه‌ها بر حلالیت فسفر در محیط مایع (جدول 4) نشان داد که تمامی جدایه‌ها

M45 و B16 قادر به آزاد کردن فسفر به ترتیب به مقدار 458/3، 447/6 و 427/7 میلی گرم در لیتر در محیط کشت پیکوسفکایا (PKV) بودند. همچنین این جدایه ها pH محیط را از 7 به 4/1، 4/3 و 4/5 کاهش دادند (جون و همکاران، 2003). در تحقیقی دیگر نشان داده شد که باکتری های *Bacillus sp.* و *Pseudomonas sp.* جدا شده از خاک های آلوده به کادمیوم، حلالیت فسفر را به ترتیب به مقدار 12/23 و 9/72 میلی گرم در لیتر افزایش دادند و pH محیط را نیز از 7 به 3/78 و 5/1 کاهش دادند (سوسیلوتی و سیخفانی، 2014).

جدایه P1 به دست آمد که با هیچ کدام از جدایه ها در یک سطح آماری قرار نگرفت. همچنین تلقیح محیط اسپربر مایع با دو جدایه P1 و P4 باعث شد که pH محیط از 7/2 به ترتیب به 3/38 و 5/45 کاهش یابد. در این پژوهش هم بستگی منفی و معنی داری ($r=0/50$) بین غلظت فسفر و pH محیط کشت حاوی تری کلسیم فسفات مشاهده گردید. باکتری های حل کننده فسفات که در ریزوسفر به وفور یافت می شوند با ترشح اسیدهای آلی قادرند ترکیبات فسفات معدنی کم محلول را به فرم قابل استفاده برای گیاه در آورند (ناهاس، 1996). در تحقیقی گزارش شده است که سه سویه سودوموناس فلورسنت MCO7،

جدول 4- مقایسه میانگین غلظت فسفر و pH محیط کشت اسپربر

شماره جدایه	غلظت فسفر آزاد شده ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	pH
P ₁	401/44a	3/38f
P ₂	138/07de	3/69e
P ₃	121/02ef	5/39a
P ₄	94/5g	5/45a
P ₅	161/22d	5/07b
P ₆	139/03de	5/1b
P ₇	158/97d	4/91b
P ₁₆₉	329/73b	4/1d
P ₁₀₈	292/1fc	4/34c
P ₁₁	96/5fg	3/94d

میانگین های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون فاقد اختلاف معنی دار در

سطح پنج درصد به روش دانکن می باشند.

انتخاب جدایه ها برای آزمون گلخانه ای

با توجه به نتایج حاصل از آزمون های توانایی جدایه ها در مقاومت به کادمیوم و حل تری کلسیم فسفات، جدایه P1 از مزارع آلوده به کادمیوم در اصفهان و دو جدایه P169 و P108 که از مؤسسه تحقیقات خاک و آب تهیه شده بود برای آزمون گلخانه ای مورد استفاده قرار گرفتند.

توان تولید اکسین و سیدروفور جدایه های منتخب

نتایج نشان داد که میزان اکسین تولید شده در جدایه P169 و P108 به ترتیب 3/98 و 2/15 میکروگرم بر میلی لیتر بود و جدایه P1 نسبت به دو جدایه فوق میزان اکسین کمتری معادل 0/18 میکروگرم بر میلی لیتر تولید می کرد. هم چنین نتایج آزمون تولید سیدروفور نشان داد که نسبت قطر هاله به کلونی جدایه P1، P169 و P108 به ترتیب 2/13، 1/92 و 1/50 بود.

تأثیر جدایه های منتخب و سطوح زمان بر برخی شاخص های رشدی و فیزیولوژیک ذرت

نتایج تجزیه واریانس تأثیر جدایه های منتخب و سطوح زمان بر شاخص های رشدی و فیزیولوژیک ذرت در جدول 4 نشان داده شده است. تیمارهای باکتری بر وزن خشک بخش هوایی و ریشه و نیز بر مقدار کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئید در سطح یک درصد اثر معنی داری داشتند. هم چنین تیمار زمان اثر معنی داری در سطح یک درصد بر تمامی پارامترهای رشدی و فیزیولوژیکی اندازه گیری شده داشت. برهم کنش تیمارهای باکتری و سطوح زمان بر وزن خشک بخش هوایی و کلروفیل a در سطح پنج درصد و بر کلروفیل کل و کاروتنوئید در سطح یک درصد معنی دار شد.

جدول 4- تجزیه واریانس تأثیر جدایه‌های منتخب و سطوح زمان و اثرات متقابل آنها بر شاخص‌های رشدی و فیزیولوژیک ذرت میانگین مربعات

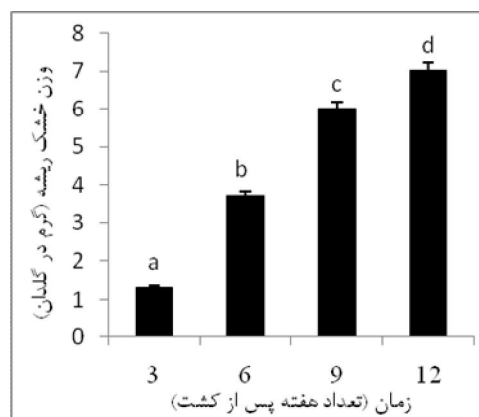
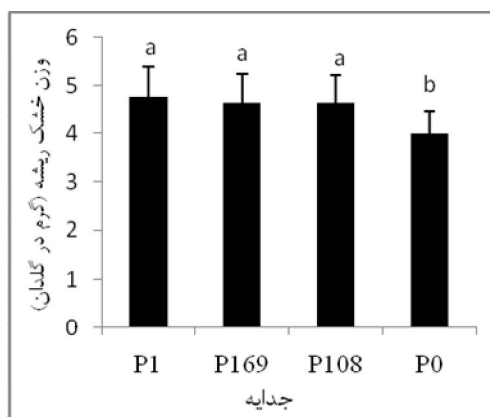
منابع تغییر	درجه آزادی	وزن خشک بخش هوایی	وزن خشک ریشه	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید
جدایه	3	7/8648**	1/97**	0/936**	0/11**	1/83**	57/05**
زمان	3	568/87**	103/12**	1**	0/11**	1/32**	84/84**
جدایه x زمان	9	2/0214*	0/52 ^{ns}	0/043 ^{ns}	0/03 ^{ns}	0/17**	9/93**
خطا	48	0/92	0/26	0/02	0/011	0/04	1/84
CV	-	13/43	11/26	22/22	43/17	24	24

تأثیر جدایه‌های منتخب و سطوح زمان بر شاخص‌های رشد

با افزایش زمان، وزن خشک ریشه افزایش یافت (شکل 1-B).

برد و همکاران (2000) گزارش کردند که برخی از باکتری‌های محرک رشد با تولید ترکیبات خاصی می‌توانند رشد گیاه را به‌طور معنی‌داری در حضور فلزات سنگین افزایش دهند. شنگ و زیبا (2006) نشان دادند که در اراضی آلوده به کادمیوم، وزن خشک ریشه کلزا در حضور سه باکتری از جنس‌های *باسیلوس*، *سودوموناس* و *زانتوموناس* به میزان 8 تا 20 درصد افزایش یافت.

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که کاربرد سه جدایه P1، P169 و P108 باعث افزایش معنی‌دار وزن خشک ریشه به ترتیب معادل 19/55، 16/54 و 16/04 درصد نسبت به شاهد شد؛ لیکن بین این سه جدایه تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید (شکل 1-A). همچنین نتایج نشان داد که



A

B

شکل 1- تأثیر کاربرد تیمارهای جدایه و زمان بر وزن خشک ریشه ذرت (به ترتیب A و B)

12 هفته با تلقیح جدایه P169 بود که نسبت به شاهد 31/22 درصد افزایش نشان داد. هم‌چنین جدایه‌های P1 و P108 در هفته 12 اختلاف معنی‌داری با جدایه P169 نداشتند و توانستند وزن خشک بخش هوایی را نسبت به شاهد به ترتیب معادل 23/81 و 25/21 درصد افزایش دهند (جدول 5). رسولی صدیقیانی و همکاران (1392) گزارش کردند که در گیاهان تلقیح شده با باکتری‌های

نتایج مقایسه میانگین اثر برهم‌کنش تیمارهای جدایه و زمان بر وزن خشک بخش هوایی ذرت نشان داد که بین تیمارهای جدایه تا هفته ششم اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد و اختلاف از بعد از هفته ششم اتفاق افتاده است بطوری که در هفته نهم جدایه P169 توانست وزن خشک بخش هوایی ذرت را به‌طور معناداری افزایش دهد. بیشترین وزن خشک بخش هوایی مربوط به زمان

باکتری *B. megaterium* در سطح احتمال 5 درصد گزارش کردند. همچنین آنها نشان دادند که بیشترین وزن خشک در تلقیح با باکتری *B. megaterium* و در زمان 12 هفته رخ داد.

سودوموناس فلورسنت با افزایش زمان، وزن خشک بخش هوایی و ارتفاع گیاه افزایش یافت. ژوانگ و همکاران (2012) افزایش معنی دار وزن خشک بخش هوایی و ریشه *B. juncea* را در خاک آلوده به کادمیوم در حضور

جدول 5- مقایسه میانگین برهم کنش جدایه و زمان بر وزن خشک بخش هوایی ذرت

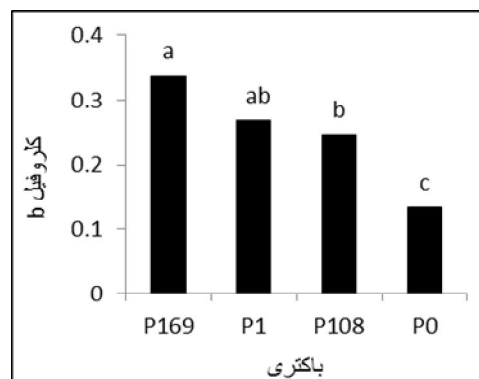
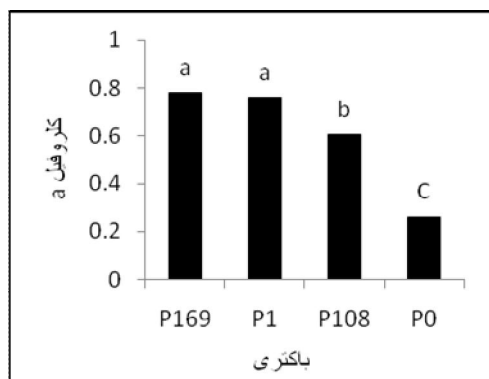
تعداد هفته پس از کشت		جدایه ها			
12	9	6	3		
12/01b	8/60d	3e	0/97f		P ₀
14/87a	9/19cd	4/02e	1/32f		P ₁
15/76a	10/32c	3/90e	1/16f		P ₁₆₉
15/04a	9/59cd	3/48e	1/12f		P ₁₀₈

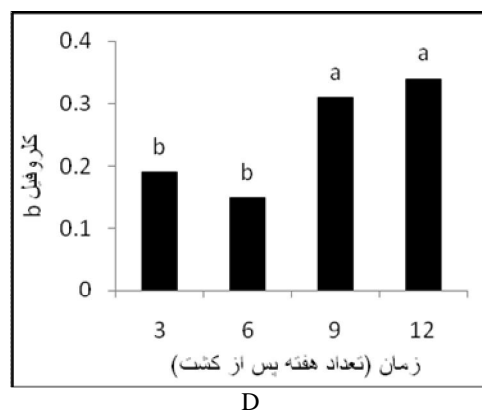
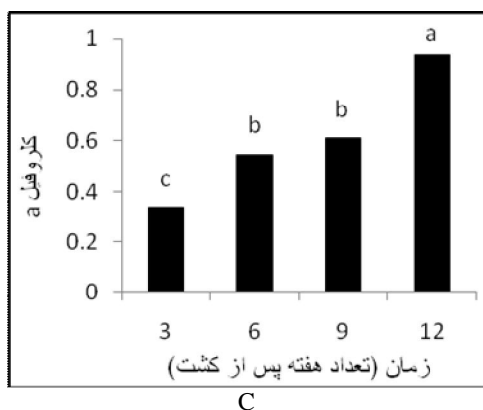
میانگین های دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک در هر ستون فاقد اختلاف معنی دار در سطح پنج درصد به روش دانکن می باشند.

کلروفیل a و b

b و همچنین کاروتنوئیدها در گیاهان عالی را کاهش می دهد (سانیتا دی تاپی و گابریل، 1999؛ شوران، 1990). لیکن کاربرد باکتری های محرک رشد میتواند اثر منفی کادمیوم بر میزان کلروفیل را تعدیل نماید. ظفر و همکاران (2011) گزارش نمودند که تلقیح باکتری های محرک رشد باعث افزایش میزان کلروفیل برگ گندم و ذرت گردید. مهرورز و همکاران (2008) نشان دادند که کاربرد باکتری *Pseudomonas putida* S41 باعث افزایش 49/5 درصدی کلروفیل برگ جو شد و این افزایش از نظر آماری معنی دار بود. استفان و همکاران (2013) افزایش قابل توجه محتوای کلروفیل برگ لوبیا را در 42 و 59 روز پس از کاشت و تلقیح با سویه های باکتری *Bacillus pumilus* (S4) و *Bacillus mycoide* (S7) گزارش کردند.

مقایسه میانگین ها نشان داد که کاربرد سه جدایه P1، P169 و P108 باعث افزایش معنی دار کلروفیل a به ترتیب معادل 200، 192 و 132 درصد و کلروفیل b به ترتیب معادل 101، 154 و 86 درصد نسبت به شاهد شد (شکل 2A و 2B). مقایسه میانگین تأثیر سطوح زمان بر کلروفیل a نیز نشان داد که با افزایش زمان، کلروفیل a افزایش یافت لیکن بین زمان 6 و 9 هفته از نظر آماری تفاوت معنی داری مشاهده نگردید (شکل 2C). همچنین مقایسه میانگین ها نشان داد میزان کلروفیل b تا 6 هفته بدون تغییر و از آن پس افزایش معنی داری داشت (شکل 2D). گزارش شده است که کادمیوم سبب ایجاد حالت کلروز و نکروز در برگ شده (هرناندز و همکاران، 1998؛ زانگ، 2002)، میزان کلروفیل کل، کلروفیل a و





شکل 1- کاربرد تیمارهای جدایه و زمان بر میزان کلروفیل a (A و C) و کلروفیل b (B و D) (میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ)

کلروفیل کل و کاروتنوئید

کادمیوم بر فرآیندهای اصلی گیاه نظیر فتوسنتز، تکثیر سلولی و جذب آب توسط ریشه‌های گیاهان اثر می‌گذارد. نتایج مقایسه میانگین برهمکنش تیمارهای جدایه و زمان بر کاروتنوئید (جدول 7) نشان داد که بیشترین میزان کاروتنوئید در زمان 12 هفته با تلقیح جدایه‌ها و کمترین در زمان 6 هفته عدم تلقیح جدایه معادل 1/03 میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ مشاهده شد. همچنین در زمان 9 هفته فقط جدایه P₁₆₉ معادل 7/87 میلی‌گرم در گرم توانست بیشترین تأثیر را بگذارد. با توجه به جدول (7) میانگین میزان کاروتنوئید تحت تأثیر برهم-کنش تیمارهای جدایه و زمان معادل 5/6 میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ بود که 6/59 برابر کلروفیل کل و 6/3 برابر کلروفیل a به‌دست آمد. گزارش شده است که مقدار کاروتنوئیدها در گیاهان تحت تنش کادمیوم کاهش می‌یابد. این کاهش به دلیل فرونشانی غیرفتوشیمیایی کلروفیل‌های برانگیخته است که توسط کاروتنوئیدها انجام و در نتیجه باعث به‌هم ریختن ساختارشان می‌گردد. کاروتنوئیدها در سمیت‌زدایی کلروفیل برانگیخته سه‌تایی نقش دارند. کاروتنوئیدها در چند سطح باعث کاهش اثرات سمی رادیکال‌های آزاد می‌شوند که از جمله واکنش با کلروفیل برانگیخته برای ممانعت از تشکیل رادیکال‌های فعال اکسیژن است (سانیتا دی تاپی و گابریل، 1999).

نتایج مقایسه میانگین برهم‌کنش تیمارهای جدایه و زمان بر کلروفیل کل (جدول 6) نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل کل در زمان 12 هفته با تلقیح جدایه P₁₆₉ و زمان 9 هفته با تلقیح جدایه P₁ مشاهده شد؛ به‌طوری‌که بین این دو تیمار تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. کمترین میزان کلروفیل در زمان 6 هفته عدم تلقیح جدایه که با تیمار 3 هفته عدم تلقیح جدایه در یک سطح آماری قرار گرفتند. میانگین کلروفیل کل معادل 0/85 میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ و میانگین کلروفیل a برابر 0/6 میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ بود. بنابراین کلروفیل کل 1/41 برابر کلروفیل a شد. کاهش میزان کلروفیل در گیاهان تحت تنش فلزات سنگین، به علت مهار مراحل مختلف بیوسنتز کلروفیل است (خلیقی و خارا، 1387). مهار بیوسنتز کلروفیل احتمالاً به‌واسطه مهار سنتز دلتا آمینولولینیک و مهار تشکیل پروتوکلروفیلید ردوکتاز است (واسیلو و یوردانوو، 1997). همچنین جایگزین شدن یون منیزیم مرکزی کلروفیل به‌وسیله فلزات سنگین صدمه دیگری است که باعث جلوگیری از به‌دام انداختن نور فتوسنتزی و در نتیجه از بین رفتن کلروفیل و کاهش فعالیت فتوسنتزی می‌شود (پراسا و استرازالکا، 1999). حقیری (1973) گزارش کرد که غلظت زیاد کادمیوم در محیط رشد، جذب آهن توسط گیاه را مختل و سمیت

جدول 6- مقایسه میانگین برهمکنش تأثیر جدایه‌ها و سطوح زمان بر کلروفیل کل (میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ)

میانگین	جدایه				زمان (هفته)
	P108	P169	P1	P0	
0/63C	0/70 ^{ef}	1/065 ^{cd}	0/53 ^f	0/20 ^{gh}	3
0/61C	0/61 ^{ef}	0/96 ^{cde}	0/71 ^{ef}	0/11 ^{gh}	6
0/95B	0/63 ^{ef}	1/26 ^{abc}	1/44 ^a	0/47 ^{fg}	9
1/22A	1/41 ^{ab}	1/54 ^a	1/10 ^{bcd}	0/78 ^{def}	12
0/85	0/85B	1/21A	0/94B	0/39C	میانگین

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد به‌روش دانکن می‌باشند.

جدول 7- مقایسه میانگین برهمکنش تأثیر جدایه‌ها و سطوح زمان بر کاروتنوئید (میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ)

میانگین	جدایه				زمان (هفته)
	P108	P169	P1	P0	
4/35C	6/75 ^{bc}	5/78 ^{b-e}	3/04 ^{fgh}	1/84 ^{gh}	3
3/37D	3/06 ^{fgh}	4/01 ^{def}	6/04 ^{bcd}	1/03 ^h	6
6/01B	7/87 ^b	5/97 ^{bcd}	5/37 ^{cde}	4/83 ^{c-f}	9
8/68A	10/74 ^a	10/27 ^a	9/99 ^a	3/76 ^{ef}	12
5/6	7/11A	6/5A	6/11A	2/86B	میانگین

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد به‌روش دانکن می‌باشند.

کردند که تلقیح کلزا با باکتری‌های *Pseudomonas*

fluorescens strain 169 و *Pseudomonas putida* strain

11 جذب کادمیوم بخش هوایی را به‌طور معنی‌داری افزایش دادند. در تحقیقی گزارش شده است که باکتری *Burkholderia* sp. J62 غلظت کادمیوم ریشه گیاه خردل- هندی و ذرت را به‌ترتیب از 28 به 68 درصد و از 31 با 170 درصد افزایش داد (جیانگ و همکاران؛ 2008). هم-

چنین در حضور این باکتری جذب کادمیوم بخش هوایی گوجه‌فرنگی و ریشه ذرت نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد به‌طوری که جذب کادمیوم کل گیاه ذرت از 5 به 25 درصد افزایش یافت. شنگ و زیا (2006) نشان دادند که در اراضی آلوده به کادمیوم جذب کادمیوم توسط کلزا در حضور باکتری‌های *Bacillus* sp. RJ10، RJ16 و *Pseudomonas* sp. RJ3 بین 16 تا 74 درصد نسبت به تیمار شاهد بدون باکتری افزایش یافت. استوار و همکاران (1391) گزارش کردند بیشترین میزان غلظت کادمیوم در شاخساره و ریشه کلم زیتنی در حضور باکتری *P. putida* strain 4، معادل 58/15 و 135/58 میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک گیاه بدست آمد.

با عنایت به نتایج مندرج در جدول 8 مشخص می‌شود که بخش ریشه ذرت در مقایسه با بخش هوایی مقدار بیشتری از کادمیوم را در خود انباشته کرد به‌طوری که جذب کادمیوم در بخش هوایی 56/26 میکروگرم بر

تأثیر جدایه‌های منتخب و سطوح زمان بر جذب کادمیوم توسط ذرت

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تأثیر تیمارهای جدایه و سطوح زمان و همچنین بر هم‌کنش بین آنها بر جذب کادمیوم بخش هوایی و ریشه ذرت در سطح یک درصد معنی‌دار شد.

نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول 8) نشان داد که سه جدایه P1، P169 و P108 جذب کادمیوم بخش هوایی را معادل 111/62، 150/21 و 78/19 درصد نسبت به شاهد افزایش دادند که این افزایش از نظر آماری معنی‌دار بود. بیشترین جذب کادمیوم در تیمار تلقیح با جدایه P169 بدست آمد که نسبت به تیمارهای تلقیح با P1 و P108 اختلاف معنی‌داری داشت. همچنین در مورد ریشه بیشترین میزان جذب کادمیوم با کاربرد جدایه P1 بدست آمد که با 82/4 درصد افزایش، از نظر آماری تفاوت معنی‌داری با شاهد و تیمارهای تلقیح با P169 و P108 نشان داد. نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول 8) همچنین نشان داد که در مجموع جذب کادمیوم توسط بخش هوایی و ریشه ذرت در طول دوره رشد روندی افزایشی داشت.

در تحقیقی نشان داده شد که تلقیح گیاهان با باکتری‌های *باسیلوس مگاتریوم* حل‌کننده فسفات، غلظت کادمیوم را در کلزا و *Abutilon theophrasti* افزایش داد (جونگ و همکاران؛ 2012). بهارلویی و همکاران (2011) گزارش

نتایج مربوط به مقایسه میانگین برهم‌کنش جدایه و سطوح زمان در جذب کادمیوم (جدول 8) مشخص کرد که با افزایش زمان در تیمارهای باکتریایی جذب کادمیوم بخش هوایی و ریشه نسبت به شاهد به طور معنی‌داری افزایش یافت. بیشترین جذب کادمیوم بخش هوایی ذرت در زمان 12 هفته با تلقیح جدایه P169 بدست آمد که این نشانگر تأثیر بیشتر این جدایه در افزایش مقاومت ذرت به کادمیوم می‌باشد. هم‌چنین در 12 هفته، جدایه P169 نسبت به دو جدایه P1 و P108 جذب کادمیوم بخش هوایی را به ترتیب به میزان 13/81 و 37/75 افزایش داد که این افزایش از نظر آماری معنی‌دار بود.

گلدان و در ریشه 214/50 میکروگرم بر گلدان بود. به عبارتی میانگین جذب کادمیوم در ریشه 3/8 برابر جذب آن در بخش هوایی ذرت شد. شنگ و زیبا (2008) گزارش کردند که تجمع بیشتر کادمیوم در ریشه‌ها نسبت به ساقه، معمولاً در غلات، گیاهان نیمه مقاوم از جمله سورگوم و در گیاهان حساس از جمله لوبیا دیده شده است (سالت و همکاران، 1995). کاهش انتقال کادمیوم از ریشه به بخش هوایی می‌تواند ناشی از غیرمتحرک شدن این عنصر در دیواره سلولی یا اتصال کادمیوم به ترکیبات آلی موجود در ریشه باشد (سانیتا دی تاپی و گابریل، 1999).

جدول 8- مقایسه میانگین جذب کادمیوم بخش‌هوائی و ریشه ذرت تحت تأثیر تیمارهای جدایه و زمان

میانگین	P108	P169	P1	P0	زمان (هفته)
	جذب کادمیوم بخش‌هوائی ($\mu\text{g pot}^{-1}$)				
7/05C	7/47 ^g	9/12 ^g	7/92 ^g	3/7 ^g	3
18/35C	20/48 ^f	25/47 ^{fg}	17/67 ^g	9/80 ^g	6
65/86B	70/61 ^d	79/90 ^d	68/18 ^{de}	44/77 ^{ef}	9
133/81A	118/23 ^c	189/93 ^a	163/69 ^b	63/40 ^{de}	12
56/26	76/10C	64/4A	54/20B	30/42C	میانگین
جذب کادمیوم ریشه ($\mu\text{g pot}^{-1}$)					
45/72C	48/04 ^h	53/33 ^h	41/32 ^h	40/18 ^h	3
148/28B	130/44 ^{fg}	180/96 ^{de}	173/43 ^{ef}	108/31 ^g	6
321/48A	295/27 ^c	332/05 ^b	445/93 ^a	212/67 ^{de}	9
342/51A	365/04 ^b	363/19 ^b	413/87 ^a	227/97 ^d	12
214/50	209/69B	232/38B	268/64A	147/28C	میانگین

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد به‌روش دانکن می‌باشند.

ریشه را به ترتیب معادل 34/32 و 50/9 درصد و به‌طور معنی‌داری افزایش دادند.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد که مقدار زیست‌توده و جذب کادمیوم توسط ذرت تا 12 هفته ادامه داشت و کاربرد جدایه‌ها، مقدار زیست‌توده و جذب کادمیوم را به طور معنی‌داری افزایش داد. در بین جدایه‌های مورد آزمون جدایه P169 تأثیر بیشتری بر افزایش جذب کادمیوم توسط ذرت داشت. البته برای اظهار نظر قطعی لازم است کاربرد این جدایه‌ها در شرایط مزرعه نیز بررسی شود

به نظر می‌رسد خصوصیات محرک رشد این باکتری منجر به افزایش قابلیت دسترسی عناصر از جمله کادمیوم برای گیاه شده و به این ترتیب جذب و تجمع کادمیوم توسط گیاه را افزایش داده باشد (خان و همکاران، 2008). کمترین میزان جذب کادمیوم در تیمار 3 هفته و عدم تلقیح باکتری مشاهده شد. هم‌چنین بیشترین جذب کادمیوم به میزان 109/7 درصد در تیمار 9 هفته و کاربرد جدایه P₁ بدست آمد که از نظر آماری تفاوت معنی‌دار با تیمار 12 هفته نداشت. هم‌چنین تیمار 9 هفته و کاربرد جدایه P₁ نسبت به جدایه‌های P₁₆₉ و P₁₀₈ جذب کادمیوم

فهرست منابع:

1. استوار، پ، خاوازی، ک. و ملکوتی، م. ج. 1391. نقش باکتری‌های مفید خاکری در افزایش کارایی پالایش سبز یک خاک آلوده به کادمیوم. مجله‌ی پژوهش خاک (علوم خاک و آب)، جلد 1 (شماره‌ی 26)، 173-183.

2. حمیدپور، م.، شیرانی، ح. و اخگر، ع. 1391. جذب سطحی کادمیوم روی کانی مونت‌موریلونیت در حضور سیدروفور دسفرال. مجله آب و خاک دانشگاه فردوسی مشهد، جلد 26 (شماره 1)، 42-52.
3. خلیقی جمالآباد، ا.، خارا، ج. تأثیر فارچ مایکوریزای آربوسکولار بر روی تنش اکسیداتیو و برخی پارامترهای رشدی و فیزیولوژی در گیاه گندم رقم آذر 1 تحت سمیت کادمیوم. مجله زیست‌شناسی ایران، جلد 21 (شماره 2)، 216-230.
4. دبیری، م. 1375. آلودگی محیط‌زیست، چاپ اول، نشر اتحاد، 399-401.
5. رسولی صدقیانی، م. ح.، قره‌ملکی، ت.، بشارتی، ح. و کریمی، ا. 1392. تأثیر ریزجانداران مفید خاکری بر رشد و جذب کادمیوم توسط ذرت. مجله‌ی پژوهش‌های خاک، جلد 27 (شماره‌ی 2)، 205-215.
6. زارعی، م.، صالح راستین، ن.، و ثوابی، غ. 1390. کارآیی فارچهای میکوریز آربوسکولار در گیاه پالایی خاکهای آلوده به روی به وسیله گیاه ذرت. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، علوم آب و خاک، سال 15 (شماره‌ی 55)، 166-151.
7. عرفان‌منش، م. و افیونی، م. 1379. آلودگی محیط زیست: آب، خاک، هوا. چاپ چهارم. نشر ارکان.
8. وهاب‌زاده، ع. 1372. مبانی محیط‌زیست، چاپ اول، انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد.
9. Abdul-Jaleel, C., Manivannan, P., Sankar, B., Kishorekumar, A., Gopi, R., Somasundaram, R., and Panneerselvam, R. 2007. Pseudomonas florescence enhances biomass yield and ajmalicine production in *Catharanthus roseus* under water deficit stress. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 60:7-11.
10. Alexander, D.B. and Zuberer, D.A. 1991. Use of chrome azurol s reagents to evaluate siderophore production by rhizosphere bacteria. *Biology and Fertility of Soils* 12:39-45.
11. Amini, M., Afyuni, M., Khademi, H., Abbaspour, K.C. and Schulin, R. 2005. Mapping risk of cadmium and lead contamination to human health in soils of Central Iran. *Science of Total Environment* 347:64-77.
12. Arnon, D.I. 1949. copper enzymes in isolated chloroplasts, polyphenoxidase in *beta vulgaris*. *plant Physiology* 24:1-15.
13. 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.
14. Belimov, A.A., Hontzeas, N., Safronova, V.I., Demchinskaya, S.V., Piluzza, G., Bullitta, S. and Glick, B.R. 2005. Cadmium-tolerant plant growth promoting bacteria associated with the roots of Indian mustard (*Brassica juncea* L. Czern.). *Soil Biology and Biochemistry* 37:241-250.
15. Bent, E., Tuzan, S., Chanway, C.P. and Enebak, S. 2001. Alteration in plant growth and in root hormone levels of lodgepole pines inoculated with rhizobacteria. *Canadian Journal of Microbiology* 47:793-800.
16. Bergey, D.H. 1984. *Bergeys Manual of Systematic Bacteriology*. Williams & Wilkins, U.S.A.
17. Burd, G.I., Dixon, D.G. and Glick, B.R. 2000. Plant growth-promoting bacteria that decrease heavy metal toxicity in plants. *Canadian Journal of Microbiology* 46:237-245.
18. Cariny, T. 1995. *The re-use of contaminated land: a handbook of risk assessment*. John Wiley and Sons, New York. US.
19. Chen, L., Luo, S., Xiao, X., Guo, H., Chen, J., Wan, Y., Li, B., Xu, T., Xi, Q., Rao, C., Liu, C. and Zeng, G. 2010. Application of plant growth-promoting endophytes (PGPE) isolated from *Solanum nigrum* L. for phytoextraction of Cd-polluted soils. *Applied Soil Ecology* 46:383-389.

20. Cottenie, A. 1980. Methods of plant analysis. In: Soil and plant testing. FAO Soils Bulletin 38:64-100.
21. Fu, J., Zhou, Q., Liu, J., Liu, W., Wang, T., Zhang, Q. and Jiang, G. 2008. High levels of heavy metals in rice from a typical E-waste recycling area in southeast China and its Potential risk to human health. *Chemosphere* 71:1269-1275.
22. Gupta, S.S. and Bhattacharyya, K.G. 2008. Immobilization of Pb(II), Cd(II) and Ni(II) ions on kaolinite and montmorillonite surfaces from aqueous medium. *Environmental Management* 87:46-58.
23. Haghiri, F. 1973. Cadmium uptake by plants. *Journal of Environmental Quality* 2:93-96.
24. Hernandez, E.L., Lozano - Ridriguez, E., Garate, A. and Carpena- Ruiz, R. 1998. Influence of cadmium on the uptake, tissue accumulation and subcellular distribution of manganese in *pea* seedlings. *Plant Science* 132:139-151.
25. Ijagbemi, C.O., Tbeak, M. and Kim, D. 2009. Montmorillonite surface properties and sorption characteristics for heavy metal removal from aqueous solution. *Hazardous Materials* 166:538-546.
26. Jeon, J.S., Lee, S.S., Kim, H.K., Ahh, T.S. and Song, H.G. 2003. Plant growth promotion in soil by some inoculated microorganisms. *Journal Microbiology* 41:271-276.
27. Jeong, S., Moon, H.S., Nam, K., Kim, J.Y. and Kim, T.S. 2012. Application of phosphate-solubilizing bacteria for enhancing bioavailability and phytoextraction of cadmium (Cd) from polluted soil. *Chemosphere* 88:204-210.
28. Jiang, C.Y., Sheng, X.F., Qian, M. and Wang, Q.Y. 2008. Isolation and characterization of a heavy metal resistant *Burkholderia* sp. from heavy metal contaminated paddy field soil and its potential in promoting plant growth and heavy metal accumulation in metal polluted soil. *Chemosphere* 72:157-164.
29. Kabata-Pendias, A. and Pendias, H. 2001. Cadmium. p.143-157. In: Kabata-Pendias, A. and Pendias, H. (eds.) *Trace Elements in Soils and Plants*. 3rd ed. CRC Press, Boca Raton, FL.
30. Kalinowski, B.E., Liermann, L.J., Brantley, S.L., Barnes, A. and Pantano, C.G. 2000. X-ray photoelectron evidence for bacteria-enhanced dissolution of hornblende. *Geochimical et Cosmochimica Acta* 107:225-231.
31. Keller, C., Marchetti, M., Rossi, L. and Lugon-Moulin, N. 2005. Reduction of cadmium availability to tobacco (*Nicotiana tabacum*) plants using soil amendments in low cadmium contaminated agricultural soils: a pot experiment. *Plant and soil* 276:69-84.
32. Khan, S., Aijun, L., Zhang, S., Hu, Q. and Zhu, Y.G. 2008. Accumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons and heavy metals in lettuce grown in the soils contaminated with long-term waste water irrigation. *Hazardous Materials* 152:506-515.
33. Liu, K., Lv, J., He, W., Zhang, H., Cao, Y. and Dai, Y. 2015. Major factors influencing cadmium uptake from the soil into wheat plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 113:207-213.
34. Mehrvarz, S., Chaich, M.R. and Alikhani, H.A. 2008. Effects of phosphate solubilizing microorganisms and phosphorus chemical fertilizer on yield and yield components of Barely (*Hordeum vulgare* L.). *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environment Sciences* 3:822-828.
35. Nahas, E. 1996. Factors determining rock phosphate solubilization by microorganism isolated from soil. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 12:567-572.
36. Piotrowska-Seget, Z., Cycon, M. and Kozdroj, J. 2005. Metal-tolerant bacteria occurring in heavily polluted soil and mine soil. *Applied Soil Ecology* 28:237-46.
37. Prasad, M. and Strazalka, K. 1999. Impact of heavy metals on photosynthesis. *Journal of Experimental Botany* 41:314-320.

38. Salt, D., Price, R., Pickering, I. and Raskin, I. 1995. Mechanisms of Cadmium mobility and accumulation in Indian mustard. *Plant Physiology* 109:1427-1433.
39. Sanita di Toppi, L. and Gabbrielli, R. 1999. Response to cadmium in higher plants- review. *Environmental and Experimental Botany* 41:105-130.
40. Saravanan, V.S., Madhaiyan, M. and Thangaraju, M. 2007. Solubilization of zinc compounds by the diazotrophic, plant growth promoting bacterium *Gluconacetobacter diazotrophicus*. *Chemosphere* 66:1794-1798.
41. Sheng, X.F., Xia, J.J., Jiang, C.Y., He, L.Y. and Qian, M. 2008. Characterization of heavy metal-resistant endophytic bacteria from rape (*Brassica napus*) roots and their potential in promoting the growth and lead
42. accumulation of rape. *Environmental Pollution* 156:1164-1170.
43. Sheng, X.F. and Xia, J.J., 2006. Improvement of rape (*Brassica napus*) plant growth and cadmium uptake by cadmium-resistant bacteria. *Chemosphere* 64:1036-1042.
44. Sheoran, I.S., Singal, H.R. and Singh, R. 1990. Effect of cadmium and nickel on photosynthesis and the enzymes of the photosynthetic carbon reduction cycle in pigeon pea (*Cajanus cajan*). *Photosynthetic Research* 23:345-351.
45. Sperber, J.I. 1958. The incidence of apatite-solubilizing organisms in the rhizosphere and soil. *Australian Journal of Agricultural Research* 9:778-781.
46. Stefan, M., Munteanu, N., Stoleru, V., Mihasan, M. 2013. Effects of inoculation with plant growth promoting rhizobacteria on photosynthesis, antioxidant status and yield of runner bean. *Romanian Biotechnological Letters* 8:8132-8143.
47. Susilowati, L.E. and Syekhfani, S. 2014. Characterization of Phosphate Solubilizing Bacteria Isolated from Pb Contaminated Soils and Their Potential for Dissolving Tricalcium Phosphate. *Journal of Degraded and Mining Lands Management* 1:57-62.
48. Vassilev, A. and Yordanov, I. 1997. Reductive analysis of factors limiting growth of cadmium treated plants: A review. *Plant Physiology* 23:14-133.
49. Wang, P.C., Mori, T., Komori, K., Sasatsu, M., Toda, K. and Ohtake, H. 1989. Isolation and characterization of an *Enterobacter cloacae* strain that reduces hexavalent chromium under anaerobic conditions. *Applied and Environmental Microbiology* 55:1665-1669.
50. Zafar, M., Rahim, N., Shaheen, A., Khaliq, A., Arjamand, T., Jamil, M., Rehman, Z.U. and Sultan, T. 2011. Effect of combining poultry manure, inorganic phosphorus fertilizers and phosphate solubilizing bacteria on growth, yield, protein content and P uptake in maize. *Advances in Agriculture and Botany* 3:46-58.
51. Zhang, G., Fukami, M. and Sekimoto, H. 2002. Influence of cadmium on mineral concentration and yield components in wheat genotypes differing in Cd tolerance at seedling stage. *Field Crops Research* 77:93-98.

Effect of phosphate solubilizing fluorescent pseudomonads on cadmium uptake by corn in contaminated soil

A. Akhgar¹, E. Ahmadiania, M. Hamidpour, and H. Shirani

Associate professor, Vali-e-Asr University of Rafsanjan; E-mail: arakhgar@yahoo.com
Former MSc. student of Vali-e-Asr University of Rafsanjan; E-mail: elhami_ah8929@yahoo.com
Associate professor, Vali-e-Asr University of Rafsanjan; E-mail: mohsen_hamidpour@yahoo.com
Professor, Vali-e-Asr University of Rafsanjan; E-mail: shirani379@yahoo.com

Received: August, 2019 & Accepted: December, 2019

Abstract

Cadmium, because of the long half a lifetime in the human and animal body and its toxicity, has great importance in agriculture. Today, plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) are used to increase the bioavailability and uptake of heavy metals in polluted soils. The aim of this study was to investigate the effectiveness of cadmium-tolerant fluorescent pseudomonads with inorganic phosphate solubilizing ability on the cadmium uptake by maize in contaminated soil. For this purpose, a greenhouse experiment was conducted in factorial based on a completely randomized design with four replications. Treatments were included four levels of bacteria (without bacteria (P0) and inoculation with three isolates P1, P169, P108) and four levels of time after planting (3, 6, 9, and 12 weeks). The soils were artificially spiked with 13 mg kg⁻¹ cadmium as Cd(NO₃)₂. The results showed that the inoculation of maize with the selected isolates significantly increased shoot and root dry weights and shoot cadmium uptake in comparison to non-inoculated plants. The maximum shoot dry weight observed in plants inoculated with P169 and 12 weeks (31.22% more compared to non-inoculated plants). In the 12th week after planting, there was not any significant difference between P1 and P108 with P169 in shoot dry weights. This isolates (P1 and P108) also enhanced shoot dry weights by 23.81 and 22.21 percent in comparison to control, respectively. The maximum uptake of cadmium in plant shoot was found in inoculation with P169 and 12th week. In the 12th week, P169 increased cadmium uptake of the shoot by 150 percent in comparison to the control and 13.81 and 37.75 percent in compared to P1 and P108, respectively. Although all of the isolates used in the greenhouse experiment significantly increased cadmium uptake by maize plants but the effectiveness of P169 was more evident than other isolates.

Keywords: Heavy metals, Phosphorus, Plant growth-promoting rhizobacteria

¹ Corresponding author: Soil Science Department, Faculty of Agriculture, Vali-e-Asr University of Rafsanjan.