اثر باکتری باسیلوس سوبتیلیس بر صفات مورفوفیزیولوژیکی گیاه داغداغان در شرایط آلودگی سرب

فاطمه مرادی[۱]، میترا اعلایی[۲*]، مسعود ارغوانی[۳]، فهیمه صالحی[۴]

[۱]دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

[۲و ۳] استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران.

[۴]دانشجوی دکتری، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

*نویسنده مسئول: Mitraaelaei@gmail.com

چکیده

امروزه آلودگی فلزات سنگین در خاک به مشکل بزرگی تبدیل‌شده که تجمع آن در گیاهان می‌تواند به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم بر زندگی حیوانات و انسان‌ها اثرگذار باشد. در این زمینه تحقیقی در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان اجرا شد. تیمارهای آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی در بسترهای کامل یکنواخت شامل سه سطح سرب (۰، ۵۰، ۱۰۰ ppm) و تیمار باکتریایی شامل عدم باکتری و باکتری باسیلوس سوبتیلیس با غلظت‌های (10^8 و 10^5 cfu/ml) در ۳ تکرار بود. بر اساس نتایج تحقیق، اثر متقابل سرب و باکتری بر میزان سرب جذب‌شده در ریشه نشان داد که بالاترین میزان با میانگین ۲۶/۵ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر مربوط به سرب ۱۰۰ پی پی ام و باسیلوس 10^8 cfu/ml و کمترین میزان نیز با میانگین ۶/۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه مربوط به تیمار عدم مصرف سرب و کاربرد باکتری باسیلوس با غلظت 10^5 cfu/ml بود. همچنین با افزایش میزان سرب در گیاه فعالیت آنزیم پراکسیداز نسبت به شاهد افزایش یافت که بالاترین میزان فعالیت با میانگین ۰/۵۹ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه از کاربرد تیمار ۱۰۰ پی پی ام سرب بود. بر این اساس، در مطالعه‌ی حاضر مروری کوتاه بر نقش ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه در پالایش خاک‌های آلوده به فلزات سنگین و همچنین تأثیر آن‌ها در بهبود کار آیی گیاه‌پالایی آلاینده‌های فلزی خواهیم داشت.

واژه‌های کلیدی: باسیلوس سوبتیلیس، سرب، مورفوفیزیولوژیکی.

مقدمه

امروزه افزایش روزافزون غلظت فلزات سنگین در محیط‌زیست باعث ایجاد نگرانی‌های زیست‌محیطی شده است. سرب از شایع‌ترین و فراوان‌ترین آلاینده‌های محیط‌زیست و انسان به شمار می‌رود (Haas, 2003). ازآنجایی‌که روش‌های فیزیکوشیمیایی اغلب هزینه‌بر بوده و مقرون‌به‌صرفه نمی‌باشند، در این میان گیاه‌پالایی به‌عنوان یک روش بیولوژیکی، فن‌آوری سازگار و مقرون‌به‌صرفه می‌باشد که در این روش از گیاهان به‌منظور پالایش خاک‌های آلوده استفاده می‌گردد و در سطح جهانی توجهات را به خود جلب کرده است (Glick, 2010). گیاهان مناسب برای گیاه‌پالایی باید توانایی تولید زیست‌توده بالا به همراه تحمل نسبت به فلزات سنگین و پتانسیل جذب بالایی داشته باشند. گونه‌های درختی به‌واسطه داشتن سیستم ریشه‌ای گسترده و عمیق و درنتیجه پالایش خاک‌های آلوده در عمق‌های بیشتر، گزینه بسیار مناسبی به‌منظور گیاه‌پالایی هستند (Dickinson and Pulford, 2005).

داغداغان بانام علمی *Celtis australis* گونه‌ای است پهن‌برگ، متعلق به جنس Celtis، از خانواده Ulmaceae، دارای ۱۰۰ گونه و بومی مناطق مدیترانه بوده و در اروپا، ترکیه، شوروی سابق، شمال آفریقا و ایران پراکنش دارد (Khatamsaz, 1990). کاربرد فنون پیشرفته همچون استفاده از ریزسازواره‌های همزیست با گیاه، می‌تواند سبب افزایش کارایی گیاه‌پالایی، کاهش مدت‌زمان لازم برای زدودن آلودگی و توسعه‌ی کاربرد آن شود. نتایج بسیاری از مطالعات نشان می‌دهد که حضور بسیاری از باکتری‌های محرک رشد در ریزوسفر گیاهانی که در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین رشد کرده‌اند، موجب شده است تا غلظت برخی ازاین‌گونه فلزات همچون روی، سرب، مس، کروم در اندام‌های گیاهی افزایش یابد (Janouskaoya and Vosatka, 2005).

طبق گزارش متشرع‌زاده و همکاران (۱۳۹۰)، روی آفتابگردان، آلودگی سرب وکادمیوم و کاربرد باکتری، بر میزان وزن خشک، غلظت سرب وکادمیوم ریشه تاثیر معنی‌داری داشته است. از سوی دیگر تاثیر این سه عامل (کادمیوم، سرب و باکتری) در میزان جذب سرب توسط اندام هوایی و فاکتور انتقال سرب و کادمیوم در سطح پنج درصد تاثیر معنی‌داری داشته است.

با توجه به اینکه داغداغان دارای ویژگی‌های منحصربه‌فردی در شرایط تنش‌های محیطی است بنابراین به بررسی نقش گیاه‌پالایی داغداغان نسبت به عنصر سرب در این پژوهش پرداخته شد تا زمینه استفاده‌ی بیشتر از این گیاه در حفاظت از خاک و آب، در طراحی و کاشت فضای سبز مناطق مختلف صنعتی و شهری و همچنین پاک‌سازی زمین‌های کشاورزی صورت گیرد. در این راستا آزمایشی به‌منظور بررسی صفات مورفوفیزیولوژیک گیاه داغداغان تحت تاثیر تیمار باکتریایی در شرایط آلودگی سرب صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی در سال ۱۳۹۷ در گلخانه تحقیقاتی گروه علوم باغبانی دانشگاه زنجان انجام گرفت. ابتدا درختچه‌های داغداغان از جنگلداری استان زنجان تهیه گردید و در بسترهای کامل یکنواخت مستقر شد. یک هفته بعد از استقرار، تیمار سرب با سه غلظت (ppm۰، ۵۰ و ۱۰۰) و در دو مرحله بافاصله زمانی دوهفته‌ای اعمال شد. بعد از گذشت سه هفته تیمار باکتریایی باسیلوس سوبتیلیس با غلظت‌های (10^8cfu/ml و 10^5) در سه تکرار به خاک تزریق شد. بعد از گذشت ۶۰ روز از اعمال تیمارها، صفات مورفولوژیکی شامل وزن‌تر و خشک اندام هوایی و صفات فیزیولوژی شامل کلروفیل کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنزیم پراکسیداز، میزان سرب ریشه و برگ و میزان فسفر برگ اندازه‌گیری شد. به‌منظور عدم آبشویی سرب آبیاری در حد ظرفیت زراعی صورت گرفت. پس از برداشت بوته‌ها طول ریشه با خط کش اندازه‌گیری شد و بخش‌های هوایی و ریشه‌ها تفکیک شدند و جهت زدودن هرگونه آلودگی با آب مقطر شسته شدند نمونه‌ها به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد درون آون خشک شدند و سپس توسط ترازوی دیجیتالی وزن شدند.

محتوای کلروفیل کل

مقدار کلروفیل به روش Arnon (1949) برحسب میلی‌گرم بر وزن‌تر اندازه‌گیری شد.

فعالیت آنزیم پراکسیداز

برای اندازه‌گیری آنزیم پراکسیداز یک گرم نمونه‌ی گیاهی به کمک نیتروژن مایع با ۳ میلی‌لیتر بافر استخراج فسفات پتاسیم (pH=7) با غلظت ۲۰۰ میلی مولار در هاون سائیده شد. سپس عصاره‌ها در میکروتیوب به مدت ۳۰ دقیقه با ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. برای سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز از پیش ماده گایاکول استفاده شد. در این روش ۱۳۰ میکرولیتر بافر استخراج، ۲۸۰ میکرو لیتر گایاکول ۴۵ میلی‌مولار، ۲۸۰ میکرو لیتر پراکسید هیدروژن ۰/۲۲۵ میلی‌مولار و ۱۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی در کوت ریخته شد و کوت درون اسپکتروفتومتر قرار داده شد و منحنی تغییرات جذب در طول‌موج ۴۷۰ هر ۱۰ ثانیه یک‌بار به مدت ۱۸۰ ثانیه به روش طیف‌سنجی نوری (اسپکتروفتومتری JENWAYمدل UV-6505) در دمای آزمایشگاه (۲۵ درجه سانتی‌گراد) بیان شد و درنهایت میزان آنزیم پراکسیداز به کمک منحنی استاندارد و بر اساس واحد میلی‌گرم پروتئین در دقیقه محاسبه گردید (Dhindsa *et al*., 1981).

عصاره‌گیری و تعیین مقدار سرب در خاک

برای تعیین غلظت عنصر سرب در برگ و ریشه دغداغان از روش هضم با HNO3 غلیظ و آب‌اکسیژنه ۳۰ درصد استفاده شد (Gupta, 2009). غلظت سرب در عصاره گیاه به‌وسیله دستگاه جذب اتمی شیاتزو مدل UNICAM919AA تعیین گردید (Houri et al., 2020).

روش اندازه‌گیری فسفر برگ

برای تعیین میزان فسفر برگ، از روش کالرومتری یا رنگ سنجی استفاده شد و درنهایت جذب فسفر برگ در طول‌موج ۷۳۰ نانومتر با استفاده از محلول‌های استاندارد فسفر در محدوده ۱۰-۱۰۰ پی پی ام اندازه‌گیری شده و نتایج بر اساس درصد فسفر در بافت موردنظر محاسبه گردید (مهر و گنجعلی، ۱۳۹۲).

نتایج و بحث

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس غلظت‌های مختلف سرب و باکتری باسیلوس سوبتیلیس روی صفات مورفوفیزیولوژیکی داغداغان

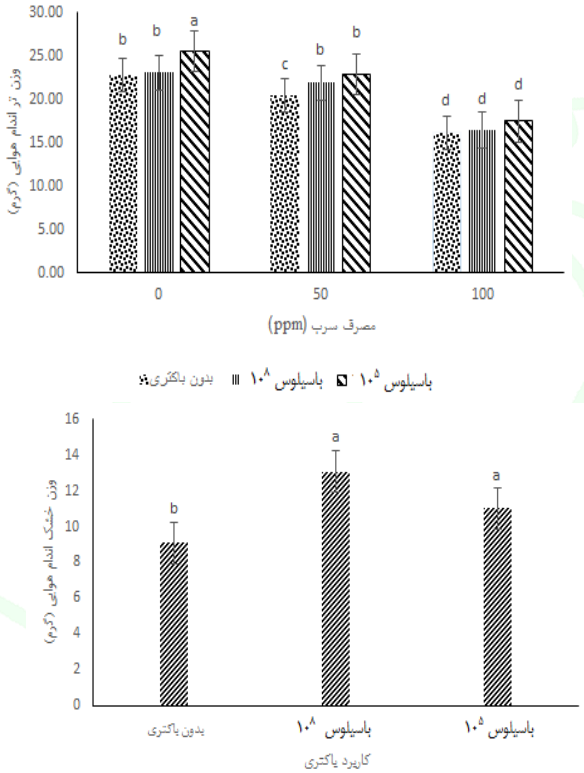
منابع تغییرات	درجه آزادی	وزن‌تر اندام هوایی	وزن خشک اندام هوایی	کلروفیل کل	آنزیم پراکسیداز	فسفر برگ	سرب ریشه	سرب برگ
سرب	۲	۳/۷۹*	۱/۵۶^{ns}	۰/۶۷**	۰/۳۰**	۰/۰۰۱۲**	۳۵۶/۲۰**	۳۴/۷۷**
باکتری	۴	۱۰۷/۵۸**	۵۷/۳۴**	۰/۹۸**	۰/۰۶**	۰/۰۰۰۳۰**	۴۴/۳۶**	۲/۳۱^{ns}
سرب×باکتری	۸	۸/۵۹**	۲/۲۷^{ns}	۰/۱۷**	۰/۰۴**	۰/۰۰۰۱۹*	۲۶/۰۵**	۱۱/۵۹**
خطا	۳۰	۰/۵۱	۱/۱۰	۰/۰۱۸	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰۰۴	۱/۳۲	۱/۴۱
ضریب تغییرات (٪)	-	۵/۱۲	۱۱/۲۱	۱۲/۹۸	۱۵/۷۸	۵/۱۹	۷/۰۳	۷/۰۵

**،* و ^{ns} به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و عدم معنی‌داری می‌باشد.

تأثیر سرب و باکتری‌های محرک رشد بر وزن‌تر و خشک اندام هوایی گیاه

نتایج نشان می‌دهد که کاربرد سرب بر میزان وزن‌تر در سطح احتمال پنج درصد و کاربرد تیمار باکتری بر میزان وزن‌تر و خشک و اثر متقابل سرب و باکتری بر میزان وزن‌تر در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. (جدول ۱). کمترین میزان وزن‌تر با میانگین ۱۶/۱۹ گرم مربوط به عدم استفاده از باکتری و غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام سرب و بیشترین میزان وزن‌تر با میانگین ۲۵/۴۸ گرم مربوط به باکتری باسیلوس با غظت $۱۰^{۵}$ می‌باشد. همچنین کمترین میزان وزن خشک با میانگین ۹/۰۸ گرم مربوط به عدم استفاده از باکتری و بیشترین میزان مربوط به باکتری باسیلوس در غلظت $۱۰^{۸}$ با میانگین ۱۳/۰۷ گرم است که با غلظت $۱۰^{۵}$ تفاوت معنی‌دار نداشت (شکل ۱).

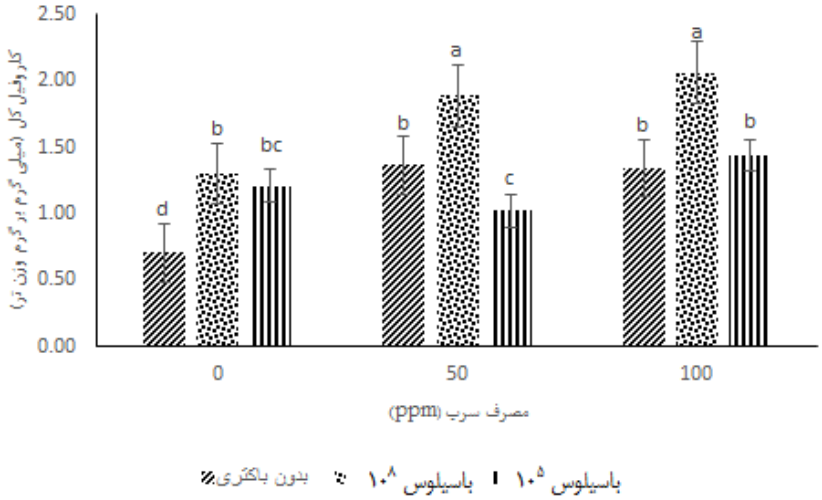
از مکانیسم‌های احتمالی باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد در افزایش و بهبود رشد گیاه می‌توان آن‌ها را در افزایش قابلیت استفاده عناصر، تولید هورمون‌های محرک رشد مانند IAA، تولید ACC- دآمیناز و ویتامین‌ها اشاره کرد (Glick, 1995). دپنوسیس و همکاران (۲۰۰۶) در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین افزایش وزن خشک اندام هوایی سورگوم را با تلقیح باکتری‌های سودوموناس فلورسنت گزارش کردند.



شکل ۱- تاثیر متقابل سرب و باکتری باسیلوس سوبتیلیس بر وزن‌تر و خشک اندام هوایی گیاه داغداغان

کلروفیل کل

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان می‌دهد که کاربرد سرب و باکتری و برهم‌کنش آن‌ها بر مقدارکلروفیل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱).

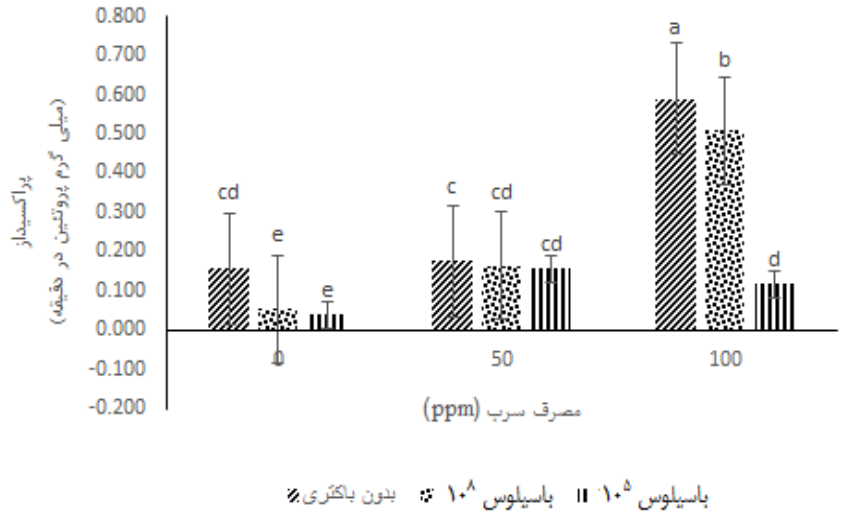


شکل ۲- اثر متقابل کاربرد سرب و باکتری‌های محرک رشد بر میزان کلروفیل کل

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین مقدارکلروفیل کل ۲/۰۶ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر مربوط به تیمار عدم مصرف سرب و کاربرد باکتری باسیلوس 10^8 می‌باشد و کمترین مقدار نیز ۰/۷۱ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر مربوط به تیمار عدم مصرف سرب و عدم مصرف باکتری می‌باشد (شکل ۲). به علت وجود رابطه مثبت بین غلظت فسفر و مقدار کلروفیل کل در گیاهان، دلیل بالا بودن مقدارکلروفیل‌ها در گیاهان تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد را احتمالاً می‌توان به نقش باکتری‌ها در فراهم نمودن فسفر موردنیاز گیاه به‌عنوان حامل انرژی در فتوسنتز و همچنین افزایش جذب منیزیم و آهن نسبت داد (Demir, 2004). شریعتی و همکاران (۱۳۹۲) افزایش معنی‌دار محتوای کلروفیل را در حضور باکتری‌های سودوموناس فلورسنت در گیاه ذرت گزارش کردند.

آنزیم پراکسیداز

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) کاربرد سرب، باکتری و اثر متقابل سرب و باکتری در سطح احتمال یک درصد بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز اثر معنی‌دار داشت. بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز با میانگین ۰/۵۹ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه از تیمار کاربرد ۱۰۰ پی پی ام سرب و عدم مصرف باکتری به دست آمد و کمترین میزان نیز با میانگین ۰/۰۳ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه از تیمار عدم مصرف سرب و کاربرد باکتری باسیلوس 10^5 به دست آمد (شکل ۳).

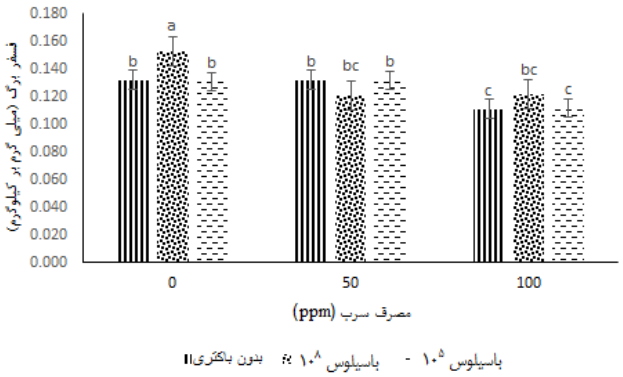


شکل ۳- تاثیر متقابل سرب و باکتری باسیلوس سوبتیلیس بر روی میزان آنزیم پراکسیداز

درواقع زمانی‌که‌گیاه درمعرض تنش‌های محیطی مهم قرار می‌گیرد رادیکال‌های آزاد در گیاه تولید می‌شوند که گیاهان برای حذف یا کاهش ROS از سیستم های آنتی اکسیدان آنزیمی و غیر آنزیمی استفاده می‌کنند. از میان آنزیم‌های آنتی اکسیدان، پراکسیداز نقش مهمی در از بین بردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن به‌ویژه پراکسید هیدروژن دارد (Pourcel *et al*., 2006).

میزان فسفر برگ

بر اساس نتایج تجزیه واریانس ارائه شده در (جدول ۱) اثرات اصلی کابرد سرب و باکتری در سطح احتمال یک درصد و اثر متقابل این دو تیمار بر میزان فسفر برگ در سطح احتمال پنج درصد معنی دار شد.

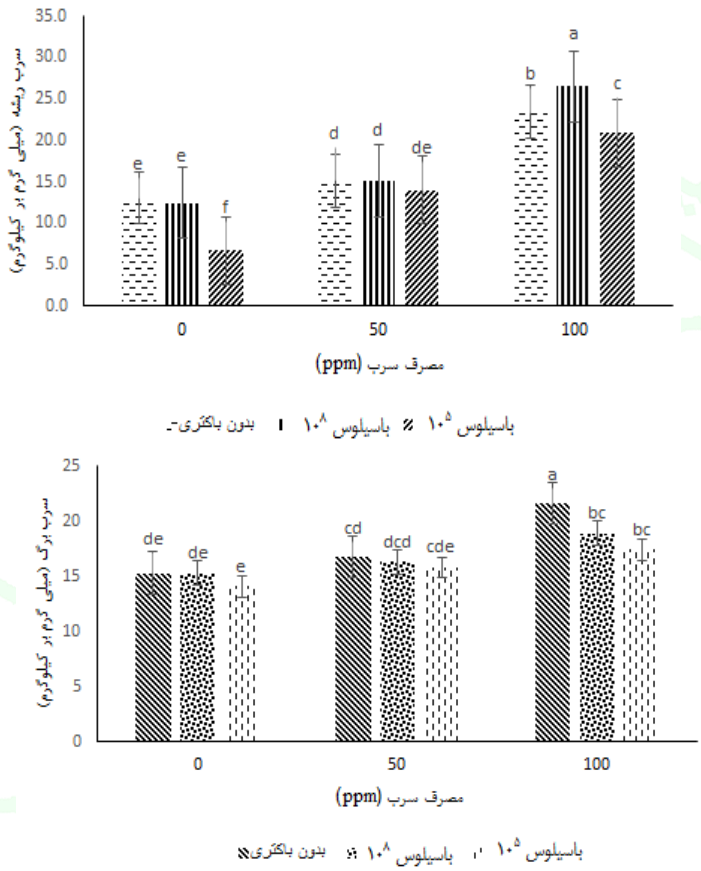


شکل ٤- تاثیر متقابل سرب و باکتری باسیلوس سوبتیلیس بر میزان فسفر در برگ

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل سرب در باکتری بر میزان فسفر جذب‌شده در برگ نشان داد که بیشترین میزان با میانگین ۰/۱۵۳ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر مربوط به تیمار عدم مصرف سرب و باکتری باسیلوس ۱۰^۸ و کمترین میزان به ترتیب با میانگین ۰/۰۱۱ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر مربوط به غلظت ۱۰۰ پی‌پی ام و عدم استفاده از باکتری می‌باشد (شکل ۴). در پژوهشی افزایش جذب فسفر ذرت درنتیجه تلقیح باکتری‌های حل‌کننده فسفات را گزارش کردند (Zafar et al., 2011).

میزان سرب ریشه و برگ

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات اصلی و متقابل کاربرد سرب و باکتری بر میزان سرب ریشه و برگ همگی معنی‌دار بودند بجز اثر باکتری که بر محتوای سرب در برگ معنی دار نبود (جدول ۱). طبق نتایج مقایسه میانگین‌ها، بیشترین مقدار سرب در ریشه با میانگین ۲۶/۵ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر مربوط به تیمار کاربرد ۱۰۰ پی پی ام سرب و باکتری باسیلوس با غلظت ۱۰^۸ بود و کمترین میزان نیز با میانگین ۶/۷ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر مربوط به تیمار عدم مصرف سرب و باکتری باسیلوس ۱۰^۵ بود (شکل ۵). بیشترین میزان سرب در برگ با میانگین ۲۱/۶ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه از تیمار کاربرد ۱۰۰ پی پی ام سرب و عدم مصرف باکتری به دست آمد (شکل ۸). کمترین مقدار سرب برگ با میانگین ۱۴/۱ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر از تیمار عدم مصرف سرب و کاربرد باکتری باسیلوس ۱۰^۵ به دست آمد (شکل ۵).



شکل ٥- تاثیر متقابل سرب و باکتری باسیلوس سوبتیلیس بر میزان سرب ریشه و برگ

باکتری‌های محرک رشد درگیاهان باعث کلاته شدن فلزات سنگین توسط لیگاند و به‌دنبال آن محبوس کردن کمپلکس فلز_لیگاند در واکوئل می‌شوند. حبس فلز سنگین در واکوئل از گردش آزاد یون های فلزات سنگین در سیتوزول جلوگیری می کنند و از این طریق بردباری گیاهان به تنش فلزات سنگین افزایش می‌یابد (Miransari, 2011). گزارش کردند که تلقیح ناحیه ریزوسفر به‌وسیله باکتری‌های متحمل به فلز سنگین و محرک رشد موجب افزایش نیکل در اندام‌های هوایی خردل هندی شد (Rajkumar et al, 2006).

نتیجه‌گیری

با توسعه آلودگی مناطق شهری باید توجه بیشتری به نقش گیاهان زینتی در پالایش این آلودگی‌ها شود. این گیاهان علاوه بر نقش تلطیف و زیبایی محیط پیرامون به‌منظور تعدیل آلودگی محیط زیست و پاکسازی نواحی تحت تاثیر فلزات سنگین کاربرد دارند. نتایج به دست آمده در این تحقیق نشان داد که باکتری محرک رشد .Bacillus sp در صفات اندازه‌گیری شده عملکرد خوبی داشته است. باکتری‌های محرک رشد به دلیل دارا بودن صفاتی از جمله تولید آنزیم ACC دآمیناز و همینطور سیدروفورها می‌توانند اثرات سوء فلز سرب بر گیاه را کاهش داده و موجب بالا بردن راندمان گیاه‌پالایی شوند.

منابع

رسولی صدقیانی، ح.، قره ملکی، ت.، بشارتی، ح.، و توسلی، ع. ۱۳۹۰. تاثیر باکتری‌های محرک رشد و قارچ میکروریز بر رشد و جذب روی توسط ذرت در یک خاک آلوده به روی، مجله دانش آب و خاک، جلد ۲۱.

شریعتی، ش.، علیخانی، ح. ع.، پوربابایی، ا. ح؛ و شریعتی، ف. ۱۳۹۲.. تاثیر مایه‌زنی به بذر و خاک زادمایه باکتری افزاینده رشد گیاه (سودوموناس فلورسنس). مجله علمی کشاورزی، جلد ۳۷ (شماره ۱)، ۹۳-۱۰۷.

متشرع زاده، ب.، ثواقبی، غ. ۱۳۹۰. بررسی پاسخ های آفتابگردان به سمیت کادمیوم و سرب با کاربرد باکتری‌های محرک رشد گیاه در یک خاک آهکی، جلد ۲۵، (شماره ۵)، ۱۰۷۹-۱۰۶۹.

Arnon, D. I. 1949. copper enzymes in isolated chloroplasts, polyphenoxidase in beta vulgaris. plant Physiology, 24: 1-15.

Demir, S. 2004. Influence of arbuscular mycorrhiza on some physiological growth parameters of pepper. Turkish Journal of Biology, 28: 85-90.

Duponnois, R., Kisa, A., Assigbetse, K., Prin, Y., Thioulouse, J. Issartel, M., moulin, P. and Lepage, M.2006 Fluorescent pseudomonads occuring in Macrotermes subhyalinus mound structures decrease Cd toxicity and improve its accumulation in sorghum plants. Science of the Total Environment, 370: 391-400.

Dhindsa, R.S., Plumb-Dhindsa, P.&Thorpe, T.A. 198. Leaf senescence: correlated with increased levels of member permeability and peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. Jounal of Experimental botarry, 32(1),93-101.

Glick, B. R. 2010. Using soil bacteria to facilitate phytoremediation. Biotechnology Advances 28,367-374.

Haas, E.M. 2003. Staying healthy with nutrition. The complete guide to diet and nutritional medicine.

Janouskova, M. and Vosatka, M. 2005. Response to cadmium of Daucus carota hairy roots dual cultureswith Glomus intraradices or Gigaspora margarita. Mycorrhiza 15:217-224.

Pourcel, L., Routaboul, J., Cheynier, V., Lepiniec, L., Debeaujon, I. 2006. Flavonoid oxidation in plants: from biochemical properties to physiological functions. TRENDS in Plant Science 12, 29-36.

Rajkumar, M., Nagendran, R.,Lee, K.J.,Lee, W.H. and Kim, S.Z. 2006. Influence of plant growth promoting bacteria and Cr on the growth of Indian mustard. Chemosphere 62:741-748.

Zafar, M., Rahim, N., Shaheen, A., Khaliq, A., Arjamand, T., Jamil, M., Rehman, Z. U. & Sultan, T. 2011. Effect of combining poultry manure, inorganic phosphorus fertilizers and phosphate solubliz bacteria on growth, yield, protein content and P uptake in maize. Advances in Agriculture & Botani-International Journal of the Bioflux Society, 3(1), 46-58.

The effect of *Bacillus subtilis* on morphophysiological traits of Hackberry (*Celtis australis)* to contaminated by lead

Fatemeh Moradi [1], Mitra Alaei *[2], Masoud Arghavani [3], Fahimeh Salehi [4]
[1,2,3] M.Sc. Student, Assistant Professor of Horticulture, Ph.D Candidate, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, 45371-38791.
maelaei@znu.ac.ir

Abstract

Today, contamination of heavy metals in the soil has become a major problem that its accumulation in plants can directly or indirectly affect the lives of animals and humans. Experimental factorial treatments in a completely randomized design in completely uniform substrates including three levels of lead (0, 50, 100 ppm) and bacterial treatment including non-bacterial and *Bacillus subtilis* with concentrations (10^5 and 10^8 cfu/ml) was in 3 repetitions. Based on the results of the study, the interaction of lead and bacteria on the amount of lead absorbed in the roots showed that the highest amount with an average of 26.5 mg / g fresh weight was related to 100 ppm lead and Bacillus 10^8 cfu / ml and the lowest with an average of 6.7 mg /g fresh weight was related to the non-lead treatment and the use of Bacillus bacteria with a concentration of 10^5 cfu / ml. Also, with increasing the amount of lead in the plant, the peroxidase enzyme activity increased compared to the control, which was the highest level of activity with an average of 0.59 mg of protein per minute from the application of 100 ppm lead treatment. Therefore, in the present study, we will have a brief overview of plant growth-promoting rhizobacteria in the purification of soils contaminated with heavy metals and their effect on improving the phytoremediation efficiency of metal contaminants.

***Keywords*:** *Pseudomonas putida*, Lead, Morphophysiological.