نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۱، شماره ۱، فروردین – اردیبهشت ۱۳۹۶، ص. ۱۵۵-۱۴۴

Journal of Water and Soil
Vol. 31, No. 1, Mar.-Apr. 2017, p. 144-155

اثر تنظیم کننده های رشد و ماده هیومیکی بر گیاه پالایی نیکل در یک خاک آهکی آلوده به نیکل

مهشید شفیق[۱] – رضا قاسمی فسائی[۲*] – عبدالمجید رونقی[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۹/۲۲
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۱/۳۰

چکیده

به‌منظور بررسی تأثیر چهار تنظیم‌کننده رشد (ایندول استیک اسید، بنزیل آدنین، سالیسیلیک اسید و جیبرلیک اسید) و یک ماده هیومیکی بر گیاه بهسازی (گیاه‌پالایی) یک خاک آهکی آلوده به نیکل زیر کشت ذرت، آزمایشی در شرایط گلخانه‌ای به‌صورت فاکتوریل، در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که احتمالاً گیاه‌پالایی نیکل به‌وسیله ذرت از طریق فرایند گیاه‌پایاسازی (تثبیت گیاهی) می‌باشد و کاربرد تنظیم‌کننده‌های رشد بر این فرایند مؤثر بود. استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد، موجب افزایش فاکتور غلظت نیکل در ریشه و کاهش فاکتور انتقال این عنصر گردید و در بین تنظیم‌کننده‌ها کمترین فاکتور انتقال با محلول‌پاشی بنزیل آدنین و بیشترین فاکتور غلظت نیکل در ریشه با کاربرد سالیسیلیک اسید یا بنزیل آدنین حاصل شد. این در حالی است که ماده هیومیکی اثر معنی‌داری در مقایسه با شاهد بر این فاکتورها از خود نشان نداد. تأثیر تنظیم‌کننده‌ها بر جذب نیکل ریشه به ترتیب با سالیسیلیک اسید > بنزیل آدنین > جیبرلیک اسید > ایندول استیک اسید بدست آمد. جیبرلیک اسید بالاترین تاثیر را بر افزایش وزن خشک اندام هوایی و شاخص تحمل گیاه داشت. استفاده از تنظیم‌کننده رشد بنزیل آدنین در مقایسه با شاهد و سایر تنظیم‌کننده‌ها بر توزیع نیکل در گیاه ذرت تأثیر معنی‌داری داشت و موجب افزایش درصد تجمع این عنصر در ریشه و کاهش حضور آن در اندام هوایی گردید. همچنین طی این آزمایش مشاهده شد که استفاده از ماده هیومیکی بر شاخص تحمل گیاه نسبت به نیکل اثر منفی داشت و کاربرد بیشترین سطح به کار رفته موجب کاهش معنی‌دار وزن خشک ریشه و اندام هوایی گردید.

واژه‌های کلیدی: ایندول استیک اسید، بنزیل آدنین، جیبرلیک اسید، سالیسیلیک اسید و گیاه‌پایاسازی

مقدمه

آلودگی خاک‌ها به فلزات سنگین از مهم‌ترین موضوعات چالش برانگیز در جهان امروز است. فلزات سنگین به‌طور طبیعی در خاک و هوا وجود دارند. آنچه وجود این ترکیبات را در محیط‌زیست خطرناک ساخته است، افزایش شدید و ناگهانی آن‌ها تحت تأثیر فعالیت‌های صنعتی و کشاورزی می‌باشد. نیکل به‌عنوان یکی از فلزات سنگین، معمولاً در محدوده غلظت ۴۵۰-۱ میلی‌گرم در کیلوگرم در خاک‌ها وجود دارد. با این حال، ممکن است به دلیل فعالیت‌هایی مانند استخراج معادن، سوزاندن زغال‌سنگ، کاربرد فاضلاب، مصرف کودهای فسفاتی و آفت‌کش‌ها غلظت آن در خاک‌های آلوده به ۲۶۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیز برسد (۱ و ۲). هرچند نیکل به‌عنوان یک عنصر ضروری برای فعالیت آنزیم اوره آز که جهت سوخت‌وساز نیتروژن در گیاهان عالی لازم است، نقش دارد (۳) اما غلظت بالای این عنصر برای گیاهان سمی بوده و موجب بروز کلروز برگ، توقف رشد، کاهش فتوسنتز و تنفس، برهم خورن تعادل تغذیه‌ای گیاه، انتقال قندها، روابط آبی و همچنین تولید گونه‌های فعال اکسیژن که باعث تخریب سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاهان می‌شود، خواهد شد (۴). در شرایط تنش‌های زیستی و همچنین غیر زیستی مانند دمای پایین، کمبود و زیادی آب، نور کم و زیاد، نور فرابنفش، شوری، فلزات سنگین و آلاینده‌هایی مانند اکسید گوگرد و ازن، هورمون‌های گیاهی مانند اکسین، آبسیزیک اسید، جیبرلین، سیتوکینین و اتیلن تحت تأثیر قرار گرفته و موجب سازگاری گیاهان با شرایط می‌شوند (۵). نظر به اینکه تنظیم‌کننده‌های رشد ممکن است رشد گیاه را تحریک کرده یا تنش‌های غیر زیستی را کاهش دهند، شاید بتوان از کاربرد خارجی

۱، ۲ و ۳ – به ترتیب کارشناس ارشد، دانشیار و استاد بخش علوم خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز
(* – نویسنده مسئول: (Email: ghasemif@shirazu.ac.ir
DOI: 10.22067/jsw.v31i1.51798

این مواد جهت بهبود فرایند گیاه‌بهسازی (گیاه‌پالایی)[1] استفاده کرد (۶). کسینا و همکاران (۷) برای اولین بار سیتوکینین را جهت افزایش گیاه‌بهسازی یک خاک سرپنتینی حاوی نیکل بالا به‌وسیله گیاه بیش اندوز قدومه (*Alyssum murale*) مورد آزمایش قرار دادند. آن‌ها مشاهده کردند که بکارگیری سیتوکینین‌ها میزان زیست‌توده بخش هوایی را ۴۱ تا ۷۵ درصد در مقایسه با شاهد افزایش داد، هرچند تغییری در غلظت نیکل بخش هوایی مشاهده نکردند. کابلو-کانجو و همکاران (۶) بهبود فرایند گیاه‌برون‌آوری (استخراج گیاهی)[2] گونه بیش اندوز *Alyssum corsicum* را در نتیجه استفاده از ترکیب جیبرلین‌ها و سیتوکینین‌ها (پرومالین) مشاهده کردند، گرچه این اثرات از نظر آماری معنی‌دار نبود. فاسلر و همکاران (۸) تعدیل اثرات سمی سرب و روی بر گیاه و همچنین بهبود گیاه‌برون‌آوری سرب با استفاده از اکسین (شامل ایندول استیک اسید) در شرایط هیدروپونیک را گزارش کردند. باید در نظر داشت که غلظت تنظیم‌کننده، شرایط محیطی و وضعیت فیزیولوژیکی گیاه بر پاسخ گیاهان نسبت به این مواد تأثیر زیادی ایجاد می‌کند و با توجه به اینکه مطالعات محدودی با کاربرد این مواد بر پالایش خاک آلوده به نیکل صورت گرفته نیاز به تحقیق بیشتر ضروری به نظر می‌رسد.

مواد آلی خاک از ترکیباتی هستند که به دلیل بهبود ویژگی‌ها فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک همواره مورد توجه قرار گرفته‌اند. مواد هیومیک، محصولات نهایی تجزیه شیمیایی و بیولوژیکی بقایای گیاهی و جانوری هستند که به‌طور وسیعی در محیط‌های آبی و خاکی دیده می‌شود. این مواد دارای طیف وسیعی از گروه‌های عاملی همچون کربوکسیل، هیدروکسیل و کربونیل هستند (۹). خاصیت کمپلکس کنندگی و کلات کنندگی مواد هیومیک از مسائل مهم در محیط‌زیست می‌باشد. عواملی همچون تغییر پ هاش، اشباع بودن مکان‌ها و غلظت الکترولیت، موجب ایجاد کمپلکس‌های محلول و نامحلولی از فلزات می‌شود. بنابراین این مواد دارای عملکردی دوگانه در اکوسیستم خاک هستند. هیومیک اسید تمایل به تشکیل کلات‌هایی غیر محلول با فلزات دارد. در مقابل فولویک اسید کلات‌هایی محلول با فلزات تشکیل می‌دهد و می‌تواند به‌وسیله‌ی حامل‌های فلزات کمیاب به ریشه‌ی گیاهان منتقل گردد (۱۰). در مطالعات صورت گرفته درباره تأثیر هیومیک اسید بر گیاه‌بهسازی نتایج متفاوتی گزارش شده است که می‌توان به افزایش زیست‌توده گیاه، غلظت سرب و افزایش انتقال آن از خاک به گیاه در گندم (۱۱)، افزایش تجمع سرب، کادمیم، بور و مولیبدن در ذرت و آفتابگردان (۱۲) و از طرفی کاهش قابلیت زیستی مس و کادمیم و تجمع این عناصر در بخش هوایی و ریشه گیاه *Elodea nuttallii* (۱۳) اشاره داشت. با توجه به موارد ذکر شده پژوهش حاضر با هدف بررسی نقش تنظیم‌کننده‌های رشد و یک ماده هیومیکی بر گیاه‌بهسازی نیکل توسط ذرت در یک خاک آهکی آلوده به نیکل صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

جهت بررسی تأثیر تنظیم‌کننده‌های رشد و ماده هیومیکی بر فرایند گیاه‌بهسازی، آزمایشی گلخانه‌ای به‌صورت فاکتوریل ۳×۵ در قالب طرح کاملاً تصادفی و با ۳ تکرار انجام شد. در ابتدا پس از هوا خشک شدن و عبور از الک ۲ میلی‌متری نمونه‌های خاک، برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آن از جمله بافت به روش هیدرومتری (۱۴)، پ هاش در خمیر اشباع به‌وسیله پ هاش متر، قابلیت هدایت الکتریکی در عصاره اشباع به‌وسیله هدایت سنج الکتریکی، ظرفیت تبادل کاتیونی به روش استات سدیم (۱۵)، ماده آلی به روش اکسایش با بی کرومات پتاسیم و سپس تیتر کردن با فروآمونیوم سولفات (۱۶)، فسفر قابل استفاده به روش عصاره گیر بی کربنات سدیم (۱۷) و اندازه‌گیری با اسپکتروفتومتر، نیتروژن کل به روش کجلدال (۱۸)، پتاسیم به روش عصاره گیری با استات آمونیوم (۱۹) و غلظت آهن، منگنز، مس، روی و نیکل به روش عصاره گیری با دی تی پی ا (۲۰) تعیین شدند. کلاس بافت خاک لومی رسی، مقادیر پ هاش، قابلیت هدایت الکتریکی، ظرفیت تبادل کاتیونی، ماده آلی و نیتروژن کل به ترتیب ۷/۸، ۰/۷۴ دسی زیمنس بر متر، ۱۵/۲ میلی اکی والان در ۱۰۰ گرم خاک، ۱/۴ درصد و ۰/۰۸ درصد بود. مقادیر فسفر، پتاسیم، آهن، منگنز، مس، روی و نیکل به ترتیب برابر ۱۲/۳، ۳۹۶، ۳/۹، ۵/۸، ۰/۹۸، ۰/۷۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم و کمتر از حد تشخیص دستگاه جذب اتمی تعیین شد. سپس نمونه‌های خاک با ۲۵۰ میلی‌گرم نیکل در کیلوگرم خاک از منبع نیترات نیکل آلوده شدند و با توجه به نتایج آزمون خاک عناصر ضروری مورد نیاز به نمونه‌های ۳ کیلوگرمی خاک در هر گلدان افزوده شد (لازم به ذکر است ۳ نمونه خاک بدون آلودگی نیکل نیز جهت برآورد شاخص تحمل گیاه در نظر گرفته شد). تیمارهای آزمایش شامل محلول‌پاشی چهار تنظیم‌کننده رشد گیاهی (شاهد و غلظت ۱۰ میکرومولار از ایندول استیک اسید، بنزیل آدنین، سالیسیلیک اسید و جیبرلیک اسید به ترتیب از انواع اکسین، سیتوکینین، سالیسیلات و جیبرلین‌ها) و کاربرد خاکی یک نوع ماده هیومیکی از منبع با نام تجاری هیومکس (حاوی ۸۰ درصد هیومیک اسید، ۱۵ درصد فولویک اسید و ۵ درصد پتاسیم)، در سه سطح (صفر، ۳ و ۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) بود. در هر گلدان شش عدد بذر ذرت رقم AS-71 کاشته شد و پس از استقرار گیاه، تعداد آن به سه بوته در هر گلدان کاهش داده شد. در طول دوره رشد، رطوبت گلدان‌ها به روش توزین در حدود ظرفیت مزرعه نگه داشته شد. محلول‌پاشی تنظیم‌کننده‌های رشد در طول دوره رشد و نمو گیاه،

1 - Phytoremediation
2- Phytoextraction

سه بار با فاصله‌های ۱۵ روز انجام شد. نخستین مرحله ۱۵ روز پس از کشت صورت گرفت. جهت چسبندگی بهتر تنظیم‌کننده‌های رشد بر بخش هوایی ذرت از توین-۲۰ استفاده شد. تیمارهای ماده هیومیکی نیز طی سه مرحله در آب حل و به فاصله ۱۵ روز همراه با آب آبیاری به خاک افزوده شد. اولین مرحله ۱۶ روز پس از کشت صورت گرفت. هفت هفته پس از کاشت، اندام هوایی گیاه از محل طوقه قطع، ریشه‌ها به‌دقت از خاک جداسازی و سپس نمونه‌ها به‌دقت با آب مقطر شست‌وشو داده شد. نمونه‌ها در آون و در دمای ۶۵ درجه سلسیوس خشک، سپس توزین و در آسیاب برقی پودر شد. سپس یک گرم ماده خشک گیاهی در کوره الکتریکی در دمای ۵۵۰ درجه سلسیوس خاکستر شد. خاکستر حاصل در ۵ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک ۲ مولار حل و پس از شست‌وشو با آب مقطر داغ و صاف کردن با کاغذ صافی، حجم نهایی محلول با استفاده از آب مقطر به ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد و غلظت نیکل توسط دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری گردید. لازم به ذکر است به دلیل اینکه غلظت نیکل در نمونه‌های بخش هوایی ذرت کمتر از حد تشخیص دستگاه جذب اتمی بود، حجم نهایی در این نمونه‌ها با استفاده از آب مقطر به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. پاسخ‌های گیاهی شامل وزن خشک بخش هوایی و ریشه، شاخص تحمل (نسبت وزن خشک گیاه تیمار شده با نیکل به وزن خشک گیاه در شرایط بدون کاربرد نیکل)، ارتفاع گیاه، شاخص سبزینگی (اندازه‌گیری شده توسط دستگاه کلروفیل سنج دستی مدل SPAD-502 در هفته هفتم پس از کشت)، فاکتور انتقال (نسبت غلظت نیکل بخش هوایی به ریشه)، فاکتور غلظت ریشه (نسبت غلظت نیکل ریشه به غلظت نیکل کل در خاک)، نیکل جذب شده در ریشه (غلظت نیکل ریشه * وزن خشک ریشه)، کارایی انتقال (نسبت نیکل جذب شده در بخش هوایی به ریشه)، کارایی استخراج (نسبت نیکل جذب شده در بخش هوایی به وزن خشک ریشه) و کارایی جذب (نسبت نیکل جذب شده در گیاه به وزن خشک ریشه) (۲۱ و ۲۲ و ۲۳) بود. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین با روش LSD در سطح ۵ درصد انجام شد و نمودارها با نرم‌افزار Excel ترسیم گردید.

نتایج

وزن خشک بخش هوایی و ریشه، شاخص سبزینگی، ارتفاع و شاخص تحمل

نتایج مقایسه میانگین تأثیر تنظیم‌کننده‌های رشد، ماده هیومیکی و اثر متقابل آن‌ها بر وزن خشک ریشه و بخش هوایی، شاخص سبزینگی و ارتفاع در جدول ۱ مشخص شده است. نتایج نشان داد که در صورت عدم کاربرد ماده هیومیکی، کاربرد تنظیم‌کننده جیبرلیک اسید، وزن خشک بخش هوایی را بهبود داد. این در حالی است که اثرات منفی نیکل بر وزن خشک ریشه با محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید تعدیل یافت. کاربرد بنزیل آدنین بر وزن خشک ریشه و اندام هوایی معنی‌دار نبود. نتایج بدست آمده با پژوهش صورت گرفته توسط کابلو-کانجو و همکاران (۶) مبنی بر عدم تأثیر کاربرد سیتوکینن بر عملکرد وزن خشک بخش هوایی *Alyssum murale* مشابه بود. نتایج مشابهی توسط هادی و همکاران (۲۴) هنگام محلول پاشی جیبرلیک اسید با غلظت ۱۰ میکرومولار (مشابه غلظت بکار رفته در پژوهش حاضر) بر وزن بخش هوایی ذرت تحت تنش سرب گزارش شده است. تانیموتو (۲۵) بیان نمود که کاربرد خارجی جیبرلین‌ها معمولاً اثرات کمی بر رشد ریشه در طیفی از گیاهان دارد. نتایج حاکی از اثر منفی کاربرد ماده هیومیکی در شرایط عدم استفاده از تنظیم‌کننده‌ها، بر وزن خشک بخش هوایی و ریشه گیاه بود، هر چند این کاهش تنها در سطح ۶ میلی‌گرم ماده هیومیکی بر کیلوگرم خاک بر وزن خشک ریشه از نظر آماری معنی‌دار بود. در شرایط کاربرد ۳ میلی‌گرم ماده هیومیکی به خاک، کاربرد تنظیم‌کننده‌ها موجب افزایش وزن خشک بخش هوایی گردید، هر چند تنها کاربرد جیبرلیک اسید اثر معنی‌داری بر بهبود این شاخص داشت. این در حالی است که در سطح ۶ میلی‌گرم ماده هیومیکی بر کیلوگرم، بنزیل آدنین به افزایش معنی‌دار وزن خشک بخش هوایی کمک نمود و سایر تنظیم‌کننده‌ها اثر معنی‌داری از خود نشان ندادند. به‌طورکلی نتایج مقایسه میانگین اثرات اصلی کاربرد تنظیم‌کننده‌ها و ماده هیومیکی افزایش قابل‌توجه وزن خشک بخش هوایی و ریشه ذرت را به ترتیب با کاربرد جیبرلیک اسید و سالیسیلیک اسید و کاهش این شاخص‌ها با استفاده از ماده هیومیکی نشان داد. سالیسیلیک اسید یا ارتو-هیدروکسی بنزوئیک اسید، متعلق به گروه وسیعی از ترکیبات فنلی شناخته شده در گیاهان است که با مطالعات صورت گرفته در سال‌های اخیر شواهدی مبنی بر نقش این ترکیب در پاسخ گیاه به تنش‌های غیر زیستی همچون دمای بالا و پایین، اشعه ماوراءبنفش، ازن و فلزات سنگین دیده شده است و اغلب به نقش محافظتی کاربرد خارجی سالیسیلیک اسید در برابر این تنش‌ها اشاره می‌شود (۲۶).

نتایج مقایسه میانگین اثر اصلی تنظیم‌کننده‌ها بر شاخص تحمل گیاه در شکل ۱ مشخص شده است. بیکر و همکاران (۲۷) جهت بررسی تحمل بعضی گونه‌های گیاهی مقاوم به فلزات سنگین شاخص تحمل را مورد استفاده قرار دادند. شاخص تحمل ذرت بدون کاربرد تنظیم‌کننده‌ها و ماده هیومیکی، ۶۴/۱ درصد بود و استفاده از جیبرلیک اسید به افزایش معنی‌دار این شاخص با میانگین ۷۴ درصد منجر شد. این در حالی است که کاربرد ماده هیومیکی در سطح ۳ و ۶ میلی‌گرم به ترتیب موجب کاهش ۳/۸ و ۱۲/۲ درصدی شاخص تحمل گیاه گردید، هر چند تنها در سطح ۶ میلی‌گرم ازنظر آماری معنی‌دار بود.

در پژوهش‌های زیادی کاهش عملکرد سیستم فتوسنتز و

رنگریزه‌های فتوسنتزی گیاه در شرایط تنش فلزات سنگین گزارش شده است. در مورد چگونگی این پدیده سنگار و همکاران (۲۸) در پژوهش خود به توانایی جایگزینی نیکل، روی، کادمیم، مس، سرب و جیوه در کلروفیل به‌جای منیزیم، پراساد و همکاران (۲۹) به مهار فرایندهای کلیدی در ساخت کلروفیل، و ماکسیمیک و کروپا (۳۰) به تخریب کلروفیل در اثر رادیکال‌های آزاد در حضور فلزات سنگین اشاره داشتند.

جدول ۱- اثر تنظیم‌کننده‌ها و ماده هیومیکی بر وزن خشک اندام هوایی و ریشه، شاخص سبزینگی و ارتفاع ذرت

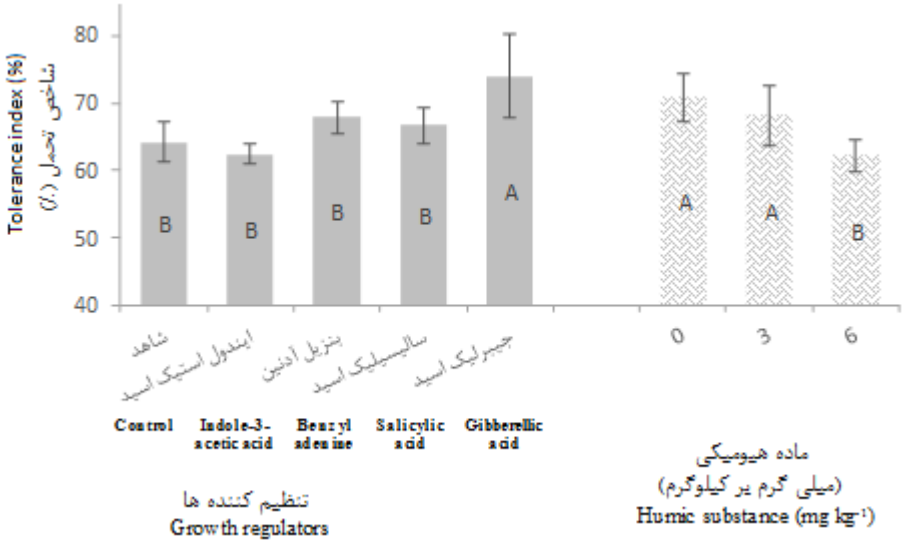
Table 1- influence of plant growth regulators and a humic substance on root and shoot dry matter, greenness index and height of maize

ماده هیومیکی Humic substance (mg/kg)	تنظیم‌کننده‌های رشد Growth regulators					میانگین Mean	انحراف معیار Standard deviation
	جیبرلیک اسید Gibberellic acid	سالیسیلیک اسید Salicylic acid	بنزیل آدنین Benzyl adenine	ایندول استیک اسید Indole-3-acetic acid	شاهد Control		
	وزن خشک اندام هوایی(گرم در گلدان)						
0	29.65 ^{a}	24.04 ^{bc}	24.51 ^{b}	22.39 $^{b-d}$	24.20 ^{c}	**24.96 A**	**2.97**
3	28.48 ^{a}	23.29 $^{b-d}$	24.01 $^{b-d}$	22.77 $^{b-d}$	22.46 $^{b-d}$	**24.20 A**	**3.05**
6	21.66^{b-d}	20.78 ^{d}	24.81 ^{b}	21.82 $^{b-d}$	21.09 ^{cd}	**22.03 B**	**1.96**
میانگین Mean	**26.60 A**	**22.70 BC**	**24.44 B**	**22.33 C**	**22.58 BC**		
انحراف معیار Standard deviation	**4.66**	**1.78**	**1.69**	**1.17**	**1.79**		
	وزن خشک ریشه (گرم در گلدان)						
0	9.71^{-c}	10.87 ^{a}	8.968 $^{b-d}$	7.90 ^{cd}	9.47 $^{a-c}$	**9.38 A**	**1.17**
3	10.16 ^{ab}	8.68 $^{b-d}$	8.27 ^{cd}	8.37 $^{b-d}$	8.66 $^{b-d}$	**8.83 AB**	**1.57**
6	8.03 ^{cd}	9.32 $^{a-d}$	8.13 ^{cd}	7.60 ^{d}	7.51 ^{d}	**8.11 B**	**0.86**
میانگین Mean	**9.30 AB**	**9.62 A**	**8.46 BC**	**7.96 C**	**8.54 BC**		
انحراف معیار Standard deviation	**1.82**	**1.07**	**0.82**	**0.64**	**1.39**		
	شاخص سبزینگی						
0	29.54 $^{b-e}$	33.86 ^{a}	30.68 $^{a-d}$	31.64 $^{a-c}$	26.81 ^{de}	**31.24 A**	**42.3**
3	26.56 ^{e}	33.08 ^{ab}	32.97 ^{ab}	32.77 $^{a-c}$	30.82 $^{a-c}$	**30.73 A**	**97.2**
6	28.93 $^{c-e}$	31.81 $^{a-c}$	31.57 $^{a-c}$	31.13 $^{a-c}$	30.18 $^{a-e}$	**30.51 A**	**22.2**
میانگین Mean	**28.34 B**	**32.92 A**	**31.74 A**	**31.85 A**	**29.27 B**		
انحراف معیار Standard deviation	**2.11**	**2.04**	**2.29**	**3.07**	**2.27**		
	ارتفاع (سانتی‌متر)						
0	57.02 ^{a}	49.95 $^{b-d}$	51.92 $^{a-d}$	48.15 ^{d}	49.47 ^{cd}	**51.30 B**	**5.60**
3	57.80 ^{a}	52.66 $^{a-d}$	56.68 ^{ab}	56.67 ^{ab}	56.36 $^{a-c}$	**56.04 A**	**3.71**
6	53.97 $^{a-d}$	47.78 ^{d}	47.00 ^{d}	49.83 $^{b-d}$	51.65 $^{a-d}$	**50.05 B**	**3.69**
میانگین Mean	**56.26 A**	**50.13 B**	**51.87 B**	**51.55 B**	**52.50 AB**		
انحراف معیار Standard deviation	**4.30**	**2.97**	**5.67**	**5.59**	**5.08**		

اعداد با حروف مشترک کوچک یا بزرگ در هر ردیف یا ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($P<0.05$) نمی‌باشند

Numbers followed by the same letter in the rows or columns are not significantly differents ($P<0.05$)

نتایج مقایسه میانگین تنظیم‌کننده‌های رشد بر شاخص سبزینگی (جدول ۱) نشان داد که در شرایط عدم کاربرد ماده هیومیکی، استفاده از تنظیم‌کننده‌ها، بجز جیبرلیک اسید که به بهبود این شاخص کمک کرد، تأثیر واضحی نشان ندادند، همچنین در شرایط کاربرد ماده هیومیکی، استفاده از تنظیم‌کننده‌ها اثر ملموسی بر این پارامتر نداشت و به طور خاص با کاربرد همزمان ۳ میلی‌گرم ماده هیومیکی و جیبرلیک اسید شاخص سبزینگی به‌طور معنی‌داری در مقایسه با کاربرد جیبرلیک اسید تنها، کاهش نشان داد. نتایج مقایسه میانگین اثر اصلی تنظیم‌کننده‌ها بر ارتفاع گیاه نیز نشان از اثرات مثبت جیبرلیک اسید بر این پارامتر داشت هرچند ازنظر آماری معنی‌دار نبود (جدول ۱). خان و کلودهاری (۳۱) بر نقش جیبرلین‌ها به‌عنوان ترکیباتی دی ترپنوئید در گلدهی، جوانه‌زنی بذر، افزایش ارتفاع ساقه، گلدهی و توسعه برگ و میوه تأکید ورزیدند.



شکل ۱- اثرتنظیم‌کننده‌های رشد و ماده هیومیکی بر میانگین شاخص تحمل گیاه

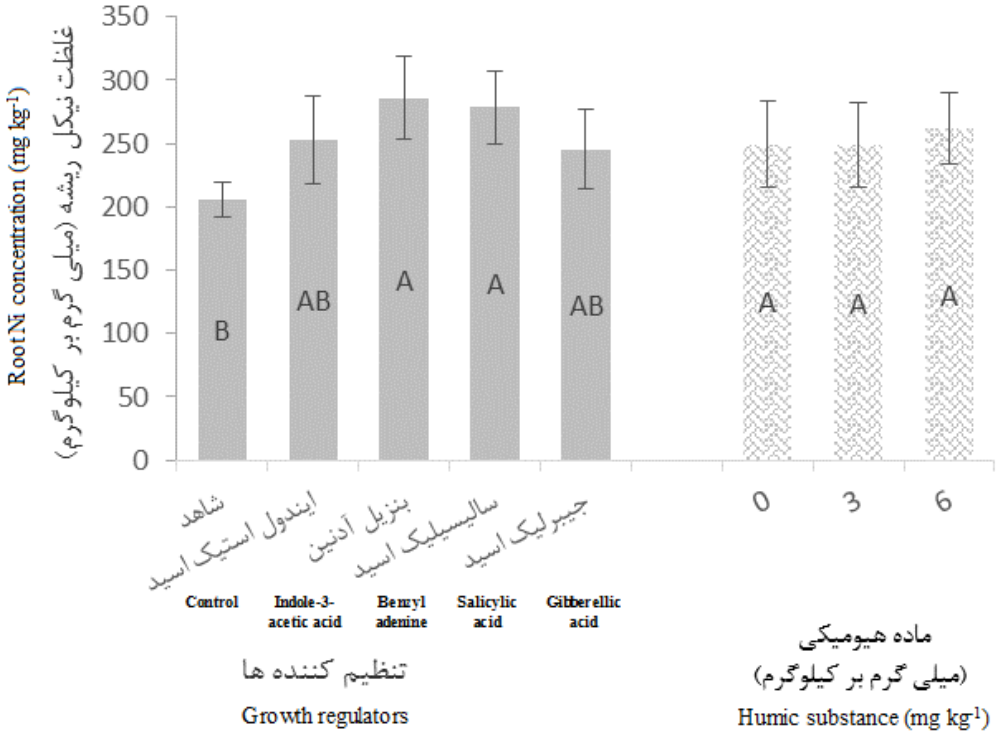
Figure 1- Effect of plant growth regulators and a humic substance on mean plant tolerance index

غلظت نیکل ریشه و بخش هوایی، جذب نیکل ریشه، توزیع نیکل جذب شده

مقایسه میانگین اثر اصلی تنظیم‌کننده‌ها و ماده هیومیکی بر غلظت نیکل بخش هوایی و ریشه در شکل ۲ نشان داده شده است.

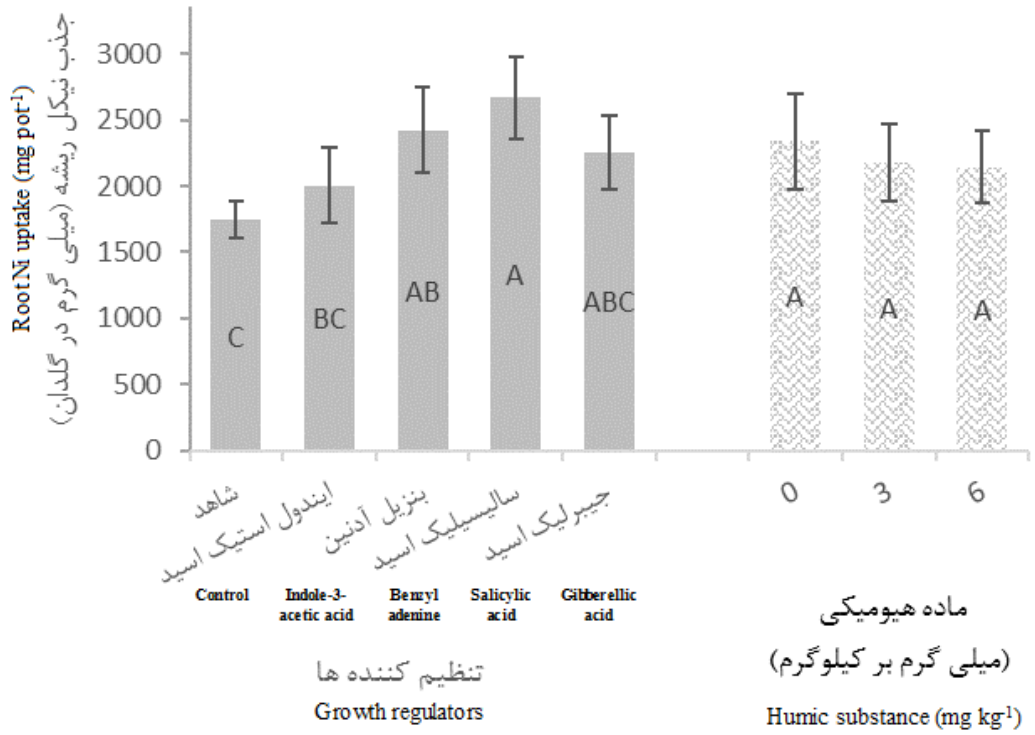
نتایج نشان داد که با محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید، غلظت نیکل بخش هوایی و ریشه (به ترتیب ۴/۵ و ۲۷۸/۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم) افزایشی معنی‌دار نشان داد. این در حالی بود که محلول‌پاشی سه تنظیم‌کننده دیگر، بدون ایجاد تغییر واضح در غلظت نیکل بخش هوایی، غلظت این عنصر در ریشه را افزایش دادند. هرچند که تنها بنزیل آدنین از نظر آماری تفاوتی معنی‌دار با شاهد را نشان داد. با کاربرد ۶ میلی‌گرم ماده هیومیکی غلظت نیکل بخش هوایی و ریشه افزایش نشان داد هر چند در مورد ریشه از نظر آماری معنی‌دار نبود. این احتمال وجود دارد که کاربرد ماده هیومیکی موجب افزایش دسترسی گیاه به نیکل را فراهم کرده باشد و در اثر وجود غلظت بالای این عنصر وزن خشک و شاخص تحمل گیاه کاهش شدیدی پیدا کرده باشد.

اثر اصلی تنظیم‌کننده‌ها و ماده هیومیکی بر جذب نیکل ریشه در شکل ۳ نشان داده شده است. کاربرد تنظیم‌کننده‌های رشد نقش مؤثری بر جذب نیکل ریشه از خود نشان داد. سالیسیلیک اسید در مقایسه با شاهد و سایر تنظیم‌کننده‌های رشد احتمالاً به دلیل تعدیل اثرات منفی نیکل بر سیستم ریشه‌ای گیاه بیشترین تأثیر را نشان داد. کاربرد سایر تنظیم‌کننده‌ها نیز در افزایش جذب نیکل ریشه تأثیر مثبتی نشان دادند. بر اساس گزارش گونز و همکاران (۳۲) و آفتاب و همکاران (۳۳) سالیسیلیک اسید فرایندهایی نظیر جذب و انتقال یونها، نفوذپذیری غشاء، فتوسنتز و سرعت رشد گیاه را بهبود می بخشد. مصطفی و فوجیتا (۳۴) معتقدند سالیسیلیک اسید سبب مقاومتر شدن گیاه در شرایط تنش فلزات سنگین می شود. این ماده از آسیب ناشی از تنشهای اکسیداتیو با افزایش تولید آنتی اکسیدانی ممانعت می نماید.



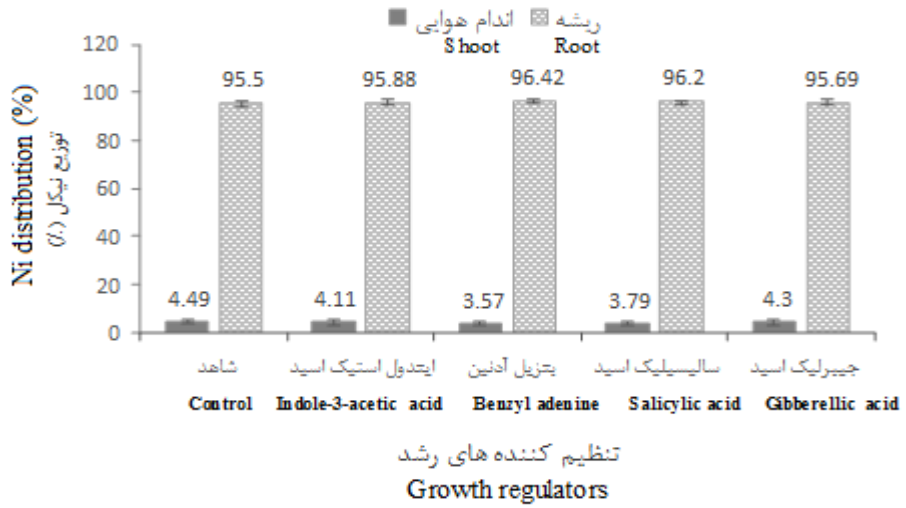
شکل ۲- اثرات اصلی تنظیم‌کننده‌های رشد و ماده هیومیکی بر میانگین غلظت نیکل اندام هوایی و ریشه

Figure 2- Main effects of plant growth regulators and a humic substance on mean root and shoot Ni concentration



شکل ۳- اثرات اصلی تنظیم‌کننده‌های رشد و ماده هیومیکی بر میانگین جذب نیکل ریشه

Figure 3- Main effects of plant growth regulators and a humic substance on mean root Ni uptake



شکل ٤- اثرات اصلی تنظیم‌کننده‌های رشد و ماده هیومیکی بر درصد توزیع نیکل جذب شده بخش هوایی و ریشه
Figure 4- Main effects of plant growth regulators and a humic substance on mean root Ni uptake

نتایج توزیع نیکل جذب شده در بخش هوایی و ریشه نیز حاکی از حضور ۹۵/۵ درصدی این عنصر در ریشه و ۴/۵ درصدی آن در بخش هوایی گیاه شاهد بود (شکل۴) که با کاربرد تنظیم‌کننده‌های رشد روند توزیع تا حدودی دچار تغییر شد و نسبت نیکل جذب شده ریشه گیاه افزایش نشان داد به‌طوری‌که این افزایش با کاربرد بنزیل آدنین در مقایسه با شاهد و دیگر تنظیم‌کننده‌ها معنی‌دار بود.

فاکتور انتقال، فاکتور غلظت ریشه، کارایی انتقال، کارایی استخراج و کارایی جذب نیکل

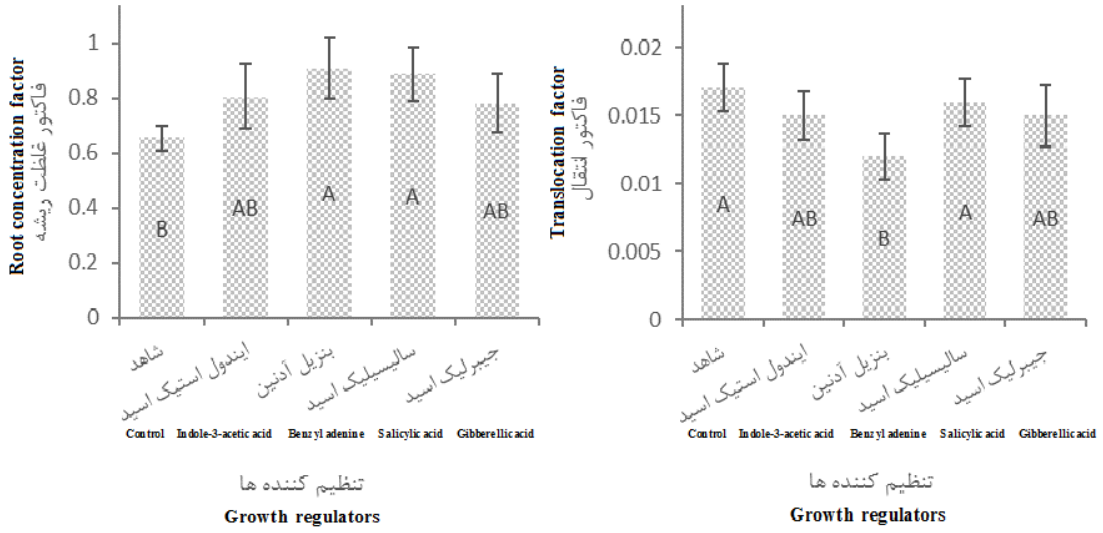
نتایج مقایسه میانگین اثر اصلی تنظیم‌کننده‌های رشد بر فاکتور انتقال و فاکتور غلظت ریشه (شکل ۵) نشان‌دهنده انتقال مقادیر پایین نیکل گیاه شاهد و گیاهانی که تنظیم‌کننده‌های رشد را دریافت کردند، بود که نشان می‌دهد بخش زیادی از نیکل احتمالاً در ریشه حفظ شده است و احتمالاً تنظیم‌کننده‌های رشد جهت کاهش اثرات منفی نیکل بر گیاه انتقال آن به بخش هوایی گیاه را کاهش دادند. هر چند این کاهش با کاربرد بنزیل آدنین اثر معنی‌داری یافت. راسکین و انسلی (۳۵) بیان نمودند درصورتی‌که فاکتور انتقال در گیاه بیشتر از یک باشد آن گیاه انباشتگر (بیش اندوز) می‌باشد. با توجه به اینکه در تمامی تیمارها فاکتور انتقال نیکل از نظر عددی بسیار کمتر از یک بود، ذرت را نمی‌توان به‌عنوان یک گیاه بیش اندوز در نظر گرفت.

فاکتور غلظت ریشه (نسبت انتقال نیکل از خاک به ریشه) در نمونه‌های شاهد مقدار ۰/۶۵ را به خود اختصاص داد و با کاربرد تنظیم‌کننده‌ها این فاکتور افزایش قابل‌ملاحظه‌ای پیدا کرد. به‌طوری‌که با محلول‌پاشی بنزیل آدنین و سالیسیلیک اسید به ترتیب به ۰/۹ و ۰/۸۹ (۳۸/۵ و ۳۵/۴ درصد افزایش) رسید و در این شرایط فاکتور غلظت ریشه به حدود یک نزدیک گردید. همچنین

نتایج مقایسه میانگین اثر تنظیم‌کننده‌ها بر کارایی انتقال نیز نشان از کاهش این شاخص با استفاده از تمامی تنظیم‌کننده‌ها بود، هرچند به‌طور خاص این اثر تنها با محلول‌پاشی بنزیل آدنین معنی‌دار بود. یون و همکاران (۲۳) گزارش کردند که گونه‌های گیاهی با فاکتور غلظت ریشه> ۱ و فاکتور انتقال<۱ دارای بازدهی مناسب برای گیاه‌بهسازی از طریق گیاه‌پایاسازی (تثبیت گیاهی)[1] می‌باشند، درحالی‌که گونه‌های گیاهان با فاکتور غلظت ریشه< ۱ و فاکتور انتقال>۱ برای استفاده از این گیاهان در فرایند گیاه‌برون‌آوری مناسب هستند. نتایج مقایسه میانگین اثر اصلی تنظیم‌کننده‌ها و ماده هیومیکی بر کارایی استخراج نیز نشان داد که کاربرد تنظیم‌کننده‌ها و ماده هیومیکی اثر معنی‌داری بر این شاخص نداشت، این در حالی است که کارایی جذب با استفاده از تنظیم‌کننده‌ها بهبود یافت، هرچند تنها با کاربرد دو تنظیم‌کننده بنزیل آدنین و سالیسیلیک اسید ازنظر آماری با شاهد تفاوت داشت (جدول ۲).

با در نظر گرفتن موارد ذکرشده، ذرت دارای توانایی بالایی جهت گیاه‌برون‌آوری و گیاه‌پایاسازی نیکل جهت فرایند گیاه‌بهسازی نیست. اما با توجه به اینکه این گیاه دارای سیستم ریشه‌ای گسترده و زیست‌توده بالایی می‌باشد و قادر به جذب مقادیر بالای نیکل در ریشه است و همچنین دارای کارایی جذب نسبتاً مناسبی می‌باشد (جدول۲) این احتمال وجود دارد که بتوان از این گیاه جهت گیاه پایاسازی نیکل استفاده نمود.

1-Phytostabilization



شکل ۵- اثر تنظیم کننده های رشد و ماده هیومیکی بر فاکتور انتقال و غلظت ریشه نیکل

Figure 5- Effect of plant growth regulators on mean translocation and root concentration factors

جدول ۲- اثر تنظیم‌کننده‌های رشد و ماده هیومیکی بر کارایی استخراج، انتقال و جذب نیکل

Table 2- Influence of plant growth regulators and a humic substance on the phytoextraction, translocation and uptake efficiencies of Ni

ماده هیومیکی (میلی گرم در کیلوگرم) Humic substance (mg/kg)	تنظیم کننده‌های رشد					میانگین Mean	انحراف معیار Standard deviation
	جیبرلیک اسید Gibberellic acid	سالیسیلیک اسید Salicylic acid	بنزیل آدنین Benzyl adenine	ایندول استیک اسید Indole-3-acetic acid	شاهد Control		
	کارایی انتقال						
0	0.052^{a}	0.036^{ab}	0.031^{b}	0.047^{ab}	0.044^{ab}	0.042A	0.012
3	0.032^{b}	0.039^{ab}	0.041^{ab}	0.039^{ab}	0.049^{a}	0.040A	0.008
6	0.050^{a}	0.042^{ab}	0.038^{ab}	0.042^{ab}	0.046^{ab}	0.044A	0.044
میانگین Mean	0.045AB	0.039AB	0.037B	0.043AB	0.047A		
انحراف معیار Standard deviation	0.013	0.006	0.009	0.011	0.009		
	کارایی استخراج (میکروگرم بر گرم)						
0	12.41^{a}	8.84^{b}	9.86^{ab}	9.80^{ab}	9.09^{b}	10.00AB	2.01
3	8.50^{b}	11.18^{ab}	9.64^{ab}	10.30^{ab}	8.89^{b}	9.70B	1.83
6	11.28^{ab}	12.20^{a}	10.86^{ab}	10.75^{ab}	10.81^{ab}	11.17A	1.54
میانگین Mean	10.73A	10.73A	10.12A	10.28A	9.59A		
انحراف معیار Standard deviation	2.81	1.77	1.39	1.28	1.94		
	کارایی جذب (میکروگرم بر گرم)						
0	247.8^{a-c}	271.3^{a-c}	330.1^{a}	233.5^{a-c}	214.1^{bc}	259.4A	68.7
3	271.8^{a-c}	299.4^{ab}	250.8^{a-c}	283.2^{a-c}	188.5^{c}	258.8A	68.2
6	249.2^{a-c}	297.3^{ab}	306.4^{ab}	272.2^{a-c}	242.9^{a-c}	273.6A	56.4
میانگین Mean	256.3AB	289.3A	295.8A	263.0AB	2415.2B		
انحراف معیار Standard deviation	64.49	58.63	65.53	70.32	27.70		

اعداد با حروف مشترک کوچک یا بزرگ در هر ردیف یا ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($P<0.05$) نمی‌باشند

Numbers followed by the same letter in the rows or columns are not significantly differents ($P<0.05$)

با توجه به اینکه با کاربرد تنظیم‌کننده‌ها فاکتور غلظت ریشه از نظر عددی به یک نزدیک شد این احتمال وجود دارد که بتوان از این مواد جهت بهبود گیاه پایاسازی نیکل استفاده کرد. استخراج و گیاه-پایاسازی به‌عنوان دو فرایند غالب جهت گیاه‌بهسازی خاک‌های آلوده در نظر گرفته می‌شوند. گیاه‌پایاسازی باهدف ایجاد در محدودیت تحرک آلاینده و فراهمی زیستی آن در خاک صورت می‌گیرد. از اهداف ثانویه این روش جلوگیری از انتقال آلاینده‌های خاک از طریق فرسایش آبی و بادی و آبشویی می‌باشد (۳۶).

نتیجه‌گیری کلی

به طور کلی نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که کاربرد بیشتر تنظیم کننده های رشد مورد مطالعه اثرات مثبتی بر فرایند گیاه بهسازی (گیاه پالایی) و به طور خاص گیاه‌پایاسازی (تثبیت گیاهی) خاک آلوده به نیکل داشت. اثرات مثبت سالیسیلیک اسید و بنزیل آدنین افزایش کارایی جذب و فاکتور غلظت نیکل در ریشه و کاربرد جیبرلیک اسید نیز سبب ایجاد بالاترین میانگین وزن خشک و شاخص تحمل گیاه گردید. این در حالی بود که استفاده از ماده هیومیکی موجب افزایش غلظت نیکل و کاهش زیست توده گیاه گردید. با توجه به نقش مواد آلی و همچنین ماده هیومیکی در بهبود برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک استفاده از این مواد در فرایند گیاه‌بهسازی نیاز به بررسی های بیشتری دارد.

منابع

1- Alloway B.J. 1995. Heavy metal in soils. Blackie Academic and Professional, London, UK, pp 25–34.
2- Gimeno-Garcia E., Andreu V., and Boluda R. 1996. Heavy metals incidence in the application of inorganic fertilizers and pesticides to rice farming soil. Environmental Pollution, 92: 19-25.
3- Brown P.H., Welch R.M., and Cary E.E. 1987. Nickel: a micronutrient essential for higher plants. Plant Physiology, 85: 801–803.
4- Seregin I.V., and Kozhevnikova A.D. 2006. Physiological role of nickel and its toxic effects on higher plants. Russian Journal of Plant Physiology, 53: 257–277.
5- Swamy PM, and B. N. Smith. 1999. Role of abscisic acid in plant stress tolerance. Current Science, 9: 1220–1227.
6- Cabello-Conejo M., Centofanti T., Kidd P., Prieto-Fernández Á., and Chaney R. 2013. Evaluation of plant growth regulators to increase nickel phytoextraction by Alyssum species. International Journal of Phytoremediation, 15: 365–75.
7- Cassina L., Tassi E., Morelli E., and Giorgetti L. 2011. Exogenous cytokinin treatments of a Ni hyperaccumulator, *Alyssm murale*, grown in a serpentine soil: Implications for phytoextraction. International Journal of Phytoremediation, 13: 90-101.
8- Fassler E., Evangelou M.W., Robinson B. H., and Schulin R. 2010. Effects of indole-3-acetic acid (IAA) on sunflower growth and heavy metal uptake in combination with ethylene diamine disuccinic acid (EDDS). Chemosphere, 80: 901–907.
9- Lao C., Zeledon Z., Gamisans X., and Sole M. 2005. Sorption of Cd (II) and Pb(II) from aqueous solutions by a low-rank coal (leonardite). Separation Purification Technology, 45: 79-85.
10- Tan K.H. 2003. Humic matter in soil and the environment. Marcel Dekker, New York.
11- Khan S., Cao Q., Chen B.D., and Zhu Y.G. 2006. Humic acids increase the phytoavailability of Cd and Pb to wheat plants cultivated in freshly spiked, contaminated soil. Journal of Soils and Sediments, 6: 236-242.
12- Turan M., and Angin I. 2004. Organic chelate assisted phytoextraction of B, Cd, Mo and Pb from contaminated soils using two agricultural crop species. J. Acta Agric. Scandinavica Section b, Soil and Plant Science, 54: 221-231.
13-Wang Q., Li Z., Cheng S., and Wu Z. 2010. Effects of humic acids on phytoextraction of Cu and Cd from sediment by *Elodea nuttallii*. Chemosphere, 78: 604-608.
14- Bouyoucos G.J. 1962. Hydrometer method improved for making particle size analysis of soil. Journal of Agronomy, 54: 464-465.
15- Sumner M.E., and Miller W.P. 1996. Cation exchange capacity and exchange coefficients. P. 1201-1229. In D. L. Sparks et al. (ed.). Methods of soil analysis, part 3, 3rd ed., Am. Soc. Agron., Madison, WI.
16- Nelson D.W., and Sommers L.E. 1996. Total carbon, organic carbon and organic matter. P. 961-1010. In D. L. Sparks et al. (ed.) Methods of soil analysis, part 3, 3rd ed., Am. Soc. Agron., Madison, WI.
17- Olsen S.R.C., Cole V., Watanabe F.S., and Dean L.A. 1954. Estimation of available phosphorus in soil by extraction with sodium bicarbonate. USDA. Circ. 939. U. S. Gov. Print. Office, Washington, D.C.
18- Bremner J.M. 1996. Nitrogen-total. P.1085-1121. Methods of soil analysis. In D. L. Sparks et al. (ed.) Methods of soil analysis, part 3, 3rd ed., Am. Soc. Agron., Madison, WI.

19- Knudsen D., Peterson G.A., and Pratt P.F. 1982. Lithium, sodium, and potassium. P. 225-246. In A. L. Page, R. H. Miller, and D. R. Keeney (eds.). Methods of soil analysis, part 3. Chemical and microbiological properties. Am. Soc. Agron., Madison, WI.

20- Lindsay W.L., and Norvell W.A. 1978. Development of a DTPA test for zinc, iron, manganese, and copper. Soil Science Society of America Journal, 42: 421-428.

21- Audet, P., and C. Charest. 2007.Dynamics of arbuscular mycorrhizal symbiosis in heavy metal phytoremediation: Meta-analytical and conceptual perspectives. Environmental Pollution, 147: 609-614.

22- Wang F.Y., Linb X.G., and Yinb R. 2007. Inoculation with arbuscular mycorrhizal fungus *Acaulospora mellea* decreases Cu phytoextraction by maize from Cu-contaminated soil. Pedobiologia, 51: 99-109.

23– Yoon J., Cao X., Zhou Q., and Ma L.Q. 2006. Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site. Science of Total Environment, 368: 456-464.

24- Hadi F., Bano A., and Fuller M.P. 2010. The improved phytoextraction of lead (Pb) and the growth of maize (*Zea mays* L.): the role of plant growth regulators (GA3 and IAA) and EDTA alone and in combinations. Chemosphere, 80: 457–62.

25- Tanimoto E. 2005. Regulation of root growth by plant hormones—roles for auxin and gibberellin. Critical Reviews in Plant Sciences, 24:249–65.

26- JandaT., Horváth E., Szalai G., and Paldi E. 2007. Role of salicylic acid in the induction of abiotic stress tolerance. In S. Hayat and A. Ahmad (eds.), Salicylic Acid – a plant hormone. Springer.

27- Baker A.J.M., Megrath S.P., Sidholi C.M.D., and Reeves R.D. 1994. The possibility of in situ heavy metal decontamination of polluted soils using crops and metal-accumulating plants. Conservation and Recycling, 11: 41-49.

28- Sengar R., Gautam M., Sengar R., Sengar R., Garg S., Sengar K., and Chaudhary R. 2008. Lead Stress Effects on Physiobiochemical Activities of Higher Plants. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Vol. 196. D. M. Whitacre, Springer US. 196: 73-93.

29- Prasad M.N.V., and Freitas H. 2003. Metal hyper accumulation in plants-Biodiversity prospecting for phytoremediation technology. Electronic Journal of Biotechnology, 6: 275-321

30- Maksymiec W., and Krupa Z. 2006. The effects of shortterm exposition to Cd, excess Cu ions and jasmonate on oxidative stress appearing in *Arabidopsis thaliana*. Environ. Journal of Experimental Botany, 57: 187-194.

31- Khan, A. S., and N. Y.Chaudhry. 2006. GA3 improves flower yield in some cucurbits treated with lead and mercury. African Journal of Biotechnology, 5: 149-153.

32- Gunes A., Inal A., Alpaslan M., Cicek N., Guneri E., Eraslan F., and Guzelordu T. 2005. Effects of exogenously applied salicylic acid on the induction of multiple stress toler-ance and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.), Archives of Agronomy and Soil Science, 51: 687–695.

33- Aftab T., Khan M.M.A., Idrees M., Naeem M., and Moinuddin. 2010. Salicylic acid acts as potent enhancer of growth, photosynthesis and artemisinin production in *Artemisia annua* L. J. Crop Science and Biotechnology, 13: 183–188.

34- Mostofa M.. G., and Fujita M. 2013. Salicylic acid alleviates copper toxicity in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings by up-regulating antioxidative and glyoxalase systems. Ecotoxicology, 22 : 959 - 973.

35- Raskin I., and Ensley B.D. 2000. Phytoremediation of Toxic Metals: Using plants to clean up the environment. John Wiley & Sons, Inc., New York.

36- Aggarwal H., and Goyal D. 2007. Phytoremediation of some heavy metals by agronomic crops. Developments in Environmental Science, 5: 79–98.

Journal of Water and Soil
Vol. 31, No. 1, Mar.-Apr. 2017, p. 144-155

نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۱، شماره ۱، فروردین –اردیبهشت ۱۳۹۶، ص. ۱۵۵-۱۴۴

Influence of Plant Growth Regulators and Humic Substance on the Phytoremediation of Nickel in a Ni-Polluted Soil

M. Shafigh[1]- R. Ghasemi-Fasaei[2]*- A. Ronaghi[3]

Received: 13-12-2015
Accepted: 18-04-2016

Introduction: Plants can uptake, bioaccumulate and immobilize different metals in their tissues. Phytoremediation technique has been used to remove hazardous substances including heavy metals from the environment. Assisted phytoremediation is usually the process of applying a chemical additive to heavy metal contaminated soils to enhance the metal uptake by plants. The main objective of present study was to investigate the effectiveness of plant growth regulators (PGRs) and a humic substance (HS) on Ni phytoremediation by maize in a Ni-pollutrd calcareous soil.

Materials and Methods: The experiment designed as a 5×3 factorial trial arranged in a completely randomized design with three replicates. Three kilograms of soil was placed in plastic pots and pots were watered with distilled water to field capacity and maintained at this moisture level throughout the experiment by watering the pots to a constant weight. The soils were polluted with 250 mg Ni Kg^{-1} as Ni-nitrate Ni $(NO_3)_2$. Six maize (Zea mays L.) seeds were planted 2 cm deep in soil and thinned to three uniform stands 1 week after emergence. Treatments consisted of three levels of soil application of commercially humic substance, HS, (0, 3, and 6 mg kg as Humax 95-WSG containing about 80% humic acid, and about 15% fulvic acid) and five levels of PGRs (0 or 10 µM GA_3, IAA, BAP and SA). The HS was applied as split doses in three times at 15 day intervals along with irrigation water. The seedlings were exposed to aqueous solutions of HS 16 days after sowing for the first time. Prepared solutions of PGRs were sprayed three times at 15 day intervals from emergence. Seven weeks after planting, shoots were harvested and roots were separated from soil carefully, both parts were rinsed with distilled water and dried at 65°C for 72 h, weighed, ground, and dry meshed at 550°C. Root and shoot dry matter and Ni concentration and uptake and phytoremediation criteria were considered as plant responses. Data were statistically analyzed using SAS and SPSS software packages. Application of different PGRs had no considerable effect on phytoextraction or translocation efficiencies. Among the four PGRs studied application of SA and BA significantly increased mean uptake efficiency.

Results and Discussion: Among four PGRs evaluated, application of GA_3 increased mean shoot dry matter yield and application of SA increased mean root dry matter yield. Application of the highest HS level (6 mg kg^{-1}) decreased both mean root and shoot dry weight. Application of SA increased Ni concentration in both maize root and shoot. Application of BA only increased Ni concentration in maize root. Although application of the highest HS level (6 mg kg^{-1}) caused an increase in Ni concentration in maize shoot, this effect was attributed to the influence of HS on the decrease in decreasing dry weight of maize shoot. Application of all PGRs except GA_3 increased leaf greenness criterion. Addition of HS had no significant effect on leaf greenness. Application of PGRs enhanced root concentration factor (RCF) and decreased translocation factor (TF). Among PGRs evaluated, BA was the most effective on TF, and SA or BA was the most effective on RCF. However HS were not significantly influenced these phytoremediation criteria, as compared with control. The efficiency of PGRs in root Ni uptake was in the order of SA > BA > GA_3 > IAA. Application of BA had a significant effect on Ni distribution among root and shoot, in comparison with other PGRs, and caused an increase and a decrease in root and shoot uptake of Ni, respectively. However HS had a negative effect on tolerance index and its application decreased root and shoot dry weights. Results showed that the values of Ni in maize root was considerably higher than that of maize shoot demonstrated that phytostabilization was the main mechanism involved in the phytoremediation of Ni by maize and application of PGRs was effective on this mechanism.

Conclusion: Results reported here indicated that although the addition of HS did not cause a significant effect on Ni phytoremediation, application of most studied PGRs had a positive effect on Ni phytoremediation by maize. Application of SA and BA increased uptake efficiency and RCF and application of GA_3 increased

1, 2 and 3- Master Degree, Associate Professor and Professor, College of Agriculture, Shiraz University
(*-Corresponding Author Email: ghasemif@shirazu.ac.ir)

shoot dry matter and tolerance index. The fact that Ni uptake by roots was significantly higher than that of shoots demonstrated that phytostabilization was the main mechanism involved in the phytoremediation of Ni by maize. According to results reported herein the addition of PGRs especially SA is likely to be promising in phytostabilization of Ni in calcareous soils polluted with this metal.

Keywords: Benzyle adenine, Gibberlic acid, Indole-3-acetic acid, Salicylic acid, Phytostabilization