نشریه پژوهش‌های حفاظت آب و خاک
جلد بیست و پنجم، شماره دوم، ۱۳۹۷
http://jwsc.gau.ac.ir
DOI: 10.22069/jwsc.2018.14140.2887

گیاه‌پالایی سرب در حضور تلقیح جداگانه و هم‌زمان کرم خاکی، قارچ‌های میکوریزا و ریزوباکترها در ذرت

*علی محوحی[۱]، فایز رئیسی[۲] و علیرضا حسین‌پور[۲]
[۱]دانشجوی دکتری گروه مهندسی علوم خاک، دانشگاه شهرکرد، [۲]استاد گروه مهندسی علوم خاک، دانشگاه شهرکرد
تاریخ دریافت: ۹۶/۸/۱۸ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۷/۲/۱۹

چکیده

سابقه و هدف: خاک ممکن است به‌طور طبیعی از جمله نزدیکی به مواد معدنی و سنگ معدن، و فعالیت‌های صنعتی بشر با غلظت بالایی از فلزات سنگین آلوده شود. سرب (Pb)، معمولاً مسبب آلودگی خاک است و عامل کاهش قابل‌توجه فعالیت زیستی خاک در نظر گرفته می‌شود. گیاه‌پالایی فن‌آوری نوظهور و کم‌هزینه‌ای است که با بهره‌گیری از گیاهان و موجودات زنده باعث حذف، تبدیل، یا تثبیت آلاینده‌ها در آب، رسوبات و یا خاک می‌شود. بنابراین موفقیت گیاه‌پالایی به اثر متقابل بین ریز/درشت جانداران و ریشه گیاهان در ریزوسفر بستگی دارد. هدف این پژوهش بررسی پیامد مایه‌زنی جداگانه و هم‌زمان کرم خاکی، قارچ و باکتری بر قابلیت دسترسی و استخراج و یا تثبیت عنصر سرب توسط گیاه ذرت در خاک آلوده به سرب، با اندازه‌گیری غلظت و جذب سرب در اندام هوایی و زیرزمینی گیاه می‌باشد.

مواد و روش‌ها: خاک آلوده از منطقه معدن سرب باما واقع در جنوب‌غربی اصفهان جمع‌آوری شد. بذر ذرت، پس از استریل سطحی و جوانه‌زنی، به گلدان‌های حاوی ٤ کیلوگرم خاک آلوده به سرب (استریل شده در دمای ^{o}C ۱۲۱ به‌مدت ۲ ساعت) منتقل شدند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل (۲×۲×۲) انجام شد. فاکتورها شامل ۱) کرم خاکی (بدون کرم و با کرم خاکی ایزینیا فتیدا (*Eisenia foetida*))، ۲) قارچ میکوریزا (بدون قارچ و با قارچ میکوریزا (ترکیبی از *Funneliformis mosseae* و *Septoglomus constrictum*)) و ۳) باکتری (بدون باکتری و با باکتری (ترکیبی از .*Bacillus* sp و *Bacillus licheniformis*)). پس از گذشت ۳ ماه از دوره رشد تحت شرایط گلخانه، اندام هوایی ذرت از سطح خاک جدا شد. ریشه و اندام هوایی به‌طور جداگانه به‌منظور تعیین غلظت سرب هواخشک، توزین و آسیاب شدند. به‌منظور عصاره‌گیری سرب ریشه و اندام هوایی از روش خاکستر استفاده شد و توسط دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد. غلظت سرب خاک با روش DTPA-TEA اندازه‌گیری شد. فاکتورهای تجمع زیستی، انتقال و اصلاح برای هر تیمار محاسبه شد.

یافته‌ها: به‌طورکلی تلقیح گیاه با این جانداران، وزن خشک ریشه و اندام هوایی، سرب قابل دسترس خاک، جذب سرب و فاکتورهای تجمع زیستی و اصلاح سرب را افزایش داد. بیش‌ترین وزن خشک اندام هوایی در تیمارهای

* مسئول مکاتبه: alimahohi@yahoo.com

همزمان کرم خاکی- میکوریزا و میکوریزا-باکتری با افزایش ۳/۲ برابری نسبت به شاهد مشاهده شد. سرب قابل‌دسترس خاک نیز در تیمار همزمان کرم خاکی- میکوریزا- باکتری نسبت به شاهد حدود ۳ برابر بیش‌تر بود. بیش‌ترین مقدار جذب سرب در ریشه و اندام هوایی ذرت در تیمار همزمان کرم خاکی- میکوریزا- باکتری مشاهده شد. علاوه براین، تجمع زیستی سرب در ریشه ذرت در تمام تیمارها، به‌ویژه در تیمار میکوریزا به تنهایی، بیش‌تر از یک بود. اگرچه فاکتور انتقال سرب برای گیاه ذرت کم‌تر از یک بود، اما تنها تیمار همزمان کرم خاکی و باکتری این نسبت را به بیش از یک (۱/۳۲) افزایش داد. این در حالی است که قارچ میکوریزا فاکتور انتقال را نسبت به تیمار شاهد کاهش داد. حداکثر فاکتور اصلاح سرب (۰/۱٤٪) توسط ذرت با افزایش ۲۳ برابری نسبت به شاهد در تلقیح همزمان کرم خاکی- میکوریزا- باکتری مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: با وجود افزایش قابل‌توجه غلظت سرب در ذرت، جذب سرب آن به اندازه‌ای نیست که برای استخراج عملی سرب استفاده شود. همچنین با توجه به مقادیر فاکتورهای تجمع زیستی، انتقال و اصلاح زیستی، گیاه ذرت در فرآیند تثبیت گیاهی خاک مفیدتر بوده و بنابراین قارچ میکوریزا به‌عنوان عامل بهبوددهنده تثبیت گیاهی در افزایش رشد گیاه و همچنین ممانعت از سمیت گیاه از طریق جلوگیری از انتقال سرب به اندام هوایی مؤثر است. حضور قارچ میکوریزا موجب رشد بهتر گیاه در تیمارهای کرم خاکی و باکتری شد، به‌ویژه در شرایط طبیعی که حضور هر سه موجود زنده با یکدیگر محتمل‌تر است، که می‌تواند نقش به‌سزایی در کاهش سمیت و رشد گیاهان در مناطق آلوده داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: کرم خاکی، قارچ میکوریزا، ریزوباکتری، فاکتور تجمع زیستی، فاکتور انتقال، اثر متقابل میکروبی

مقدمه

سمیت فلزات سنگین و تجمع آن‌ها در زنجیره غذایی یکی از بارزترین معضلات زیست‌محیطی و بهداشتی جوامع مدرن امروزی است (۱۸). زدودن فلزات سمی از خاک‌های آلوده با روش‌های سنتی فیزیکی و شیمیایی ناکارآمد و بسیار هزینه‌بر است. بنابراین تلاش‌هایی برای دست‌یابی به فن‌آوری‌های مؤثر و ارزان‌قیمت برای پالایش خاک‌های آلوده به فلزات سنگین صورت گرفته است (۱).

گیاه‌پالایی[1] یا پالایش سبز یکی از فن‌آوری‌های نویدبخش است که در آن از توانایی گیاهان یا هم‌زیستی گیاهان و ریزجانداران در جذب، ترابری و انباشت آلاینده‌های خاک استفاده می‌شود (۱ و ۳۰). مزیت‌هایی این روش نسبت به سایر روش‌ها شامل سادگی، ارزان بودن و امکان بهره‌گیری در سطح وسیع و در شرایط طبیعی هستند (۱). استخراج گیاهی یکی از روش‌های گیاه‌پالایی فلزات سنگین است که در آن جذب و جمع‌آوری آلاینده‌ها در بافت‌های قابل برداشت گیاهی مدنظر می‌باشد و با برداشت گیاهان، آلاینده‌ها از خاک زدوده می‌شوند (۱ و ۳۰).

برخی از موجودات زنده خاک قادر به افزایش رشد و نمو گیاه و همچنین بهبود ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک بوده و جذب عناصر غذایی توسط گیاه را با تشدید فعالیت انواع آنزیم‌ها و عوامل رشد در خاک بهبود می‌بخشند. قارچ میکوریزا، باکتری‌های ریزوسفری و کرم‌های خاکی از جمله این موجودات هستند که نه تنها در رشد بلکه به‌طور مستقیم و غیرمستقیم در تغییر و تحولات شیمیایی فلزات سنگین در محیط‌های آلوده نیز مؤثر هستند (۱ و ۳۵).

1- Phytoremediation

قارچ‌های میکوریز آربوسکولار از مهم‌ترین ریزجانداران خاک بوده که در همزیستی با گیاهان، رشد و سلامتی آن‌ها را به‌وسیله بهبود تغذیه معدنی و یا افزایش بردباری به تنش‌های محیطی بهبود می‌بخشند (۳۰). بافیل و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که بر اثر استفاده از زادمایه قارچ‌های میکوریز آربوسکولار، زیست‌توده گیاه اکالیپتوس در خاک‌های آلوده به سرب افزایش می‌یابد (۳). نتایج برخی پژوهش‌ها نشان داده که نوع قارچ‌های میکوریزا می‌تواند تأثیرات متفاوتی در جذب و پالایش فلزات سنگین داشته باشد. اگرچه نتایج آزمایش‌های انجام‌یافته در زمینه اثر قارچ‌های میکوریزا و فلزات سنگین بر گیاه‌پالایی، متنوع و وابسته به شرایط آزمایش از جمله ویژگی‌های بستر رشد، نوع گیاه و گونه قارچ همزیست می‌باشد، ولی به‌طورکلی به‌نظر می‌رسد که قارچ‌های میکوریز آربوسکولار قادر به تعدیل سمیت ایجاد شده توسط فلز سنگین برای گیاه و افزایش مقاومت آن می‌باشند (۳، ۸ و ۲۰).

باکتری‌های ریزوسفری افزاینده رشد گیاه (PGPR's)[1]، گروهی از باکتری‌های مفید خاک هستند که در شرایط مختلف از جمله آلودگی خاک‌ها به فلزات سنگین می‌توانند از طریق راهکارهای گوناگون از جمله انحلال فسفات‌های نامحلول تشکیل کمپلکس سیدروفور- آهن و تولید ACC- دآمیناز باعث تحریک و بهبود رشد گیاهان شوند (۲۱ و ۲۶). PGPRها همچنین می‌توانند با افزایش مقاومت گیاهان به تنش فلزات سنگین و افزایش ریشه‌زایی و زیست‌توده گیاهان و نیز افزایش جذب این فلزات توسط گیاهان، کارایی گیاه‌پالایی را بالا ببرند (۲۶). براود و همکاران(۲۰۰۹) گزارش کردند که مایه‌زنی باکتری *Pseudomonas aeruginosa* در خاک‌های آلوده به سرب سبب افزایش زیست‌فراهمی سرب و در نتیجه افزایش جذب سرب توسط گیاهان می‌شود (٤).

کرم‌های خاکی نیز به‌عنوان شاخص بیولوژیک خاک‌های غیرآلوده (۳۹) ممکن است زیست‌فراهمی فلزات سنگین را کاهش (۲۵) و یا افزایش (۳۷ و ٤۸) دهند و به‌صورت مستقیم یا غیرمستقیم از طریق تغذیه، حفر کانال، تولید فضولات و یا سایر فعالیت‌های متابولیک بر وضعیت و گونه‌های شیمیایی فلزات سنگین در خاک تأثیر بگذارند (٤۸). رویز و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که فعالیت کرم‌های خاکی زیست‌فراهمی فلزات سنگین را در خاک افزایش می‌دهد (۳۸). جاسلمی و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کرده‌اند که حضور کرم خاکی موجب افزایش ۱/۵ تا ۲ برابری زیست‌توده و افزایش ۲ تا ۳ برابری جذب سرب توسط گیاه شده است (۱۷). نتایج برخی مطالعات نشان می‌دهد که کرم‌های خاکی (۳۹)، قارچ‌های میکوریزا (۸ و ۲۱) و باکتری‌های PGPR (۲۱) قادر هستند که به‌طور مستقیم و غیرمستقیم و با سازوکارهای گوناگون زیست‌فراهمی فلزات سمی را برای گیاه تغییر دهند. بنابراین، چنان‌چه این سه موجود زنده خاک افزایش زیست‌فراهمی فلزات را به‌همراه داشته باشند، می‌توانند به ارتقاء گیاه‌پالایی خاک‌های آلوده کمک نمایند، اما در صورتی که زیست‌فراهمی را کاهش دهند، سمیت فلز برای گیاه کاهش یافته و مقاومت گیاه را در برابر فلز سمی بهبود می‌بخشند. هدف این پژوهش بررسی پیامد مایه‌زنی جداگانه و هم‌زمان کرم خاکی، قارچ و باکتری بر قابلیت دسترسی و استخراج و یا تثبیت عنصر سرب توسط گیاه ذرت در خاک آلوده به سرب، با اندازه‌گیری غلظت و جذب سرب در اندام هوایی و زیرزمینی گیاه می‌باشد.

1- Plant Growth-Promoting Rhizobacteria

مواد و روش‌ها

تهیه و تجزیه خاک: معدن سرب باما (ایرانکوه) در ۲۰ کیلومتری جنوب‌غربی شهر اصفهان، با عرض جغرافیایی ۵۱ درجه و ٥٦ دقیقه تا ٧٤ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۳۲ درجه و ٤٧ دقیقه تا ۵۳ دقیقه غربی و ارتفاع ١٦٧٠ متر از سطح دریا و در منطقه‌ای خشک واقع شده است. ناخالصی‌های حاصل از جداسازی کانی‌ها طی ۵۰ سال گذشته، رویشگاه‌های گیاهی ویژه‌ای را به‌وجود آورده‌اند که جهت مطالعات مربوط به گیاه‌پالایی فلزات سنگین مناسب هستند (٣٦). با توجه به وضعیت توپوگرافی، شرایط اقلیمی و رژیم رطوبتی (خشک) منطقه، خاک‌های آن بخش خاک‌های اریدی‌سول می‌باشند. این زمین‌ها دارای خاک‌های آهکی غیرشور و بافت متوسط تا سبک بوده و میزان سرب کل آن‌ها در دامنه ۱۰۰ تا ٤٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم قرار دارد (٣٦).

نمونه‌برداری خاک از منطقه دارای پوشش گیاهی در اطراف معدن از عمق ۰-۱۵ سانتی‌متری سطح خاک انجام و پس از انتقال به آزمایشگاه، هوا خشک و از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شد. تعیین بافت خاک بر پایه قانون استوکس و به روش هیدرومتری انجام شد (۱۳). pH خاک در سوسپانسیون ۱:۲ آب به خاک به کمک دستگاه pH متر انجام شد (۵۲). تعیین قابلیت هدایت الکتریکی نیز در عصاره ۱:۲ آب به خاک به کمک دستگاه هدایت‌سنج در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انجام شد (۳۷). کربنات‌کلسیم معادل خاک به روش تیتراسیون برگشتی با هیدروکسید سدیم صورت گرفت (۲۳). گنجایش تبادل کاتیونی خاک با استفاده از استات سدیم (٦)، کربن آلی خاک[1] به روش اکسیداسیون تر (۳۳) و کربن آلی محلول[2] به روش اندازه‌گیری شد. همچنین نیتروژن کل به روش کجلدال، پتاسیم قابل‌دسترس به روش استات آمونیوم، فسفر قابل دسترس به کمک عصاره‌گیر بی‌کربنات سدیم نیم مولار و در pH=۸/۵ (٣٤) تعیین شدند.

تهیه موجودات زنده و تکثیر آن‌ها: کرم‌های خاکی از یک محیط آلوده به فلزات سنگین (لجن فاضلاب شهری شهرکرد) جمع‌آوری و بر پایه ویژگی‌های مورفولوژیک شناسایی شدند. کرم‌های خاکی اپی‌جئیک *ایزنیا فتیدا*[3] به‌وسیله دست از لجن فاضلاب جمع‌آوری در یک گلدان پلاستیکی حاوی مخلوطی از کود گاوی و مانده‌های گیاهی در شرایط گلخانه رشد داده شده و پس از گذشت حدود ٤ ماه تکثیر شدند. مایه تلقیح قارچی شامل قارچ‌های بومی *گلوموس موسه‌آ*[4] و *گلوموس کانستریکتوم*[5] که به‌ترتیب از معادن سرب انگوران زنجان و آهنگران همدان جداسازی شده بودند، تهیه و تکثیر شدند. بر این اساس، مقدار ۲۰۰ گرم از مایه تلقیح به‌طور جداگانه داخل گلدان‌های سه کیلویی حاوی خاک شنی استریل افزوده شده و با گیاه ذرت (به‌دلیل توان کلونیزاسیون زیاد قارچ میکوریزا با ریشه گیاه) به‌مدت دو ماه تکثیر شدند. سپس مخلوط داخل گلدان شامل هیف‌ها، اسپورها و ریشه‌های میکوریزی همراه خاک گلدان به‌عنوان مایه تلقیح مورد استفاده قرار گرفت. مایه تلقیح باکتری از باکتری‌های جداسازی‌شده از منطقه مورد مطالعه و بر اساس قابلیت آن‌ها در افزایش قابلیت دسترسی سرب بر پایه مطالعات پیشین (۳۱) تهیه شدند. این باکتری‌ها شامل *باسیلوس*[6] و *باسیلوس لیکنی فورمیس*[7] بودند که قبلاً توسط نادری (۱۳۹۱) در گیاه آفتابگردان و مجملی (۱۳۹۲) در گیاه خردل بررسی شده‌اند (۲۸ و ۳۱). برخی فعالیت‌های بیوشیمیایی ریزوباکترهای مورد مطالعه شامل تولید ایندول استیک

1- Organic Carbon
2- Dissolved Organic Carbon

3- *Eisenia foetida*
4- *Glomus mossea*
5- *Glomus constrictum*
6- *Bacillus* sp
7- *Bacillus licheniformis*

اسید (١٤)، تولید سیدروفور (٤١)، تولید ACC- دِآمیناز (١٠) و انحلال کربنات سرب (٤٥) در جدول ٢ آمده است.

طرح آزمایش و آماده‌سازی گلدان‌ها: این آزمایش به‌صورت فاکتوریل (٢×٢×٢) در قالب طرح کاملاً تصادفی در شرایط گلخانه اجرا شد. فاکتورها شامل ١) کرم خاکی (بدون کرم و با کرم خاکی)، ٢) قارچ میکوریزا (بدون قارچ و با قارچ میکوریزا) و ٣) باکتری (بدون باکتری و با باکتری) که در مجموع ٨ تیمار شاهد (C)، کرم خاکی (E)، قارچ میکوریزا (M)، باکتری (B)، کرم خاکی و قارچ میکوریزا (EM)، کرم خاکی و باکتری (EB)، قارچ و باکتری (MB) و کرم خاکی، قارچ میکوریزا و باکتری (EMB) هر کدام در چهار تکرار بودند. خاک آلوده به فلزات سنگین از منطقه مورد مطالعه پس از عبور از الک (٢ میلی‌متر) و استریل شدن در دمای ١٢١ درجه سانتی‌گراد به‌مدت دو ساعت در اتوکلاو، در شرایط استریل به گلدان‌هایی با ظرفیت تقریبی ٤ کیلوگرم منتقل شدند. تعداد شش بذر جوانه‌دار شده از ذرت رقم سینگل‌کراس ٧٠٤ در هر گلدان به‌مدت ٥ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ٥ درصد استریل سطحی شده و پس از آن توسط آب مقطر استریل شسته شده و در کاغذ صافی مرطوب درون پتری‌دیش جوانه زده و جوانه‌های همسان در گلدان کشت شده و پس از رشد، دو گیاه‌چه سالم حفظ و مابقی آن‌ها حذف شدند. برای اعمال تیمارهای میکروبی، در تیمارهای مربوط به قارچ گلوموس قبل از انتقال به گلدان‌ها، ریشه‌چه‌ها با اسپورهای جداسازی‌شده از ١٠٠ گرم مایه تلقیح قارچ میکوریزا شامل ترکیبی از مایه تلقیح قارچ‌های جنس گلوموس گونه‌های *موسه‌آ* و *کانستریکتوم* که توسط الک ٤٠٠ مش و محلول شکری جداسازی شده (استریل سطحی شده به‌مدت ١٠ دقیقه توسط کلرآمین تی ٢٪، استرپتوماسین ٠/٠٢٪ و جنتامایسین ٠/٠١٪)، مایه‌زنی شدند (٢٩). تعداد ٤ عدد کرم خاکی بالغ با طول و وزن یکسان که به‌مدت ٢٤ ساعت در محلول مشابه بالا جهت استریل سطحی و به حداقل رساندن اسپور و باکتری‌های دستگاه گوارش کرم نیمه‌شناور شده، به گلدان‌های تیمار کرم خاکی و تیمارهای هم‌زمان کرم- باکتری، کرم- قارچ میکوریزا و همچنین کرم- قارچ میکوریزا- باکتری، دو هفته پس از استقرار گیاهان اضافه شدند. در تمامی واحدهای آزمایشی برای تغذیه کرم‌های خاکی ٢ درصد ماده آلی استریل به شکل بقایای آسیاب‌شده یونجه با اندازه یک میلی‌متر در تیمارهای کرم خاکی به سطح خاک اضافه و در تیمارهای دیگر (به‌منظور حذف اثر بقایا) به‌طور کامل مخلوط شد.

برای تیمار باکتریایی مقدار ١٥ میلی‌لیتر از محیط کشت مایع (NB)[1] حاوی باکتری‌های *باسیلوس* و *باسیلوس لیکنی فورمیس* پس از انتقال جوانه‌ها به گلدان‌ها مایه‌زنی شد. رطوبت خاک گلدان‌ها به‌وسیله آب‌مقطر استریل و بر اساس نیاز گیاه، در حد ثابت نگه‌داری شد. پس از گذشت حدود ٣ ماه از دوره رشد در شرایط گلخانه، اندام هوایی گیاهان از سطح خاک جدا شد. ریشه گیاهان نیز به آرامی از خاک گلدان‌ها جدا و بخش‌های زیرزمینی و هوایی به‌طور جداگانه هواخشک و مجدداً توزین شدند. نمونه‌های گیاهی پس از شستشوی کامل با آب مقطر و خشک شدن به درون پاکت‌های کاغذی منتقل و به‌مدت ٧٢ ساعت در آون و در دمای ٧٠ درجه سانتی‌گراد قرار داده و پس از خشک شدن و توزین ماده خشک با استفاده از آسیاب برقی با محفظه تمام استیل آسیاب شدند.

تعیین غلظت سرب خاک و گیاه: غلظت سرب نمونه‌های گیاهی (اندام هوایی و ریشه) پس از خشک شدن در دمای ٧٠ درجه سانتی‌گراد و آسیاب شدن،

1- Nutrient Broth

با استفاده از روش خاکستر تعیین گردید. بر این اساس یک گرم از نمونه گیاهی به‌مدت ٤ ساعت در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد درون کوره قرار گرفته و پس از خنک شدن خاکستر باقی‌مانده توسط اسید نیتریک غلیظ به روش کمپبل و پلنک (۱۹۹۸) هضم و پس از صاف شدن برای تعیین غلظت سرب توسط دستگاه جذب اتمی استفاده شد (۵). غلظت فلزات قابل‌جذب خاک به روش DTPA–TEA اندازه‌گیری شد (۲۲). سرب کل خاک به روش هضم اسپوزیتو و همکاران (۱۹۸۲) عصاره‌گیری و غلظت سرب با دستگاه جذب اتمی (AAS Model GBC 932 Plus) اندازه‌گیری شد (٤۹).

جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک آلوده به سرب مورد استفاده در این پژوهش.

Table 1. Some physiochemical properties of lead (Pb) polluted soil that used for this experiment.

ویژگی Property	واحد Unit	مقدار Value	ویژگی Property	واحد Unit	مقدار Value
شن (Sand)	%	42.0	نیتروژن کل (Total nitrogen)	$g\ kg^{-1}$	0.50
سیلت (Silt)	%	38.0	کربن آلی محلول (DOC)	$mg\ kg^{-1}$	11.0
رس (Clay)	%	21.0	کربنات‌کلسیم معادل ($CaCO_3$)	%	25.0
بافت خاک (Soil texture)	-	Loam	پتاسیم قابل‌دسترس (Available K)	$mg\ kg^{-1}$	195
ظرفیت تبادل کاتیونی (CEC)	$Cmol_+\ kg^{-1}$	9.63	فسفر قابل‌دسترس (Available p)	$mg\ kg^{-1}$	8.71
اسیدیته (pH)	-	7.92	سرب کل (Total Pb)	$mg\ kg^{-1}$	378
هدایت الکتریکی (EC)	$dS\ m^{-1}$	0.35	سرب قابل‌دسترس (Available Pb)	$mg\ kg^{-1}$	17.0
کربن آلی خاک (SOC)	$g\ kg^{-1}$	5.30			

جدول ۲- فعالیت بیوشیمیایی ریزوباکترهای ارتقاءدهنده رشد گیاه (PGPR) استفاده شده در کشت گلدانی.

Table 2. The biochemical activity of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) used for pot experiment.

ویژگی Property	*Bacillus* sp.	*Bacillus licheniformis*
ایندول استیک اسید (Indole-3-acetic acid (IAA))	+	+
سیدروفور (Siderophore)	+	+
آمینو سیکلوپروپان-۱- کربوکسیلات (ACC) دِآمیناز (Amino cyclopropane-1-carbocsilate (ACC)-deaminase)	+	-
انحلال کربنات سرب (Dissolution of $PbCO_3$)	-	+

سه شاخص فاکتور انتقال (TF)[1]، فاکتور تجمع زیستی (BAF)[2] (۵۷) و کل جذب سرب توسط اندام هوایی گیاه به‌منظور ارزیابی پتانسیل گیاهان در استخراج سرب در خاک آلوده استفاده شد:

$$\text{فاکتور انتقال (٪)} = \frac{\text{غلظت سرب در اندام هوایی}}{\text{غلظت سرب در ریشه گیاه}} \times ۱۰۰$$

$$\text{کل جذب سرب گیاه } (\text{mg pot}^{-1}) = M \times W$$

که در آن، M غلظت سرب در ریشه یا اندام هوایی گیاه (میلی‌گرم در گرم)، W عملکرد خشک ریشه یا اندام هوایی گیاه (گرم در گلدان) می‌باشد.

$$\text{فاکتور تجمع زیستی} = \frac{\text{غلظت سرب در ریشه گیاه}}{\text{غلظت سرب قابل‌دسترس خاک}}$$

فاکتور اصلاح (RF)[3] به‌منظور بیان ظرفیت استخراج سرب از خاک برای اندام هوایی و ریشه بر اساس رابطه زیر محاسبه شد (۱ و ۵۱):

$$RF(\%) = \frac{M_{shoot} \times W_{shoot}}{M_{soil} \times W_{soil}}$$

که در آن، M_{shoot} غلظت سرب در اندام هوایی گیاه (میلی‌گرم در کیلوگرم)، W_{shoot} وزن خشک اندام هوایی گیاه (گرم)، M_{soil} غلظت کل سرب در خاک (میلی‌گرم در کیلوگرم) و W_{soil} مقدار خاک در هر گلدان (گرم) می‌باشد.

تجزیه و تحلیل آماری: پیش از انجام تجزیه‌های آماری، ابتدا پیش‌فرض‌های تجزیه واریانس مانند یکنواختی خطای آزمایش و توزیع نرمال داده‌ها یا باقی‌مانده‌ها بررسی شدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از مدل خطی جامع (GLM)[4] توسط نرم‌افزار SAS از طریق تجزیه واریانس فاکتوریل انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت.

نتایج و بحث

اثر موجودات زنده بر رشد گیاه: نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که مایه‌زنی جداگانه و هم‌زمان گیاه با کرم خاکی (E)، میکوریزا (M) و باکتری (B) به‌طور قابل‌توجهی ($P<۰/۰۰۱$) رشد گیاه را تحت‌تأثیر قرار داد (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد وزن خشک اندام هوایی ذرت توسط تلقیح گیاهان با کرم خاکی (۳/۷۶٪)، قارچ (۱۳۸٪) و باکتری (۹/۸۸٪)، نسبت به شاهد (عدم تلقیح) افزایش یافت (شکل A۱). در تیمارهای جداگانه، اگرچه گیاهان تلقیح‌شده با قارچ میکوریزا نسبت به کرم خاکی و باکتری بیش‌تر بود (شکل A۱)، اما تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای کرم خاکی و باکتری و تیمار هم‌زمان این دو (EB) مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$). بیش‌ترین وزن خشک اندام هوایی در تیمارهای هم‌زمان کرم خاکی- میکوریزا (EM) (۴/۳۰ گرم) و میکوریزا- باکتری (MB) (۰/۳۱ گرم) با افزایش تقریبی ۳/۲ برابری نسبت به شاهد (۷۶/۹ گرم) مشاهده شد. از سوی دیگر وزن خشک اندام هوایی ذرت در تیمار هم‌زمان کرم- میکوریزا- باکتری (EMB)، از تیمارهای دوگانه در حضور میکوریزا (EM & MB) کم‌تر و از تیمار دوگانه کرم- باکتری (EB) بیش‌تر بود. این به این معنی است که حضور هم‌زمان کرم و یا باکتری همراه

1- Translocation Factor
2- Bioaccumulation Factor
3- Remediation Factor
4- General Linear Model

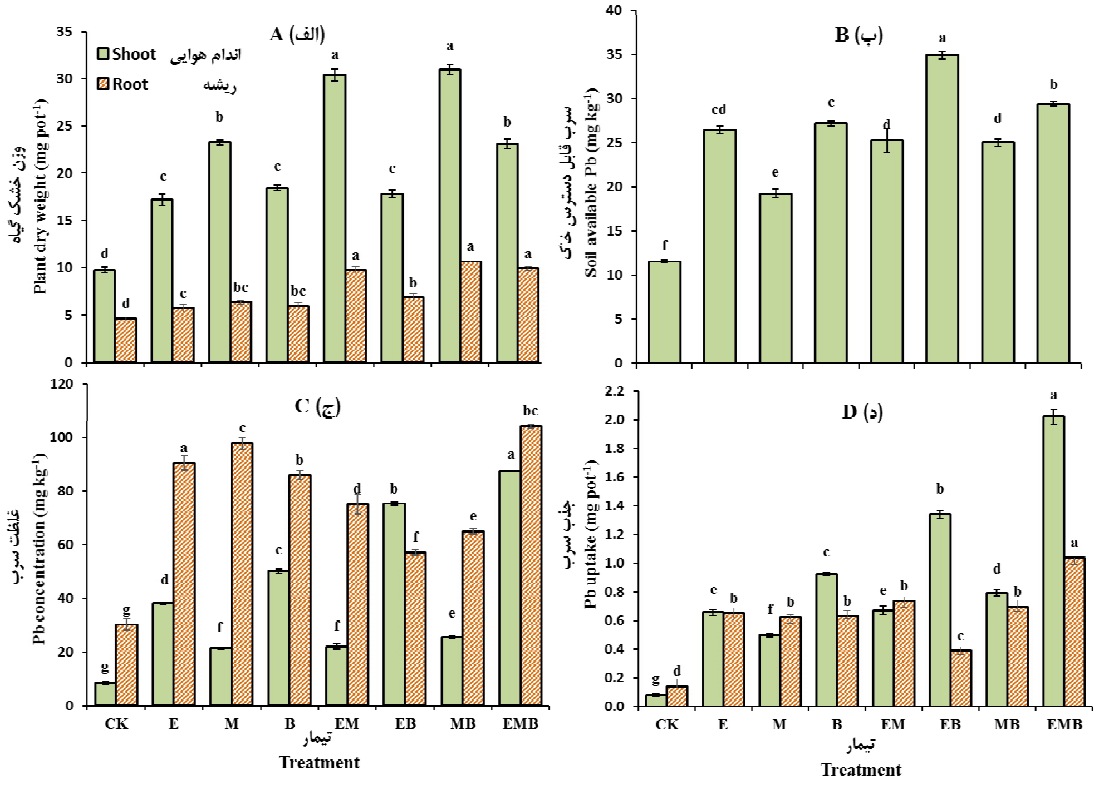
با میکوریزا اثر مثبت هر کدام به‌تنهایی همراه با میکوریزا در افزایش زیست‌توده اندام هوایی ذرت را کاهش داده‌اند. وزن خشک ریشه نیز در تمام تیمارها و به‌ویژه تیمارهای هم‌زمان آن‌ها افزایش یافت، اما تفاوتی بین تیمارهای هم‌زمان در حضور قارچ میکوریزا مشاهده نشد (شکل A۱). به‌نظر می‌رسد که قارچ‌های میکوریزا از طریق بهبود تغذیه معدنی و یا افزایش بردباری به تنش‌های محیطی رشد گیاه را بهبود می‌بخشند (۳۰). اغلب میکروب‌ها از طریق بهبود وضعیت تغذیه‌ای گیاه موجب افزایش تحمل و رشد گیاه می‌شوند (٤ و ٢٦). اما تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای باکتری، کرم خاکی و تلقیح هم‌زمان آن‌ها در سطح ($P>0/05$) مشاهده نشد که احتمالاً ناشی از سمیت سرب در این تیمارها باشد. قارچ میکوریزا از طریق گسترش میسیلیوم قارچ‌های میکوریزا آربوسکولار در خاک و درون گیاه، بهبود جذب رطوبت، حفاظت ریشه در مقابل استرس‌های محیطی و همچنین افزایش سنتز گلوکز، فروکتوز، اسیدهای آمینه و افزایش میزان قند محلول و عناصر معدنی در گیاه موجب افزایش وزن خشک گیاه می‌شوند (٤٦).

همچنین باکتری‌ها می‌توانند در افزایش رشد و تحمل گیاه به فلزات سنگین مؤثر باشند. این اثر مثبت از طریق ترشح آنزیم ACC- دِآمیناز است که منجر به کاهش تولید اتیلن حاصل از استرس گیاه می‌شود (٤ و ١٣). این احتمال وجود دارد که با تلقیح باکتری‌های محرک رشد گیاه به‌واسطه تولید آنزیم ACC- دِآمیناز، سطح اتیلن در گیاه کاهش یافته و در نتیجه موجب افزایش زیست‌توده گیاهی شده است. علاوه بر این اثر مثبت این باکتری‌ها در محیط ریشه را می‌توان به تولید اکسین، متابولیت‌ها و افزایش تولید ترکیبات محرک رشد ریشه نسبت داد (٤). از سوی دیگر سیدروفور باکتری‌ها به‌طور غیرمستقیم از طریق فراهم‌سازی آهن مورد نیاز گیاه و رفع کمبود آهن موجب افزایش رشد گیاه می‌شود (٤). داری و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند مایه‌زنی PGPRها به گیاه لوبیا، سبب افزایش زیست‌توده این گیاه در خاک‌های آلوده به سرب می‌شود (۹). دل‌آمیکو و همکاران (۱۹۹۹) نشان دادند که ریزوباکتری‌های تولید کنند اکسین (IAA)، ACC- دِآمیناز و سیدروفور موجب بهبود رشد گیاه براسیکا ناپوس[1] در حضور کادمیم شده‌اند (۱۰). همچنین کرم‌های خاکی می‌توانند موجب بهبود رشد و تولید گیاه از طریق افزایش معدنی شدن مواد آلی که موجب افزایش قابلیت دسترسی عناصر غذایی می‌گردد (۵۰) و نیز تولید تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه از طریق تحریک فعالیت میکروبی (۳۲) شوند. به‌طور مثال جاسلمی و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که حضور کرم خاکی وزن خشک گیاه را حدود دو برابر افزایش داد (۱۷).

اثر متقابل موجودات زنده در محیط رشد ریشه به عوامل متعددی مانند نوع و تعداد موجود زنده، گیاه میزبان و همچنین نوع و میزان آلودگی فلز بستگی دارد (۲۵ و ٥٤). گزارش شده است که تولید ACC- دِآمیناز توسط باکتری‌ها در حضور کرم خاکی افزایش یافته است (۱۲). همچنین حضور هم‌زمان سه موجود زنده موجب کاهش رشد گیاه نسبت به تیمار میکوریزا، به‌تنهایی شد که احتمالاً ناشی از افزایش سمیت سرب در مقایسه با تیمار میکوریزا به‌تنهایی باشد.

1- Brassica napus

اثر جانداران بر غلظت سرب قابل‌دسترس خاک: در گیاه‌پالایی خاک‌های آلوده به فلزات سمی، مقدار جذب عنصر توسط گیاه از خاک بسیار دارای اهمیت است و اغلب میزان جذب عنصر به تحرک و زیست‌فراهمی آن عنصر و یا شکل قابل‌دسترس آن بستگی دارد (٤٩). غلظت سرب قابل دسترس خاک نیز در مایه‌زنی جداگانه و هم‌زمان کرم خاکی، قارچ میکوریزا و باکتری به‌طور قابل‌توجهی ($P<0/01$). تحت‌تأثیر قرار گرفت (جدول ١) و افزایش ١/٦٦ تا ٣/٠١ برابری را نسبت به شاهد نشان داد (شکل B١). بر این اساس تیمارهای سرب قابل دسترس در تیمارهای کرم- باکتری (EB) و کرم- میکوریزا- باکتری (EMB) بیش‌تر از تیمارهای جداگانه کرم خاکی یا باکتری بود.



شکل ١- برهم‌کنش بین تلقیح کرم خاکی (E)، قارچ میکوریزا (M) و باکتری (B) بر وزن خشک اندام هوایی و ریشه ذرت (A)، سرب قابل دسترس خاک (B)، غلظت (C) و جذب (D) سرب اندام هوایی و ریشه در کشت ذرت (n=٤). حروف متفاوت بالای هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در بین تیمارهاست (آزمون دانکن P<٠/٠٥). خطوط عمودی نشان‌دهنده استاندارد خطاست.

Figure 1. The interaction of arbuscular mycorrhizal fungi (M), bacterial (B) and Earthworm (E), inoculation on *maize* Shoot and Root dry weight (A), soil available Pb (B), shoot and root Pb concentration (C) and shoot and root Pb uptake (D) (n=4). Different letters above each column indicated significant difference among treatments (Duncan's test. P<0.05). The vertical bars indicate the standard error of the mean.

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس (آماره F) اثر کرم خاکی (E)، قارچ میکوریزا (M) و باکتری (B) بر وزن خشک اندام هوایی و ریشه، سرب قابل‌دسترس، غلظت و جذب سرب ریشه و اندام هوایی.

Table 3. Factorial ANOVA results (F-values) for the influence of arbuscular mycorrhizal fungi (M), bacterial (B) and earthworm (E) inoculation on maize shoot and root dry weights, soil available Pb, shoot and root Pb concentrations and uptake.

واریانس تجمعی C.V (%)	میانگین مربعات خطا MSe	برهم‌کنش‌ها Interaction effects				اثرات اصلی Main effects			
		E×M×B	M×B	E×B	E×M	B	M	E	
-	24	1	1	1	1	1	1	1	درجه آزادی (Degree of freedom)
4.31	0.849	28^{***}	47^{***}	312^{***}	34^{***}	56^{***}	1166^{***}	22^{***}	وزن خشک اندام هوایی (Shoot dry weight)
8.14	0.371	20^{***}	5.53^{*}	26^{***}	ns	64^{***}	250^{***}	30^{***}	وزن خشک ریشه (Root dry weight)
4.69	1.36	12^{**}	74^{***}	29^{***}	53^{***}	421^{***}	ns	399^{***}	سرب قابل‌دسترس خاک (Soil available Pb)
3.23	1.76	1227^{***}	25^{***}	916^{***}	16^{***}	6268^{***}	69^{***}	3929^{***}	غلظت سرب اندام هوایی (Shoot Pb concentration)
5.95	23	806^{***}	12^{**}	105^{***}	6.79^{*}	5.28^{*}	27^{***}	56^{***}	غلظت سرب ریشه (Root Pb concentration)
1.33	0.0001	563^{***}	155	26^{***}	69^{***}	2757^{***}	413^{***}	1620^{***}	جذب سرب اندام هوایی (Shoot Pb uptake#)
12	0.006	83^{***}	ns	23^{***}	ns	31^{***}	141^{***}	45^{***}	جذب سرب ریشه (Root Pb uptake)

^{ns}، *، ** و *** به‌ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ (P<۰/۰۵)، ۱ (P<۰/۰۱) و یک‌دهم (P<۰/۰۰۱) درصد. MSe: میانگین مربعات خطا؛ C.V.: ضریب تغییرات؛ #: متغیر تبدیل شده توسط Box-Cox.

^{ns}, *, ** not significant and significant at P < 0.05, P<0.01 and P < 0.001, respectively. MSe: mean square error; C.V.: coefficient of variation; #: Box-Cox transformed variables.

افزایش زیست‌فراهمی سرب توسط کرم‌های خاکی و باکتری توسط دیگر پژوهشگران (۲۶ و ۴۸) نیز گزارش شده است. کرم خاکی ضمن عبور دادن ذرات معدنی خاک و مواد آلی از دستگاه گوارش خود، آن‌ها را به‌خوبی با یکدیگر مخلوط می‌کند و موجب اتصال بهتر و بیش‌تر یون‌های فلز با مواد آلی نیمه‌تجزیه‌شده می‌شود (۴۸). با ترشح آنزیم‌های دستگاه گوارش کرم خاکی و تجزیه نسبی بقایای گیاهی و مواد آلی موجود در خاک، تشکیل کلات‌های ماده آلی- فلز با پیوندهای کووالانسی و یونی تسهیل می‌شود. ما و همکاران (۲۰۰۲) نیز نشان دادند غلظت Pb قابل دسترس پس از تلقیح کرم‌های خاکی ۴۸/۲٪ افزایش یافت (۲۴). همین‌طور، فعالیت کرم خاکی زیست‌فراهمی سایر فلزات سنگین را در خاک افزایش داد (۳۹).

باکتری‌ها نیز از طریق تغییر pH خاک، رهاسازی کلات‌کننده‌ها (مانند اسیدهای آلی و سیدروفورها) (۱۵؛ ۴) و واکنش‌های اکسید و احیا (۲۶) قادر به تغییر قابلیت دسترسی فلزات سنگین هستند. به‌طور مثال شنگ و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند باکتری باسیلوس موجب افزایش قابلیت دسترسی سرب در ریزوسفر ذرت شده است (۴۴).

قابلیت دسترسی سرب در تیمار میکوریزا نیز نسبت به شاهد افزایش یافت اما در مقایسه با تیمار کرم خاکی و یا باکتری کم‌تر بود. آربوسکولار میکوریزا از طریق تولید اسیدهای آلی و یا تحریک گیاه در تغییر ترشحات گیاهی می‌تواند بر قابلیت دسترسی فلزات مؤثر باشد، اما به‌واسطه بی‌جنبش کردن فلز درون میسلیوم‌های خود (۷ و ۱۵) باعث کاهش قابلیت دسترسی فلز برای گیاه می‌شوند. ترکیبات دیواره سلولی قارچ‌های خاک مانند گروه‌های آزاد آمینو، هیدروکسیل، کربوکسیل و سایر گروه‌ها می‌توانند به فلزات متصل شده و آن‌ها را بی‌تحرک نمایند (۱۵). همچنین حضور میکوریزا همراه با کرم خاکی و یا باکتری قابلیت دسترسی سرب را نسبت به تیمارهای جداگانه کرم خاکی و یا باکتری کاهش داد، اما تفاوتی بین تیمارهای EM و MB مشاهده نشد. نتایج این مطالعه نشان داد که در حضور هم‌زمان هر سه موجود زنده اثر منفی قارچ میکوریزا بر قابلیت دسترسی سرب کاهش یافته و غلظت سرب قابل‌دسترس در مقایسه با تیمارهای دوگانه با حضور قارچ میکوریزا (EM و MB) بیش‌تر بود. اگرچه غلظت سرب در گیاه با قابلیت دسترسی آن در خاک ارتباط مستقیم دارد، اما به‌طور قابل‌توجهی به نوع موجود زنده و همچنین اثرات متقابل آن‌ها وابسته است.

اثر جانداران بر غلظت و میزان جذب سرب توسط گیاه: غلظت سرب در گیاه ذرت نیز به‌طور قابل‌توجهی تحت‌تأثیر تیمارهای جداگانه و هم‌زمان کرم خاکی، قارچ میکوریزا و باکتری قرار گرفت ($P<0/001$) (جدول ۴). حضور قارچ میکوریزا به‌تنهایی (۴/۲۱ $mg\ kg^{-1}$)، همراه با کرم خاکی (۱/۲۲ $mg\ kg^{-1}$) و همراه با باکتری (۶/۲۵ $mg\ kg^{-1}$) کم‌ترین غلظت سرب در اندام هوایی را نشان داد (شکل C1). این در حالی است که کرم (۲/۳۸ $mg\ kg^{-1}$) و باکتری (۱/۵۰ $mg\ kg^{-1}$) و تیمار هم‌زمان آن‌ها، به‌ویژه تیمار سه‌گانه (۵/۸۷ $mg\ kg^{-1}$)، تأثیر قابل‌توجهی در افزایش غلظت سرب در اندام هوایی ذرت داشتند. این بدان معنی است که حضور هم‌زمان کرم خاکی و باکتری در تیمار سه‌گانه (EMB) اثر قارچ میکوریزا در جلوگیری از افزایش غلظت سرب اندام هوایی را کاهش داده است. رویز و همکاران (۲۰۰۹) افزایش غلظت سرب در گیاه را با تیمار کرم خاکی به‌تنهایی گزارش کردند (۳۹) اما ما و همکاران (۲۰۰۶) گزارش کردند اثر هم‌زمان کرم خاکی و میکوریزا بر غلظت سرب تفاوتی با اثر جداگانه آن‌ها نداشت (۲۵). جاسلمی و همکاران (۲۰۱۲) نیز گزارش کردند حضور کرم خاکی موجب افزایش ۲ تا ۳ برابری جذب سرب توسط گیاه شده است (۱۷).

قارچ میکوریزا از طریق مکانیسم‌های مختلف موجب جلوگیری از افزایش غلظت سرب در اندام هوایی در مقایسه با شاهد شد که از آن جمله می‌توان به کاهش سرب قابل‌دسترس (شکل B۱)، جلوگیری از انتقال آن به اندام هوایی (با محبوس کردن فلز در هیف‌های خود) و یا اثر رقت (٤٢) اشاره کرد. قارچ میکوریزا با افزایش وزن خشک گیاه (شکل A۱)، موجب رقیق شدن غلظت فلز در اندام هوایی ذرت شده است. در دیگر مطالعات نیز غلظت پایین فلز در اندام هوایی در حضور میکوریزا گزارش شده است (۲۲، ۲۵ و ۵۵).

ریزوباکترها نیز از طریق افزایش قابلیت دسترسی سرب و به‌ویژه تولید سیدروفورها موجب افزایش بیش‌تر سرب در اندام هوایی شده‌اند. گزارش شده است که مایه‌زنی گیاه *Sedum alfredii* با ریزوباکتری مقاوم به فلزات (*Burkholderia*) تحمل و رشد گیاه و همچنین میزان استخراج کادمیم و روی را توسط گیاه بهبود می‌بخشد (٤ و ١٩).

غلظت بیش‌تر فلز در ریشه گیاه نسبت به اندام هوایی ممکن است ناشی از تحرک کم فلز در گیاه یا راهکارهای افزایش تحمل گیاه از طریق تجمع فلز در ریشه باشد. تحمل گیاه به فلزات سنگین از دو طریق ممانعت از ورود فلز به گیاه که شامل ممانعت از جذب و یا محدود کردن انتقال آن به اندام هوایی است و تجمع مقادیر زیاد فلز در ریشه و ذخیره‌سازی آن در واکوئل‌ها و درنتیجه کاهش سمیت فلز تأمین می‌شود (٤٢). اثر تیمار موجودات زنده با بر غلظت فلز در ریشه متفاوت بود. بر این اساس، در تیمارهای جداگانه غلظت سرب ریشه در تیمار قارچ میکوریزا بیش‌تر از تیمارهای کرم خاکی یا باکتری به‌تنهایی بود. مقدار بیش‌تر سرب ریشه در گیاهان میکوریزایی در مقایسه با دیگر تیمارها بیانگر مقاومت بیش‌تر گیاهان تلقیح‌شده به سرب و احتمالاً تجمع مقادیر بیش‌تر سرب در ساختارهای هیف قارچ داخل ریشه می‌باشد. زیرا اغلب قارچ‌های میکوریزای جداسازی‌شده از مناطق آلوده در مقایسه با قارچ‌های جداسازی‌شده از مناطق غیرآلوده، نسبت به فلزات سنگین بسیار مقاوم‌تر هستند (۱۱). در تیمارهای دوگانه نیز غلظت سرب ریشه نسبت به تیمارهای جداگانه کم‌تر بود، اما در تیمار سه‌گانه (EMB) بیش‌ترین افزایش غلظت سرب ریشه نسبت به شاهد (۳/٤٥ برابر) مشاهده شد.

با وجود اختلاف غلظت سرب در اندام هوایی و ریشه تفاوت میزان جذب سرب به‌شکل قابل‌توجهی بین بخش‌های ریشه و اندام هوایی کم‌تر بود و تا حدودی با غلظت سرب در این بخش‌ها متفاوت بود (شکل D۱). در تیمار کرم خاکی با وجود غلظت بیش‌تر سرب در ریشه، میزان جذب سرب در ریشه و اندام هوایی تقریباً مشابه بود. همچنین با وجود غلظت کم‌تر سرب در اندام هوایی نسبت به ریشه، میزان جذب سرب توسط اندام هوایی در تیمارهای B، MB و EMB در مقایسه با تیمار شاهد بیش‌تر بود. بیش‌ترین میزان جذب سرب توسط ریشه (۷/٤۳ برابر) و اندام هوایی (۲٤/٦۳ برابر) ذرت در تیمار سه‌گانه (EMB)، در مقایسه با تیمار شاهد، مشاهده شده و نشان‌دهنده اثر این سه موجود زنده بر افزایش میزان جذب سرب توسط ذرت از طریق افزایش رشد گیاه و همچنین افزایش غلظت سرب در گیاه می‌باشد.

در بررسی اثر موجودات زنده بر مقدار جذب فلز توسط گیاه نیاز است که غلظت فلز و زیست‌توده گیاه به‌طور هم‌زمان مورد توجه قرار گیرد، زیرا تغییر در زیست‌توده در نتیجه فعالیت موجودات زنده به‌طور قابل‌توجهی میزان فلز جذب‌شده از خاک را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد (٤٨). رویز و همکاران (۲۰۰۹) افزایش جذب فلز توسط اندام هوایی یا ریشه ذرت را گزارش کردند (٤٠) و آن را به توانایی کرم خاکی در تغییر مواد آلی خاک در تشکیل کمپلکس با فلزات سنگین و همچنین افزایش قابلیت دسترسی آن‌ها مرتبط

دانسته‌اند (۲۲، ۳۸ و ٤٧). میکوریزا نیز از طریق افزایش رشد گیاه و تغذیه فسفر می‌تواند جذب فلز توسط گیاه را (با وجود غلظت کم‌تر سرب اندام هوایی نسبت به تیمار کرم خاکی و باکتری) افزایش دهد (١٦ و ٤٠).

حضور هم‌زمان کرم خاکی و باکتری در تیمارهای دوگانه (EB) و سه‌گانه (EMB) بر جذب سرب توسط اندام هوایی اثر مثبت داشت. گزارش شده است که جمعیت میکروبی در مدفوع تازه کرم خاکی ظرف کم‌تر از چند ساعت به‌شدت افزایش می‌یابد (٤٧). بنابراین حضور هم‌زمان کرم خاکی و باکتری موجب افزایش قابل‌توجه سرب قابل‌دسترس خاک و جذب سرب توسط اندام هوایی ذرت می‌شود (شکل B١).

اثر جانداران بر فاکتورهای اصلاح خاک و گیاه: فاکتور تجمع زیستی به‌منظور برآورد قابلیت دسترسی فلز برای گیاه و همچنین ارزیابی کارایی گیاه‌پالایی به‌کار می‌رود (١ و ٥٦). به‌طورکلی تجمع زیستی سرب بر اساس سرب قابل دسترس خاک در تمام تیمارهای جداگانه و هم‌زمان بیش‌تر از یک بود که نشان‌دهنده تجمع این فلز در ریشه است (شکل A٢). اما اثر جداگانه یا هم‌زمان این موجودات بر تجمع زیستی سرب در ریشه ذرت متفاوت بود و به نوع موجود زنده بستگی داشت. تجمع زیستی سرب در تیمار میکوریزا به‌تنهایی بیش‌تر از دیگر تیمارها بود. از سوی دیگر، با وجود افزایش تجمع زیستی در تیمارهای جداگانه، تجمع زیستی سرب در تیمار هم‌زمان کرم- باکتری (EB) نسبت به شاهد کم‌تر بود. یکی از راه‌های افزایش تحمل سمیت سرب در گیاهان از طریق تجمع سرب در ریشه و ذخیره آن در واکوئل‌ها، به‌منظور ممانعت از سمیت فلز است (٤٢) که در گیاه ذرت نیز مشاهده شد. شن و همکاران (٢٠٠٦) گزارش کردند اثر رقت از طریق افزایش زیست‌توده و رشد گیاه در حضور میکوریزا می‌تواند موجب افزایش مقاومت گیاه به سمیت فلزات سنگین شود (٤٣).

جدول ٤- نتایج تجزیه واریانس (آماره F) اثر کرم خاکی (E)، قارچ میکوریزا (M) و باکتری (B) بر فاکتور تجمع زیستی (BAF)، انتقال (TF) و اصلاح زیستی (RF).

Table 4. Factorial ANOVA results (F-values) for the influence of arbuscular mycorrhizal fungi (M), bacterial (B) and earthworm (E) inoculation on bioaccumulation factor (BAF), translocation factor (TF) and remediation factor (RF).

واریانس تجمعی C.V (%)	میانگین مربعات خطا MSe	برهم‌کنش‌ها Interaction effects				اثرات اصلی Main effects			
		E×M×B	M×B	E×B	E×M	B	M	E	
-	24	1	1	1	1	1	1	1	درجه آزادی (Degree of freedom)
8.31	0.077	317^{***}	ns	4.40^{*}	ns	71^{***}	21^{***}	20^{***}	فاکتور تجمع زیستی Bioaccumulation factor (BAF)
7.93	0.004	16^{***}	7.60^{*}	192^{***}	ns	1423^{***}	117^{***}	583^{***}	فاکتور انتقال Translocation factor (TF)
9.32	0.0001	106^{***}	ns	69^{***}	10^{***}	756^{***}	71^{***}	453^{***}	فاکتور اصلاح Remediation factor (RF)

^{ns}، *، ** و *** به‌ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ٥ (P<٠/٠٥)، ١ (P<٠/٠١) و یک‌دهم (P<٠/٠٠١) درصد. MSe: میانگین مربعات خطا؛ .C.V: ضریب تغییرات؛ # متغیر تبدیل شده توسط Box-Cox.

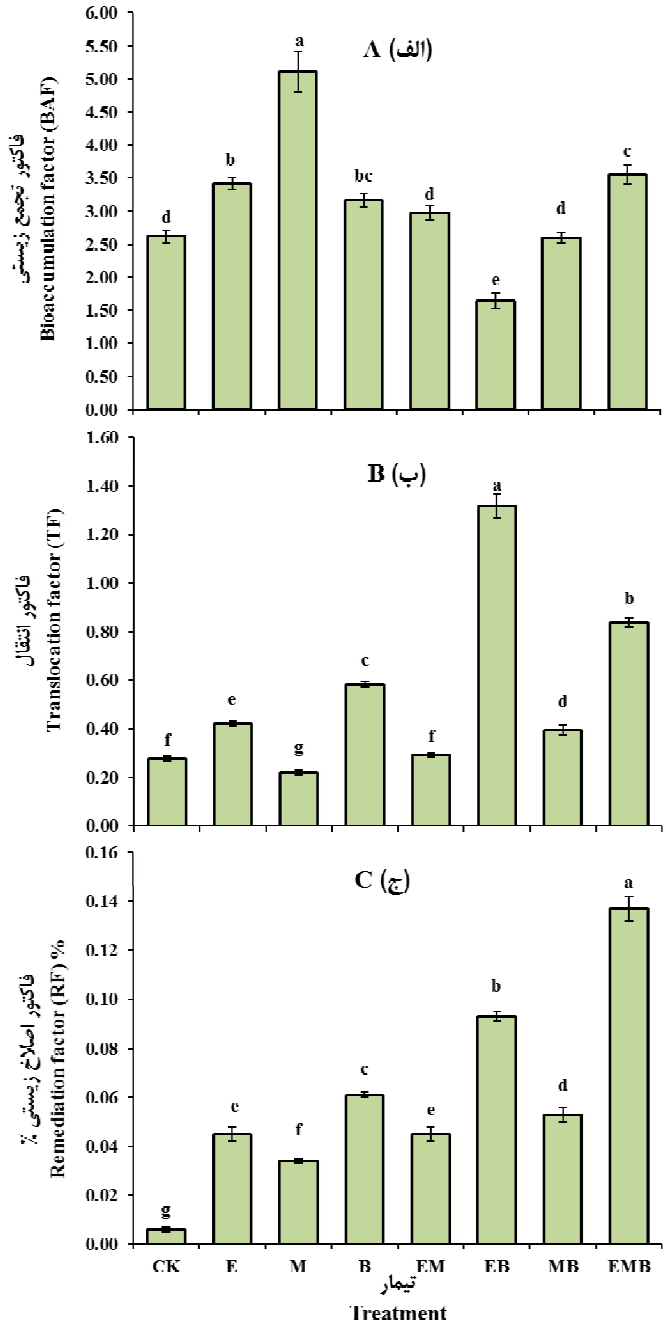
* P < 0.05; ** P < 0.01; *** P < 0.001; ^{ns} not significant. MSe: mean square error; C.V.: coefficient of variation; #: Box-Cox transformed variables.

فاکتور انتقال برای ارزیابی قابلیت استخراج گیاهی به‌کار می‌رود (۱ و ۵۵). غلظت بالای فلزات سنگین در ریشه گیاه و فاکتور انتقال کم‌تر از یک در این مطالعه نشان داد که این گیاه برای تثبیت گیاهی مناسب‌تر است که با نتایج مالیک و همکاران (۲۰۱۰) مطابقت داشت (۲۷). نتایج این پژوهش همچنین نشان داد که تیمار هم‌زمان کرم- باکتری و همچنین تا حدودی تیمار سه‌گانه (EMB) به‌طور قابل‌توجهی موجب افزایش فاکتور انتقال سرب در ذرت شد (شکل B۲)، به‌طوری‌که در تیمار هم‌زمان کرم و باکتری این فاکتور بیش‌تر از یک بود. تأثیر قارچ میکوریزا در ممانعت از انتقال سرب به اندام هوایی در تیمار جداگانه و همچنین در حضور کرم یا باکتری مشهود بود (شکل B۲). فاکتور انتقال سرب از ریشه به اندام هوایی ذرت در تیمار سه‌گانه (EMB) با وجود افزایش نسبت به دیگر تیمارها، نسبت به تیمار کرم- باکتری کم‌تر بود. این نشان می‌دهد که میکوریزا از طریق کمک به تجمع و یا انباشت سرب در ریشه و همچنین دیواره‌های سلولی هیف‌های خود و ممانعت از انتقال این عنصر به اندام هوایی، به‌ویژه در شرایط طبیعی که حضور هر سه موجود زنده کرم ، قارچ و باکتری محتمل‌تر است، نقش به‌سزایی در کاهش سمیت و رشد گیاهان در مناطق آلوده دارد (۲ و ۵۳).

بیان فاکتور اصلاح خاک به‌عنوان نسبتی از فلز جذب‌شده توسط گیاه به کل فلز خاک برای درک بهتر اصلاح خاک توسط گیاهان به‌کار می‌رود. در این مطالعه فاکتور اصلاح خاک بین ۰/۰۰۶٪ در تیمار شاهد تا ۰/۱۳۷٪ در تیمار سه‌گانه (EMB) متغیر بود که افزایش ۲۲/۸ برابری نسبت به شاهد را نشان می‌دهد (شکل C۲). سون و همکاران (۲۰۰۹) فاکتور اصلاح سرب در کشت *S. alfredii* را بین ۰/۰۲ تا ۰/۰۵ درصد گزارش کرده‌اند (۵۲). بر اساس نتایج این مطالعه تنها حدود ۰/۱٤درصد از کل سرب خاک در یک دوره کشت ذرت از خاک خارج می‌شود، این در حالی است که این فاکتور در گیاهان بیش‌اندوز بیش‌تر از یک گزارش شده است (۵۲). بنابراین علی‌رغم اثر قابل‌توجه تیمارهای مختلف به‌ویژه در حضور کرم و باکتری در افزایش غلظت و جذب سرب توسط این گیاه، درصد استخراج یا اصلاح سرب خاک توسط ذرت به‌اندازه لازم جهت استفاده عملی از آن به‌منظور اصلاح این خاک کافی نیست و زمان بسیار طولانی نیاز دارد. با توجه به فاکتور تجمع زیستی و انتقال آن، کشت ذرت بیش‌تر در فرآیند تثبیت گیاهی و جلوگیری از انتشار سرب در محیط می‌تواند مدنظر قرار گیرد.

نتیجه‌گیری کلی

روی‌هم‌رفته تلقیح گیاه با کرم خاکی، قارچ میکوریزا و ریزوباکتر، وزن خشک گیاه، سرب قابل‌دسترس، تجمع زیستی و اصلاح سرب خاک را از طریق تأثیر بر فراهمی عناصر غذایی خاک در ریزوسفر گیاه ذرت افزایش داد. تلقیح گیاه میکوریزایی با کرم خاکی و باکتری موجب رشد بهتر گیاه شد که این اثر را می‌توان به توان قارچ میکوریزا در ممانعت از انتقال سرب به اندام هوایی و کاهش سمیت آن برای گیاه مرتبط دانست. از سوی دیگر ریزوباکترهای بهبوددهنده رشد گیاه علاوه بر افزایش سرب قابل‌دسترس خاک، موجب افزایش رشد و تحمل گیاه به سمیت سرب شد. همچنین با توجه به مقادیر فاکتورهای تجمع زیستی، انتقال و اصلاح زیستی گیاه ذرت در فرآیند تثبیت گیاهی به گیاه‌پالایی خاک مفید بوده و بنابراین قارچ میکوریزا به‌عنوان عامل بهبوددهنده تثبیت گیاهی در افزایش رشد گیاه و همچنین ممانعت از سمیت گیاه از طریق جلوگیری از انتقال سرب به اندام هوایی، به‌ویژه در شرایط طبیعی که حضور هر سه موجود زنده کرم خاکی، قارچ میکوریزا و ریزوباکتر محتمل‌تر است، نقش به‌سزایی در کاهش سمیت و رشد گیاهان در مناطق آلوده به فلزات سمی دارد.



شکل ۲- برهم‌کنش بین تلقیح کرم خاکی (E)، قارچ میکوریزا (M) و باکتری (B) بر فاکتور تجمع زیستی (BAF) (A) و فاکتور انتقال (TF) (B) و فاکتور اصلاح زیستی (RF) (C). حروف متفاوت بالای هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در بین تیمارهاست (آزمون دانکن P<۰/۰۵). خطوط عمودی نشان‌دهنده استاندارد خطاست.

Figure 2. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi (M), bacterial (B) and Earthworm (E), inoculation on bioaccumulation factor (BAF) (A), translocation factor (TF) (B) and remediation factor (RF) (C) (n=4).

منابع

1.Ali, H., Khan, E., and Sajad, M.A. 2013. Phytoremediation of heavy metals- Concepts and applications. Chemosphere, 91: 869-881.

2.Azcón, R., Perálvarez, M.D., Biró, B., Roldán, A., and Ruíz-Lozano, J.M. 2009. Antioxidant activities and metal acquisition in mycorrhizal plants growing in a heavy-metal multi contaminated soil amended with treated lignocellulosic agrowaste. Applied Soil Ecology, 41: 168-177.

3.Bafeel, S.O. 2008. Contribution of mycorrhizae in phytoremediation of lead contaminated soils by *Eucalyptus ostrata* plants. World Appl. Sci. J. 5: 490-498.

4.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.

5.Campbell, C.R., and Plank, C.O. 1998. Preparation of plant tissue for laboratory analysis. In: Kalra, Y.P. (ed.) Handbook of Reference Methods for Plant Analysis. CRC Press, Taylor & Francis Group, Pp: 37-50.

6.Chapman, H.D. 1995. Cation exchange capacity. In black C.A. (ed) Methods of soil analysis. Agronomy Monograph. G. ASA. Madison WI. Pp: 891-901.

7.Chen, B., Shen, H., Li, X., Feng, G., and Christie, P. 2004. Effects of EDTA application and arbuscular mycorrhizal colonization on growth and zinc uptake by maize (*Zea mays* L.) in soil experimentally contaminated with zinc. Plant and Soil, 261: 219-229.

8.Chen, X., Wu, C., Tang, J., and Hu, S. 2005. Arbuscular mycorrhizae enhance metal lead uptake and growth of host plants under sand culture experiment. Chemosphere, 60: 665-671.

9.Dary, M., Chamber-Pérez, M.A., Palomares, A.J., and Pajuelo, E. 2010. In situ phytostabilization of heavy metal polluted soils using *Lupinus luteus* inoculated with metal resistant plant-growth promoting rhizobacteria. J. Hazard. Mater. 177: 323-330.

10.Dell' Amico, E., Cavalca, L., and Andreoni, V. 2008. Improvment of *Brasica napus* growth under cadmium stress by cadmium-resistant rhizobacteria. Soil Biology and Biochemistry. 40: 74-84.

11.Del Val, C., Barea, J.M., and Azcon-Aguilar, C. 1999. Assessing the tolerance to heavy metals of arbuscular mycorrhizal fungi isolated from sewage sludge contaminated soils. Applied Soil Ecology, 11: 261-269.

12.Elmer, W.H. 2009. Influence of earthworm activity on soil microbes and soil borne diseases of vegetables. Plant Disease, 93: 175-179.

13.Gee, G.W., and Bauder, J.W. 1986. Particle size analysis. In: Klute A. (ed.) Methods of Soil Analysis. Part 1. 2nd ed., Agron. Monogr. 9. ASA and SSSA, Madison, WI. Pp: 404-407.

14.Glickman, E., and Dessaux, Y. 1995. A critical examination of the specificity of the Salkowski reagent for indolic componds produced by phytopathogenic bacteria. Applied and Environmental Microbilogy. 61: 793-796.

15.Gonzalez-Guerrero, M., Azcon-Aguilar, C., Mooney, M., Valderas, A., MacDiarmid, C.W., Eide, D.J., and Ferrol, N. 2005. Characterization of a *Glomus intraradices* gene encoding a putative Zn transporter of the cation diffusion facilitator family. Fungal Genetics and Biology, 42: 130-140.

16.Hu, J., Wu, S., Wu, F., Leung, H.M., Lin, X., and Wong, M.H. 2013. Arbuscular mycorrhizal fungi enhance both absorption and stabilization of Cd by Alfred stonecrop (*Sedum alfredii Hance*) and perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) in a Cd-contaminated acidic soil. Chemosphere, 93: 1359-1365.

17.Jusselme, M.D., Poly, F., Miambi, E., Mora, P.H., Blouin, M. Pando, A., and Corinne Rouland-Lefèvre, C. 2012. Effect of earthworms on plant *Lantana camara* Pb-uptake and on bacterial communities in root-adhering soil. Science of the Total Environment, 416: 200-207.

18.Kabata-Pendias, A., and Mukherjee, A.B. 2007. Trace elements from soil to human. Springer-Verlag, Berlin, New York, 512p.

19.Li, M.S., Luo, Y.P., and Su, Z.Y. 2007. Heavy metal concentrations in soils and plant accumulation in a restored manganese mine land in Guangxi, South China. Environmental Pollution, 147: 168-175.
20.Li, Y., Peng, J., Shi, P., and Zhao, B., 2009. The effect of Cd on mycorrhizal development and enzyme activity of *Glomus mosseae* and *Glomus intraradices* in *Astragalus sinicus* L. Chemosphere, 75: 894-899.
21.Li, W.C., and Wong, M.H. 2010. Effects of bacteria on metal bioavailability, speciation and mobility in different metal mine soils: a column study. J. Soil Sed. 10: 313-325.
22.Lindsay, W.L., and Norvell, W.A. 1978. Development of DTPA soil test for zinc, iron, manganese and copper. Soil Sci. Soc. Amer. J. 42: 421-428.
23.Loeppert, R.H., and Suarez, D.L. 1996. Carbonate and gypsum. In: Sparks D.L. (ed) Methods of Soil Analysis. SSSA, Madison. Pp: 437-474.
24.Ma, Y., Dickinson, N.M., and Wong, M.H. 2002. Toxicity of Pb/Zn mine tailings to the earthworm *Pheretima* and the effects of burrowing on metal availability. Biology and Fertility of Soils, 36: 79-86.
25.Ma, Y., Dickinson, N.M., and Wong, M.H. 2006. Beneficial effects of earthworms and arbuscular mycorrhizal fungi on establishment of leguminous trees on Pb/Zn mine tailings. Soil Biology and Biochemistry, 38: 1403-1412.
26.Ma, Y., Prasad, M.N.V., Rajkumar, M., and Freitas, H. 2011. Plant growth promoting rhizobacteria and endophytes accelerate phytoremediation of metalliferous soils. Biotechnology Advances, 29: 248-258.
27.Malik, R.N., Husein, S.Z., and Nazir, I. 2010. Heavy metal contamination and accumulation in soil and wild plants species from industrial area of Islamabad Pakistan. Pak. J. Bot. 42: 291-301.
28.Mojmali Renani, A. 2013. Effects of plant-growth promoted rhizobacteria on lead and zinc phytoremediation by *Indian mustard*. Thesis of Master of agricultural science in Agroecology. Shahrekord University, Shahrekord. Iran. (In Persian)
29.Mosse, B. 1962. The establishment of mycorrhizal infection under aseptic conditions. Rothamsted Erperimental Station Report for 1961, p. SO.
30.Nadeem, S.M., Ahmad, M., Zahir, Z.A., Javaid, A., and Ashraf, M. 2014. The role of mycorrhizae and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in improving crop productivity under stressful environments. Biotechnology Advances, 32: 429-448.
31.Naderi, M.R. 2012. Effects of plant-growth promoted rhizobacteria on lead (Pb) phytoremediation in soil contained Pb with long history. Thesis of Master of agricultural science in Agroecology. Shahrekord University, Shahrekord. Iran. (In Persian)
32.Nardi, S., Pizzeghello, D., Muscolo, A., and Vianello, A. 2002. Physiological effects of humic substances on higher plants. Soil Biology and Biochemistry, 34: 1527-1536.
33.Nelson, D.W., and Sommers, L.E. 1996. Total carbon, organic carbon and organic matter. In: Sparks, D.L. (ed.) Methods of Soil Analysis, part 3, Chemical Methods. Soil Science Society of America: Madison, WI, Soil Science Society of America Book Series, Pp: 153-188.
34.Olsen, S.R., Cole, C.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, DC.
35.Prsadoust, F., Bahreini, Nejad, B., Safari, Sinegani, A.A., and Kaboli, M.M. 2007. Phytoremediation of lead (Pb) by pasture and native plants in soil contaminated of Irankouh area. Research and Manufacture, 75: 54-63. (In Persian)
36.Rajkumar, M., Sandhya, S., Prasad, M.N.V., and Freitas, H. 2012. Perspectives of plant-associated microbes in heavy metal phytoremediation. Biotechnology Advances, 30: 1562-1573.
37.Rhoades, J. 1986. Salinity: electrical conductivity and total dissolved salids. In: Sparks, D.L. (ed.) Methods of soil Analysis. Part 3: Chemial Properties. Soil Science Society of America. Madison, Wisconsin. Pp: 417-435.
38.Ruiz, E., Alonso-Azcarate, J., and Rodríguez, L. 2011. *Lumbricus terrestris* L. activity increases the availability of metals and their accumulation in maize and barley. Environmental Pollution, 159: 722-728.

39. Ruiz, E., Rodríguez, L., and Alonso-Azcarate, J. 2009. Effects of earthworms on metal uptake of heavy metals from polluted mine soils by different crop plants. Chemosphere, 75: 1035-1041.
40. Scheu, S. 2003. Effects of earthworms on plant growth: patterns and perspectives. Pedobiologia, 47: 846-856.
41. Schwyn, B., and Neilands, J.B. 1987. Universal chemical assay for detection and determination of siderophores. Analytical Biochemistry. 160: 47-56.
42. Sękara, A., Poniedzialek, M., Ciura, J., and Jędrszczyk, E. 2005. Cadmium and lead accumulation and distribution in the organs of nine crops: Implications for phytoremediation. Polish J. Environ. Stud. 14: 506-516.
43. Shen, H., Christie, P., and Li, X. 2006. Uptake of zinc, cadmium and phosphorus by arbuscular mycorrhizal maize (*Zea mays* L.) from a low available phosphorus calcareous soil spiked with zinc and cadmium. Environmental Geochemistry and Health, 28: 111-119.
44. Sheng, X.F., He, L.Y., Wang, Q.Y., Ye, H.S., and Jiang, C. 2008. Effects of inoculation of biosurfactant producing *Bacillus* sp. J119 on plant growth and cadmium uptake in a cadmium amended soil. J. Hazard. Mater. 155: 17-22.
45. Sheng, X.F., and Xia, J.J. 2006. Improvement of rape (*Brassica napus*) plant growth and cadmium uptake by cadmium-resistant bacteria. Chemosphere. 64: 1036-1042.
46. Shi, Z.Y., Zhang, L.Y., Li, X.L., Feng, G., Tian, C.Y., and Christie, P. 2007. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi associated with desert ephemerals in plant communities of Junggar Basin, northwest China. Applied Soil Ecology, 35: 10-20.
47. Sizmur, T., and Hodson, M.E. 2009. Do earthworms impact metal mobility and availability in soil? A review. Environmental Pollution. 157: 1981-1989.
48. Sizmur, T., Palumbo-Roe, B., Watts, M.J., and Hodson, M.E. 2011. Impact of the earthworm *Lumbricus terrestris* L. on As, Cu, Pb and Zn mobility and speciation in contaminated soils. Environmental Pollution, 159: 742-748.
49. Sposito, G., Lund, L.J., and Chang, A. 1982. Trace metal chemistry in arid-zone field soils amended with sewage sludge. I. Fractionation of Ni, Cu, Zn, Cd and Pb in solid phases. Soil Sci. Soc. Amer. J. 46: 260-264.
50. Subler, S., Baranski, C.M., and Edwards, C.A. 1997. Earthworm additions increased short-term nitrogen availability and leaching in two grain crop agroecosystems. Soil Biology and Biochemistry, 29: 413-421.
51. Sun, Y.B., Zhou, Q.X., An, J., Liu, W.T., and Liu, R. 2009. Chelator-enhanced phytoextraction of heavy metals from contaminated soil irrigated by industrial wastewater with the hyperaccumulator plant (*Sedum alfredii Hance*). Geoderma, 150: 106-112.
52. Thomas, G.W. 1996. Soil pH and soil acidity. In: Sparks D.L. (ed.) Methods of Soil Analysis. SSSA, Madison. Pp: 475-490.
53. Vivas, A., Voros, I., Biro, B., Campos, E., Barea, J.M., and Azcon, R. 2003. Symbiotic efficiency of autochthonous arbuscular mycorrhizal fungus (*G. mosseae*) and *Brevibacillus* sp. isolated from cadmium polluted soil under increasing cadmium levels. Environmental Pollution, 126: 179-189.
54. Vivas, A., Biro, B., Ruiz-Lozano, J.M., Barea, J.M., and Azcon, R. 2006. Two bacterial strains isolated from a Zn-polluted soil enhance plant growth and mycorrhizal efficiency under Zn-toxicity. Chemosphere, 62: 1523-1533.
55. Wu, F.Y., Bi, Y.L., Leung, H.M., Ye, Z.H., Lin, X.G., and Wong, M.H. 2010. Accumulation of As, Pb, Zn, Cd and Cu and arbuscular mycorrhizal status in populations of *Cynodon dactylon* grown on metal contaminated soils. Applied Soil Ecology, 44: 213-218.
56. 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 the Total Environment, 368: 456-464.
57. Zhang, X.C., Lin, L., Chen, M.Y., Zhu, Z.Q., Yang, W.D., Chen, B., Yang, X.E., and An, Q.L. 2012. A nonpathogenic *Fusarium oxysporum* strain enhances phytoextraction of heavy metals by the hyperaccumulator *Sedum alfredii Hance*. J. Hazard. Mater. 229: 361-370.

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

J. of Water and Soil Conservation, Vol. 25(2), 2018
http://jwsc.gau.ac.ir
DOI: 10.22069/jwsc.2018.14140.2887

Phytoremediation of Lead in the presence of individual and combined inoculation of earthworms, arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobacteria by maize

***A. Mahohi[1], F. Raiesi[2] and A.R. Hosseinpur[2]**
[1]Ph.D. Student, Dept. of Soil Science Engineering, University of Shahrekord,
[2]Professsor, Dept. of Soil Science Engineering, University of Shahrekord
Received: 11.09.2017; Accepted: 05.09.2018

Abstract

Background and Objectives: Soils may become polluted with high concentrations of heavy metals both naturally, as a result of proximity to mineral outcrops and ore bodies and anthropogenically, as a result of industrial activities. Lead (Pb), commonly causes soil pollution and considered to be responsible for significant decreases in biological activities in soils. Phytoremediation is an emerging and low cost technology that utilizes plants and associated organisms to remove, transform, or stabilize contaminants located in water, sediments, or soils. Phytostabilization focuses on the formation of a vegetation cover where sequestration (binding and sorption) processes immobilize metals within the plant rhizosphere reducing metal bioavailability. Therefore, the success of phytoremediation depends on the interactions between macro- and microorganisms and plant roots in the rhizosphere.

Materials and Methods: The contaminated soil was collected from Bama mining site located in the southwest of Isfahan. After surface-sterilization and germination, maize seeds were transplanted into each plastic pot containing 4 kg of contaminated soil that already autoclaved at 121 ^{o}C for 2 h. A completely randomized design with 2×2×2 factorial treatment combinations was used with the following factors: with or without earthworm treatments (*Eisenia foetida*), with or without arbuscular mycorrhizal (AM) fungal treatments (co-inoculated with *Funneliformis mosseae* and *Septoglomus constrictum*) and with or without rhizobacteria (co-inoculated with *Bacillus* sp. and *Bacillus licheniformis*). After three months of growth under greenhouse conditions, the corn aerial parts were removed from the soil surface. The shoot and root were individually oven dried, weighed and milled to determine Pb concentration. Concentration of Pb in roots and shoots were measured by dry ash method and soil Pb concentration was determined with DTPA-TEA method. Bioaccumulation (BF) and translocation (TF) and remediation (RF) factors for each treatment were calculated.

Results: In general, inoculation of these organisms increased plant growth, availability of Pb in soil, plant Pb concentration and bioaccumulation factor. The highest shoot dry weight was observed in earthworms-AM fungi (EM) and AM fungi-bacteria (MB) co-inoculations with 3.2 times increase compared to un-inoculated plants. Available Pb in soil in earthworm-AM fungi-bacteria co-inoculation (EMB) was about 3 times higher than un-inoculated treatments. The highest Pb uptake in maize shoot and root were recorded in EMB. Furthermore, the BF in root maize for all treatments were higher than 1. Although the TF for maize was lower than 1, it was increased above 1 in polluted soil co-inoculated with earthworm and bacteria. However, AM fungi tended to decrease the TF compared to un-inoculated maize. The highest RF (0.14%) with 23 times increase compared to un-inoculated was showed in EMB treatment.

* Corresponding Author; Email: alimahohi@yahoo.com

Conclusions: Despite a substantial increase in Pb concentration in maize, Pb absorption was not high enough to achieve extraction rates which would be necessary for practical use. Furthermore, the amounts of BF, TF and RF in this study demonstrated that maize could useful for Pb phytostabilization. Hence, it appears that the presence of AM fungi (as factor improve phytostabilization) could result in a better plant growth and tolerance against Pb toxicity, when soil is co-inoculated with earthworm and/or bacteria, especially under natural conditions that the presence of these organisms' together, could reduce Pb toxicity and improve maize.

Keywords: Earthworms, AM fungi, Rhizobacteria, Pb bioaccumulation, Pb translocation, Microbial interactions