نشریه علمی زیست‌شناسی خاک / جلد ۱۱ / شماره ۱ / ۱۴۰۲/ص۶۳-۸۳
dx.doi.org/10.22092/sbj.2022.359916.242

تأثیر کابرد باکتری‌های حل‌کننده ترکیبات نامحلول روی و پودر لاستیک بر رشد و محتوای روی و آهن در گیاه ذرت

آذر نصیرزاده*، پیمان عباس زاده، محسن حمیدپور، عبدالرضا اخگر و خلیل کریمان

دانشجوی دکتری علوم خاک، دانشگاه ولی عصر رفسنجان؛ **azarnasirzadeh21@yahoo.com**

استادیار دانشگاه ولی عصر رفسنجان؛ **p.abbaszadeh@vru.ac.ir**

دانشیار دانشگاه ولی عصر رفسنجان؛ **m.hamidpour@vru.ac.ir**

دانشیار دانشگاه ولی عصر رفسنجان؛ **akhgar@vru.ac.ir**

پژوهشگر دانشگاه استرالیای جنوبی؛ **Khalil.kariman@gmail.com**

دریافت: ۱۴۰۱/۶/۲۲ و پذیرش: ۱۴۰۱/۸/۱۱

«مقاله پژوهشی»

چکیده

لاستیک‌های ماشین حاوی مقادیر قابل‌توجهی عنصر روی هستند، از این رو، ضایعات لاستیک می‌توانند منبع بالقوه روی برای گیاهان باشند. مطالعه حاضر جهت بررسی اثر سویه‌های سودوموناس حل‌کننده ترکیبات‌نامحلول روی و پودر ضایعات‌لاستیک بر رشد و تغذیه ذرت اجرا شد. نتایج مطالعه آزمایشگاهی نشان داد که ۱۲ جدایه قادر به انحلال روی موجود در پودرلاستیک در محیط مایع بودند. در همین راستا pH محیط حاوی باکتری A2 نسبت به شاهد کاهش ۶۶ درصدی را نشان داد. پژوهش گلدانی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در بستر کشت شن‌استریل انجام شد. فاکتورها شامل باکتری‌های سودوموناس در شش سطح (بدون تلقیح (C) و تلقیح با پنج سویه سودوموناس (B1 تا B5)) و تیمار روی از منبع پودر لاستیک در چهار سطح ۰ (C)، ۱۰۰ (T1)، ۲۰۰ (T2) و ۳۰۰ (T3) میلی‌گرم درکیلوگرم روی (به ترتیب معادل ۰، ۹، ۱۸ و ۲۷ گرم پودر لاستیک در کیلوگرم شن) بود. نتایج نشان داد که اثرات اصلی تیمارها بر پارامترهای کلروفیل فلورسانس (Fv/Fm)، شاخص سبزینگی (SPAD)، شاخص کارایی دستگاه فتوسنتزی (PI) و وزن خشک اندام‌هوایی معنی‌دار شد. با کاربرد سویه‌های باکتری و افزایش در میزان پودر لاستیک، میزان هر یک از این پارامترها افزایش معنی‌دار یافت. کاربرد سطح T3 لاستیک به همراه تلقیح با تمامی جدایه‌ها باعث افزایش پارامترها (به ترتیب افزایش ۱/۳۳ ، ۱/۰۲ و ۱/۲۸ برابری در مقدار SPAD، Fv/Fm و PI) در مقایسه با تیمار شاهد شد. وزن خشک ریشه و غلظت روی در اندام‌هوایی و ریشه ذرت تحت تاثیر اثر متقابل تیمارها قرارگرفت. بیشترین مقدار وزن خشک ریشه گیاه در تیمار B3+T3 (افزایش ۲/۱۴ برابری نسبت به شاهد) مشاهده شد. غلظت روی در اندام‌هوایی در تیمار B4+T3 بیشترین مقدار را داشته که افزایش معنی‌دار و ۲۰ برابری نسبت به شاهد داشت. بیشترین غلظت روی در ریشه در حضور سویه‌های B3 و B2 در سطح T3 پودر لاستیک بود که به ترتیب ۲۵ و ۲۲ برابر نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار داشت. بیشترین میزان غلظت آهن در اندام‌هوایی و ریشه گیاه مربوط به کاربرد سطح T3 پودر لاستیک به ترتیب با مقدار ۲۸/۳ و ۳۰/۷ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک بود. همچنین، سویه‌های باکتری باعث افزایش معنی‌دار غلظت آهن اندام‌هوایی نسبت به شاهد شدند ولی تفاوت معنی‌داری بین سویه‌ها مشاهده نشد. در نهایت می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از پودر لاستیک تلقیح شده با جدایه‌های باکتری می‌تواند تاثیر زیادی در رشد و بهبود عملکرد گیاه داشته باشد.

واژه های کلیدی: باکتری‌های حل کننده روی، پودر لاستیک، پارامترهای رویشی، عناصر غذایی

* آدرس ایمیل نویسنده:azarnasirzadeh21@yahoo.com

مقدمه

هر سال مقدار زیادی لاستیک‌ها فرسوده می‌شود. این حجم عظیم از ضایعات لاستیکی که ۱۲ درصد از زباله‌های جامد را تشکیل می‌دهند، باعث ایجاد مشکلات و نگرانی‌های زیست محیطی شده است (هولست و همکاران، ۱۹۹۸). با توجه به اینکه دفن زباله لاستیک‌های فرسوده از نظر قانونی در کشورهای مختلف ممنوع است، بنابراین روش‌های جدید بازیافت لاستیک‌های فرسوده مورد توجه زیادی قرار گرفته است (گی‌یر و همکاران، ۲۰۰۴).

لاستیک ماشین عمدتاً از ۵۰ درصد کائوچو، ۲۶ درصد کربن سیاه، ۱۰ درصد ترکیبات فلزی، ۶ درصد ترکیبات اکسید روی و اسید استئاریک و ۵ درصد سیم‌های مفتولی تشکیل شده است (کینوشیتا و همکاران، ۲۰۰۵). روی موجود در لاستیک به‌صورت ZnO و گاهی به‌صورت ترکیب با گوگرد وجود دارد (آداچی و تاینوشا، ۲۰۰۴). لاستیک به‌طور معمول ممکن است حاوی عناصری نظیر Zn، Ti، Si، K، Ca، Fe، S و Mg باشد. به طور متوسط لاستیک دارای یک تا دو درصد روی است (آداچی و همکاران، ۲۰۰۴). در حالی که غلظت عناصر سنگین در آن ناچیز می‌باشد و ممکن است به عنوان یک منبع کودی مؤثر و ایمن برای تأمین این عنصر غذایی بدون خطر آلودگی فلزات سنگین استفاده شود (چنی، ۲۰۰۷; طاهری و همکاران، ۲۰۱۱).

روی یکی از عناصر کم مصرف مهم در سلامت انسان و گیاه است که فعالیت‌های بیوشیمیایی زیادی را در سوخت و ساز بدن انسان و رشد و نمو گیاهان بر عهده دارد. با توجه به این‌که بسیاری از اکسیدانت‌ها در حضور عناصر کم‌مصرف فعال می‌شوند، به نظر می‌رسد وجود عنصری مثل روی برای ایجاد مقاومت گیاهان در برابر تنش‌های محیطی مهم است. به‌طور کلی غلظت روی مورد نیاز در بافت‌های گیاهی کم و به مقدار ۸ تا ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم متغیر است، اما همین مقدار کم تأثیر قابل‌توجهی بر رشد گیاه و سلامت انسان دارد (آلووی، ۲۰۰۸). طاهری و همکاران (۲۰۱۱) گزارش دادند که پودر لاستیک خودرو و خاکستر حاصل از آن تا حد کفایت غلظت روی قابل جذب خاک را افزایش می‌دهد و این افزایش بیشتر از هنگامی است که از کودهای تجاری روی استفاده می‌شود. نتایج این پژوهشگران نشان داد در خاک‌های تیمار شده با سولفات روی، با گذشت زمان غلظت روی قابل جذب خاک به سرعت کاهش می‌یابد، در حالی که در خاک‌های تیمار شده با پودر لاستیک تایر غلظت روی قابل جذب خاک به تدریج افزایش می‌یابد.

کاربرد لاستیک در خاک‌های کشاورزی با کمبود روی می‌تواند با تجزیه توسط ریزجانداران خاک علاوه بر روی مقداری کلسیم، آهن و گوگرد را فراهم کند. از طرف دیگر، گوگرد آزاد شده نقش اصلاحی برای کاهش pH خاک‌های آهکی خواهد داشت (نیومن و منلی، ۲۰۰۶). در مطالعات متعدد از ضایعات لاستیک به صورت قطعات کوچک (چنی، ۲۰۰۷)، پودر (خوشگفتارمنش و همکاران، ۲۰۱۲)، خاکستر (خوشگفتارمنش و همکاران، ۲۰۱۳; طاهری و همکاران، ۲۰۱۱)، نانوذرات (طاهری و همکاران، ۲۰۱۱)، نیترات روی حاصل از اسیدشویی قطعات لاستیک (خوشگفتارمنش و همکاران، ۲۰۱۲) و پودر لاستیک تلقیح شده با تیمارهای میکروبی (خوشگفتارمنش و همکاران، ۲۰۱۲) برای تأمین روی استفاده شده است.

یکی از راهکارهای تسریع آزادسازی روی و گوگرد از لاستیک‌های فرسوده، تلقیح میکروبی آنها با باکتری‌های تجزیه کننده لاستیک و حل‌کننده عناصر می‌باشد (خوشگفتارمنش و همکاران، ۲۰۱۲). گزارش شده است که ریزجانداران مختلف توانایی تجزیه لاستیک‌های فرسوده را داشته و از این طریق سبب کاهش خطرات زیست‌محیطی این ضایعات نیز می‌شوند. لاستیک فرسوده می‌تواند به عنوان بسترهای (ماده اولیه) برای ریزجانداران استفاده شود. ریزجانداران قادر به شکستن پیوند گوگرد-گوگرد و گوگرد-کربن موجود در لاستیک هستند (جیانگ و همکاران، ۲۰۱۰). تجزیه زیستی لاستیک یک فرآیند

آهسته بوده و رشد باکتری‌هایی که از لاستیک به عنوان تنها منبع کربن استفاده می‌کنند نیز آهسته می‌باشد (خوشگفتارمنش و همکاران، ۲۰۱۳). تاکنون باکتری‌های مختلفی مانند Rhodococcus rhodochrous ، Corynebateria و Pseudomonas توسط محققین مختلف به عنوان تجزیه کننده لاستیک گزارش شده است (هارون و همکاران، ۲۰۰۴). ریزجانداران با شکستن ترکیب مرکاپتوبنزوتیازول[۱] (MBT) و برخی ترکیبات سمی دیگر درون لاستیک و همچنین تجزیه‌زیستی آن، آزادسازی عناصر و استفاده از ترکیبات مفید درون لاستیک را تسهیل می‌کنند. R. rhodochrous و Escherichia coliترکیب MBT را شکسته و باعث افزایش رهاسازی روی از لاستیک می‌شوند (خوشگفتارمنش و همکاران، ۲۰۱۲). Pseudomonas putida strain HKT554 قادر به تخریب MBT و ۲-متیل بنزوتیازول [۲] (MTBT) موجود در لاستیک می‌باشد (ال‌باسی و همکاران، ۲۰۱۰). تیوباسیلوس و رودوکوکوس قادرند که پیوندهای گوگردی ترکیبات لاستیک را از هم جدا کنند. در مطالعات خوشگفتارمنش و همکاران (۲۰۱۲) استفاده همزمان از Rhodococcus erythropolis ، Acinetobacter calcoaceticus و Escherichia coli باعث افزایش اکسیداسیون گوگرد لاستیک شد (خوشگفتارمنش و همکاران، ۲۰۱۲).

اگرچه مطالعات زیادی در مورد استفاده از لاستیک به عنوان اصلاح‌کننده خاک و کود کندرهای روی در سالیان اخیر انجام شده است. ولی نقش باکتری‌های سودوموناس حل‌کننده روی در آزادسازی روی از این ترکیبات در خاک‌های آهکی کمتر مطالعه شده است. بنابراین هدف اصلی این تحقیق بررسی اثر کاربرد باکتری‌های سودوموناس بر حلالیت و آزادسازی روی موجود در پودر لاستیک و میزان جذب روی توسط گیاه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه پودر لاستیک[۳](TWP) و تجزیه‌های شیمیایی آن

پودر لاستیک با اندازه کوچکتر از ۰/۶ میلی‌متر از شرکت ایساتیس استان یزد تهیه شد (جدول ۱). برای تعیین غلظت کل عناصر در لاستیک، ۴ گرم از هر نمونه به خوبی با ۰/۹ گرم میکروپودر PM Licowax C (Clariant , Switzerland) مخلوط شده، تکان داده شد و سپس با استفاده از دستگاه (Specac PT. No. 3350) به صورت گلوله فشرده شد. سپس قرص‌ها با استفاده از طیف سنجی فلورسانس اشعه ایکس (XRF[۴]) و با استفاده از نرم‌افزار SPECTRO X-LAB 2000، Instruments, (SPECTRO Analytical Germany) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند (جدول ۱).

تهیه سویه‌های باکتری

تعداد ۱۴ سویه باکتری Pseudomonas و Stenotrophomonas (با صفات محرک رشدی مشخص) که توان حل‌کنندگی روی، تولید سیدروفور و حل‌کنندگی فسفات‌های نامحلول را دارا بودند از کلکسیون باکتریایی گروه علوم خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه ولیعصر رفسنجان انتخاب شدند (جدول ۲)، از کلکسیون باکتری‌های گروه علوم خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه ولی‌عصر (عج) رفسنجان انتخاب و بعد از انتقال از دمای ۸۰- درجه سلسیوس به محیط آزمایشگاه، بر روی محیط کشت جامد King B کشت داده شد و خالص بودن و توان رشد باکتری‌ها بررسی شد. برخی از خصوصیات محرک رشدی سویه‌های مورد نظر در جدول ۲ گزارش شده است.

---

۱. mercaptobenzothiazole
۲. methyl-benzothiazole
۳. Tire waste powder
4. X-ray fluorescence

جدول ۱- نتایج آنالیز عنصری نمونه‌های لاستیک آسیاب شده با استفاده از XRF

عنصر	واحد	مقدار
Zn	%	۱۳/۳
Fe	%	۰/۹۴
Cu	%	۰/۱۴
Mn	mg kg^{-1}	۷۸
Pb	%	۰/۱۳
Cd	%	۰/۶
Na	%	۰/۸۵
K	%	۰/۳۰
Sr	mg kg^{-1}	۲۳۹
Si	%	۰/۵۸
Ca	%	۱/۴۲
S	%	۱۲/۷۹
Ti	mg kg^{-1}	۲۸۸
Zr	mg kg^{-1}	۳۴۴
Re	%	۳/۳۲
Ga	mgkg^{-1}	۷۵۳
Sn	mg kg^{-1}	۷۴

جدول ۲- برخی از ویژگی‌های محرک رشد سویه‌های انتخاب شده

	تولید اکسین ($mg\ L^{-1}$)	حلالیت روی ($mg\ L^{-1}$)	حلالیت فسفر ($mg\ L^{-1}$)	تولید سیدروفور (نسبت هاله به کلنی)
Pseudomonas fluorescens A11	۰/۳۸	۶۵/۸	۵۹۵	۱/۲۰
Pseudomonas sp. A12	۰/۴۳	۳۵/۹	۷۰۸	۱/۰۰
Stenotrophomonas sp. A22	۳/۲	۳/۱۰	۴۸۴	۱/۲۰
Pseudomonas sp.A2	۲/۶۴	۲۸/۵	۶۶۸	۱/۱۰
Pseudomonas sp. A1	۳/۳۵	۳/۲۰	۶۹۵	۱/۵۰
Pseudomonas sp.A5	۲/۵۸	۹۲/۴	۷۴۵	۱/۲۰
Pseudomonas sp. A6	۱/۸۵	۱۰۰	۵۲۴	۱/۰۰
Pseudomonas cedrina K5		۴/۵۰	۴۲۰	۱/۶۰
Pseudomonas fluorescens.D14	۰/۷۴	۶۷/۴	۴۸۲	۱/۳۷
Pseudomonas cedrina K4		۹/۷۶	۶۲۰	۱/۰۰
Pseudomonas fluorescens.D10	۱/۲۱	۵۴/۵	۴۱۲	۲/۶۷
Pseudomonas fluorescens.D1	۱/۱۷	۵/۷۱	۶۵۰	۲/۰۱
Pseudomonas fluorescens.D23	۶/۵۹	۱۵/۹	۲۹۳	۲/۱۸
Pseudomonas fluorescens.D12	۲/۳۸	۴/۵۲	۵۶۵	۲/۴۱

بررسی توانایی باکتری‌ها در حل روی از منبع پودر لاستیک

برای این منظور از محیط مایع PKV[۱] (۰/۵ گرم $(NH_4)_2SO_4$، ۰/۵ گرم $MgSO_4.7H_2O$، ۰/۳گرم NaCl، ۰/۳ گرم KCl، ۰/۰۳ گرم $FeSO_4.7H_2O$، ۰/۰۲گرم $MnSO_4.H_2O$ و ۱۰ گرم گلوکز در لیتر) که حاوی پنج گرم در لیتر KH_2PO_4 (منبع فسفر محلول) می‌باشد، استفاده شد. در اندازه‌گیری حل‌کنندگی روی به وسیله باکتری در محیط PKV، از دو گرم در لیتر ZnO به‌عنوان منبع روی استفاده می‌شود. در این بخش ZnO حذف شده و از پودر لاستیک به‌عنوان منبع روی استفاده شد. براساس محاسبات انجام شده مقدار یک گرم لاستیک در ۳۰

۱. Pikovskaya

میلی‌لیتر محیط کشت (معادل دو گرم ZnO در یک لیتر) استفاده شد (آذرمی و همکاران، ۲۰۱۶). مقدار یک گرم پودر لاستیک به هر ارلن حاوی ۳۰ میلی‌لیتر محیط PKV به‌عنوان منبع روی اضافه شده و اندازه‌گیری‌ها در سه تکرار انجام گرفت. ابتدا باکتری‌ها به‌مدت ۴۸ ساعت در محیط King B کشت داده سپس ۱۰۰ میکرولیتر از تعلیق تازه باکتری به ۳۰ میلی‌لیتر محیط PKV منتقل شدند. نمونه‌ها برای مدت ۱۲۰ ساعت شیک و سپس pH آنها قرائت شد. هم‌زمان با عملیات فوق، تعلیق باکتری‌ها سانتریفوژ (با دور ۶۰۰۰ تا ۸۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه) و یک میلی‌لیتر از محلول رویی با محیط PKV به نسبت ۱:۵۰ رقیق شده و مقدار روی محلول در نمونه‌های تلقیح شده با باکتری و لاستیک و همچنین شاهد با استفاده از دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد (سراوانان و همکاران، ۲۰۰۴). در انتها جدایه‌هایی که قادر به حل‌کنندگی بیشتر روی موجود در پودر لاستیک هستند به‌عنوان سویه‌های برتر در مطالعات بعدی مورد استفاده قرار خواهند گرفت.

کشت ذرت در شن

با توجه به نتایج حاصله از آزمایش پیمانه‌ای پنج باکتری که دارای بیشترین حل‌کنندگی روی موجود در لاستیک بودند جهت انجام کشت گلخانه‌ای انتخاب شده و مورد استفاده قرار گرفتند (Pseudomonas sp A5 ، Pseudomonas cedrina K5، Pseudomonas sp A2، Pseudomonas fluorescens A11 و Pseudomonas fluorescens D12.). آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار اجرا شد. فاکتورها شامل باکتری‌های سودوموناس در شش سطح بدون تلقیح و تلقیح با جدایه‌های Pseudomonas sp A5 ، K5 Pseudomonas cedrina، Pseudomonas sp A2، Pseudomonas fluorescens A11 و Pseudomonas fluorescens D12. (به ترتیب Ctrl:B0، B1:A5، B2:K5، B3:A2، B4:A11 و B5:D12 نام گذاری شدند) و تیمار روی در چهار سطح ۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم روی در کیلوگرم از منبع لاستیک (به ترتیب معادل ۰، ۹، ۱۸ و ۲۷ گرم پودر لاستیک در کیلوگرم شن) بودند.

برای این بخش از آزمایش گلخانه‌ای، از نمونه‌های شن کوارتزی به عنوان بستر کشت استفاده شد. شن کوارتزی مورد استفاده از معدن سیلیس همدان تهیه و میانگین قطر ذرات آن در محدوده ۰/۳ تا ۱ میلی‌متر بود. نمونه‌های تهیه شده ابتدا با آب شستشو گردید، سپس در محلول ۰/۵ مولار HCl به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت. مجدد با آب مقطر شسته و به مدت ۲۴ ساعت در آون خشک شد و سپس در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس به مدت دو ساعت درون اتوکلاو استریل گردید. آزمایش در ۷۲ گلدان پلی‌اتیلن دو کیلوگرمی شامل مخلوط شن کوارتزی به عنوان ماده پرکننده و تیمار روی از منبع پودر لاستیک، انجام شد. بدین منظور در ته هر گلدان دو برگ کاغذ صافی قرار داده شد. سپس ۵۰۰ گرم شن کوارتزی روی آن ریخته شد. پس از آن مخلوط شن و پودر لاستیک (با توجه به تیمار مربوطه، مقدار گرم پودر لاستیک محاسبه شده برای هر تیمار با یک کیلوگرم شن مخلوط شد) ریخته و در انتها ۵۰۰ گرم شن باقی مانده در سطح گلدان قرار داده شد.

آماده‌سازی بذور و مایه‌تلقیح

بذرهای ذرت رقم سینگل کراس ۲۰۴ مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا بذرها به‌مدت پنج الی ۱۰ دقیقه در محلول وایتکس ۲۰ درصد ضدعفونی شدند، سپس به مدت ۳۰ ثانیه در اتانول ۹۶ درصد قرار داده شدند. برای حذف هیپوکلریت سدیم از سطح بذرها، چندین بار (۸ تا ۱۰ بار) شستشو با آب مقطر استریل انجام شد. سپس بذرهای استریل شده در پلیت‌های حاوی محیط کشت آب-آگار قرار داده شدند و به مدت سه روز در دمای ۲۸ درجه سلسیوس در انکوباتور قرار داده شدند تا جوانه‌دار شوند.

به‌منظور تهیه مایه تلقیح از هر یک جدایه‌ها، بعد از خالص‌سازی در محیط کشت جامد King B، مقداری از

باکتری‌ها به درون ارلن‌های حاوی ۲۵ میلی‌لیتر محیط کشت مایع NB[1] تلقیح گردیدند و به مدت ۴۸ ساعت با ۱۵۰ دور در دقیقه در دمای ۲۸ درجه سلسیوس شیک شدند. مجددا مقدار ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون هر باکتری برداشته و به ارلن‌های حاوی ۲۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت NB جدید منتقل گردیدند و به مدت ۴۸ ساعت شیک شدند. سوسپانسیون‌های تهیه شده پس از همسان نمودن تراکم آن با جمعیت 10^8 ($CFU\ mL^{-1}$) به‌عنوان مایه تلقیح مورد استفاده قرار گرفتند.

کاشت در گلدان‌ها

ابتدا در هر گلدان ۸ بذر جوانه زده در عمق 3 سانتیمتری قرار داده شد. برای تلقیح، بر روی هر بذر یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون جدایه‌های مورد نظر ریخته شد. چهار هفته پس از کاشت، تعداد بوته‌ها در هر گلدان به پنج عدد کاهش داده شد. آبیاری گلدان‌ها با محلول هوگلند (شامل $NH_4H_2PO_4$ ۱۱۵ گرم، KNO_3 ۱۰۷ گرم، $Ca(NO_3)_2.4H_2O$ ۲۳۶ گرم، $MgSO_4.7H_2O$ ۲۴۶ گرم، Fe.EDDHA ۵ گرم، H_3BO_3 ۰/۳۸ گرم، $MnSO_4.4H_2O$ ۱/۰۲ گرم، $CuSO_4.5H_2O$ ۰/۰۸ گرم و $(NH_4)_2MoO_4.4H_2O$ ۰/۰۲ گرم در لیتر) بدون منبع روی (هوگلند و آرنون، ۱۹۵۰) بلافاصله بعد از کشت آغاز شد. آبیاری این گلدان‌ها نیز با ۸۰ درصد ظرفیت زراعی و به‌صورت یک روز در میان انجام گرفت.

اندازه‌گیری پارامترهای مورد نظر

قبل از برداشت گیاه شاخص سبزینگی برگ (SPAD) که نشان دهنده میزان کلروفیل می‌باشد با استفاده از دستگاه SPAD-502 اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری مقدار کلروفیل فلورسانس، چند برگ جوان و توسعه‌یافته در هر گلدان انتخاب و به‌مدت ۲۰ دقیقه جهت سازگاری به تاریکی به‌وسیله گیره‌های مخصوص از تابش نور محافظت و نسبت کلروفیل فلورسانس متغیر به کلروفیل فلورسانس حداکثر (Fv/Fm) توسط دستگاه کلروفیل فلورسانس متر(Hansatech LTD Pocket, UK) اندازه‌گیری شد. بعد از برداشت گیاهان ویژگی‌های رویشی شامل وزن خشک ریشه و اندام‌هوایی اندازه‌گیری شد. گیاهان بعد از برداشت از ناحیه طوقه به دو قسمت ریشه و اندام‌هوایی تفکیک و ریشه‌ها و اندام‌هوایی بعد از شستشو با آب مقطر و به‌منظور خشک شدن به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سلسیوس درون آون قرار داده و در نهایت نمونه‌ها وزن شدند.

برای اندازه‌گیری عناصر از روش خشک‌سوزانی استفاده شد (چپمن، ۱۹۶۵) برای این منظور نمونه‌های گیاهی خشک شده در آون آسیاب گردید. نیم گرم از نمونه‌های پودر شده را در بوته‌های چینی ریخته و ابتدا به‌مدت 2 ساعت در دمای 250 درجه سلسیوس و سپس چهار ساعت در دمای 500 درجه سلسیوس درون کوره قرار داده شدند تا خاکستر سفید رنگی حاصل شود. پس از سرد شدن نمونه‌ها، پنج میلی‌لیتر اسیدکلریدریک دو نرمال به آنها اضافه و به درون بالن 50 میلی‌لیتری صاف و با آب مقطر به حجم رسانده شد. از این عصاره به‌طور مستقیم برای اندازه‌گیری عناصر روی، آهن، سرب و کادمیوم استفاده شد. غلظت عناصر فلزی در عصاره‌ها با استفاده از دستگاه جذب اتمی مجهز به کوره گرافیتی (GBC Avanta) قرائت گردید. نتایج بدست آمده از این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار SAS.9.1 تجزیه آماری شده مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد انجام گرفت و نمودارها و جداول مربوطه با استفاده از برنامه‌های Excel و Word رسم و نتایج تفسیر گردید

نتایج و بحث

توان حل‌کنندگی روی از پودر لاستیک توسط باکتری‌ها

نتایج نشان داد که بعد از گذشت پنج روز تعداد ۱۲ جدایه از ۱۴ جدایه مورد آزمایش قادر به حل کردن مقدار زیادی از ترکیبات روی موجود در پودر لاستیک بودند. در همین راستا با اندازه‌گیری pH محیط کشت مشخص شد که باکتری‌هایی که قادر به حل‌کنندگی روی بودند به طور چشمگیری pH محیط را نسبت به نمونه شاهد کاهش

[1] Nutrient broth

دادند. با توجه به جدول ۳ میزان روی در نمونه شاهد برابر با ۵/۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. در اندازه‌گیری روی مربوط به محیط حاوی باکتری‌ها، باکتری A2 با مقدار ۱۴۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیشترین و باکتری A22 با مقدار ۷/۴۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم کمترین حلالیت روی را داشتند. مقایسه محیط حاوی باکتری A2 با نمونه شاهد نشان داد که میزان روی در محیط باکتری A2 ۲۵ برابر افزایش داشته است. همچنین مقدار pH محیط باکتری A2 برابر با ۳/۳۰ و محیط شاهد برابر با ۵/۴۷ اندازه‌گیری شد که نشان داد میزان pH در محیط باکتری A2 نسبت به نمونه شاهد ۶۶ درصد کاهش داشته است (جدول ۳). با توجه به شکل ۱ مشاهده می‌شود که با کاهش pH محیط میزان روی آزاد شده از پودر لاستیک افزایش یافت است و همبستگی مثبت و معنی‌داری بین کاهش pH و افزایش میزان حلالیت روی توسط باکتری، وجود داشت.

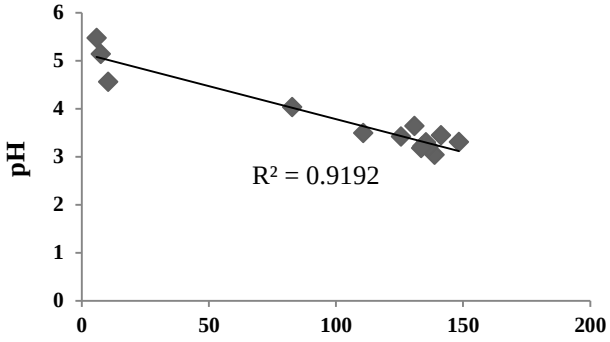
کاربرد باکتری‌های سودوموناس باعث افزایش انحلال و آزادسازی روی از لاستیک شده و در نتیجه‌ی فعالیت این باکتری‌ها pH نیز کاهش زیادی داشت. ساراوارنان و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کردند که دو گونه باکتری Bacillus و Pseudomonas توانایی انحلال ترکیبات کم محلول روی مانند سولفید روی، اکسید روی و کربنات روی را در محیط مایع داشتند. در پژوهشی دیگر پتانسیل بالای جدایه Pseudomonas aeruginosa در انحلال ترکیب اکسید روی در محیط مایع گزارش شد (فسیم و همکاران، ۲۰۰۲). گونه باکتریایی Rhodococcus spp. و Escherichia coli در تجزیه لاستیک ولکانیزه استفاده شده است که نتایج موفقیت آمیزی به دنبال داشتند (هارون و همکاران، ۲۰۰۴). توانایی باکتری برای استفاده از لاستیک به عنوان منبع غذایی (همراه با ظرفیت انحلال روی) از اهمیت بالایی برخوردار است، که برای سویه سودوموناس آئروژینوزا AL98 که قادر به تجزیه لاستیک طبیعی بود گزارش شده است (چنگلرایان و دابس، ۲۰۱۳). ال-باسی و همکاران (۲۰۱۰) بیان کردند ر.اریتروپلیس و سودوموناس پوتیدا قادر به تخریب MBT (مرکاپتوبنزوتیازول) موجود در لاستیک تایر هستند و در حضور سودوموناس پوتیدا، رهاسازی روی از لاستیک تایر افزایش یافت. احتمالاً شکستن پیوندهای کربن توسط این گونه باعث تخریب ساختار لاستیک شده است.

باکتری‌ها با ترشح موادی از جمله اسیدهای آلی و پروتون می‌توانند موجب کاهش pH محیط و در نهایت افزایش انحلال ترکیبات روی گردند (شهاب و احمد، ۲۰۰۸).

جدول ۳- اثر کاربرد جدایه‌های باکتری بر آزادسازی روی لاستیک و pH در محیط کشت باکتری

جدایه سودوموناس	حلالیت روی ($mg\ kg^{-1}$)	pH
K5	۱۳۴$^{a-b}$	۳/۲۲$^{f-g}$
D14	۱۳۹^{a}	۳/۰۴^{g}
K4	۸۲/۷^{c}	۴/۰۳^{d}
D10	۱۳۶^{a}	۳/۲۱$^{f-g}$
A2	۱۴۸^{a}	۳/۳۰$^{f-g}$
D1	۱۴۱^{a}	۳/۴۴$^{e-f}$
A6	۱۱۱^{b}	۳/۴۹$^{e-f}$
A5	۱۲۵$^{a-b}$	۳/۴۲$^{e-f}$
D23	۱۳۵^{a}	۳/۳۰$^{f-g}$
A11	۱۳۶^{a}	۳/۲۰$^{f-g}$
A22	۷/۴۵^{d}	۵/۱۴^{b}
A1	۱۰/۳^{d}	۴/۵۵^{c}
A12	۱۳۳$^{a-b}$	۳/۱۸$^{f-g}$
D12	۱۳۱$^{a-b}$	۳/۶۳^{e}
Control	۵/۸۰ ^{d}	۵/۴۷^{a}

میانگین‌های دارای حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمونLSD می‌باشند



شکل ۱- همبستگی بین pH سوسپانسیون حاوی پودر لاستیک و باکتری با غلظت روی

ارزیابی اثر باکتری‌های سودوموناس و کاربرد لاستیک بر پارامترهای رویشی

وزن خشک ریشه و اندام‌هوایی

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۴) نشان داد که فقط اثرات اصلی کاربرد پودر لاستیک و باکتری‌های سودوموناس، تأثیر معنی‌داری بر وزن خشک اندام‌هوایی گیاه ذرت داشت. همچنین نتایج مشخص شده در جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که علاوه بر اثرات اصلی کاربرد پودر لاستیک و باکتری‌های سودوموناس، اثر متقابل این تیمارها نیز بر وزن خشک ریشه اثر معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد داشته است. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که در کاربرد سطوح مختلف پودر لاستیک به عنوان منبع روی، با افزایش در میزان پودر لاستیک به کاربرده شده میزان وزن خشک اندام هوایی گیاه نسبت به نمونه شاهد افزایش معنی‌دار داشت.

بیشترین میزان وزن خشک اندام‌هوایی مربوطه به تیمار T3 با مقدار ۶/۲۸ گرم در گلدان می‌باشد که افزایش معنی‌دار و ۱/۸ برابری را نسبت به نمونه شاهد نشان می‌دهد (شکل ۲). کاربرد باکتری‌ها نسبت به تیمار شاهد باعث افزایش معنی‌دار میزان وزن خشک اندام‌هوایی گیاه گردیدند. جدایه‌های مختلف سودوموناس نسبت به یکدیگر تفاوت معنی‌داری در افزایش میزان وزن خشک اندام‌هوایی گیاه ندارند (شکل ۳). باکتری‌های مختلف جنس سودوموناس با سازروکارهایی از قبیل ترشح اسیدهای آلی، پروتون، ترکیبات کلات کننده و همچنین اسیدهای معدنی (سولفوریک، کربنیک و...) می‌توانند موجب افزایش انحلال ترکیبات کم محلول روی گردند (شهاب و احمد، ۲۰۰۸). با کاهش pH ریزوسفر جذب عناصر غذایی افزایش می‌یابد که در نهایت منجر به افزایش رشد وتوسع گیاه می‌شود. در مطالعات فلاح و بشارتی (۱۳۸۸)، تلقیح گیاه گندم با باکتری سودوموناس باعث افزایش وزن خشک گیاه شد.

اثرات متقابل باکتری و پودر لاستیک نشان داد در تیمار شاهد بدون تلقیح باکتری کاربرد سطوح مختلف پودر لاستیک تأثیر معنی‌داری بر وزن خشک ریشه نداشته است. تلقیح جدایه‌های سودوموناس در سطوح مختلف پودر در مقایسه با عدم کاربرد پودر لاستیک باعث افزایش معنی‌دار میزان وزن خشک ریشه شدند و تأثیر کاربرد جدایه‌ها در بیشترین میزان تیمار پودر لاستیک (T3) به حداکثر مقدار خود رسید (شکل ۴). کاربرد باکتری B3 همراه با سطوح مختلف پودر لاستیک بیشترین اثر را بر وزن خشک ریشه نسبت به سایر جدایه‌ها و شاهد داشته است. مقدار وزن خشک ریشه در تیمار شاهد (B0+T0) برابر با ۱/۲۳ گرم در گلدان اندازه‌گیری شد و بیشترین میزان وزن خشک ریشه مربوط به تیمار B3+T3 با مقدار

عددی ۲/۶۳ گرم در گلدان می‌باشد که افزایش ۲/۱۴ برابری را نسبت به شاهد نشان داد (شکل ۴). با توجه به نتایج به نظر می‌رسد که تیمارهای میکروبی موجب افزایش کارایی پودر لاستیک می‌شوند. احتمالاً بهبود شرایط ریزوسفر گیاه به وسیله تیمارهای میکروبی مقدمه‌ای برای افزایش تجزیه ذرات لاستیک بوده است. با توجه به توان تولید سیدروفور توسط جدایه‌ها به نظر می‌رسد ترشح سیدروفور که کمپلکس پایداری با آهن می‌دهد آن را به‌صورت محلول و قابل دسترس در می‌آورند و از این طریق رشد گیاه را زیاد کرده و باعث بهبود پارامترهای رویشی گیاه می‌شوند. سودوموناسهای تولید کننده سیدروفور مانع جذب آهن توسط بیمارگرهای گیاهی شده و رشد گیاه را بهبود (او سیلوان و اوگارا، ۱۹۹۲).

باکتری‌ها با تولید هرمون‌های محرک رشد و توانایی انحلال ترکیبات روی موجود در لاستیک توانایی گیاه را در جذب عناصر غذایی و آب بالا برده و باعث افزایش رشد و در نتیجه افزایش وزن خشک گیاهی می‌شوند. افزایش بیوماس گیاهی پس از تلقیح با سویه‌های سودوموناس ممکن است به دلیل افزایش دسترسی به ریزمغذی‌های ضروری، به ویژه روی و آهن باشد (شفیق و همکاران، ۲۰۱۹). جدایه‌های سودوموناس مورد استفاده در این آزمایش می‌توانند ترکیبات P و Zn نامحلول در آب را حل کرده و سیدروفور تولید کنند. بنابراین رشد تحریک شده گیاهان تلقیح شده ممکن است به دلیل افزایش فراهمی زیستی روی، آهن و فسفر در خاک باشد. ساندرا وهمکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند، باکتری های حل کننده فسفات pH خاک را از طریق تولید انواع اسید های آلی کاهش می‌دهند و از این طریق سبب دسترسی بیشتر به عناصری از قبیل فسفر می شوند.

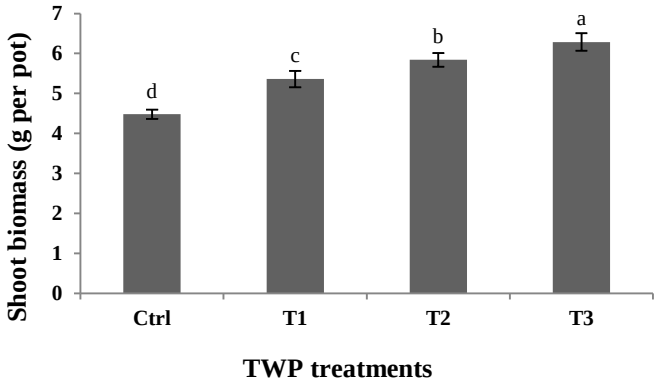
افزایش رشد گیاه در تیمارهای پودر لاستیک و سودوموناس را می‌توان به اثرات پودر لاستیک (به عنوان منبع روی و آهن) و خواص متنوع تقویت کننده رشد گیاه جدایه‌هاهای سودوموناس مانند حل شدن مواد مغذی (از طریق آنیون‌های ترشح اسید آلی). نسبت داد (آذرمی و همکاران، ۲۰۱۶).

تأثیر استفاده از لاستیک تایر با مقادیر ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به عنوان کود روی، در افزایش رشد و عملکرد گیاهان مشاهده شده است (طاهری و همکاران، ۲۰۱۱). تلقیح لاستیک تایر با جدایه‌های باکتری در افزایش دسترسی به روی در خاک و جذب آن توسط ذرت مؤثر بوده است که این افزایش دسترسی موجب افزایش رشد و تولید ماده خشک بیشتری شده است (خوشگفتارمنش و همکاران، ۲۰۱۲).

جدول ۴- تجزیه واریانس برخی ویژگی‌های رویشی در گیاه ذرت در بستر کشت شن

منابع تغییرات	درجه‌آزادی	SPAD	FV/FM	PI	وزن خشک ریشه	وزن خشک اندام‌هوایی
باکتری	۵	۵۶/۳۲**	۰/۰۰۱۷**	۰/۱۱^{ns}	۱/۲۱**	۴/۰۸**
TWP	۳	۱۸۲/۷۱**	۰/۰۰۱۵**	۲/۴۴**	۱/۶۴**	۱۰/۷۶**
TWPباکتری*	۱۵	۳/۹۱^{ns}	۰/۰۰۰۳^{ns}	۰/۰۴۴^{ns}	۰/۰۶۳**	۰/۳۵^{ns}
خطا	۴۸	۲/۱۷	۰/۰۰۰۰۶	۰/۱۸۶	۰/۰۳۶	۰/۳۲
ضریب تغییرات		۵/۵۷	۱/۰۲۵	۱۲/۳۳	۱۰/۸	۱۰/۳۸

ns، ** به ترتیب نشان دهنده عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح ۵ درصد بر اساس آزمون LSD

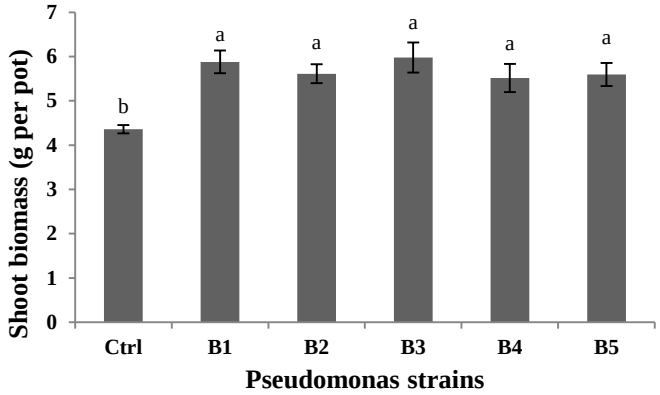


شکل ۲- اثر کاربرد سطوح مختلف لاستیک بر وزن خشک اندام‌هوایی گیاه ذرت

Ctrl: 0, T1: 100: T2: 200, T3: 300 mg Zn in kg. equal to:
Ctrl: 0, T1: 9: T2: 18, T3: 27 g TWP in kg

میانگین‌های دارای حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند

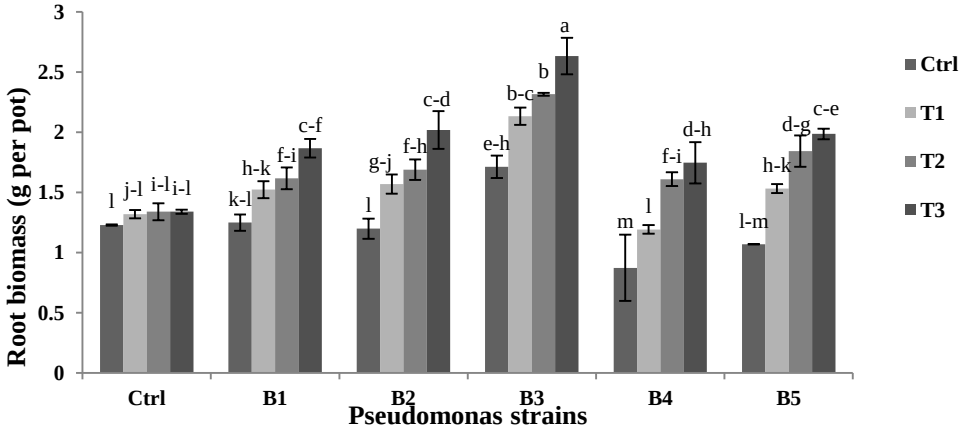
TWP: Tire waste powder، معادل تیمار پودر لاستیک مصرفی



شکل ۳- اثر کاربرد جدایه‌های سودوموناس بر وزن خشک اندام‌هوایی گیاه ذرت

Ctrl:B0 B1: A5 ،B2:K5 ،B3:A2 ،B4:A11 ،B5:D12

میانگین‌های دارای حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند



شکل ۴- اثر کاربرد سطوح مختلف پودرلاستیک و جدایه‌های سودوموناس بر وزن خشک ریشه گیاه ذرت

Ctrl:B0 B1: A5 ،B2:K5 ،B3:A2 ،B4:A11 ،B5:D12

Ctrl: 0, T1: 100: T2: 200, T3: 300 mg Zn in kg. equal to:
Ctrl: 0, T1: 9: T2: 18, T3: 27 g TWP in kg

میانگین‌های دارای حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند

کلروفیل فلورسانس (Fv/Fm)، شاخص سبزینگی (SPAD) و شاخص کارایی دستگاه فتوسنتزی (PI[1])

براساس نتایج تجزیه واریانس، مشاهده شد اثرات اصلی کاربرد پودر لاستیک و باکتری‌های سودوموناس تأثیر معنی‌داری بر مقدار کلروفیل فلورسانس برگ گیاه ذرت داشته است (جدول ۴). نتایج نشان داد که کاربرد سطوح مختلف لاستیک باعث افزایش معنی‌دار میزان کلروفیل فلورسانس برگ گیاه نسبت به نمونه شاهد شد. همچنین مشاهده شد که با افزایش میزان لاستیک پارامتر کلروفیل فلورسانس برگ نیز افزایش یافت. همانگونه که در شکل ۵ مشاهده می‌شود بیشترین میزان کلروفیل فلورسانس برگ در کاربرد تیمار T3 لاستیک است که میزان آن برابر با ۰/۷۷ می‌باشد. در شکل ۶ مشاهده شد که در مجموع کاربرد باکتری‌ها باعث افزایش معنی‌دار کلروفیل فلورسانس برگ گیاه نسبت به نمونه شاهد شدند. نتایج نشان داد که کاربرد باکتری‌های B2 و B1 نسبت به سایر باکتری‌ها میزان کلروفیل فلورسانس برگ را بیشتر افزایش دادند که میزان آن به ترتیب برابر با ۰/۷۷ و ۰/۷۶ گزارش شد (شکل ۶).

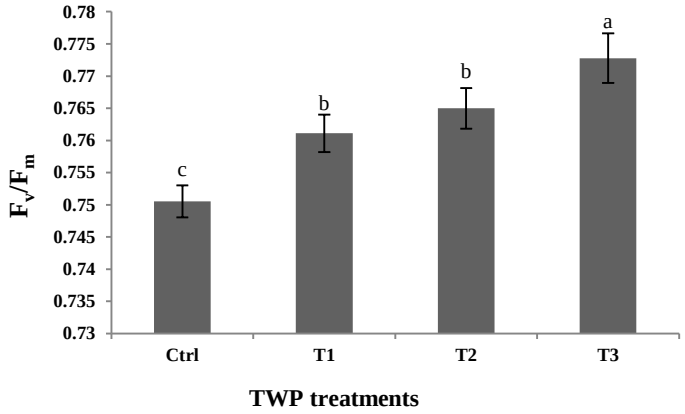
نسبت F_v/F_m کارایی واقعی فتوسیستم II (انتقال الکترون) را نشان می‌دهد و ممکن است گیاه هیچ وقت به این مرحله نرسد. کلروفیل فلورسانس یکی از راه‌های مصرف انرژی برانگیختگی در فتوسنتز می‌باشد که به‌طور گسترده‌ای در پژوهش‌های فتوسنتز به‌کار گرفته می‌شود. از کلروفیل فلورسانس برای تعیین وضعیت فیزیولوژی گیاه و میزان آسیب وارده به دستگاه فتوسنتزی استفاده می‌شود (حاکام و همکاران، ۲۰۰۰). میزان کلروفیل فلورسانس می‌تواند توانایی گیاه در تحمل به تنش‌های محیطی و میزان خسارتی که تنش به گیاه وارد می‌کند را نشان دهد. نسبت F_v/F_m حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II برای تبدیل نور جذب شده به انرژی شیمیایی را نشان می‌دهد (سلطانی، ۲۰۰۴). تنش‌های محیطی که کارایی فتوسیستم II را تحت تأثیر قرار می‌دهند باعث کاهش این نسبت می‌گردند (کالاتایود و بارنو، ۲۰۰۴) در بهترین شرایط این نسبت برابر ۸۲ تا ۸۵ درصد (۰/۸۲ تا ۰/۸۵) است.

ظرفیت فتوسنتزی گیاهان به‌صورت نسبت F_v/F_m بیان می‌شود که نشان‌دهنده حداکثر عملکرد کوانتومی فتوسیستم II (انتقال الکترون) است. مقدار کلروفیل فلورسانس سالم بودن غشا تیلاکوئید و کارایی نسبی انتقال الکترون از فتوسیستم II به فتوسیستم I را نشان می‌دهد. کلروفیل فلورسانس معیاری از میزان کارایی فتوسنتز است و آن را به وسیله‌ی نسبت بین فلورسانس متغیر (F_v) به فلورسانس حداکثر (F_m) محاسبه می‌کنند (ژو و همکاران، ۲۰۰۷).

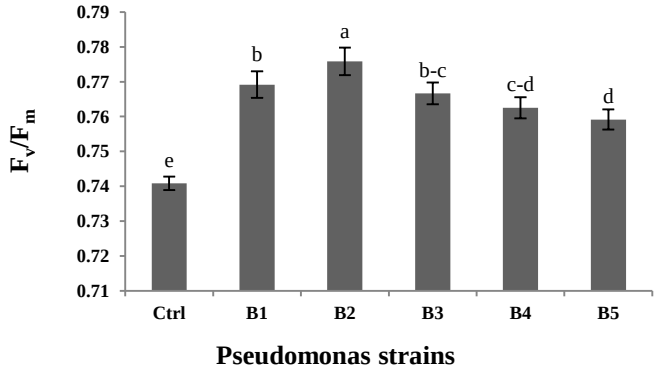
نتایج تجزیه واریانس نشان داد که فقط اثرات اصلی سطوح مختلف لاستیک و کاربرد باکتری‌های سودوموناس بر شاخص سبزینگی برگ گیاه ذرت در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). براساس شکل ۷ مشاهده شد که اثر اکثر باکتری‌ها بر شاخص سبزینگی برگ گیاه ذرت معنی‌دار و افزایشی بوده است. همانگونه که شکل ۷ نشان می‌دهد باکتری B3 نسبت به سایر تیمارهای باکتری و همچنین تیمار شاهد بیشترین افزایش را در میزان شاخص سبزینگی برگ گیاه دارد. میزان این پارامتر در نمونه شاهد برابر با ۲۴/۱ و در تیمار با باکتری B3 برابر با ۲۹/۶ اندازه‌گیری شد که افزایش ۱/۲ برابری را نشان می‌دهد.

تاثیر کاربرد سطوح مختلف پودر لاستیک به عنوان منبع روی، بر میزان شاخص سبزینگی برگ گیاه ذرت در شکل ۸ نشان داده شده است. همانگونه که این شکل نشان می‌دهد کاربرد پودر لاستیک تأثیر زیادی بر این شاخص داشته است. بر طبق نتایج حاصله مشخص شد که سطوح مختلف پودر لاستیک باعث افزایش معنی‌دار در میزان شاخص سبزینگی گیاه شده است. بیشترین اثر بر میزان این پارامتر مربوط به سطح T3 (با مقدار ۲۹/۳) از لاستیک می‌باشد که افزایش ۱/۳۳ برابری و معنی‌دار را نسبت به نمونه شاهد (۲۱/۹) نشان می‌دهد (شکل ۸).

[1]. Photosynthesis index

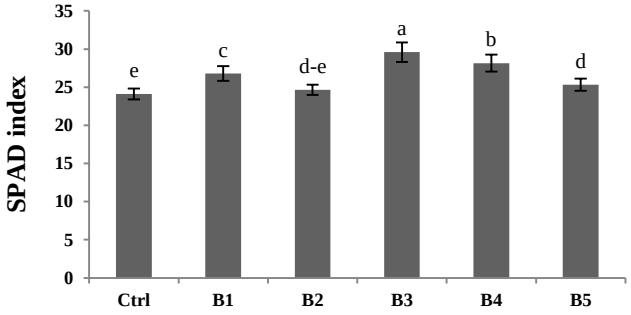


شکل ۵- اثر کاربرد سطوح مختلف لاستیک بر مقدار کلروفیل فلورسانس برگ گیاه ذرت
Ctrl: 0, T1: 100: T2: 200, T3: 300 mg Zn in kg. equal to:
Ctrl: 0, T1: 9: T2: 18, T3: 27 g TWP in kg
میانگین‌های دارای حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند

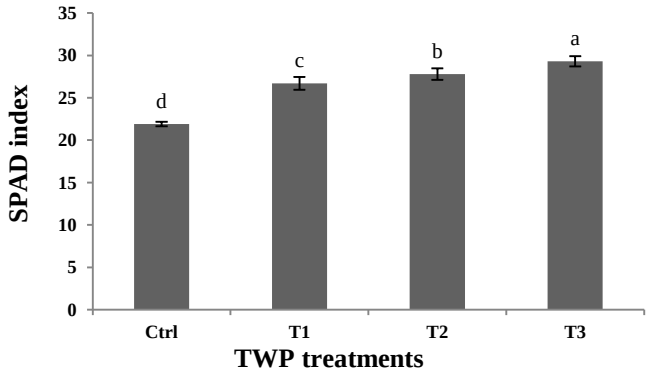


شکل ۶- اثر کاربرد باکتری‌های سودوموناس بر مقدار کلروفیل فلورسانس برگ گیاه ذرت
Ctrl:B0 B1: A5 ،B2:K5 ،B3:A2 ،B4:A11 ،B5:D12
میانگین‌های دارای حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند

SPAD محتوای کلروفیل را با تعیین شدت رنگ سبز در برگ‌ها، بر اساس کمی کردن شدت نور جذب شده توسط نمونه بافت بدون ایجاد اثرات مخرب تخمین می‌زند. شاخص سبزینگی رابطه مستقیمی با مقدار کلروفیل برگ و در نتیجه میزان فتوسنتز دارد. کلروفیل رنگدانه اصلی جذب نور و فتوسنتز در گیاه می باشد که در ساختار آن عناصر غذایی شرکت دارند. به طور کلی، انتظار می‌رود که رنگ سبز برگ با افزایش در دسترس بودن عناصر غذایی خاک از جمله نیتروژن بیشتر شود (سنا جونیور، ۲۰۰۵). در آزمایش حاضر تأثیر مثبت جدایه‌های سودوموناس و کاربرد سطوح مختلف پودر لاستیک بر میزان شاخص سبزینگی برگ گیاه ذرت قابل مشاهده است.



شکل ۷- اثر کاربرد باکتری‌های سودوموناس بر شاخص SPAD برگ گیاه ذرت
Ctrl:B0 B1: A5 ،B2:K5 ،B3:A2 ،B4:A11 ،B5:D12
میانگین‌های دارای حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند



شکل ۸- اثر کاربرد سطوح مختلف لاستیک بر شاخص SPAD برگ گیاه ذرت
Ctrl: 0, T1: 100: T2: 200, T3: 300 mg Zn in kg. equal to:
Ctrl: 0, T1: 9: T2: 18, T3: 27 g TWP in kg
میانگین‌های دارای حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۴) نشان داد، تیمارهای سطوح مختلف لاستیک به‌عنوان منبع روی و جدایه‌های سودوموناس تاثیر معنی‌داری بر روی شاخص کارایی دستگاه فتوسنتزی (PI) گیاه ذرت داشتند. نتایج بدست آمده از شکل ۹ نشان دهنده این است که میزان شاخص کارایی دستگاه فتوسنتزی (PI) با افزایش در سطوح تیماری لاستیک افزایش معنی‌دار یافته است و این به معنی بهبود عملکرد سیستم فتوسنتزی می‌باشد. کاربرد بالاترین سطح لاستیک (تیمار T3) بیشترین افزایش را در صفت موردنظر نسبت به سایر سطوح و شاهد نشان داد. میزان عددی این پارامتر در کاربرد سطح T3 لاستیک برابر با ۳/۸۵ می‌باشد.

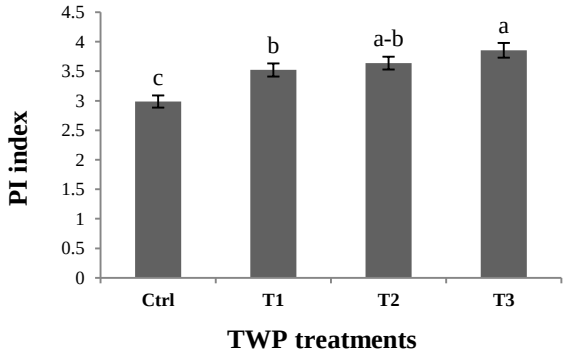
شکل ۱۰ تأثیر باکتری‌های سودوموناس بر شاخص کارایی دستگاه فتوسنتزی (PI) را نشان می‌دهد. شکل مورد نظر بیانگر تأثیرات مثبت جدایه‌ها بر میزان این شاخص می‌باشد و جدایه‌ها نسبت به نمونه شاهد میزان پارامتر PI را افزایش معنی‌دار داده‌اند. در بین باکتری‌های مورد استفاده جدایه‌های B3 و B1 با میزان ۳/۸۵ و ۳/۸۳ بیشترین شاخص PI را دارا بودند.

شاخص PI از مهمترین شاخص‌های فتوسنتزی گیاه است که بیان کننده میزان جذب نور و انتقال الکترون می‌باشد. این پارامتر با تکیه بر کارایی جذب نور، عملکرد کوانتومی واکنش‌های فتوشیمیایی اولیه و عملکرد کوانتومی انتقال الکترون محاسبه می‌گردد (رای و همکاران، ۲۰۰۸). تغییرات آن می‌تواند به طور کامل کارایی سیستم فتوسنتزی را نشان دهد که نتایج حاصل از این پژوهش، افزایش کارایی سیستم فتوسنتزی را در کاربرد تیمارهای مورد نظر نشان داد. به عبارت دیگر اثر

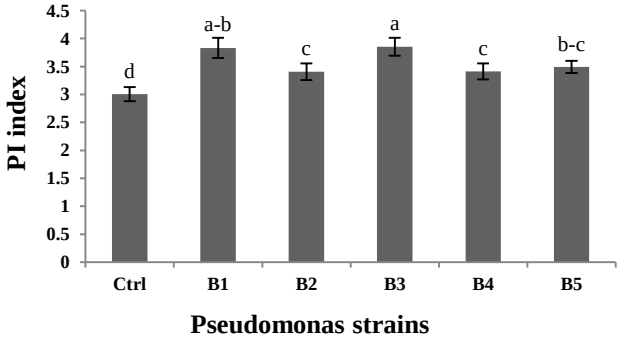
جدایه‌های سودوموناس و کاربرد پودر لاستیک به عنوان منبع روی، باعث افزایش میزان شاخص PI شده است.

باکتری‌های مختلف از جمله سودوموناس‌ها با سازوکارهایی از قبیل ترشح اسیدهای آلی، پروتون، ترکیبات کلاته کننده و همچنین اسیدهای معدنی باعث انحلال ترکیبات کم محلول روی شده و در نتیجه فراهمی و در نهایت جذب روی توسط گیاه افزایش می‌یابد که منجر به افزایش رشد گیاه می‌شود (شهاب و احمد، ۲۰۰۸). جدایه‌های سودوموناس به کاربرده شده در این پژوهش با استفاده از صفات محرک رشدی خود به ویژه توانایی انحلال ترکیبات کم محلول روی، موجب افزایش حلالیت روی موجود در لاستیک شده که در نهایت جذب و رشد گیاه بیشتر می‌شود.

افزایش غلظت روی در گیاه باعث بهبود فرآیندهای سلولی و در نتیجه افزایش رشد و عملکرد گیاه می‌شود همچنین با اشاره به نقش فیزیولوژیکی روی در گیاه، تأثیر کودهای روی بر افزایش رشد گیاه مثبت است (دانگ و همکاران، ۲۰۱۰). تجزیه ذرات لاستیک در خاک به عنوان ترکیب کودی روی، باعث کاهش pH خاک و در نتیجه افزایش فراهمی، حلالیت و جذب عناصر غذایی از جمله روی و آهن شده که به دنبال آن رشد و توسعه گیاه افزایش پیدا میکند. همچنین روی موجود در لاستیک آزاد شده و روی قابل جذب خاک نیز افزایش می‌یابد که این افزایش منجربه جذب بیشتر و رشد بیشتر گیاه شده است.



شکل ۹- اثر کاربرد سطوح مختلف لاستیک بر شاخص کارایی دستگاه فتوسنتزی (PI)
Ctrl: 0, T1: 100: T2: 200, T3: 300 mg Zn in kg. equal to:
Ctrl: 0, T1: 9: T2: 18, T3: 27 g TWP in kg
میانگین‌های دارای حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند



شکل ۱۰- اثر کاربرد جدایه‌های سودوموناس بر شاخص کارایی دستگاه فتوسنتزی (PI)
Ctrl:B0 B1: A5 ،B2:K5 ،B3:A2 ،B4:A11 ،B5:D12
میانگین‌های دارای حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند

ارزیابی اثر باکتری‌های سودوموناس و کاربرد لاستیک بر غلظت عناصر در گیاه

غلظت روی در اندام‌هوایی و ریشه گیاه ذرت

نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۵)، نشان داد که تیمارهای باکتری، پودر لاستیک و اثرمتقابل آنها، تأثیر معنی‌داری بر غلظت روی در اندام‌هوایی و ریشه داشتند. نتایج (شکل۱۱) نشان داد در تمامی سطوح باکتری، کاربرد پودر لاستیک به‌طور معنی‌داری غلظت روی در اندام‌هوایی گیاه را در مقایسه با شاهد مربوطه (عدم کاربرد پودر لاستیک T0) افزایش معنی‌دار داد. در تمام سطوح باکتری، بیشترین غلظت روی در اندام‌هوایی گیاه در کاربرد تیمار T3 پودر لاستیک مشاهده گردید. نتایج نشان داد که غلظت روی در اندام‌هوایی در حضور جدایه B4 و سطح T3 کاربرد پودر لاستیک، بیشترین مقدار خود را داشته است. که برابر با ۹۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک گیاه بود. این تیمار افزایش ۲۰ برابری نسبت به نمونه شاهد بدون باکتری و پودر لاستیک (B0T0) را نشان داد. همچنین کاربرد باکتری B3 نیز در سطح T3 پودر لاستیک مقدار روی موجود در اندام‌هوایی گیاه را افزایش داد که برابر با ۸۲۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک اندازه‌گیری شد.

برطبق نتایج حاصله مشخص شد که که کاربرد همزمان پودر لاستیک و جدایه‌های سودوموناس، غلظت روی در ریشه را به‌صورت معنی‌داری افزایش داد. بیشترین غلظت روی در ریشه در حضور جدایه B3 و B2 در سطح T3 کاربرد پودر لاستیک مشاهده شد که به ترتیب برابر با ۲۴۷۷ و ۲۱۹۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک ریشه بود. این تیمارها مقدار روی ریشه را ۲۵ و ۲۲ برابر نسبت به نمونه شاهد بدون باکتری و پودر لاستیک (B0T0) افزایش داد (شکل ۱۱).

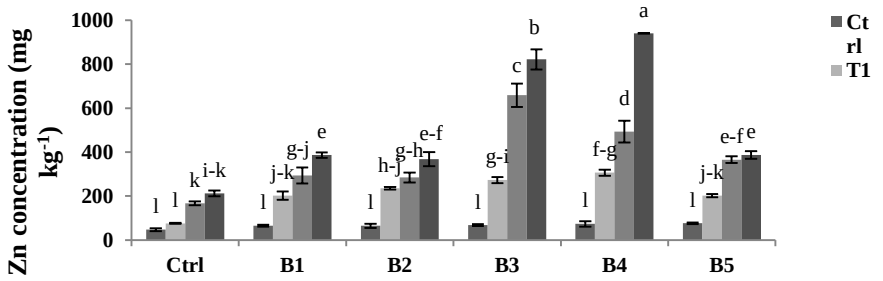
با توجه به نتایج بدست آمده مشاهده شد که اضافه کردن سطوح مختلف پودر لاستیک به عنوان منبع روی در گیاهان تلقیح شده با جدایه‌های باکتری، باعث افزایش غلظت روی در اندام‌هوایی و ریشه نسبت به نمونه شاهد شده است. محتوای گوگرد در پودر لاستیک می‌تواند pH ریزوسفر را کاهش دهد که منجر به افزایش دسترسی گیاهی به سایر ریزمغذی‌ها شود. افزودن لاستیک باعث افزایش قابلیت دسترسی نیتروژن (N)، پتاسیم (K)، منگنز (Mn) و غلظت روی در محیط شد (خوشگفتارمنش و همکاران، ۲۰۱۲). در مطالعات خوشگفتارمنش و همکاران (۲۰۱۲) استفاده همزمان از Rerythropolis، E coli و Acinobacter calcoaceticus باعث افزایش اکسیداسیون گوگرد ذرات لاستیک و افزایش روی قابل جذب خاک شد. هارون و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کردند سودوموناس توانایی شکستن MBT را دارد و تجزیه زیستی لاستیک را توسط سایر ریزجانداران تسهیل می‌کند.

چنی (۲۰۰۷) گزارش داد که لاستیک می‌تواند به عنوان کود روی مناسب در خاک آهکی دارای کمبود روی در نظر گرفته شود، اسمولدر و دگریس (۲۰۰۲) بعد از اضافه کردن ذرات کمتر ۰/۱ میلی‌متر لاستیک تایر به خاک مشاهده کردند، روند رهاسازی روی از لاستیک بسیار کند است، به طوری که بعد از یک سال تنها ۱۰ تا ۴۰ درصد از روی موجود در لاستیک به خاک اضافه شد .اما در این مطالعه تلقیح میکروبی لاستیک تایر بعد از گذشت سه هفته، توانست روی قابل جذب خاک را تا ۴۰ درصد بیشتر از شرایط کاربرد پودر لاستیک بدون تلقیح میکروبی افزایش دهد. در مطالعات خوشگفتارمنش و همکاران (۲۰۱۲) نیز کاربرد پودر لاستیک به همراه تیمار میکروبی Rerythropolis+E coli. + Acinobacter calcoaceticus بیشترین تأثیر را بر کاهش pH خاک داشت. احتمالاً اکسیداسیون گوگرد موجود در لاستیک و گوگرد بومی خاک به وسیله باکتری‌ها و تولید مقادیری دی‌اکسید کربن در اثر فعالیت‌های میکروبی از عوامل اصلی کاهش pH خاک بوده‌اند.

جدول ۵- تجزیه واریانس غلظت روی و آهن در ریشه و اندام‌هوای ذرت کشت شده در شن در کاربرد پودرلاستیک و باکتری

منابع تغییرات	درجه آزادی	غلظت Zn	Fe	غلظت Zn	Fe
		ریشه		اندام‌هوایی	
باکتری	۵	۱۰۹۲۸۷۲**	۲۸/۴۴**	۲۱۲۳۰۲**	۶۸۹**
TWP	۳	۸۰۴۰۶۸۳**	۲۳۹/۵۵**	۶۸۹۶۶۰**	۳۱۳۳**
باکتری*TWP	۱۵	۲۱۴۲۹۹**	۲/۸۹^{ns}	۵۱۶۴۷**	۱۵۸/۳۲^{ns}
خطا	۴۸	۴۲۶۲۵	۷/۴۵	۱۵۴۹	۳۷۲
ضریب تغییرات		۲۰/۴۸	۱۰/۳۳	۱۳/۴۳	۱۵/۲۱

ns، ** به ترتیب نشان دهنده عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح ۵ درصد بر اساس آزمون LSD



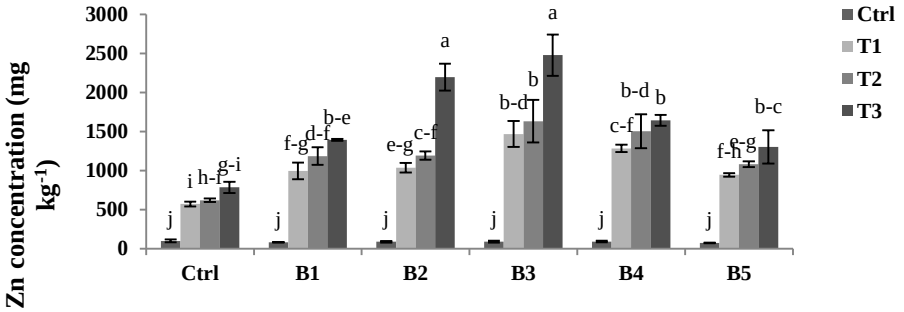
***Pseudomonas* strains**

شکل ۱۱- اثر کاربرد سطوح مختلف پودرلاستیک و جدایه‌های سودوموناس بر غلظت روی اندام‌هوایی گیاه ذرت

Ctrl:B0 B1: A5 ،B2:K5 ،B3:A2 ،B4:A11 ،B5:D12،

Ctrl: 0, T1: 100: T2: 200, T3: 300 mg Zn in kg. equal to:
Ctrl: 0, T1: 9: T2: 18, T3: 27 g TWP in kg

میانگین‌های دارای حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند



Pseudomonas strains

شکل ۱۲- اثر کاربرد سطوح مختلف پودرلاستیک و جدایه‌های سودوموناس بر غلظت روی ریشه گیاه ذرت

Ctrl:B0 B1: A5 ،B2:K5 ،B3:A2 ،B4:A11 ،B5:D12،

Ctrl: 0, T1: 100: T2: 200, T3: 300 mg Zn in kg. equal to:
Ctrl: 0, T1: 9: T2: 18, T3: 27 g TWP in kg

میانگین‌های دارای حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند

غلظت آهن در اندام‌هوایی و ریشه گیاه ذرت

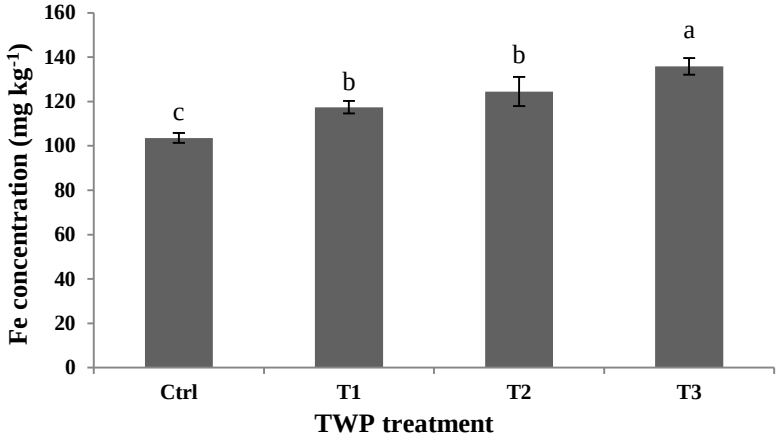
نتایج تجزیه واریانس نشان داد (جدول ۵)، که فقط اثر اصلی تیمار سطوح مختلف پودر لاستیک بر غلظت آهن در اندام‌هوایی گیاه ذرت در سطح پنج درصد معنی‌دار بود. براساس نتایج مشاهده شد که کاربرد سطوح مختلف پودر لاستیک به‌عنوان منبع روی، به‌طور معنی‌داری غلظت آهن در اندام‌هوایی را نسبت به نمونه شاهد (عدم کاربرد پودر لاستیک) افزایش داده است. مشاهدات نشان داد که کاربر سطح T1 و T2 پودر لاستیک تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشته اند اما این تفاوت در مقایسه با تیمار شاهد معنی‌دار بود. بیشترین غلظت آهن در اندام‌هوایی مربوط به تیمار با سطح T3 پودر لاستیک می‌باشد که مقدار آن برابر با ۱۳۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک اندام هوایی بدست آمد. این تیمار غلظت آهن در اندام‌هوایی گیاه را ۴۰ درصد نسبت به نمونه شاهد افزایش داد (شکل ۱۳).

باتوجه به نتایج بدست آمده از جدول تجزیه واریانس، مشاهده شد که اثرات اصلی کاربرد جدایه‌های سودوموناس و سطوح مختلف پودر لاستیک، به صورت معنی‌داری غلظت آهن در ریشه را تحت تأثیر قرار دادند اما اثر متقابل آنها تاثیر معنی‌داری بر غلظت آهن ریشه نداشت. کاربرد تمامی جدایه‌ها به‌طور معنی‌داری غلظت آهن ریشه را در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌دار داد (شکل۱۴). کاربرد جدایه‌های B5، B3، B2 و B1 از نظر آمارای تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند.بیشترین مقدار غلظت آهن مربوط به کاربرد جدایه B5 با مقدار ۲۸/۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک ریشه بود.

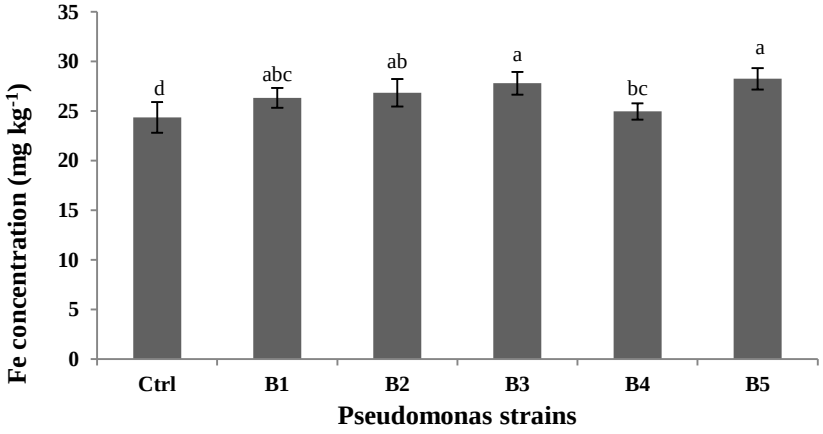
کاربرد سطوح مختلف پودر لاستیک منجر به افزایش معنی‌دار غلظت آهن ریشه گردید (شکل ۱۵). نتایج بدست آمده از شکل ۱۵ نشان داد که کاربرد پودر لاستیک موجب افزایش غلظت آهن در ریشه گیاه ذرت شده است که این افزایش نسبت به نمونه شاهد مشخص است. همچنین نتایج نشان داد که با افزایش مقدار کابرد پودر لاستیک غلظت آهن نیز در ریشه افزایش معنی‌دار داشت. شکل ۱۵ نشان داد که بیشترین میزان غلظت آهن در ریشه گیاه مربوط به کاربرد سطح T3 از پودر لاستیک به مقدار ۳۰/۷ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک ریشه بود.

کاربرد ذرات لاستیک باعث کاهش موضعی pH و افزایش غلظت روی، آهن و فسفر قابل جذب خاک میشود. مهمترین دلایل تأثیر باکتری‌ها بر انحلال و آزادسازی عناصر عبارتند از: کاهش pH در اثر ترشح پروتون، آمینواسید و اسیدهای آلی و ترکیب شدن عناصر فلزی با لیگاندهای آلی ترشح شده توسط باکتری‌ها (آذرمی و همکاران، ۲۰۱۶).

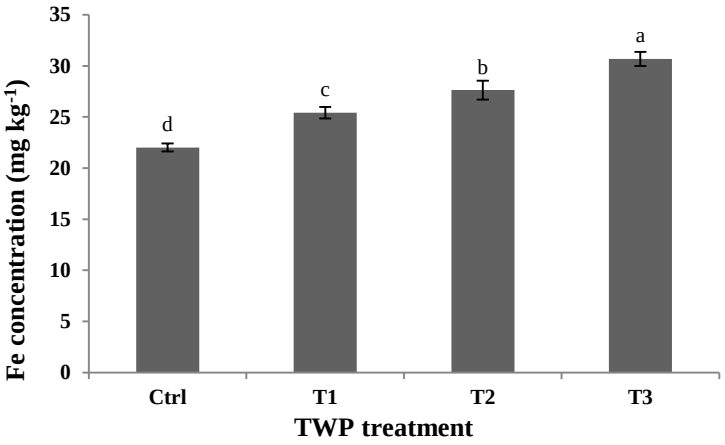
افزایش فعالیت ریزجانداران منجر به تخریب بیشتر لاستیک و آزاد شدن بیشتر گوگرد می‌شود. افزایش اکسیداسیون گوگرد دلیل اصلی کاهش pH خاک در خاک‌های اصلاح شده با لاستیک است که در نتیجه این کاهش pH، حلالیت و دسترسی عناصر افزایش می‌یابد. باکتری‌های مختلف جنس سودوموناس با مکانیسم‌هایی از قبیل ترشح اسیدهای آلی، پروتون، ترکیبات کلات‌کننده و هم‌چنین اسیدهای معدنی (سولفوریک، کربنیک و ...) می‌توانند موجب افزایش جذب عنصر روی و آهن گردند (شهاب و احمد، ۲۰۰۸).



شکل ۱۳- اثر کاربرد سطوح مختلف لاستیک بر غلظت آهن اندام‌هوایی گیاه ذرت
Ctrl: 0, T1: 100: T2: 200, T3: 300 mg Zn in kg. equal to:
Ctrl: 0, T1: 9: T2: 18, T3: 27 g TWP in kg
میانگین‌های دارای حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند



شکل ۱۴- اثر کاربرد جدایه‌های سودوموناس بر غلظت آهن ریشه گیاه ذرت
Ctrl:B0 B1: A5 ،B2:K5 ،B3:A2 ،B4:A11 ،B5:D12
میانگین‌های دارای حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند



شکل ۱۵- اثر کاربرد سطوح مختلف لاستیک بر غلظت آهن ریشه گیاه ذرت
Ctrl: 0, T1: 100: T2: 200, T3: 300 mg Zn in kg. equal to:
Ctrl: 0, T1: 9: T2: 18, T3: 27 g TWP in kg
میانگین‌های دارای حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج مشخص شد که کاربرد جدایه‌های سودوموناس در مقابل عدم کاربرد باکتری باعث افزایش درپارامترهای رویشی گیاه ذرت شد و همچنین تأثیر پودر لاستیک نیز بر افزایش این پارامترها مثبت بود به‌طوری که سطح سوم پودر لاستیک(۳۰۰ میلی‌گرم روی در کیلوگرم معادل ۲۸ گرم لاستیک در کیلوگرم) بیشترین افزایش را نشـان داد. وزن خشـک ریشـه و اندام‌هوایی نیز با کاربرد تیمارهای باکتری و پودر لاستیک افزایش یافت. در نهایت استفاده همزمان باکتری به همراه سطوح مختلف پودر لاستیک باعث افزایش در غلظت عناصر روی و آهن در ریشه و اندام‌هوایی گیاه شد. در مجموع می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از پودر لاستیک تلقیح شده با جدایه‌های باکتری می‌تواند تأثیر زیادی در رشد و بهبود عملکرد گیاه داشته باشد.

فهرست منابع

۱. فلاح، ع .ر .بشارتی، ح.، ۱۳۸۸. مقایسه تأثیر باکتری های حل کننده فسفات ماده آلی و سوپر فسفات تریپل در عملکرد گندم .مجموعه مقالات یازدهمین کنگره علوم خاک ایران، گرگان.

2. Adachi, K. and Tainosho, Y. 2004. Characterization of heavy metal particles embedded in tire dust. Environment International 30: 1009-1017.
3. Alloway, B.J. 2008. Zinc in soils and crop nutrition. International Zinc Association, Brussels, Belgium.
4. Anzai, Y. H. Kim, J. Y. Park, H. Wakabayashi and H. Oyaizu. 2000. Phylogenetic affiliation of the pseudomonads based on 16S rRNA sequence. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 50:1563-1589.
5. Asadollahzadeh, M. J. Khoshgoftarmanesh, A.H. Chaney, R. L. 2019. Ability of sulfur-oxidising bacteria to hasten degradation of ground rubber particles in soil for release of zinc as a fertiliser to correct deficiency in wheat. Crop and Pasture Science 70; 26-35.
6. Azarmi, F. Mozaffari, V. Hamidpour, M. Abbaszadeh-Dahaji, P. 2016. Interactive effect of fluorescent pseudomonads rhizobacteria and Zn on the growth, chemical composition, and water relations of pistachio (pistacia vera l.) seedlings under NaCl stress. Communications in Soil Science and Plant Analysis 8: 955–972
7. Calatayud, A. and Barreno, E. 2004. Response to ozone in two lettuce varieties on chlorophyll a fluorescence, photosynthetic pigments and lipid peroxidation. Plant Physiology and Biochemistry 42: 549-555.
8. Chaney, R. L. 2007. Effect of ground rubber vs. ZnSO4 on spinach accumulation of Cd from Cd-mineralized California soil. Proceedings of the Water Environment Federation207: 993-993.
9. Chapman, H. D. 1965. Cation exchange capacity. In: Black, C. A. (Ed.), Methods of Soil analysis. Part 2. American Society of Agronomy Madison Wisconsin 891-900.
10. Chengalroyen, M.D. Dabbs, E. 2013. The biodegradation of latex rubber: a mini review. J Polym Environ, 21: 874–880.
11. Dang, H. K. Li, R. Q. Sun, Y. H. Zhang X. W. Li, Y.-M. 2010. Absorption, accumulation and distribution of zinc in highly-yielding winter wheat. Agricultural Sciences in China 9: 965-973.
12. El-Bassi, L. H. Iwasaki, H. Oku, N. Shinzato and T. Matsui. 2010. Biotransformation of benzothiazole derivatives by the Pseudomonas putida strain HKT554. Chemosphere. 81: 109-113.

13. Fasim, F. Ahmed, N. Parsons, R. Gadd, G. M. 2002. Solubilization of zinc salts by a bacterium isolated from the air environment of a tannery. FEMS Microbiology Letters 213: 1–6.
14. Giere, R. LaFree, S. T. Carleton, L. E. Tishmack, J. K. 2004. Environmental impact of energy recovery from waste tyres. In: Gieré R, Stille P (eds) Energy, waste, and the environment: a geochemical perspective. vol. 236, special publications. Geol Soc London 475–498.
15. Haroune, N. B. Combourieu, P. Besse, M. Sancelme, A. Kloepfer, T. Reemtsma, H. De Wever A. M. Delort. 2004. Metabolism of 2-mercaptobenzothiazole by Rhodococcus rhodochrous. Applied and Environmental Microbiology 70: 6315-6319.
16. Hoagland, D. R. Arnon, D. I. 1950. The Water-Culture Method for Growing Plants without Soil. Circular. California Agricultural Experiment Station 347.
17. Holst, O. Stenberg, B. Christiansson, M. 1998. Biotechnological possibilities for waste tyre-rubber treatment. Biodegradation 9: 301–310.
18. Izumi, Y. Ohshiro, T. Ogino, H. Hine, Y. Shimao, M. 1994. Selective desulfurization of dibenzothiophene by Rhodococcus erythropolis D-1. Applied and Environmental Microbiology 60: 223-226.
19. Jiang, G. Zhao, S. Luo, J. Wang, Y. Zhou, Q. 2010. Devulcanization effect of natural rubber crumb by thiobacillus thioparus. Synthetic Rubber Manufacturing Industry in China 33: 449-453.
20. Khoshgoftarmanesh, A. H. Behzadan, H. Z. SanaeiOstovar, A. Chaney, R. L. 2012. Bacterial inoculation speeds zinc release from ground tire rubber used as Zn fertilizer for corn and sunflower in a calcareous soil. Plant Soil 361: 71-81.
21. Khoshgoftarmanesh, A. H. SanaeiOstovar, A. Sadrarhami, A. Chaney, R. 2013. Effect of tire rubber ash and zinc sulfate on yield and grain zinc and cadmium concentrations of different zinc-deficiency tolerance wheat cultivars under field conditions. European Journal of Agronomy 49: 42-49.
22. Kinoshita, T. Yamaguchi, K. Akita, S. Nii, S. Kawaizumi, F. Takahashi, K. 2005. Hydrometallurgical recovery of zinc from ashes of automobile tire wastes. Chemosphere 59: 1105-1111.
23. Marqués, S. and J. L. Ramos. 1993. Transcriptional control of the Pseudomonas putida TOL plasmid catabolic pathways. Molecular Biology 9: 923-929.
24. Newman, S. E. and Meneley. J. C. 2006. Adaptation of waste tire rubber for green house media and zinc fertilizer. Final Report, Colorado School of Mines, Golden, Co 80401-3852.
25. O'Sullivan, D. J. and O'Gara, F. 1992. Traits of Pseudomonas fluorescens spp. Involved insuppression of plant root pathogens. Microbiological Reviews, 56: 662-676.
26. Patten, C. L. and Glick, B. R. 2002. Role of Pseudomonas putida indole acetic acid in development of the host plant root system. Applied and Environmental Microbiology. 68: 3795-3801.
27. Rai, P. K. 2008. Heavy metal pollution in aquatic ecosystems and its phytoremediation using wetland plants: an ecosustainable approach. International journal of phytoremediation, 10:133-160.
28. Saravanan, V. S. Subramoniam, S. R. Raj, S. A. 2004. Assessing in vitro solubilization potential of different zinc solubilizing bacterial (ZSB) isolates. Brazilian Journal of Microbiology 35 :121-125.
29. Sena J´unior, D. G. 2005. Utilizac¸ ˜ao de t´ecnicas de vis˜ao artificial para ajuste da adubac¸ ˜ao nitrogenada em trigo. [Nitrogen recommendation in wheat

usingmachine vision techniques]. Thesis, Universidade Federal Universidade Federal de Viçosa Brazil.
30. Shafigh, M. Hamidpour, M. Abbaszadeh-Dahaji, P. Mozafari, V. Furrer, G. 2019. Bioavailability of Zn from Layered Double Hydroxides: The effects of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). Applied Clay Science 182: 105–283.
31. Shahab, S. and Ahmed, N. 2008. Effect of various parameters on the efficiency of zinc phosphate solubilization by indigenous bacterial isolates. African Journal of Biotechnology, 7: 1543-1549.
32. Smolders, E. and Degryse, F. 2002. Fate and effect of zinc from tire debrisin soil. Environmental Science and Technology 36: 3706-3710.
33. Soltani, A. 2004. Chlorophyll Fluorescence and Its Application. Internal Press University of Agricultural Science and Natural Resource, Gorgan, Iran.
34. Sundra, B. Natarajam, V. Hari, K. 2002. Influence of phosphorus solubilizing bacteria on the changes in soil available phosphorus and sugarcane and sugar yields. Field Crops Research, 77: 43-49.
35. Taheri, S. Khoshgoftarmanesh, A. H. Shariatmadari, H. Chaney, R. L. 2011. Kinetics of zinc release from ground tire rubber and rubber ash in a calcareous soil as alternatives to Zn fertilizers. Plant Soil 341: 89-97.
36. Vyas, P. and Gulati, A. 2009. Organic acid production in vitro and plant growth promotion in maize under controlled environment by phosphate-solubilizing fluorescent Pseudomonas. BMC Microbiology, 22: 9-174.
37. Zheo, G. Q. Ma, B. L. Ren, S. Z. 2007. Growth, gas exchang, chlorophyll fluorescence, and ion content of naked oat in response to salinity. Crop Science, 41: 123-131.

Effect of zinc-solubilizing bacteria and waste tire rubber powder on the growth and Zn and Fe concentrations of corn plant

A. Nasirzadeh*, P. Abbaszadeh Dahaji, M. Hamidpour, A. Akhgar, and Kh. Kariman

PhD Student of Soil Science, Department of Soil Sciences, Vali-e-Asr University of Rafsanjan, Rafsanjan, Iran; E-mail: **azarnasirzadeh21@yahoo.com**
Assistant Prof, Department of Soil Sciences, Vali-e-Asr University of Rafsanjan, Rafsanjan, Iran; E-mail: **p.abbaszadeh@vru.ac.ir**
Associate Prof, Department of Soil Sciences, Vali-e-Asr University of Rafsanjan, Rafsanjan, Iran; E-mail: **m.hamidpour@vru.ac.ir**
Associate Prof, Department of Soil Sciences, Vali-e-Asr University of Rafsanjan, Rafsanjan, Iran; E-mail: **akhgar@vru.ac.ir**
UWA School of Agriculture and Environment, The University of Western Australia, Perth, WA 6009, Australia; E-mail: **Khalil.kariman@gmail.com**

Received: September, 2022 and Accepted: November 2022

Abstract

Waste tire rubber (WTR) contain significant amounts of zinc (Zn) and they are potential sources of Zn for plants. This study was carried out to investigate the effect of Zn-dissolving Pseudomonas isolates and WTR on growth characteristics and Zn and Fe concentrations of the corn plant. An experiment was conducted in a completely randomized design with factorial arrangement with three replications in a sterile sand-culture in green house condition. The experimental factors include Pseudomonas bacteria at six levels (without inoculation (C) and inoculation with five isolates (B1 to B5)) and Zn treatment from the WTR source at four levels of 0 (C), 100 (T1), 200 (T2) and 300 (T3) mg Zn per kg (equivalent to 0, 9, 18 and 27 g WTR per kg of sand respectively). The results showed that the main effects of the treatments on Photosynthetic performance index, chlorophyll content of leaves, Chlorophyll fluorescence and shoot dry weight were significant. The amount of each of these parameters increased in all bacterial and WTR treatments. The use of WTR (18 g/kg) along with inoculation of isolates increased all measured parameters compared to the control. Root dry weight and zinc concentration in shoots and roots, were affected by the interaction of treatments. The highest amount of plant dry weight was observed in B3+T3 treatment (2.14 fold increase compared to the control) . The concentration of zinc in the plant shoots was the highest in the B4+T3 treatment, which was 20 times higher than the control. The highest concentration of zinc in the root was observed in the presence of isolates B3 and B2 in WTR (18 g/kg) treatment which was 25 and 22 times higher than the control, respectively. The highest concentration of iron in the shoots and roots of the plant was related to the WTR (18 g/kg) treatment with the amount of 28.3 and 30.7 mg kg-1, respectively. The bacterial isolates increased the iron concentration of shoot compared to the control, but no significant difference was observed between the isolates.

Keywords: Zn-dissolving bacteria, Tire waste powder, Growth parameters, Nutrients

* - Corresponding author: azarnasirzadeh21@yahoo.com