



مجله پژوهش‌های حفاظت آب و خاک

مجله پژوهش‌های حفاظت آب و خاک

جلد بیستم، شماره سوم، ۱۳۹۲

<http://jwsc.gau.ac.ir>

افزایش استخراج سرب خاک به وسیله تلخه (*Acroptilon repens*) در اثر مایه‌زنی با برخی قارچ‌ریشه‌های آربوسکولار و باکتری‌های افزاینده رشد گیاه

اکبر کریمی^۱، * حبیب خداوردی‌لو^۲ و میرحسین رسولی‌صدقیانی^۲

^۱ دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم خاک، دانشگاه ارومیه، ^۲ استادیار گروه علوم خاک، دانشگاه ارومیه

تاریخ دریافت: ۹۰/۱۱/۲۳؛ تاریخ پذیرش: ۹۱/۵/۲۲

چکیده

قارچ‌ریشه‌های آربوسکولار (AMF) و باکتری‌های افزاینده رشد گیاه (PGPR) با راه‌کارهای مختلف در بهبود رشد و بردباری گیاهان در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین مؤثر شناخته شده‌اند. هدف این مطالعه بررسی افزایش استخراج سرب خاک به وسیله تلخه در اثر مایه‌زنی با برخی از گونه‌های AMF (ترکیبی از گونه‌های *Glomus* شامل *G. intraradices*، *G. mosseae* و *G. fasciculatum*) و PGPR (ترکیبی از گونه‌های *Pseudomonas* شامل *P. putida*، *P. fluorescens* و *P. aeruginosa*) بود. این پژوهش در شرایط گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل با دو فاکتور غلظت سرب (در ۴ سطح) و تیمار میکروبی (در ۲ سطح) در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی و در ۳ تکرار انجام شد. به همین منظور، یک نمونه خاک انتخاب و به طور یکنواختی با غلظت‌های مختلف سرب (صفر، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) آلوده شد. خاک آلوده شده استریل شد و سپس با AMF و PGPR مایه‌زنی شد. نتایج نشان داد با افزایش غلظت سرب در خاک مقادیر عملکرد شاخساره، غلظت آهن و روی در شاخساره کاهش یافت و مقادیر سرب زیست‌فراهم، غلظت سرب در شاخساره و کل سرب استخراج شده توسط تلخه افزایش یافت. مایه‌زنی با AMF و PGPR عملکرد شاخساره تلخه را به طور میانگین به ترتیب بیش از ۲/۷ و ۱/۴ برابر نسبت به تیمار شاهد افزایش داد. مقدار کل سرب استخراج شده توسط شاخساره به طور میانگین در تیمارهای AMF و

* مسئول مکاتبه: h.khodaverdiloo@urmia.ac.ir

PGPR به ترتیب بیش از ۳/۲ و ۲/۲ برابر نسبت به تیمار شاهد بیش تر بود. بنابراین می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که استخراج سرب خاک به وسیله تلخه در اثر مایه‌زنی با گونه‌های AMF و PGPR به‌طور چشم‌گیری افزایش می‌یابد.

واژه‌های کلیدی: استخراج سبز، باکتری‌های افزاینده رشد گیاه، تلخه، سرب، قارچ‌ریشه‌های آربوسکولار

مقدمه

فلزات سنگین به دلیل داشتن پیامدهای خطرناک، تهدیدی جدی برای محیط زیست به‌شمار می‌روند. سرب یکی از خطرناک‌ترین فلزات سنگین است که از منابع مختلفی از جمله کان‌کنی^۱ و ذوب فلزات استفاده از لجن فاضلاب و پساب‌های صنعتی در اراضی کشاورزی و دود خروجی از آگزوز وسایل نقلیه بنزین‌سوز وارد خاک می‌شود (شن و همکاران، ۲۰۰۲). سرب یکی از پردوام‌ترین فلزات سنگین در خاک است و انباشش^۲ آن در خاک گزندهایی جدی برای انسان، دام و گیاه می‌آفریند (سرچین و کوژنی‌کووا، ۲۰۰۸).

زدودن فلزات سنگین از خاک‌های آلوده با روش‌های سنتی فیزیکی و شیمیایی ناکارآمد و بسیار هزینه‌بر است. بنابراین، تلاش‌هایی برای ایجاد فن‌آوری‌های مؤثر و ارزان برای پالایش خاک‌های آلوده به فلزات سنگین انجام شده است (گاد، ۲۰۰۴). پالایش سبز^۳ یکی از فن‌آوری‌های نویدبخش است که در آن از توانایی گیاهان یا هم‌زیستی گیاهان و میکروب‌ها در جذب، انتقال و اندوزش آلاینده‌های خاک استفاده می‌شود (گاد، ۲۰۰۴). واکنش‌های میان گیاهان و میکروارگانیسم‌های مفید ریزوسفر می‌تواند تولید زیست‌توده و بردباری گیاه به فلزات سنگین را افزایش دهد (گلیک، ۲۰۰۳). در میان میکروارگانیسم‌های خاک قارچ‌ریشه‌های آربوسکولار در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین بیش‌ترین هم‌زیستی را با گیاهان دارند (تورناو و همکاران، ۲۰۰۱؛ وایتفیلد و همکاران، ۲۰۰۳). نتایج مطالعات مختلف نشان داده قارچ‌ریشه‌های آربوسکولار در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین با افزایش رشد و زیست‌توده گیاهان کارایی پالایش سبز را می‌افزایند (جونر و لیوال، ۱۹۹۷؛ وانگ و همکاران، ۲۰۰۵؛ ژانگ و همکاران، ۲۰۱۰). برای مثال بافیل (۲۰۰۸) گزارش کردند مایه‌زنی

1- Mining

2- Accumulation

3- Phytoremediation

قارچ‌ریشه‌های *Glomus sp.* به گیاه اکالیپتوس در خاک‌های آلوده به سرب با افزایش عملکرد این گیاه کارآیی پالایش سبز سرب را افزایش می‌دهد.

باکتری‌های ریزوسفری افزاینده رشد گیاه گروهی از باکتری‌های خاک هستند که در شرایط مختلف از جمله آلودگی خاک‌ها به فلزات سنگین می‌توانند از طریق راه‌کارهای گوناگون باعث تحریک و بهبود رشد گیاهان شوند (بلیموو و همکاران، ۲۰۰۴). انحلال فسفات‌های نامحلول، تشکیل کمپلکس سیدروفور- آهن و همچنین تولید تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه مانند ایندول استیک اسید و جیبرلیک اسید و تولید آنزیم ACC دآمیناز توسط این باکتری‌ها از جمله راه‌کارهای افزایش رشد و عملکرد گیاه در شرایط تنش فلزات سنگین می‌باشد (ما و همکاران، ۲۰۱۱). برای مثال داری و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند مایه‌زنی PGPR گونه *Pseudomonas sp.* به گیاه لوبیا سبب افزایش زیست‌توده این گیاه در خاک‌های آلوده به سرب می‌شود.

یکی از مشکلات پالایش سبز فلزات سنگین، تحرک کم آن‌ها در خاک و فراهمی اندک آن برای گیاهان است (خداوردی‌لو و همایی، ۲۰۰۸). نتایج مطالعات نشان داده که قارچ‌ریشه‌های آربوسکولار می‌توانند با افزایش گستردگی ریشه‌ها و افزایش تحرک فلزات سنگین، زیست‌فراهمی آن‌ها را برای گیاهان افزایش دهند. PGPR نیز می‌توانند با ترشح اسیدهای آلی زیست‌فراهمی فلزات سنگین را افزایش دهند (وو و همکاران، ۲۰۰۶).

استخراج سبز^۱ فلزات سنگین از خاک یکی از رایج‌ترین روش‌های پالایش سبز است (گاد، ۲۰۰۴). در بیش‌تر پژوهش‌های انجام شده تأثیر گونه‌های AMF و PGPR در استخراج سبز فلزات سنگین به‌طور جداگانه بررسی شده است. بنابراین، این پژوهش با هدف بررسی تأثیر مایه‌زنی برخی گونه‌های AMF (*G. intraradices*, *G. mosseae* و *G. fasciculatum*) و PGPR (*P. putida* و *P. fluorescens*) به‌صورت ترکیبی از گونه‌ها در افزایش استخراج سرب خاک توسط تلخه (*Acroptilon repens*) انجام شد.

مواد و روش‌ها

برای انجام این پژوهش از یک نمونه خاک با مشخصات Typic Halaquepts, Inceptisols, mesic و mixed, Fine واقع در استان آذربایجان غربی نمونه‌برداری شد. این خاک پس از هوا-خشک

1- Phytoextraction

شدن به ۲ بخش تقسیم گردید. یک بخش آن برای انجام آزمایش‌های فیزیکی و شیمیایی از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شد. برخی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک مانند بافت خاک به روش هیدرومتری (جی و بادر، ۱۹۸۶)، pH خاک در عصاره گل اشباع توسط pH متر (مکلین، ۱۹۸۲)، کربن آلی با روش والکی و بلک (نلسون و سامرز، ۱۹۸۲)، کربنات کلسیم معادل (CCE) به روش تیتراسیون (نلسون و سامرز، ۱۹۸۲) و ظرفیت تبدیلی کاتیونی (CEC) به روش استات سدیم نرمال (رودز، ۱۹۸۲) اندازه‌گیری شد. برخی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک به روش‌های استاندارد اندازه‌گیری شد (کارتز و گری‌گوریچ، ۲۰۰۸). بخش دوم نمونه‌های خاک به گل‌خانه پژوهشی گروه علوم خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، انتقال داده شدند و با غلظت‌های مختلف سرب (شامل صفر، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰) آلوده شدند. برای آلوده کردن خاک، ابتدا مقدار لازم نترات سرب $Pb(NO_3)_2$ برای آلوده کردن جرم مشخصی از خاک محاسبه شد. سپس، جرم محاسبه شده نمک به ۱ کیلوگرم از خاک افزوده شد و کاملاً با آن مخلوط گردید تا پیش‌ماده‌ای همگن به دست آید. نیتروژن افزوده شده به خاک توسط نمک نترات سرب، با افزودن مقادیر محاسبه شده اوره به تیمارهای مختلف تصحیح شد. این پیش‌ماده آلوده سپس به‌طور کامل با توده خاک مخلوط گردید. بر پایه مطالعات پیشین (خداوردی‌لو و حمزه‌نژاد تقلیدآباد، ۲۰۱۱؛ خداوردی‌لو و همکاران، ۲۰۱۲)، خاک آلوده به مدت ۵ ماه در معرض تناوب‌های تر و خشک شدن قرار گرفت که تا حد امکان برهم‌کنش‌های آلاینده و خاک تکوین یافته و توزیع سرب در خاک به شرایط آلودگی درازمدت و طبیعی نزدیک‌تر شود. این خاک ۱۸ ماه دیگر نیز تا آغاز اقدامات بعدی در شرایط هواخشک مانده بود. سپس نمونه‌های خاک آلوده شده در اتوکلاو در دو نوبت در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۵ بار در داخل کیسه‌های کنفی استریل شدند. گلدان‌ها نیز با الکل استریل سطحی شدند. خاک‌های استریل در گلدان‌هایی با ظرفیت تقریبی ۲/۵ کیلوگرم ریخته شدند. برای اعمال تیمارهای میکروبی، در تیمارهای مربوط به قارچ‌ریشه آربوسکولار قبل از کشت، در زیر بذرها مقدار ۲۵ گرم از زادمایه به صورت لایه‌ای به ضخامت تقریبی ۲ سانتی‌متر اضافه شد. تیمار قارچ‌ریشه‌ای شامل ترکیبی از زادمایه قارچ‌ریشه‌های جنس *Glomus* شامل *G. intraradices*، *G. mosseae* و *G. fasciculatum* بود. تعداد کل اسپورهای قارچی زادمایه، ۲۵۰ اسپور در هر ۵۰ گرم زادمایه بود. برای تیمار باکتریایی مقدار ۱۵ میلی‌لیتر از محیط کشت مایع Nutrient Broth شامل باکتری‌ها به گلدان‌ها مایه‌زنی گردید. تیمار باکتریایی شامل ترکیبی از باکتری‌های سودوموناس (*Pseudomonas*) شامل پوتیدا (*P. putida*)، فلورسنس (*P. fluorescens*)

و آئروژینوزا (*P. aeruginosa*) بود که به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور در محیط کشت مایع Nutrient Broth رشد کرده بودند. جمعیت این باکتری‌ها حدود $(10^8 \times 2/6 \text{ CFU ml}^{-1})$ بود. این پژوهش در شرایط گل‌خانه به صورت آزمایش فاکتوریل با دو فاکتور غلظت سرب (در ۴ سطح) و تیمار میکروبی (در ۳ سطح) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی و در ۳ تکرار انجام شد. پس از اعمال تیمارها و رساندن رطوبت گلدان‌ها به ظرفیت زراعی، در هر گلدان ۸-۶ بذر گیاه تلخه با فواصل منظم در گلدان‌های موردنظر کشت گردید. پس از جوانه زدن بذرها، بوته‌های سالم‌تر و قوی‌تر نگهداری شدند. گیاه تلخه در گلدان‌ها کاشته شده و پس از آبیاری تا حد ظرفیت زراعی وزن شدند. وزن هر گلدان در رطوبت ظرفیت مزرعه بر روی آن یادداشت شد تا در مراحل بعدی آبیاری برای جلوگیری از هر گونه تنش رطوبتی آبیاری گردد. آبیاری و نگهداری گلدان‌ها در شرایط گل‌خانه با دمای حداقل ۱۵ و حداکثر ۳۰ درجه سانتی‌گراد انجام شد. در پایان ماه پنجم رشد شاخساره‌های گیاهان از رویه خاک بریده شدند. شاخساره‌های گیاهان پس از شستشو با آب مقطر و خشک کردن، به درون پاکت‌های کاغذی منتقل شدند. نمونه‌های گیاهی به مدت ۷۲ ساعت در آون و در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. نمونه‌ها پس از خشک شدن و توزین آن‌ها و اندازه‌گیری عملکرد ماده خشک آن‌ها، با استفاده از آسیاب برقی با محفظه تمام استیل آسیاب شدند. نمونه‌های آسیاب شده تا زمان عصاره‌گیری در ظروف پلاستیکی (که قبلاً با اسید رقیق شسته شده بودند) نگهداری شدند. سپس با توجه به عملکرد ماده خشک گیاه عملکرد نسبی ماده خشک شاخساره گیاه با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد:

$$RY = \frac{Y_i}{Y} \quad (1)$$

که در آن، RY : عملکرد نسبی گیاه، Y_i : عملکرد ماده خشک گیاه در هر تیمار و Y : عملکرد ماده خشک گیاه در شرایط بدون سرب و در تیمار شاهد (بدون مایه‌زنی با میکروبی‌ها) است. پس از برداشت گیاهان سرب زیست‌فراهم خاک به روش عصاره‌گیری با نیترات آمونیوم ۱ نرمال اندازه‌گیری شد. این روش مقدار عمده فلز زیست‌فراهم خاک را عصاره‌گیری می‌کند (لانجر و همکاران، ۲۰۰۹). در این پژوهش از روش اکسیداسیون تر برای عصاره‌گیری سرب کل از گیاه استفاده شد. برای اکسیداسیون تر، آمیزه اسیدنیتریک، اسیدپرکلریک و اسیدسولفوریک با نسبت حجمی ۴، ۴، ۴

و ۱ به‌کار رفت (گوپتا، ۲۰۰۰). غلظت سرب، آهن و روی با استفاده دستگاه جذب اتمی اسپکترومتری (Shimadzu 6300 AA) قرائت شد. سپس در هر سطح آلودگی خاک، مقادیر سرب استخراج شده توسط شاخساره گیاه با استفاده از رابطه ۲ محاسبه شد:

$$ME = C_p^{Shoot} \times Y^{Shoot} \quad (2)$$

که در آن، ME : سرب استخراج شده توسط شاخساره گیاه (mg pot^{-1})، C_p^{Shoot} : غلظت سرب در شاخساره گیاه (میلی‌گرم بر کیلوگرم) و Y^{Shoot} : عملکرد شاخساره گیاه (kg pot^{-1}) در سطوح مختلف آلودگی سربی است.

برای ارزیابی تأثیر AMF و PGPR در پالایش سطوح مختلف آلودگی سربی در هر سطح آلودگی سربی خاک، افزایش نسبی استخراج سرب در اثر تیمارهای میکروبی با استفاده از رابطه ۳ محاسبه شد:

$$RI_{ext} = \frac{Pb_{ext}^t - Pb_{ext}^c}{Pb_{ext}^c} \quad (3)$$

که در آن، RI_{ext} : افزایش نسبی مقدار سرب استخراج شده توسط گیاه در اثر تیمار میکروبی و Pb_{ext}^c Pb_{ext}^t به‌ترتیب مقادیر سرب استخراج شده در تیمارهای میکروبی و تیمار شاهد است. تجزیه و تحلیل آماری داده‌های به‌دست آمده از این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS و مقایسه میانگین داده‌ها نیز با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. رسم شکل‌ها نیز با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

جدول ۱ برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه را نشان می‌دهد. این خاک دارای بافتی متوسط، pH آن در محدوده خاک‌های آهکی، کمی شور، غیرسدیمی و با توجه به حدود مجاز گزارش شده در منابع (برای نمونه، کارینی، ۱۹۹۵)، غیرآلوده به فلزات سنگین بود.

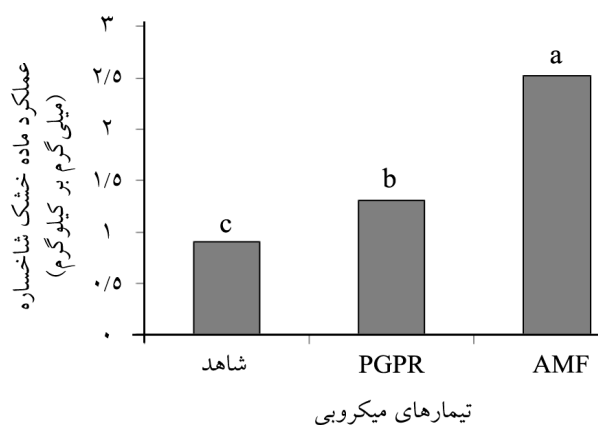
اکبر کریمی و همکاران

جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک مورد مطالعه.

مقدار	واحد	ویژگی
۳۲۳		شن
۴۰۳		سیلت
۲۷۴	(گرم بر کیلوگرم)	رس
۲۶۹		مواد آلی
لوم		کلاس بافتی خاک
۲۲/۱	(cmol.kg^{-1})	ظرفیت تبادل کاتیونی
۲/۵	(دسی‌زیمنس بر متر)	قابلیت هدایت الکتریکی عصاره اشباع خاک
۳	(درصد)	درصد سدیم تبدلی
۳۰/۵		کربنات کلسیم معادل
۸/۱		pH
۱/۲		کلسیم محلول
۰/۴		منیزیم محلول
۲۳/۸		سدیم محلول
۰/۰		پتاسیم محلول
۰/۸	(میلی‌گرم بر لیتر)	کربنات محلول
۵/۶		بی‌کربنات محلول
۱۵/۲		کلر محلول
۳/۸		سولفات محلول
۲۱/۴۲		سرب کل
۱/۴۷		کادمیم کل
۲۹۵/۵	(میلی‌گرم بر کیلوگرم)	آهن کل
۶۲		روی کل
۱۴/۱۱		مس کل

همان‌طورکه در جدول ۲ آمده است با افزایش غلظت سرب در خاک، عملکرد و عملکرد نسبی گیاه در همه تیمارها روند کاهش یافت. البته این کاهش تنها در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک معنی‌دار ($P \leq 0/05$) بود. این امر احتمالاً به دلیل غلظت بیش‌تر سرب در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک در شاخساره گیاه، نسبت به سایر غلظت‌ها و ایجاد سمیت سرب در

این غلظت می‌باشد (جدول ۲). عملکرد و عملکرد نسبی ماده خشک در تمامی سطوح سرب در تیمار AMF و PGPR به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0/05$) بیش‌تر از تیمار شاهد بود. به‌طور کلی روند عملکرد ماده خشک میان تیمارها به این ترتیب بود: $PGPR < AMF$ شاهد. نتیجه جالب این پژوهش این بود که عملکرد ماده خشک در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک در تیمار AMF بیش از ۲/۲ برابر عملکرد ماده خشک در غلظت صفر سرب در تیمار شاهد (بدون آلودگی سربی) بود (جدول ۲). شکل ۱ میانگین عملکرد ماده خشک شاخساره در سطوح مختلف سرب در خاک، در تیمارها را نشان می‌دهد. میانگین عملکرد ماده خشک گیاه در سطوح مختلف سرب، در تیمارهای AMF و PGPR به‌ترتیب بیش از ۲/۷ و ۱/۴ برابر نسبت به تیمار شاهد، بیش‌تر بود. این نتایج نشان‌دهنده تأثیر بسیار چشم‌گیر AMF در افزایش عملکرد تلخه، در شرایط آلودگی سربی بود. سمیت سرب در گیاهان سبب ایجاد اختلال در جذب عناصر غذایی، رژیم آبی گیاه، تنفس سلولی و فتوسنتز می‌شود که این یکی از مهم‌ترین دلایل کاهش عملکرد گیاه در اثر افزایش غلظت سرب در خاک می‌باشد (شارما و دویی، ۲۰۰۵). دلیل بیش‌تر بودن عملکرد گیاه در تیمارهای AMF و PGPR نسبت به تیمار شاهد این است که AMF و PGPR می‌توانند عملکرد گیاهان را در خاک‌های آلوده به سرب از طریق افزایش جذب عناصر غذایی به‌ویژه فسفر، تولید هورمون‌های افزایش‌دهنده رشد گیاه و همچنین تأثیر بر ترشحات ریشه بیفزایند (ویواس و همکاران، ۲۰۰۳؛ چن و همکاران، ۲۰۰۵).



شکل ۱- میانگین عملکرد ماده خشک شاخساره در سطوح مختلف سرب در خاک، در تیمارهای شاهد، باکتری‌های افزایش‌دهنده رشد گیاه (PGPR) و قارچ ریشه‌های آربوسکولار (AMF).

اکبر کریمی و همکاران

جدول ۲- مقایسه میانگین شاخص‌های مختلف در سطوح مختلف سرب در خاک در تیمارهای شاهد، باکتری‌های افزاینده رشد گیاه (PGPR) و قارچ‌ریشه‌های آربوسکولار (AMF).

عملکرد ماده خشک شاخساره (g pot ⁻¹)			کل سرب افزوده شده
AMF	PGPR	شاهد	به خاک (میلی‌گرم بر کیلوگرم)
۰/۴۲±۲/۷۹ ^{a,a}	۰/۰۹±۱/۶۷ ^{a,b}	۰/۱۳±۱/۰۹ ^{a,b}	۰
۰/۲۸±۲/۶۳ ^{ab,a}	۰/۱۴±۱/۳۶ ^{ab,b}	۰/۱۹±۰/۹۷ ^{ab,c}	۲۵۰
۰/۰۹±۲/۵۴ ^{ab,a}	۰/۰۶±۱/۱۸ ^{b,b}	۰/۲۵±۰/۹۰ ^{ab,c}	۵۰۰
۰/۲۹±۲/۴۴ ^{b,a}	۰/۰۷±۱/۰۴ ^{b,b}	۰/۰۶±۰/۶۸ ^{b,c}	۱۰۰۰
عملکرد نسبی ماده خشک شاخساره گیاه			
۰/۱۸±۲/۵۶ ^{a,a}	۰/۲۴±۱/۵۳ ^{a,b}	۰/۱۸±۱/۰۰ ^{a,b}	۰
۰/۰۷±۲/۴۲ ^{ab,a}	۰/۱۱±۱/۲۵ ^{ab,b}	۰/۱۷±۰/۸۹ ^{ab,c}	۲۵۰
۰/۰۸±۲/۳۳ ^{ab,a}	۰/۰۹±۱/۰۸ ^{b,b}	۰/۱۳±۰/۵۲ ^{ab,c}	۵۰۰
۰/۱۹±۲/۲۴ ^{b,a}	۰/۱۵±۰/۹۵ ^{b,b}	۰/۱۳±۰/۶۲ ^{b,b}	۱۰۰۰
غلظت آهن شاخساره (میلی‌گرم بر کیلوگرم)			
۳/۷۱±۱۷۰/۹۹ ^{a,b}	۴/۴۸±۱۹۴/۲۲ ^{a,a}	۱۲/۴۳±۱۵۹/۶۵ ^{a,b}	۰
۴/۵۵±۱۳۹/۷۹ ^{b,b}	۶/۸۱±۱۶۴/۸۶ ^{b,a}	۵/۵۳±۱۲۱/۷۰ ^{b,c}	۲۵۰
۶/۲۶±۱۱۱/۲۴ ^{c,b}	۶/۴۵±۱۲۹/۸۳ ^{c,a}	۱/۴۲±۱۰۳/۳۹ ^{c,c}	۵۰۰
۲/۵۸±۷۷/۱۹ ^{d,b}	۲/۰۹±۸۸/۷۷ ^{d,a}	۱/۸۳±۶۶/۶۵ ^{d,c}	۱۰۰۰
غلظت روی شاخساره (میلی‌گرم بر کیلوگرم)			
۲/۱۴±۴۵/۰۳ ^{a,ab}	۱/۷۷±۴۹/۵۳ ^{a,a}	۳/۱۸±۴۱/۲۶ ^{a,b}	۰
۰/۲۲±۳۷/۳۶ ^{b,a}	۲/۳۸±۳۹/۶۸ ^{b,a}	۴/۱۰±۳۴/۲۶ ^{b,a}	۲۵۰
۲/۱۶±۳۰/۸۰ ^{c,a}	۲/۴۱±۳۳/۲۶ ^{b,a}	۳/۳۵±۲۱/۲۶ ^{c,b}	۵۰۰
۲/۹۸±۱۹/۰۸ ^{d,a}	۴/۸۷±۲۳/۶۳ ^{c,a}	۲/۳۴±۷/۵۷ ^{d,b}	۱۰۰۰
سرب زیست‌فراهم (میلی‌گرم بر کیلوگرم)			
۰/۵۲±۱/۹۵ ^{d,a}	۰/۲۱±۱/۹۳ ^{d,a}	۰/۱۳±۱/۰۷ ^{d,b}	۰
۰/۵۴±۵/۰۹ ^{c,a}	۰/۱۶±۵/۰۸ ^{c,a}	۰/۲۳±۳/۹۹ ^{c,b}	۲۵۰
۰/۴۰±۸/۵۲ ^{b,a}	۰/۲۶±۸/۳۹ ^{b,a}	۰/۱۳±۵/۸۷ ^{b,b}	۵۰۰
۰/۳۴±۱۱/۲۵ ^{a,a}	۰/۴۱±۱۱/۱۱ ^{a,a}	۰/۱۷±۸/۹۳ ^{a,b}	۱۰۰۰

ادامه جدول ۲- مقایسه میانگین شاخص‌های مختلف در سطوح مختلف سرب در خاک در تیمارهای شاهد، باکتری‌های افزاینده رشد گیاه (PGPR) و قارچ‌ریشه‌های آربوسکولار (AMF).

غلظت سرب شاخساره (میلی‌گرم بر کیلوگرم)			کل سرب افزوده شده
AMF	PGPR	شاهد	به خاک (میلی‌گرم بر کیلوگرم)
۰/۱۹±۱/۱۵ ^{d,b}	۰/۱۵±۲/۲۶ ^{d,a}	۰/۱۱±۰/۵۹ ^{d,c}	۰
۲/۴۰±۱۲/۲۹ ^{c,b}	۳/۵۱±۲۰/۸۱ ^{c,a}	۰/۹۲±۱۱/۳۷ ^{c,b}	۲۵۰
۰/۸۷±۲۲/۰۱ ^{b,b}	۵/۸۷±۳۴/۹۶ ^{b,a}	۰/۹۴±۲۰/۸۷ ^{b,b}	۵۰۰
۰/۳۸±۳۳/۸۰ ^{a,b}	۲/۹۹±۴۷/۶۳ ^{a,a}	۲/۲۰±۳۴/۶۵ ^{a,b}	۱۰۰۰
سرب استخراج شده توسط گیاه (mg pot ⁻¹)			
۰/۰۰۳±۰/۰۰۰ ^{d,a}	۰/۰۰۰±۰/۰۰۴ ^{c,a}	۰/۰۰۰±۰/۰۰۱ ^{c,b}	۰
۰/۰۳۲±۰/۰۰۶ ^{c,a}	۰/۰۰۴±۰/۰۲۸ ^{b,a}	۰/۰۰۱±۰/۰۱۱ ^{b,c}	۲۵۰
۰/۰۵۶±۰/۰۰۴ ^{b,a}	۰/۰۰۸±۰/۰۴۱ ^{a,a}	۰/۰۰۳±۰/۰۱۸ ^{a,b}	۵۰۰
۰/۰۸۲±۰/۰۰۷ ^{a,a}	۰/۰۰۵±۰/۰۴۹ ^{a,b}	۰/۰۰۳±۰/۰۲۳ ^{a,c}	۱۰۰۰

حروف بالانویس اول و دوم بر روی هر عدد به ترتیب نشان‌دهنده اختلاف آماری ($P \leq 0.05$) در هر ستون و هر ردیف می‌باشند. میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری ($P \leq 0.05$) ندارند.

با افزایش غلظت سرب در خاک، غلظت آهن و روی در شاخساره گیاه در همه تیمارها به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0.05$) کاهش یافت (جدول ۲). غلظت آهن و روی در شاخساره گیاه در سطوح مختلف سرب به این ترتیب بود: $AMF < PGPR < شاهد$. غلظت آهن و روی در تیمارهای PGPR و AMF به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0.05$) بیش‌تر از تیمار شاهد بود. غلظت آهن در تیمار PGPR در شاخساره گیاه به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0.05$) بیش‌تر از تیمار AMF بود. در حالی‌که اختلاف غلظت روی شاخساره، در تیمارهای PGPR و AMF معنی‌دار ($P \leq 0.05$) نبود.

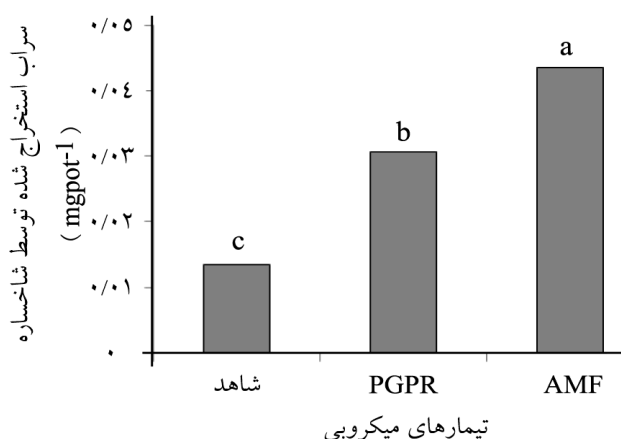
کاهش غلظت آهن و روی با افزایش غلظت سرب نشان‌دهنده اثرات آنتاگونیستی سرب بر جذب و انتقال این عناصر توسط گیاه می‌باشد که توسط برخی پژوهش‌گران نیز گزارش شده است (شارما و دویی، ۲۰۰۵). با وجود بیش‌تر بودن عملکرد گیاه (جدول ۲) در تیمارهای PGPR و AMF در سطوح مختلف سرب نسبت به سطوح مشابه غلظت سرب در تیمار شاهد و وجود اثر رقت، غلظت آهن و روی در شاخساره گیاهان افزایش یافت. که این نشان می‌دهد PGPR و AMF نقش بسیار مهمی در افزایش جذب آهن و روی توسط این گیاهان دارند. PGPR می‌تواند با تولید ترکیباتی مانند آنتی‌بیوتیک‌ها، اسید هیدروسیانید و اکسین به‌ویژه سیدروفور، حلالیت و زیست‌فراهمی آهن و روی را

افزایش دهند (یان‌دی و همکاران، ۲۰۰۷). باکتری‌های مورد استفاده در این پژوهش دارای توانایی تولید سیدروفور، ترشح هورمون اکسین، انحلال فسفات‌های نامحلول و همچنین آنزیم ACC دامیناز بودند (رسولی‌صدقیانی و همکاران، ۲۰۰۶).

نتایج داده‌های مقدار سرب زیست‌فراهم نشان داد که در خاک مورد مطالعه، سرب فراهمی اندکی داشته است (جدول ۲)، که این به دلیل کم‌تحرک بودن و همچنین pH بالای خاک مورد مطالعه (جدول ۱) می‌باشد چرا که در خاک‌های آهکی فلزات سنگین فراهمی اندکی دارند (خداوردی‌لو و صمدی، ۲۰۱۱). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد با افزایش غلظت سرب در خاک، غلظت سرب زیست‌فراهم در همه تیمارها به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0/05$) افزایش یافت (جدول ۲). غلظت سرب زیست‌فراهم در تمامی سطوح سرب در خاک در تیمارهای مایه‌زنی شده با AMF و PGPR به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0/05$) بیش‌تر از تیمار شاهد بود. در حالی‌که اختلاف تیمارهای AMF و PGPR معنی‌دار نبود. تحرک فلزات سنگین به‌ویژه سرب در خاک، در مقایسه با سایر آلاینده‌ها کم می‌باشد. AMF می‌توانند با داشتن شبکه ریشه‌ای گسترده و افزایش رشد و عملکرد ریشه، زیست‌فراهمی آن‌ها را برای گیاهان افزایش دهند (گیسبرت و همکاران، ۲۰۰۳). PGPR نیز می‌توانند با ترشح اسیدهای آلی و افزایش تحرک فلزات سنگین از جمله سرب، زیست‌فراهمی آن‌ها را برای گیاهان افزایش دهند (وو و همکاران، ۲۰۰۶). این نتایج با نتایج برخی از پژوهش‌ها مشابه بود (ادریس و همکاران، ۲۰۰۴؛ ابوشاناب و همکاران، ۲۰۰۸). برای مثال براود و همکاران (۲۰۰۹) نیز گزارش کردند که مایه‌زنی باکتری *P. aeruginosa* در خاک‌های آلوده به سرب سبب افزایش زیست‌فراهمی سرب و در نتیجه افزایش جذب سرب توسط گیاهان می‌شود.

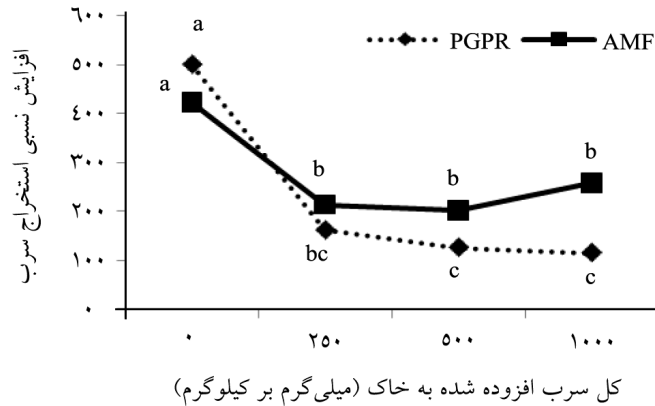
با افزایش غلظت سرب در خاک، غلظت سرب در شاخساره تلخه در همه تیمارها به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0/05$) افزایش یافت (جدول ۲). استفاده از زادمایه PGPR در تمامی سطوح سرب در خاک سبب افزایش معنی‌دار ($P \leq 0/05$) غلظت سرب در شاخساره تلخه نسبت به تیمار AMF و شاهد شد. مقدار سرب استخراج شده توسط شاخساره تلخه نیز همانند غلظت سرب، با افزایش غلظت سرب در خاک، در همه تیمارها به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0/05$) افزایش یافت (جدول ۲). مایه‌زنی AMF و PGPR نیز سبب افزایش معنی‌دار ($P \leq 0/05$) مقدار سرب استخراج شده در شاخساره تلخه نسبت به تیمار شاهد شد. طوری‌که در تمامی سطوح سرب در خاک مقدار سرب استخراج شده در تیمار AMF بیش از ۲/۹۵ برابر مقدار مشابه در تیمار شاهد بود. هر چند که غلظت سرب در

شاخساره گیاه در تیمار PGPR به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0/05$) بیش‌تر از تیمار AMF بود. اما عملکرد بیش‌تر در تیمار AMF سبب شد که در نهایت در سطوح ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک مقدار سرب استخراج شده در تیمار AMF بیش‌تر از تیمار PGPR باشد. البته این اختلاف تنها در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک معنی‌دار ($P \leq 0/05$) بود. شکل ۲ میانگین مقدار سرب استخراج شده توسط شاخساره گیاه در سطوح مختلف سرب در خاک را نشان می‌دهد. با توجه به این شکل میانگین مقدار سرب استخراج شده توسط گیاه در سطوح مختلف سرب در خاک، در تیمارهای AMF و PGPR به‌ترتیب بیش از ۳/۲ و ۲/۲ برابر نسبت به تیمار شاهد بود.



شکل ۲- میانگین مقدار سرب استخراج شده توسط شاخساره در سطوح مختلف سرب در خاک، در تیمارهای شاهد، باکتری‌های افزاینده رشد گیاه (PGPR) و قارچ‌ریشه‌های آربوسکولار (AMF).

نتایج این پژوهش نشان‌دهنده تأثیر بیش‌تر مایه‌زنی AMF در افزایش استخراج سرب در غلظت‌های بالای سرب در خاک می‌باشد. شاخص افزایش نسبی استخراج سرب در اثر مایه‌زنی میکروبی‌ها، این نتایج را بهتر نشان می‌دهد (شکل ۳). همان‌طور که در شکل ۳ نشان داده شده است در غلظت صفر، PGPR و در غلظت‌های بالا (۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک) AMF تأثیر بیش‌تری در افزایش استخراج سرب دارند. با افزایش غلظت سرب در خاک شاخص افزایش نسبی استخراج سرب در اثر مایه‌زنی PGPR به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0/05$) کاهش یافت. اما این تغییرات در تیمار AMF روند منظمی را نشان نداد (شکل ۳).



شکل ۳- افزایش نسبی استخراج سرب در اثر تیمارهای میکروبی (باکتری‌های افزاینده رشد گیاه (PGPR) و قارچ‌ریشه‌های آربوسکولار (AMF)) در سطوح مختلف غلظت سرب در خاک.

نتایج این پژوهش نشان داد که با وجود این که با افزایش غلظت سرب در خاک، غلظت سرب و مقدار سرب استخراج شده توسط گیاه (جدول ۲) در تیمارهای AMF و PGPR بیش‌تر از تیمار شاهد بود، عملکرد ماده خشک گیاه نیز در تیمارهای مایه‌زنی شده بیش‌تر بود. بنابراین به نظر می‌رسد AMF و PGPR می‌توانند آستانه تحمل گیاه به سمیت سرب را افزایش دهند. یکی از دلایل این موضوع احتمالاً جذب بیش‌تر عناصر غذایی ضروری توسط گیاهان باشد (چن و همکاران، ۲۰۰۶؛ ژانگ و همکاران، ۲۰۱۰). زیرا یکی از دلایل کاهش عملکرد گیاهان در خاک‌های آلوده به سرب، کاهش جذب عناصر غذایی ضروری توسط گیاهان است. ریشه‌های AMF نسبت به ریشه‌های گیاهان، در برابر تنش فلزات سنگین، حساسیت کم‌تری دارند، بنابراین گسترش ریشه‌ها و جذب آب و عناصر غذایی، رشد و عملکرد گیاهان را در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین افزایش می‌دهد (جونر و لیوال، ۱۹۹۷). نتایج مشابهی نیز توسط برخی از پژوهش‌گران گزارش شده است برای مثال پونامیا و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند مایه‌زنی قارچ *G. mosseae* سبب افزایش رشد و عملکرد گیاهان علفی در خاک‌های آلوده به سرب می‌شود. PGPR نیز با تولید هورمون ایندول استیک اسید (IAA) و تولید آنزیم ACC دآمیناز، تولید سیدروفور، تولید انواع هورمون‌های افزاینده رشد گیاه و ویتامین‌ها جذب عناصر غذایی و در نتیجه عملکرد گیاهان را در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین افزایش می‌دهند (سنگ و همکاران، ۲۰۰۸؛ ما و همکاران، ۲۰۱۱).

AMF و PGPR در گیاهان احتمالاً سبب کلاته‌شدن فلزات سنگین توسط لیگاند و به‌دنبال آن محبوس کردن کمپلکس فلز- لیگاند در واکوئل می‌باشد. حبس فلز سنگین در واکوئل از گردش آزاد

یون‌های فلزات سنگین در سیتوزول جلوگیری می‌کنند. به همین دلیل بردباری گیاهان به تنش فلزات سنگین افزایش می‌یابد (میرانصاری، ۲۰۱۱). کلاته‌شدن فلزات سنگین توسط اسیدهای آلی، اسیدهای آمینه و پلی‌پپتیدها صورت می‌گیرد. که از مهم‌ترین ترکیبات آن‌ها می‌توان به متالوتیونین‌ها و فیتوکلاتین‌ها را نام برد (میرانصاری، ۲۰۱۱).

به‌طور کلی مایه‌زنی گونه‌های AMF و PGPR سبب افزایش معنی‌دار ($P \leq 0.05$) مقدار سرب استخراج شده در شاخساره گیاه نسبت به تیمار شاهد شد. این نتایج برخلاف نتایج برخی از پژوهش‌گران بود که گزارش کرده بودند AMF سبب کاهش جذب فلزات سنگین می‌شود (شتی و همکاران، ۱۹۹۴؛ ژو و همکاران، ۲۰۰۱). در حالی‌که با نتایج برخی پژوهش‌گران نیز مشابه بود (آریاگادا و همکاران، ۲۰۰۵؛ بافیل، ۲۰۰۸؛ پونامیا و همکاران ۲۰۱۰؛ داری و همکاران، ۲۰۱۰).

نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی نتایج این مطالعه نشان داد که در شرایط آلودگی سربی خاک مایه‌زنی ترکیبی از گونه‌های AMF و PGPR سبب افزایش بردباری تلخه نسبت به آلودگی سربی و افزایش عملکرد آن می‌شود. مایه‌زنی گونه‌های AMF تأثیر بیش‌تری در افزایش عملکرد سرب داشت در حالی‌که مایه‌زنی گونه‌های PGPR در تغلیظ سرب در شاخساره تأثیر بیش‌تری داشت. اما در نهایت در غلظت‌های پایین تأثیر مایه‌زنی AMF و PGPR در افزایش استخراج سرب توسط تلخه، تقریباً مشابه بوده اما در غلظت‌های بالا مایه‌زنی گونه‌های AMF مؤثرتر از مایه‌زنی گونه‌های PGPR بود. اگرچه تلخه مقدار سرب بالایی را استخراج نکرد، اما این به این دلیل بود که این پژوهش در شرایط گل‌خانه‌ای انجام شد و گیاه در این شرایط به حداکثر عملکرد خود نرسید. این گیاه در شرایط مزرعه‌ای زیست‌توده بسیار بالایی تولید می‌کند و می‌تواند مقدار سرب بسیار بیش‌تری را استخراج نماید.

منابع

1. Abou-Shanab, R.A.I., Ghanem, K., Ghanem, N., and Al-Kolaibe, A. 2008. The role of bacteria on heavy-metal extraction and uptake by plants growing on multi-metal-contaminated soils. *World J. Microb. Biotechnol.* 24: 253-262.
2. Arriagada, C.A., Herrera, M.A., and Ocampo, J.A. 2005. Contribution of arbuscular mycorrhizal and saprobe fungi to the tolerance of *Eucalyptus globulus* to Pb. *Water Air Soil Pollut.* 166: 31-47.
3. Bafeel, S.O. 2008. Contribution of Mycorrhizae in Phytoremediation of Lead Contaminated Soils by *Eucalyptus ostrata* Plants. *Sci. J.* 5: 490-498.

4. Belimov, A.A., Kunakova, A.M., Safronova, V.I., Stepanok, V.V., Yudkin, L. Y., Akleseev, Y.V., and Kozhemyakov, A.P. 2004. Employment of rhizobacteria for the inoculation of barley plants cultivated in soil contaminated with lead and cadmium. *Microbiol.* 73: 99-106.
5. Braud, A., Jezequel, K., Bazot, S., and Lebeau, T. 2009. Enhanced phytoextraction of an agricultural Cr and Pb-contaminated soil by bioaugmentation with siderophore-producing bacteria. *Chemosphere.* 74: 280-286.
6. Cariny, T. 1995. The reuse of contaminated land. John Wiley and Sons Ltd. Publisher, 219p.
7. Carter, M.R., and Gregorich, E.G. 2008. Soil sampling and methods of analysis (2nd ed). CRC Press. Boca Raton. FL. 1204p.
8. Chen, X., Wu, C., Tang, J., and Hu, S. 2005. Arbuscular mycorrhizae enhance metal lead uptake and growth of host plants under a sandculture experiment. *Chemosphere.* 60: 665-671.
9. Dary, M., Chamber-Pérez, M.A., Palomares, A.J., and Pajuelo, E. 2010. In situ phytostabilisation of heavy metal polluted soils using *Lupinus luteus* inoculated with metal resistant plant-growth promoting rhizobacteria. *J. Hazard. Mater.* 177: 323-330.
10. Gadd, G.M. 2004. Microbial influence on metal mobility and application to bioremediation. *Geoderma.* 122: 109-119.
11. Gee, G.H., and Bauder, J.W. 1986. Particle size analysis. P 383-411, In: A. Klute, (ed), *Methods of soil Analysis. Physical Properties.* SSSA, Madison, WI.
12. Gisbert, C., Ros, R., Haro, A., Walker, D.J., Bernal, M.P., Serrano, R., and Navarro-Avino, J. 2003. A plant genetically modified that accumulates Pb is especially promising for phytoremediation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 303: 440-445.
13. Glick, B.R. 2003. Phytoremediation: Synergistic Use of Plants and Bacteria to Clean Up the Environment. *Biotechnol. Adv.* 21: 383-393.
14. Gohre, V., and Paszkowski, U. 2006. Contribution of the arbuscular mycorrhizal symbiosis to heavy metal Phytoremediation. *Planta.* 223: 1115-1122.
15. Gupta, R.K. 2000. Soil, plant, water and fertilizer analysis. Agrobios, New Delhi, India, 438p.
16. Idris, R., Trifinova, R., Puschenreiter, M., Wenzel, W.W., and Sessitsch, A. 2004. Bacterial communities associated with flowering plants of the Ni hyperaccumulator *Thlaspi goesingense*. *Environ. Microbiol.* 70: 2667-2677.
17. Joner, E.J., and Leyval, C. 1997. Uptake of Cd by roots and hyphae of a *Glomus mosseae/Trifolium subterraneum* mycorrhiza from soil amended with high and low concentrations of cadmium. *New Phytol.* 135: 353-360.
18. Khodaverdiloo, H., and Hamzenejad Taghlidabad, R. 2011. Sorption and Desorption of Lead (Pb) and Effect of Cyclic Wetting-Drying on Metal Distribution in Two Soils with Different Properties. *Water Soil Sci.* 21: 1. 149-163.

19. Khodaverdiloo, H., and Homaei, M. 2008. Modeling of Cadmium and Lead Phytoextraction from Contaminated Soils. Polish J. Soil Sci. 41: 2. 149-162.
20. Khodaverdiloo, H., Rahmanian, M., Rezapour, S., Ghorbani Dashtaki, Sh., Hadi, H., and Han, F.X. 2012. Effect of Wetting-Drying Cycles on Redistribution of Lead in Some Semi-Arid Zone Soils Spiked with a Lead Salt. Pedosphere. 22: 3. 304-313.
21. Khodaverdiloo, H., and Samadi, A. 2011. Batch equilibrium study on sorption, desorption, and immobilization of cadmium in some semiarid-zone soils as affected by soil properties. Soil Res. 49: 5. 444-454.
22. Langer, I., Krpata, D., Fitz, W.J., Wenzel, W.W., and Schweiger, P.F. 2009. Zinc accumulation potential and toxicity threshold determined for a metal-accumulating *Populus canescens* clone in a dose-response study. Environmental Pollution, 157: 2871-2877.
23. Ma, Y., Prasad, M.N.V., Rajkumar, M., and Freitas, H. 2011. Plant growth promoting rhizobacteria and endophytes accelerate phytoremediation of metalliferous soils. Biotechnol. Adv. 29: 248-258.
24. Marquez, A.P.G.C., Oliveira, R.S., Samardjieva, K.A., Pissarra, J., Rangel, A.O.S.S., and Castro, P.M.L. 2008. EDDS and EDTA-enhanced zinc accumulation by *Solanum nigrum* inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi grown in contaminated soil. Chemosphere, 70: 1002-1014.
25. Mc Lean, E.O. 1982. Soil pH and lime requirement. In: Page, A.L., R.H. Miller and D.R. Keeney (eds.) Methods of soil analysis. Part 2-Chemical and microbiological properties. (2nd Ed.). Agron. 9: 199-223.
26. Miransari, M. 2011. Hyperaccumulators, arbuscular mycorrhizal fungi and stress of heavy metals. Biotechnol. Adv. 6: 645-653.
27. Nelson, R.E., and Sommers, L.E. 1982. Total carbon. Organic carbon and organic matter. In: A.L. Page, R.H. Miller and D.R. Keeney (ed) Methods of soil analysis. Part2. 2nd. Agron. Monogr. 9. ASA and SSSA, Madison, WI. Pp: 539-579.
28. Punamiya, P., Datta, R., Sarkar, D., Barber, S., Patel, M., and Da, P. 2010. Symbiotic role of *Glomus mosseae* in phytoextraction of lead in vetiver grass [*Chrysopogon zizanioides* (L.)]. J. Hazard. Mater. 177: 465-474.
29. Rasouli Sadaghiani, M.H., Kavazi, K., Rahimian, H., Malakouti, M.J., and Asadi, H. 2006. An Evaluation of the Potentials of Indigenous Fluorescent Pseudomonads of Wheat Rhizosphere for Producing Siderophore. J. Soil Wat. Sci. 20: 133-143.
30. Rhoades, J.D. 1982. Cation exchange capacity. P 149-158, In: A.L. Page et al., (ed) Methods of soil analysis. Part2. 2nd. Agron. Monogr. 9. ASA and SSSA, Madison, WI.
31. Seregin, I.V., and Kozhevnikova, A.D. 2008. Roles of root and shoot tissues in transport and accumulation of cadmium, lead, nickel, and strontium. Russ. J. Plant Physiol. 55: 1-22.

32. Sharma, P., and Dubey, R.S. 2005. Lead Toxicity in plants. *Plant Physiol.* 17: 35-52.
33. Shen, Z.G., Li, X.D., Wang, C.C., Chen, H.M., and Chua, H. 2002. Lead phytoextraction from contaminated soils with high-biomass plant species. *J. Environ. Qual.* 31: 1893-1900.
34. Sheng, X.F., Xia, J.J., Jiang, C.Y., He, L.Y., and Qian, M. 2008. Characterization of heavy metal-resistant endophytic bacteria from rape (*Brassica napus*) roots and their potential in promoting the growth and lead accumulation of rape. *Environ. Pollut.* 156: 1164-1170.
35. Shetty, K.G., Hetrick, B.A.D., Figge, D.A.H., and Schwab, A.P. 1994. Effects of mycorrhizae and other soil microbes on revegetation of heavy metal contaminated mine spoil. *Environ. Pollut.* 86: 181-188.
36. Turnau, K., Ryszka, P., Gianinazzi-Pearson, V., and Van Tuinen, D. 2001. Identification of arbuscular mycorrhizal fungi in soils and roots of plants colonizing zinc wastes in southern Poland. *Mycorrhiza.* 10: 4. 169-174.
37. Vivas, A., Azcon, R., Biro, B., Barea, J.M., and Ruiz-Lozano, J.M. 2003. Influence of bacterial strains isolated from lead-polluted soil and their interactions with arbuscular mycorrhizae on the growth of *Trifolium pratense* L. under lead toxicity. *Microbiol.* 49: 577-588.
38. Wang, F., Lin, X., and Yin, R. 2005. Heavy metal uptake by arbuscular mycorrhizas of *Elsholtzia splendens* and the potential for phytoremediation of contaminated soil. *Plant Soil.* 225: 232-369.
39. Whitfield, L., Richards, A.J., and Rimmer, D.L. 2004. Effects of mycorrhizal colonization on *Thymus polytrichus* from heavy metal-contaminated sites in north England. *Mycorrhiza.* 14: 47-54.
40. Wu, S.C., Luo, Y.M., Cheung, K.C., and Wong, M.H. 2006. Influence of bacteria on Pb and Zn speciation, mobility and bioavailability in soil: a laboratory study. *Environ Pollut.* 144: 765-773.
41. Yan-de, J., Zhenli, H., and Xiao, Y. 2007. Role of soil rhizobacteria in phytoremediation of heavy metal contaminated soils. *J. Zhejiang Univ. Sci.* 8: 197-207.
42. Zhang, H.H., Tang, M., and Zheng, C. 2010. Effect of inoculation with AM fungi on lead uptake, translocation and stress alleviation of *Zea mays* L. seedlings planting in soil with increasing lead concentrations. *Euro. J. Soil Biol.* 46: 306-311.
43. Zhu, Y.G., Christie, P., and Laidlaw, A.S. 2001. Uptake of Zn by arbuscular mycorrhizal white clover from Zn-contaminated soil. *Chemosphere.* 42: 193-199.



Gorgan University of Agricultural
Sciences and Natural Resources

J. of Water and Soil Conservation, Vol. 20(3), 2013
<http://jwsc.gau.ac.ir>

Enhanced soil Pb extraction by *Acroptilon (Acroptilon repens)* through inoculation with some arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting rhizobacteria

A. Karimi¹, *H. Khodaverdiloo² and M.H. Rasouli Sadaghiani²

¹M.Sc. Graduate, Dept. of Soil Science, Urmia University,

²Assistant Prof., Dept. of Soil Science, Urmia University

Received: 02/12/2012; Accepted: 08/12/2012

Abstract

Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) are known to enhance plant growth and survival in heavy metal contaminated soils through different mechanisms. The objective of this study was to evaluate the enhancement of soil Pb extraction by *Acroptilon repens* through inoculation with some AMF (a mixture of *Glomus species* including *G. intraradices*, *G. mosseae* and *G. fasciculatum*) and PGPR (a mixture of *Pseudomonas species* including *P. putida*, *P. fluorescens*, and *P. aeruginosa*). This study was carried out in greenhouse condition as a factorial experiment based on a randomized complete block design with two factors including Pb concentration (in four levels) and microbial treatment (in two levels) and in three replications. Consequently, a soil sample was selected and spiked uniformly with different concentrations of Pb (0, 250, 500 and 1000 mg Pb kg⁻¹ soil). The contaminated soils were then sterilized and subsequently inoculated with AMF and PGPR. Results indicated that shoot biomass, Fe and Zn concentration in shoot decreased and bioavailable Pb, shoot Pb concentration and total Pb extracted by *Acroptilon repens* increased as soil Pb concentration increased. Inoculation with AMF and PGPR species increased shoot biomass of *Acroptilon repens* up to 2.7 and 1.4 times higher than control treatment, respectively. Pb extracted by shoots in AMF and PGPR treatments on the average was 3.2 and 2.2 times higher than control treatment, respectively. Therefore, it could be concluded that soil Pb extraction by *Acroptilon repens* enhances through inoculation with species of AMF and PGPR.

Keywords: *Acroptilon repens*, Arbuscular mycorrhiza fungi, Lead, Phytoextraction, Plant growth promoting rhizobacteria

* Corresponding Author; Email: h.khodaverdiloo@urmia.ac.ir