اثرات آلودگی خاک به کادمیوم بر توان گره‌زایی و تثبیت نیتروژن سویه‌های بومی سینوریزوبیوم ملیلوتی (*Sinorhizobium meliloti*)

مژگان سپهری[۱]، ناهید صالح راستین[۱]، هادی اسدی رحمانی[۲] و حسینعلی علیخانی[۱]

چکیده

فلزات سنگین به دلیل آثار بازدارنده‌ای که بر رشد و فعالیت باکتری‌های ریزوبیوم و گیاهان لگوم میزبان آنها دارند، گره‌بندی و تثبیت نیتروژن سیستم‌های همزیستی را تحت تأثیر قرار می‌دهند. این تحقیق با هدف ارزیابی تأثیر تحمل سویه‌های ریزوبیوم به کادمیوم در کاهش آثار سوء این فلز بر همزیستی سینوریزوبیوم ملیلوتی یونجه انجام شده است. بدین منظور، آزمایش گلخانه‌ای در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی برنامه‌ریزی شد. تیمارهای این آزمون شامل ۵ سطح کادمیوم (۰، ۲، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) و شش تیمار مایه‌زنی با سویه‌های مختلف ریزوبیومی (حساس، نسبتاً متحمل و متحمل به کادمیوم) همراه با یک تیمار شاهد تلقیح نشده با باکتری بودند. در سطوح مختلف کادمیوم، آثار تلقیح گیاه یونجه با سویه‌های انتخابی بر تعداد گره‌های ریشه‌ای و مقدار کل نیتروژن اندام هوایی مورد مقایسه قرارگرفت. نتایج این پژوهش نشان داد که آلودگی خاک به کادمیوم حتّی در سطح ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم تأثیر قابل توجهی بر شاخص‌های همزیستی باکتری‌های سینوریزوبیوم ملیلوتی داشت و میزان این تأثیر بسته به میزان تحمل به کادمیوم سویه‌های مختلف، متفاوت بود. تأثیر کاهنده غلظت کادمیوم بر تعداد گره‌های ریشه‌ای و غلظت نیتروژن اندام هوایی گیاهان تلقیح شده با سویه‌های حساس به کادمیوم در مقایسه با سویه‌های مقاوم به ترتیب به حدود ۴۱ و ۲۹ درصد رسید. در این آزمون سویه R_{95m} از نظر توان گره‌زایی و جذب نیتروژن در سطوح مختلف کادمیوم به عنوان برترین سویه شناخته شد.

واژه‌های کلیدی: تثبیت نیتروژن، سینوریزوبیوم ملیلوتی، کادمیوم، گره‌زایی

مقدمه

آلودگی محیط زیست و افزایش روند تخریب اکوسیستم‌های طبیعی از جمله خاک که جهان کنونی با آن رو به روست ناشی از برخورد غیرمسؤلانه انسان با محیط زیست و استفادهٔ نامناسب از منابع پایه است. رشد روز افزون جمعیت و نیاز به تأمین غذا، استفاده هر چه بیشتر از نهاده‌های کشاورزی مانند کودهای شیمیایی را جهت دست‌یابی به بالاترین عملکرد گیاهان زراعی در واحد سطح، اجتناب ناپذیر کرده است. توسعهٔ مصرف این

۱. به ترتیب دانشجوی دکتری، دانشیار و استادیار خاک‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران

۲. استادیار مؤسسه تحقیقات خاک و آب، تهران

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2026-02-06]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1385.10.1.11.6]

نهاده‌ها، مشکلات و پیامدهای زیست محیطی بسیاری را برای بشر به ارمغان آورده است. امروزه یکی از مسایل مهم زیست محیطی، آلوده شدن خاک‌های زیر کشت به فلزات سنگین مانند کادمیوم، نیکل، سرب و... می‌باشد. متأسفانه به دلیل ورود انواع پسماندهای صنعتی و ضایعات کارخانه‌های مختلف، میزان ورود این فلزات به خاک رو به افزایش است. اطلاع از غلظت بحرانی این فلزات و آثار ناشی از آلایندگی آنها در خاک، دارای اهمیت بسیاری است، ولی به دلیل ماهیت متغیر این عناصر در خاک و پیچیدگی خصوصیات خاک، در این موارد اعداد و ارقام دقیقی گزارش نشده است. در برخی از کشورها حداکثر غلظت مجاز فلزات سنگین در خاک‌های کشاورزی را با در نظرگرفتن آثار سمی آنها بر روی گیاهان تعیین نموده‌اند (۹). میزان فراهمی عناصر سنگین که می‌تواند تعیین کنندهٔ میزان سمیت آنها برای موجودات زنده باشد، علاوه بر غلظت کل این فلزات در خاک، به ویژگی‌های خاک مانند اسیدیته، بافت، ظرفیت تبادل کاتیونی و حضور لیگاندهای کمپلکس کننده بستگی دارد (۳). ورود فلزات سنگین به خاک علاوه بر خطر جذب شدن توسط گیاه و ورود به زنجیره‌های غذایی که سبب به مخاطره افتادن سلامت انسان و دام می‌شود، سلامت خاک و بقای موجودات بومی این زیستگاه را نیز مورد تهدید جدی قرار داده است. کادمیوم از مهم‌ترین فلزات سنگین آلایندهٔ خاک به شمار می‌آید که از منابع متعددی وارد خاک می‌شود. کودهای فسفردار از مهم‌ترین منابع آلودگی خاک‌های زراعی به کادمیوم می‌باشند، زیرا سنگ فسفاتی که برای ساخت کود استفاده می‌شود دارای کادمیوم زیادی (۱۰ تا ۹۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) است (۱). عدم کنترل کیفی این کودها به هنگام خرید و نیز مصرف بی‌رویهٔ آنها موجب تجمع کادمیوم در خاک‌های زراعی می‌گردد. بنابر گزارش‌های موجود، تولید کودهای فسفردار در سال ۱۹۹۵ در سطح چهل کشور جهان ۱۳۱ میلیون تن بوده است که با فرض مقدار متوسط ۲۰ میلی‌گرم کادمیوم در کیلوگرم کود، تنها از این طریق بالغ بر ۲۶۰۰ تن کادمیوم به اراضی کشاورزی اضافه شده است (۱). شایان ذکر است که برخی از پژوهشگران عقیده دارند گرچه تأثیر کاربرد پاره‌ای از کودها بر مقدار کادمیوم خاک ناچیز است، ولی مجموعه عواملی همچون مقدار مصرف کودهای فسفره، مقدار کادمیوم موجود در کود، خصوصیات خاک به ویژه اسیدیته می‌توانند بر مقدار تجمع این فلز در خاک تأثیر گذارند. در بین گیاهان زراعی، لگوم‌ها نیاز وافری به کودهای شیمیایی فسفردار دارند، بنابراین احتمال آلودگی زمین‌های زیرکشت آنها به کادمیوم بیش از سایر گیاهان زارعی است. بسیاری از گیاهان خانوادهٔ لگومینوز قادرند در همزیستی تثبیت‌کنندهٔ نیتروژن اتمسفری با باکتری‌های خاکزی ریزوبیومی شرکت کرده و تمام یا قسمتی از نیتروژن مورد نیاز خود را از این راه تأمین نمایند. همزیستی ریزوبیوم‌ها با گیاهان خانوادهٔ لگومینوز، بزرگ‌ترین و مهم‌ترین سیستم تثبیت‌کنندهٔ نیتروژن در زمین‌های زراعی می‌باشد. مقدار نیتروژن تثبیت شده توسط این نوع همزیستی، در سطح جهانی حدود ۹۰ میلیون تن در سال تخمین زده می‌شود (۱۵). در بین سیستم‌های مختلف همزیستی گیاهان خانوادهٔ لگومینوز با ریزوبیوم‌ها، همزیستی یونجه- سینوریزوبیوم با کارایی بسیار مؤثر درتثبیت نیتروژن (۲۲۵ کیلوگرم در هکتار در سال) از اهمیت زیادی برخوردار است. نتایج پژوهش‌ها نشان داده‌اند که فلزات سنگین از جمله کادمیوم با آثار بازدارنده خود بر رشد، تکثیر، توان گره‌زایی و تثبیت نیتروژن ملکولی توسط ریزوبیوم‌ها و نیز کاهش رشد و عملکرد گیاه، دارای اثرات منفی بر برقراری و عملکرد سیستم همزیستی تثبیت کننده نیتروژن می‌باشند. گیلر و همکاران (۵) به عدم کارایی ریزوبیوم همزیست با شبدر (*R. leguminosarum* bv. trifolii) از نظر تثبیت نیتروژن در خاک آلوده به فلزات سنگین اشاره کردند و نشان دادند که این امر سبب کاهش عملکرد ماده خشک شبدر سفید به میزان ۴۰٪ شد. مک گرات و همکاران (۱۰) با کاشت گیاه شبدر سفید در خاکی که به مدت ۲۵ سال لجن فاضلاب به آن وارد شده بود، مشاهده نمودند که این گیاهان رشد ضعیفی داشتند و بر سیستم ریشه‌ای خود دارای تعداد زیادی از گره‌های کوچک، سفید رنگ و غیرکارآ از نظر تثبیت نیتروژن

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2026-02-06]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1385.10.1.11.6]

بودند. مک ایون و کویل (۱۱) به آثار سوء فلزات سنگین بر گره‌زایی و رشد گیاه شبدر قرمز (*Trifolium pratens* L.) اشاره کردند. ولی جانسون و ودربرن (۸) بیان کردند که در خاک‌های آلوده به لجن فاضلاب، رشد گیاهان لوبیا و باقلا تحت تأثیر آلودگی خاک قرار نگرفت. ایبکوی و همکاران (۶) در خاک‌هایی که به دلیل استفاده از لجن فاضلاب آلوده به کادمیوم شده بودند به کاشت گیاهان یونجه (*Medicago sativa*)، شبدر سفید (*Trifolium repens*) و شبدر قرمز (*Trifolium pratens*) اقدام نمودند و با مایه‌زنی این گیاهان با ریزوبیوم اختصاصی هر یک در زمان کاشت و یا ۳۰ روز قبل از کاشت، به این نتیجه رسیدند که گیاه میزبان دارای آثار حفاظتی برای ریزوبیوم‌های اختصاصی در مقابل سمیت فلز کادمیوم می‌باشد. با توجه به بررسی‌های انجام شده که به نتایج برخی از آنها اشاره شد، در سال‌های اخیر نگرانی محققین در خصوص آلودگی خاک‌های زیر کشت به فلزات سنگین و آثار سویی که این فلزات بر فرایندهای ضروری درون سیستم خاک همچون همزیستی ریزوبیوم- لگومینوز دارند، رو به افزایش است و بر ضرورت پی‌گیری این قبیل بررسی‌ها تأکید می‌شود.

لازم به یادآوری است که شدت آثار سوء آلاینده‌ها بر فرایندهای زیستی، بستگی به میزان تحمل سویه‌های میکروبی در برابر این گونه مواد دارد و سویه‌های ریزوبیومی بومی خاک‌های ایران تا کنون از این لحاظ مطالعه نشده‌اند. به همین دلیل، این پژوهش با این هدف که بتوان از سویه‌های کاملاً مؤثر در تثبیت نیتروژن و در عین حال مقاوم در برابر عناصر سمی مانند کادمیوم در برنامه‌های زیست پالایی (Bioremediation & Phytoremediation) خاک‌های آلوده استفاده نمود، به انجام رسیده است.

مواد و روش‌ها

به منظور تهیه سویه‌های بومی سینوریزوبیوم ملیلوتی نمونه‌هایی از گره‌های ریشه‌ای یونجه از استان‌های مهم زیر کشت این گیاه (آذربایجان غربی، آذربایجان شرقی، زنجان، همدان و اردبیل) تهیه شد. پس از جداسازی باکتری‌ها از گره‌های ریشه‌ای، کشت خالص هر جدایه تهیه شد و به منظور بررسی کارایی همزیستی جدایه‌ها، آزمون تلقیح گیاه (Plant Infection Test) صورت پذیرفت. ارزیابی اثر کادمیوم بر رشد سویه‌های سینوریزوبیوم ملیلوتی با استفاده از محیط کشت H. M. (HEPES-MES) حاوی مقادیر مختلف کادمیوم (۰، ۵، ۱۰ و ... تا ۷۰ میلی‌گرم بر لیتر محیط کشت) که به شکل کلرور کادمیوم به محیط اضافه شد و مطالعه رشد کلنی‌های رویش یافته باکتری‌ها انجام گرفت. در دنباله مطالعات آزمایشگاهی و به منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف کادمیوم بر رشد، توان گره‌زایی و تثبیت نیتروژن سویه‌های سینوریزوبیوم ملیلوتی، آزمایش گلخانه‌ای انجام شد. به دلیل این که در این مرحله نیاز به خاکی با مقدار جمعیت بسیار کم باکتری سینوریزوبیوم - ملیلوتی و درصد کم نیتروژن و کادمیوم بود، از قطعهٔ آزمایشی شماره ۱۹ واقع در مؤسسه تحقیقات خاک و آب کرج که چندین سال به صورت آیش باقی مانده بود، اقدام به نمونه‌برداری شد. پس از هوا خشک شدن و عبور از الک ۴ میلی‌متری، نمونه خاک به طور یک‌نواخت مخلوط و خصوصیات شیمیایی و فیزیکی و نیز مقدار کادمیوم آن اندازه‌گیری شد (جدول ۱). هم‌چنین جمعیت سویه‌های بومی سینوریزوبیوم ملیلوتی موجود در خاک بر اساس روش تلقیح گیاه میزبان با سوسپانسیون‌های رقیق شده خاک به نسبت ۱:۵۰ در شرایط سترون در ۵ تکرار و شمارش گیاهان گره دار شده پس از ۲ ماه رشد در شرایط اتاق کشت انجام گرفت (۱۳ و ۱۴). بررسی گلخانه‌ای به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی برنامه‌ریزی شد. فاکتورهای اصلی شامل سطوح کادمیوم (۰، ۲، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک) و تیمارهای تلقیح (شامل شش سویه باکتری به علاوه یک تیمار شاهد تلقیح نشده با باکتری) بودند. مقدار کادمیوم لازم برای هر گلدان از منبع کلرور کادمیوم در مقداری آب مقطر حل و با خاک بستر به طور یک‌نواخت مخلوط شد. انتخاب سویه‌های باکتری مورد استفاده در این آزمایش، بر

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2026-02-06]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1385.10.1.11.6]

جدول ۱. نتایج تجزیه فیزیکی و شیمیایی نمونه خاک مورد استفاده در آزمون گلخانه‌ای

بافت	هدایت الکتریکی عصاره اشباع ($dS.m^{-1}$)	ظرفیت تبادل کاتیونی ($Cmol^{+}.kg^{-1}$)	$۱۰^{۲}$ × تعداد باکتری در هر گرم خاک خشک	pH گل ا شباع	کربن آلی (%)
Sandy Loam	۱/۲۳	۱۰/۸	۱۶/۴	۷/۹۲	۰/۳
K^{+} $mg.kg^{-1}$	Mg^{+2} $mg.kg^{-1}$	Ca^{2+} $mg.kg^{-1}$	ازت کل (٪)	فسفر $mg.kg^{-1}$	کادمیوم $mg.kg^{-1}$
۱۸۴	۱/۸	۶/۴	۰/۰۲۴	۴	<۱

اساس نتایج آزمون‌های مراحل قبل (آزمون تلقیح گیاه و آزمایش ارزیابی اثر کادمیوم بر رشد سویه‌ها) انجام گرفت. بدین صورت که از بین ۵۷ سویه خالص شده سینوریزوبیوم ملیلوتی، شش سویه با مقادیر حداکثر کارایی همزیستی (کارآیی همزیستی بر اساس وزن ماده خشک یا مقدار نیتروژن گیاهان تلقیح شده با سویه مورد نظر نسبت به گیاهان شاهد بدون باکتری و بدون نیتروژن و هم‌چنین شاهد بدون باکتری و دارای منبع نیتروژن کافی محاسبه می‌شود) و درجات مختلف تحمل به کادمیوم (بر اساس کشت باکتری بر روی محیط غذایی مناسب برای ریزوبیوم (Y.M.A.) و دارای سطوح مختلف کادمیوم (۰، ۲، ۵ ، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) و مقایسه حداقل مقداری از کادمیوم که اثر بازدارندگی مشهود بر رشد باکتری اعمال می‌کند) انتخاب شدند. جدول ۲ مشخصات سویه‌های انتخابی برای تهیه مایه تلقیح در این مرحله از آزمایش را نشان می‌دهد.

از سویه‌های انتخاب شده در محیط کشت Y. M. B. مایه تلقیح تهیه شد، هم‌چنین بذرهای یونجه رقم همدانی ضد عفونی سطحی و جوانه‌دار شدند. در هر گلدان تعداد ۸ گیاهک در عمق ۲ سانتی‌متری خاک کاشته شد و هر گیاهک با یک میلی‌لیتر از مایه تلقیح تازه و یک‌نواخت از نظر غلظت ($۱۰^{۶}$ cell ml^{-1}) مایه‌زنی شد. گلدان‌ها پس از کشت در اتاق رشد با طول دوره روشنایی ۱۶ ساعت و با حداکثر دمای روزانه ۲۶ تا ۲۸ درجه سانتی‌گراد، دمای شبانه حداقل ۱۸ درجه سانتی‌گراد، شدت روشنایی ۱۰۰۰۰ لوکس به مدت ۱۲۰ روز قرار داده شدند.

در پایان دورهٔ رشد رویشی (تقریباً در نیمهٔ دوره گل‌دهی گیاهان)، بخش هوایی هر گیاه از محل طوقه، قطع و درون پاکت‌های خاص قرار گرفت و در آون با حرارت ۶۵ تا ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک شد. سیستم ریشه‌ای گیاه نیز از خاک خارج و تعداد گره‌های موجود در سیستم ریشه‌ای تعیین شدند. به علاوه درصد نیتروژن بخش هوایی گیاه به روش کلدال اندازه‌گیری و بر اساس آن مقدار کل نیتروژن جذب شده در اندام هوایی گیاه محاسبه شد. تجزیه و تحلیل آماری نتایج آزمایش با نرم‌افزار SAS انجام گرفت و نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel رسم شدند.

نتایج

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که سویه و کادمیوم در سطح ۰/۰۰۱ دارای تأثیر بسیار معنی‌داری بر تعداد گره‌های سیستم ریشه‌ای گیاه بوده‌اند (جدول ۳). بین تکرارهای مختلف این آزمایش اختلاف معنی‌داری دیده نشد. هم‌چنین آثار متقابل بین سویه باکتری و کادمیوم بر تعداد گره‌ها، معنی‌دار نشد.

مقایسه میانگین بین سطوح مختلف کادمیوم مشخص کرد که حتی تیمار ۲ میلی‌گرم کادمیوم بر کیلوگرم، تعداد گره‌ها را نسبت به شاهد حدود ۱۴ درصد کاهش داده است (شکل ۱). با افزایش غلظت کادمیوم این روند کاهشی تشدید شده و این

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2026-02-06]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1385.10.1.11.6]

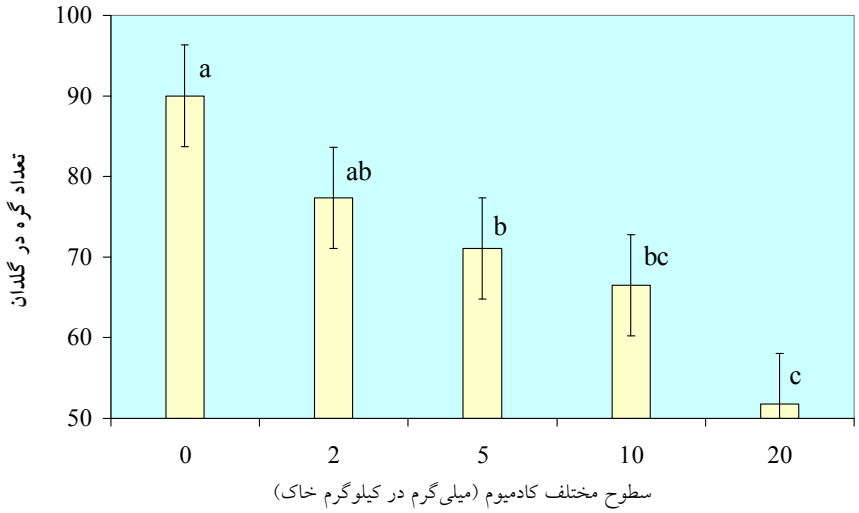
جدول ۲. مشخصات سویه‌های سینوریزوبیوم ملیلوتی به کار رفته در آزمایش گلخانه‌ای

شمارهٔ سویه	میانگین کارآیی همزیستی (*S. E.*)	درجه تحمل به کادمیوم
S_{17}	۱۴۵/۵۸	نسبتاً متحمل
S_{13}	۱۳۶/۷۶	نسبتاً متحمل
S_{15}	۸۳/۸۲	متحمل
R_{95m}	۱۲۵	متحمل
S_{21}	۶۱/۷۶	حساس
R_{83}	۱۳۲/۳۵	حساس

جدول ۳. تجزیه واریانس اثرات سویه‌های سینوریزوبیوم ملیلوتی و کادمیوم بر تعداد گره و مقدارکل نیتروژن اندام هوایی

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		تعداد گره	کل نیتروژن اندام هوایی
تکرار	۳	۷۰۳/۵۲ n.s	۰/۰۰۰۹**
سویه	۶	۲۰۳/۵۷***	۰/۰۰۳۲***
کادمیوم	۴	۵۵۳/۸۹***	۰/۰۰۴۷***
سویه × کادمیوم	۲۴	۵۵۰/۳۶ n.s	۰/۰۰۰۲*
خطای آزمایش	۱۰۲	۸۷۱/۶۰	۰/۰۰۰۱
C.V		۲۱/۳۸	۲۰/۳۴
انحراف معیار		۲۹/۵۲	۰/۰۱۱۴

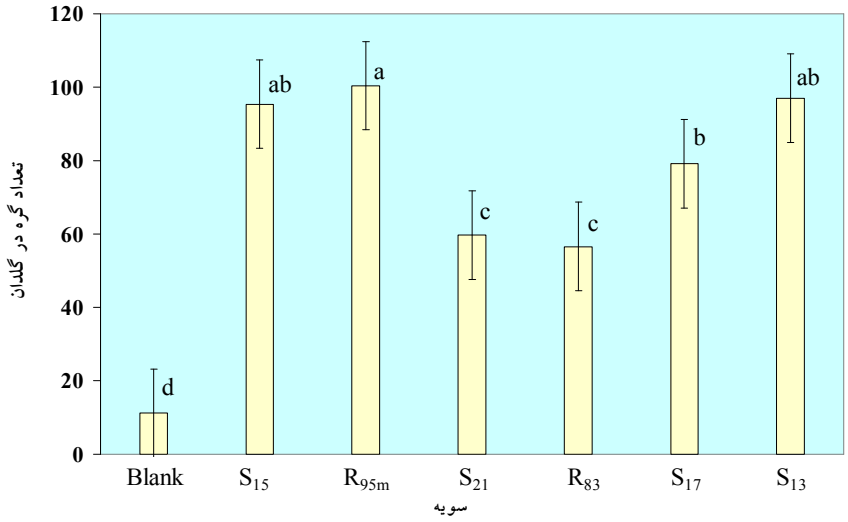
***، **، * و ns : به ترتیب معنی‌دار در سطح ۰/۱، ۱، ۱۰ درصد و غیر معنی‌دار



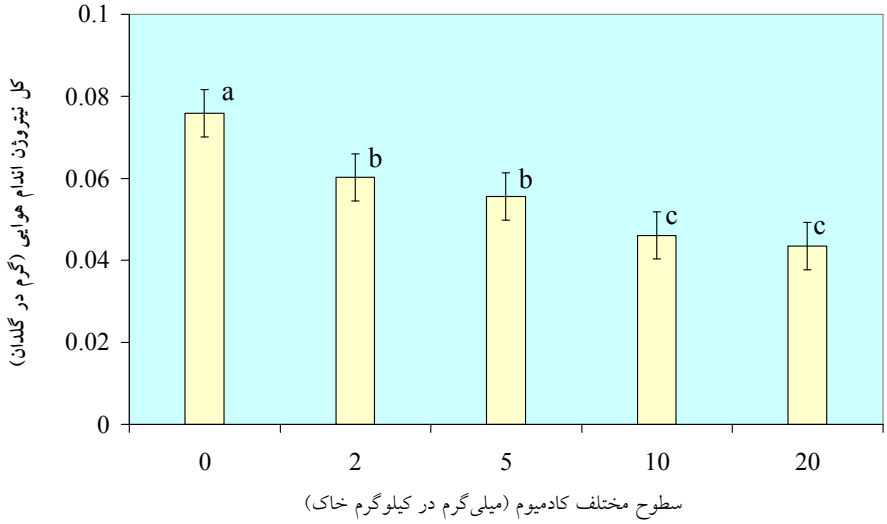
شکل ۱. اثر کادمیوم بر تعداد گره‌های ریشه

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2026-02-06]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1385.10.1.11.6]



شکل ۲. اثر سویه بر تعداد گره‌های ریشه



شکل ۳. اثر کادمیوم بر مقدار کل نیتروژن اندام هوایی

کاهش از غلظت ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم معنی‌دار شده است. با این حال حتی مقدار ۲۰ میلی‌گرم کادمیوم بر کیلوگرم خاک اثر کاملاً بازدارنده بر تشکیل گره‌ها نداشته و تنها کاهش ۴۲/۵ درصدی نسبت به شاهد را موجب شده است (شکل ۱).

سویه‌های باکتری سینوریزوبیوم ملیلوتی با درجات متفاوت از لحاظ تحمل به کادمیوم و کارایی همزیستی دارای آثار متفاوتی بر گره‌زایی بودند، به طوری‌که گیاهان تلقیح شده با سویه‌های حساس(S_{21},R_{83})، کم‌ترین تعداد گره را تولید نمودند (شکل ۲). تأثیر کاهشی غلظت کادمیوم بر تعداد گره‌های ریشه‌ای در مورد سویه‌های حساس در مقایسه با سویه‌های نسبتاً متحمل (S_{17}, S_{13}) و سویه‌های متحمل به کادمیوم (S_{15}, R_{95m}) به ترتیب به حدود ۵۱/۴۶ و ۶۸/۳۱ درصد رسید.

نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۳) بیانگر اثر معنی‌دار سویه و کادمیوم در سطح ۰/۰۰۱، آثار متقابل آنها در سطح ۰/۱ و اثر تکرار در سطح ۰/۰۱ بر مقدار نیتروژن جذب شده توسط گیاه است. هم‌چنین مقایسه میانگین‌ها نشان می‌دهد که با افزایش مقدار کادمیوم، مقدار کل نیتروژن اندام هوایی کاهش می‌یابد، به طوری که اختلاف مقدار این شاخص در

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2026-02-06]
[DOR: 20.1001.1.24763594.1385.10.1.11.6]

تیمارهای حداقل و حداکثر کادمیوم حدود ۴۳ درصد است. شکل ۳ نشان دهندهٔ وجود اختلاف معنی‌دار بین سطح صفر کادمیوم و سطوح مختلف این فلز بر مقدار کل نیتروژن اندام هوایی است ولی سطوح ۲ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و هم‌چنین سطوح ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم کادمیوم بر کیلوگرم خاک با هم تفاوت معنی‌دار ندارند.

هم‌چنین نتایج به دست آمده نشانگر اختلاف تأثیر سویه‌های مختلف سینوریزوبیوم ملیلوتی در سطوح مختلف کادمیوم بر مقدار کل نیتروژن اندام هوایی است، به گونه‌ای که گیاه تلقیح شده با سویهٔ S_{21} (از گروه باکتری‌های حساس به کادمیوم و دارای کم‌ترین درصد کارایی همزیستی) از نظر مقدار کل نیتروژن اندام هوایی اختلاف معنی‌داری با گیاه شاهد تلقیح نشده نشان نمی‌دهد، در حالی که تفاوت سایر تیمارها با شاهد، کاملاً معنی‌دار است (شکل ۴).

کاهش مقدار نیتروژن در گیاهان تلقیح شده با سویه‌های حساس به کادمیوم نسبت به دو گروه دیگر تقریباً ۲۹ درصد می‌باشد. در این آزمون سویهٔ R_{95m} (از گروه متحمل به کادمیوم و دارای کارایی همزیستی بالا) از نظر توان جذب نیتروژن به عنوان برترین سویه شناخته شد.

نتایج مقایسه میانگین آثار متقابل کادمیوم و سویه‌های مختلف ریزوبیومی بر مقدار کل نیتروژن اندام هوایی (جدول ۴) مشخص کرد که بیشترین و کمترین مقدار این شاخص به ترتیب متعلق به سویهٔ R_{95m} (مقاوم به کادمیوم) و تیمار شاهد بدون باکتری در سطوح مختلف کادمیوم است. به‌طور کلی افزایش مقدار کادمیوم سبب کاهش مقدار نیتروژن اندام هوایی گیاه شد. مقدار این کاهش در گروه سویه‌های متحمل و حساس به کادمیوم به ترتیب ۳۳ و ۴۲ درصد نسبت به شاهد بدون کادمیوم بود.

بحث

نتایج به دست آمده از مطالعات این پژوهش حاکی از آن است که سطوح مختلف کادمیوم اعمال شده در خاک، همزیستی گیاه یونجه با باکتری سینوریزوبیوم ملیلوتی را تحت تأثیر قرار داده است. میزان این تأثیر به درجهٔ تحمل سویه‌های ریزوبیومی در برابر کادمیوم و نیز به پتانسیل همزیستی آنها بستگی دارد. برخی محققان نیز به آثار سوء کادمیوم بر همزیستی سینوریزوبیوم ملیلوتی ـ یونجه اشاره کرده و نشان داده‌اند که کادمیوم موجود در خاک سبب کاهش عملکرد و تأخیر در فرایند گره‌زایی گیاه یونجه می‌شود. هم‌چنین، سمیت ناشی از غلظت‌های زیاد این فلز در خاک سبب جلوگیری از رشد و توسعهٔ ریشه و در مواقعی منجر به مرگ گیاه می‌شود (۷). از آنجا که ارتباط همزیستی باکتری با گیاه از هنگام تشکیل گره آغاز می‌گردد و گره‌ها محل اصلی تثبیت نیتروژن می‌باشند، بنابراین هرچه تعداد گره‌های فعال بیشتر باشد، مقدار تثبیت نیز بیشتر خواهد بود (۱۴). بررسی نتایج نشان می‌دهد که با افزایش مقدار کادمیوم از ۰ تا ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، کاهش تعداد گره‌های موجود در سیستم ریشه‌ای گیاهان تلقیح شده با سویه‌های دارای توان همزیستی بالا (S_{13} و S_{17}) نسبت به انواع متحمل به کادمیوم (R_{95m} و S_{15}) حدود ۱۰ درصد بوده است، ولی از نظر غلظت نیتروژن اندام هوایی، اختلاف معنی‌داری بین سویه‌های یاد شده وجود ندارد. دلیل این امر را می‌توان به تفاوت ذاتی این سویه‌ها از نظر توان تثبیت نیتروژن مولکولی نسبت داد. به طور کلی، توانایی میکروارگانیسم‌ها جهت رشد و تکثیر در محیط‌های آلوده به فلز سنگین به ویژگی‌های ژنتیکی و فیزیولوژیک آنها بستگی دارد (۱۴). دلایل بسیاری برای تحمل و مقاومت گروه‌های میکروبی به فلزات سنگین ارائه شده‌اند که می‌توان به ترشح پلی‌ساکاریدهای برون سلولی با خاصیت آنیونی به عنوان جاذب‌های زیستی مؤثر برای کاتیون‌های فلزی، تولید برخی متابولیت‌های آلی با خاصیت کلات‌کنندگی و توانایی تشکیل کمپلکس با فلز، سنتز پروتئین‌های درون سلولی با توانایی ایجاد پیوند با فلز و نیز ذخیره و تنظیم یون‌های فلز در درون سلول، توانایی میکروارگانیسم‌ها در تغییر شکل شیمیایی فلز (اکسیداسیون، احیا، متیلاسیون، دمتیلاسیون) و تبدیل آن به فرم‌های بی‌ضرر و جذب زیستی فلز اشاره کرد.

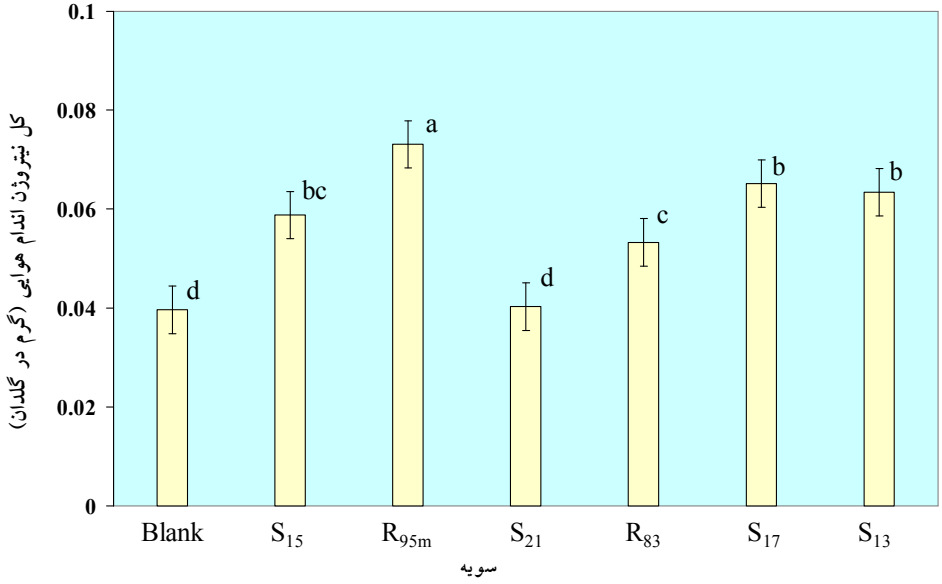
[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2026-02-06]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1385.10.1.11.6]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1385.10.1.11.6] [Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2026-02-06]

جدول ۴. مقایسه میانگین اثرات متقابل کادمیوم و سویه‌های ریزوبیومی بر مقدار کل نیتروژن اندام هوایی

	سطوح مختلف کادمیوم									
	۰		۲		۵		۱۰		۲۰	
شاهد	JKLM	۰/۰۴۷	IJKL	۰/۰۵۱	KLMNO	۰/۰۴۱	MNO	۰/۰۳۴	NO	۰/۰۲۷
S_{15}	CDEF	۰/۰۷۲	DEFGHIJ	۰/۰۵۹	DEFGHIJ	۰/۰۶۲	HIJKL	۰/۰۵۱	JKLM	۰/۰۴۹
R_{95m}	A	۰/۰۹۸	BCD	۰/۰۷۵	CDEFG	۰/۰۶۹	DEFGH	۰/۰۶۸	EFGHIJK	۰/۰۵۷
S_{21}	GHIJKL	۰/۰۵۳	KLMN	۰/۰۴۲	KLMN	۰/۰۴۲	LMNO	۰/۰۳۹	O	۰/۰۲۵
R_{83}	AB	۰/۰۸۹	GHIJKL	۰/۰۵۵	KLMN	۰/۰۴۲	KLMNO	۰/۰۴۰	KLMNO	۰/۰۴۰
S_{17}	AB	۰/۰۸۹	DEFGHI	۰/۰۶۷	BCDE	۰/۰۷۴	KLMNO	۰/۰۴۱	FGHIJKL	۰/۰۵۶
S_{13}	ABC	۰/۰۸۴	BCDE	۰/۰۷۴	DEFGHIJ	۰/۰۶۰	JKLM	۰/۰۴۹	IJKL	۰/۰۵۰



شکل ۴. اثر سویه بر مقدار کل نیتروژن اندام هوایی

انجل و چنی (۲) در تحقیقات خود به عدم هم‌بستگی بین تعداد گره و غلظت فلز موجود در خاک اشاره کردند. آنها کمترین تعداد گره را در خاک دارای حداقل مقدار فلز سنگین مشاهده کردند و با تهیه برش عرضی از این گره‌ها و دیدن رنگ صورتی درون آنها به وجود باکتری‌های مؤثر از نظر تثبیت نیتروژن پی بردند. به طور خلاصه می‌توان گفت که با در نظر گرفتن کلیه سطوح کادمیوم، سویه R_{95m} به دلیل تحمل بسیار زیاد کادمیوم به عنوان برترین سویه و سویه S_{21} به علت حساسیت زیاد به این فلز به عنوان غیرمؤثرترین سویه شناخته شدند. سویه R_{95m} گرچه کارآیی همزیستی پائین‌تری (S.E. =۱۲۵) نسبت به سویه‌های S_{13} و S_{17} (کارآیی همزیستی به ترتیب ۱۳۶/۷۶و۱۴۵/۵۸) داشت ولی به لحاظ بالا بودن درجه تحمل به کادمیوم در سطوح مختلف این فلز پاسخ بهتری نشان داد. در سیستم‌های همزیستی ریزوبیوم ـ لگومینوز، در اثر افزایش غلظت فلز سنگین در خاک، رشد گیاه، باکتری و به دنبال آن توان همزیستی گیاه و باکتری کاهش می‌یابد و این امر سبب کاهش در میزان نیتروژن تثبیت شده و انتقال آن از گره‌ها به بخش‌های هوایی گیاه می‌شود (۴، ۵، ۸ و ۱۰). به طور کلی در مورد سویه‌های متحمل به کادمیوم، به دلیل تحمل ذاتی آنها به این فلز، رشد گیاه بیش از فعالیت باکتری جهت تثبیت نیتروژن متأثر می‌شود. برخی محققان فقدان آثار سوء فلزات سنگین بر جمعیت‌های ریزوبیومی خاک را به مقاومت ذاتی باکتری‌های ریزوبیوم به این فلزات نسبت داده و بیان داشته‌اند که فلزات موجود در خاک تنها گیاهان میزبان را تحت تأثیر خود قرار می‌دهند (۲). در حالی که دیگر محققان وجود آثار منفی آلودگی خاک به فلزات سنگین را بر ریزوبیوم همزیست با شبدر (*R. leguminosaurm* bv. trifolii) گزارش کردند (۵، ۱۰، ۱۱و ۱۲). علت اصلی این تضاد به تفاوت ژنتیکی سویه‌های ریزوبیومی در تحمل فلزات سنگین نسبت داده می‌شود (۲). نتایج این تحقیق نیز نشان داد که آثار سوء کادمیوم بر سیستم همزیستی، تحت تأثیر ویژگی‌های ذاتی سویه‌های ریزوبیومی قرار دارد. سویه S_{15} با وجود متحمل بودن به کادمیوم، به دلیل کارایی همزیستی پایین (۸۳٪)، جذب نیتروژن کمتری نسبت به سویه S_{17} (نسبتاً متحمل به کادمیوم ولی با کارایی همزیستی بالاتر، ۱۴۵٪) نشان داد، گرچه این تفاوت به لحاظ آماری به سطح معنی‌دار نرسیده است. بنابراین برای زیست پالایی خاک‌های آلوده، استفاده از سویه‌های توانمند در تثبیت نیتروژن مانند R_{95m} که در ضمن

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2026-02-06]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1385.10.1.11.6]

از تحمل قابل توجهی نسبت به کادمیوم نیز برخوردارند پیشنهاد می‌شود.

سپاسگزاری

این پژوهش مستخرج از طرح " اثرات آلودگی خاک به کادمیوم روی رشد، توان گره‌زایی و تثبیت نیتروژن سویه‌های بومی سینوریزوبیوم ملیلوتی " به شماره ۷۱۴/۳/۵۲۳ می‌باشد که با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه تهران انجام شده است که بدین وسیله تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع مورد استفاده

۱. بغوری، ا. ۱۳۷۰. مروری بر نتایج حاصل از کاربرد کودهای فسفره بر کادمیوم خاک و گیاه و بررسی میزان کادمیوم در کودهای وارداتی. مؤسسهٔ تحقیقات خاک و آب، نشریه ۸۲۲، تهران.

2. Angle, J. S. and R. L. Chaney. 1991. Heavy metal effects on soil population and heavy metal tolerance of *Rhizobium meliloti*, nodulation and growth of alfalfa. Water, Air and Soil Pollution 57-58: 597-604.
3. Chaney, A. C., A. L. Page, T. Asano and I. Hespanhol. 1996. Developing human health related chemical guidelines for reclaimed wastewater irrigation. Water. Sci. Technol. 33: 403-472.
4. Giller, K. E., R. Nussbaum, A. M. Chaudri and S. P. Mc Grath. 1993. *Rhizobium meliloti* is less sensitive to heavy metal contamination in soil than *R. leguminosarum* bv. trifolii or *R. loti*. Soil Biol. Biochem. 25: 273-278.
5. Giller, K. E., S. P. Mc Grath and P. R. Hirsch. 1989. Absence of nitrogen fixation in clover grown on soil subject to long-term contamination with heavy metals is due to survival of only ineffective *Rhizobium*. Soil Biol. Biochem. 21: 841-848.
6. Ibekwe, A. M., J. S. Angle, R. L. Chaney and P. Van Berkum .1995. Sewage sludge and heavy metal effects on nodulation and nitrogen fixation in legumes. J. Environ. Quality 24: 1199-1204.
7. Ibekwe, A. M., J. S. Angle, R. L. Chaney and P. Van Berkum. 1996. Sewage sludge and heavy metal effects on nodulation and nitrogen fixation in legumes. J. Environ. Quality 25: 1032-1040.
8. Johnston, A. E. and R. W. M. Wedderburn. 1974. The Woburn market garden experiment, 1942-69. I. A history of the experiments, details of the treatments and yields of the crops. Rothamsted Experimental Station Report for 1974, Part 2: 79-101.
9. Kabata-Pendias, A. A. and H. Pendias. 1994. Trace Elements in Soils and Plants. 2nd ed., CRC Press, Boca Raton, FL., U.S.A.
10. Mc Grath, S. P., P. C. Brooks and K. E. Giller. 1988. Effects of potentially toxic metals in soils derived from past application of sewage sludge on nitrogen fixation by *Trifolium repens*. Soil Biol. Biochem. 24: 415-424.
11. Mc Iiveen, W. and H. Cole. 1974. Influence of heavy metals on nodulation of red clover. Phytopatol. 64: 583-589.
12. Rother, J. A., J. W. Millbank and I. Thornton. 1983. Nitrogen fixation by white clover (*Trifolium repens*) in grass land soils contaminated with cadmium, lead and zinc. J. Soil Sci. 34: 127-136.
13. Vincent, J. M. 1970. A Manual for the Practical Study of Root Nodule Bacteria. Blackwell Scientific Pub., Oxford.
14. Vincent, J. M. 1982. Nitrogen Fixation in Legume. Academic press, London.
15. Zahran, H. H. 1999. *Rhizobium*-legume symbiosis and nitrogen fixation under severe conditions and in an arid climate. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 63: 968-989.

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2026-02-06]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1385.10.1.11.6]