بررسی تأثیر برخی عوامل زیستی بر گیاه‌پالایی سرب و جذب فسفر توسط اکالیپتوس (*Eucalyptus camaldulensis*)

سما کمال‌پور[۱]، بابک متشرع‌زاده[۲*]، حسینعلی علیخانی[۳] و مهدی زارعی[۴]

[۱] دانش‌آموختهٔ کارشناسی ارشد گروه علوم و مهندسی خاک دانشگاه تهران
[۲] استادیار گروه علوم و مهندسی خاک دانشگاه تهران
[۳] دانشیار گروه علوم و مهندسی خاک دانشگاه تهران
[۴] استادیار گروه مهندسی علوم خاک دانشگاه شیراز

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۱/۲؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۰/۲۲)

چکیده

سرب یکی از مهم‌ترین آلاینده‌های محیط‌زیست به‌شمار می‌آید که جذب عناصر غذایی توسط گیاه را مختل می‌کند. تحقیق حاضر با هدف بررسی پتانسیل برخی عوامل زیستی در گیاه‌پالایی سرب و جذب عناصر غذایی توسط اکالیپتوس در خاک آلوده به سرب انجام گرفت. تیمارها شامل سه سطح باکتری (B0، Ba105 و Ps36)، دو سطح قارچ (M0 و M1) و سه سطح سرب (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) بود. جدایه‌های باکتریایی مورد استفاده از جنس سودوموناس و باسیلوس و قارچ نیز از گونهٔ گلوموس موسه انتخاب شد. نتایج نشان داد، با افزایش غلظت سرب در خاک، جذب این عنصر توسط گیاه افزایش می‌یابد. تلقیح با باکتری باسیلوس Ba105 موجب افزایش معنی‌دار مقدار جذب سرب در اندام ریشه‌ای شد و این تیمار به افزایش ۵۵ و ۱۹/۵ درصدی مقدار جذب سرب به‌ترتیب نسبت به تیمار شاهد (بدون تلقیح) و تلقیح با باکتری سودوموناسPs36 انجامید. تلقیح گیاهان با قارچ میکوریزی نیز سبب افزایش ۲۳/۷ و ۴۴ درصدی مقدار جذب سرب در اندام هوایی و ریشه نسبت به شاهد شد. بیشترین مقدار جذب فسفر در غلظت صفر سرب بود و با افزایش مقدار سرب خاک، مقدار جذب فسفر در اندام هوایی و ریشه کاهش یافت. تلقیح با باکتری Ps36 و Ba105 همراه قارچ میکوریزی موجب افزایش مقدار فسفر و پتاسیم جذب‌شده در ریشه و اندام هوایی اکالیپتوس شد. همیاری ریزجانداران مفید (باکتری و قارچ) خاکزی، با گونه‌های درختی سریع‌الرشد و دارای زیست‌تودهٔ بالا، همچون اکالیپتوس می‌تواند موجب بهبود کارایی گیاه‌پالایی در شرایط تنش فلزات سنگین شود.

واژه‌های کلیدی: اکالیپتوس، زیست‌توده، قارچ میکوریزی، همیاری، *Pseudomonas*.

[*] نویسنده مسئول شماره تماس: ۰۲۶۳۲۲۳۱۷۸۷ Email: moteshare@ut.ac.ir

مقدمه و هدف

امروزه آلودگی محیط‌زیست از مسائل مهمی است که جوامع مختلف با آن مواجهند، آلودگی خاک به فلزات سنگین، یکی از مهم‌ترین مشکلات محیط‌زیستی در بسیاری از نقاط جهان به‌شمار می‌رود (Blaster *et al*., 2000). براساس داده‌های آژانس حفاظت محیط‌زیست، سرب، مهم‌ترین فلز آلاینده در محیط زیست است (Li *et al*., 2007) منابع عمدهٔ سرب، دود خروجی از اگزوز وسایل نقلیهٔ بنزین‌سوز، رنگ‌ها و پساب‌های خانگی و صنعتی است (Harrison & Laxen, 1977). جذب سرب به‌وسیلهٔ گیاهان و ورود آن به زنجیرهٔ غذایی، سلامت انسان و حیوانات را به‌طور جدی تهدید می‌کند (Li *et al*., 2007) . بعضی گیاهان مواد آلایندهٔ موجود در محیط را در خود جمع می‌کنند، این گیاهان از فرایندهای زیستی متنوع گیاهی و ویژگی‌های فیزیکی خود به کاهش و رفع آلودگی کمک می‌کنند (رضوانی و همکاران، ۱۳۸۴). گیاه‌پالایی یکی از روش‌های پالایش زیستی خاک‌هاست. در این روش از گیاهان مقاوم برای پالایش خاک‌های آلوده به ترکیبات آلی و معدنی استفاده می‌شود (Mattina *et al*., 2003). موفقیت در گیاه‌پالایی خاک‌های آلوده، به کافی بودن عملکرد گیاه و غلظت در اندام هوایی بستگی دارد. گونه‌های درختی سریع‌الرشد، با توجه به قابلیت زیست‌تودهٔ زیاد، سامانهٔ ریشهٔ گسترده و تعرق زیاد که همگی از عوامل مؤثر در موفقیت فرایند گیاه‌پالایی محسوب می‌شوند، گزینه‌های مناسبی برای این منظور به‌حساب می‌آیند (علی‌زاده و همکاران، ۱۳۹۰). جنس اکالیپتوس اهمیت خاصی از نظر کاربردهای مختلف دارد. اکالیپتوس پتانسیل زیادی در احیای زمین‌های بی‌حاصل و حتی زمین‌های غرقابی دارد (عصاره و شریعت، ۱۳۸۷) و به‌طور وسیعی برای تولید ماده خام صنایع چوبی و سوخت چوبی استفاده می‌شود، از طرفی دارای زیست‌تودهٔ بالا و سرعت رشد بالایی است. گونهٔ *Eucalyptus camaldulensis* یکی از مهم‌ترین آنهاست. به‌منظور افزایش کارایی گیاه‌پالایی می‌توان شرایط لازم برای این امر را بهبود بخشید. به تغییر شرایط، به‌منظور ارتقای کارایی گیاه‌پالایی، گیاه‌پالایی کمکی[1] گفته می‌شود که در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است. کاربرد فنون پیشرفته همچون استفاده از ریزسازواره‌های همزیست با گیاه، می‌تواند سبب افزایش کارایی گیاه‌پالایی، کاهش مدت زمان لازم برای زدودن آلودگی و توسعهٔ کاربرد آن شود (زارعی، ۱۳۸۷). باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) از طریق افزایش انحلال عناصر غذایی کم-محلول مانند فسفر، تولیدACC - دآمیناز، تولید هورمون‌های رشد گیاهی مانند اکسین، تثبیت نیتروژن و تولید سیدروفور (از دیدگاه افزایش قابلیت جذب آهن) به‌طور مستقیم (Ping & Boland, 2004) و از طریق رقابت برای جذب مواد و اشغال جایگاه‌های مناسب برای فعالیت پاتوژن‌ها، تولید آنتی‌بیوتیک، تولید سیدروفور (از دیدگاه خارج کردن عناصر از دسترس پاتوژن ها)، آنزیم‌های لیتیک و تولید سیانید هیدروژن به‌طور غیرمستقیم بر رشد گیاه اثر می‌گذارند (Schippers *et al*., 1990; Kloepper *et al*., 1980). همچنین، کلنیزه شدن گیاه به‌وسیلهٔ قارچ‌های میکوریز آربسکولار می‌توانند جذب و تجمع فلزات سنگین در اندام هوایی گیاه را افزایش دهد (Gohre & Paszkowski, 2006). قارچ‌های میکوریز آربسکولار در غیرمتحرک کردن فلزات در فریشه گیاه مؤثرند و با تجمع فلزات به شکل غیرسمی در ریشه‌های گیاه و میسلیوم‌های برون‌ریشه به تثبیت گیاهی کمک می‌کنند (Gohre & Paszkowski, 2006). قارچ‌ها از طریق غیرمتحرک کردن فلزات سنگین به‌وسیلهٔ ترشحات خود، رسوب آنها در گرانول‌های پلی‌فسفات و جذب سطحی فلزات روی دیوارهٔ سلولی، سمیت آنها را کاهش می‌دهند (Gohre & Paszkowski, 2006). با توجه به اینکه غلظت عناصر غذایی خاک و فراهمی

1. Active Phytoremediation

آنها، می‌تواند متأثر از فلزات سنگین باشد و از آنجا که افزایش غلظت فلزات سنگین در خاک به کاهش جذب عناصر غذایی برای رشد گیاه می‌انجامد، تحقیق حاضر با هدف بررسی نقش باکتری‌های محرک رشد گیاه و قارچ میکوریزی، در افزایش کارایی گیاه‌پالایی و جذب عناصر غذایی (فسفر و پتاسیم) و پتانسیل گیاه‌پالایی سرب توسط اکالیپتوس در شرایط تنش فلز سنگین سرب انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

- تهیهٔ نهال‌های اکالیپتوس

به‌منظور اجرای پژوهش، نهال‌های یکساله و یکدست حاصل از بذر پایهٔ مادری یکسان، هدف‌گذاری شدند. سپس اکالیپتوس گونهٔ کامالدولنسیس (*Eucalyptus Camaldulensis*) با متوسط ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر ، قطر ساقهٔ چهار میلی‌متر و تعداد ۳۰برگ، از نهالستان وفایی شرکت بهارآوران کویر واقع در استان قم انتخاب و تهیه شد. نهال‌های تهیه‌شده به گلخانهٔ پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران منتقل و به مدت بیست روز برای سازگاری با شرایط جدید، در آنجا نگهداری شدند.

- تهیهٔ خاک

خاک مورد استفاده برای کشت نهال اکالیپتوس از مزرعه تحقیقاتی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران واقع در دولت‌آباد کرج با مختصات جغرافیایی ۳۵ درجه و ۴۸ دقیقهٔ عرض شمالی و ۵۱ درجه و ۱۰ دقیقهٔ طول شرقی و ارتفاع ۱۳۱۲ متر از سطح دریا از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متری تهیه شد و پس از هواخشک شدن و عبور از الک دو میلی‌متری برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن (جدول ۱) بر اساس روش‌های استاندارد اندازه‌گیری شد (امامی، ۱۳۷۵).

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد بررسی

پتاسیم قابل جذب (mg/kg)	نیتروژن کل (٪)	ماده آلی (٪)	CEC ($cmol_c/kg$)	کلاس بافتی	EC (dSm^{-1})	pH
۲۰۶/۷۸	۰/۱۴۶	۱/۳۰	۲۶	لوم رسی	۳/۳	۸/۲
فسفر قابل جذب	کادمیوم قابل جذب (mg/kg)	سرب قابل جذب	مس قابل جذب	روی قابل جذب	آهن قابل جذب	منگنز قابل جذب
۷/۸۱	۰/۰۲	۱/۶۱	۲/۰۶	۱/۲۸	۸/۰۳	۲۶/۵۴

- اعمال آلودگی و گرماگذاری[1]

خاک هواخشک پس از عبور از الک چهار میلی‌متری در گلدان‌های پلاستیکی چهار کیلوگرمی توزیع شد. با توجه به سینی‌های نگهدارندهٔ گلدان‌ها در گلخانهٔ هشت‌دستگاه پردیس که با نور طبیعی نیاز گیاهان را تأمین می‌کند، حجم چهار کیلوگرمی خاک در گلدان‌ها کافی به‌نظر می‌رسد، ضمن آن که به منظور جلوگیری از رقابت بین ریشه‌ها یا تنش ناشی از محدودیت حجم ریشه‌ها در این فضا، نیاز کودی در طول دورهٔ داشت با استفاده از کود کاملاً محلول در آب NPK تأمین شد. با توجه به بررسی منابع و تحقیقات انجام گرفته (Pandey *et al*., 2007; Ashraf *et al*., 2011) و نیز سطوح متوسط آلودگی که در کاربرد فناوری گیاه‌پالایی اهمیت دارند، آلودگی خاک با نمک کلراید سرب ($PbCl_2.H_2O$)، در سه سطح صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم سرب در کیلوگرم خاک انجام گرفت. مقادیر ذکرشده نمک سرب، توزین و پس از حل شدن در ۲۰۰ سی سی آب مقطر، از طریق پاشش روی خاک، به نحوی که ایجاد آلودگی تا حد ممکن به‌صورت یکنواخت در لایه لایهٔ خاک باشد، انجام گرفت (Motesharezadeh & Savaghebi, 2010). به‌دلیل آلوده کردن خاک‌ها به‌طور مصنوعی و برای

1. Incubation

نزدیک شدن به شرایط طبیعی و ایجاد تعادل در خاک، گلدان‌های آلوده‌شده به مدت پنج ماه در دمای ۲۵ درجهٔ سلسیوس در شرایط گرماگذاری قرار گرفتند (Yizong *et al*., 2009). در طول گرماگذاری، با توجه به خشک شدن خاک سطحی گلدان‌ها، آبیاری با آب مقطر، در حد ظرفیت مزرعه انجام گرفت و به املاح خاک اجازه داده شد تا با عمل آبیاری به عمق گلدان بروند و با انجام عمل تبخیر به سطح خاک انتقال یابند و بدین ترتیب در کل خاک به‌طور یکنواخت توزیع شوند.

- انتخاب جدایه‌های برتر باکتریایی برای کشت گلخانه‌ای

به‌منظور انتخاب جدایه‌های برتر باکتریایی، شش جدایه از بانک ژن گروه مهندسی علوم خاک پردیس کشاورزی و منابع‌طبیعی دانشگاه تهران تهیه شد. جدایه‌ها شامل سه سویه سودوموناس (Ps36,Ps448, Ps28)، دو سویه باسیلوس (Ba105, Ba20) و یک سویه میکروکوکوس (Mi159) بود. سپس آزمون‌های مربوط به خصوصیات محرک رشد گیاه (PGPR) و مقاومت به فلز سنگین سرب (MIC) روی آنها انجام گرفت. آزمون‌های مربوط به PGPR، شامل آزمون نیمه‌کمی توان انحلال فسفات‌های معدنی (Sperber, 1958)، آزمون نیمه‌کمی توان تولید سیدروفور (Alexander & Zuberer, 1991)، آزمون توان تولید سیانید هیدروژن (Donate *et al*., 2004) و آزمون کمی توان تولید هورمون ایندول استیک اسید (IAA) (Patten & Glick, 2002) بود. برای اجرای آزمون MIC از محیط کشت جامد (NA) و مایع (NB) حاوی مقادیر مختلف سرب (۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰، ۵۰۰، ۶۰۰، ۷۰۰، ۸۰۰، ۹۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) به شکل کلراید سرب ($PbCl_2 . H_2O$) با درصد خلوص ۹۸ درصد) استفاده شد. سپس تغییرات قطر کلنی‌ها در محیط جامد و OD در محیط مایع، بررسی شد. غلظتی از فلزات سنگین که در آن باکتری قادر به رشد نبود، به‌عنوان حداقل غلظت بازدارنده در نظر گرفته شد (Washington & Shutter, 1980). پس از انجام دادن آزمون‌های (MIC) و (PGPR)، در نهایت دو جدایهٔ برتر (Ba105 و Ps36) از نظر خصوصیت محرک رشد و مقاومت به فلز سرب، برای کشت گلخانه‌ای انتخاب شد. زادمایهٔ قارچ *گلوموس موسهٔ* مورد استفاده در کشت گلخانه‌ای، با استفاده از روش کشت تله‌گلدانی با گیاه تله‌ای سورگوم علوفه‌ای تهیه شد (Lee *et al*., 2006).

- کشت گلخانه‌ای

کشت گلخانه‌ای به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار فاکتور، در چهار تکرار، با ۷۲ گلدان اجرا شد. فاکتورهای آزمایش شامل ۱) یک رقم نهال اکالیپتوس گونهٔ *کاماldولنسیز*، ۲) قارچ میکوریزی آربوسکولار در دو سطح M0 (شاهد) و M1 (*گلوموس موسه*)، ۳) باکتری PGPR در سه سطح B_0 (شاهد)، B_1 (*Bacillus Mycoides*)، B_2 (*Pseudomonas florescence 36*)، و ۴) سرب در سه سطح Pb_0 (صفر)، Pb_{50} (۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) و Pb_{100} (۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) بود. در زمان آغاز کشت گلخانه‌ای، در هر گلدان تعداد یک نهال اکالیپتوس کاشته شد. به منظور اعمال تیمار قارچ میکوریزی آربوسکولار، مقدار ۶۰ گرم زادمایه در اطراف ریشه‌های نهال پخش شد و مقدار ده سی سی از زادمایه باکتری با جمعیت 10^8 cfu/ml مایه‌زنی و روی آنها با خاک پوشانده شد. به مدت پنج ماه، در شرایط کنترل‌شده عملیات داشت انجام گرفت و گیاهان در گلخانه با شرایط طبیعی در دمای بیشینهٔ ۲۸ درجهٔ سانتی‌گراد و کمینهٔ ۱۵ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شدند. طی این مدت، آبیاری گلدان‌ها تا ۷۰ درصد رطوبت ظرفیت مزرعه با آب مقطر انجام گرفت. پس از دورهٔ کشت پنج ماهه، گیاهان برداشت شده و اندام هوایی و ریشه به‌طور جداگانه جمع‌آوری شد. مقدار یک تا دو گرم از ریشه‌های تازه در الکل ۵۰ درصد (V/V) نگهداری شد و سپس با استفاده از روش تقاطع خطوط شبکه درصد کلونیزاسیون ریشه

محاسبه شد (Kormanik & McGraw, 1982). اندام‌های هوایی و ریشه‌ای اکالیپتوس، داخل آون در دمای ۶۵ درجهٔ سلسیوس به مدت ۷۲ ساعت خشک و سپس آسیاب شدند. از روش اکسیداسیون تر برای عصاره‌گیری نمونه‌ها استفاده شد. در این روش یک گرم از مادهٔ خشک آسیاب‌شده، با پنج میلی‌لیتر اسید نیتریک غلیظ مخلوط شد و دما به‌آرامی به ۴۲۰ درجهٔ سلسیوس افزایش یافت تا بیشتر اسید تبخیر شود، پس از سرد شدن نمونه‌ها پنج میلی‌لیتر مخلوط سه اسید (شامل نسبت حجمی ۱۰:۴:۱ از اسید سولفوریک: اسید پرکلریک: اسید نیتریک) به آن اضافه شد و دوباره حرارت داده شد تا مایع زلالی به‌دست آید. در انتها پنج میلی‌لیتر اسید کلریدریک شش نرمال به آن اضافه شده و در بالن ۱۰۰ میلی‌لیتری صاف شد و به حجم رسید (Ryan & Rashid, 2001). مقادیر عناصر سرب (با دستگاه جذب‌اتمی مدل A-670 (Shimadzu, Japan)، فسفر (با اسپکتروفتومتر مدل Schimadzo UV-3100) و پتاسیم (با فلیم‌فتومتر مدل ELEA) در عصارهٔ تهیه شده تعیین شد. فاکتور انتقال[1] (TF) و نسبت پالایش[2] (RR) نیز با استفاده از روابط زیر محاسبه شد (Marchiol *et al.*, 2004; Awokunmi *et al.*, 2012).

رابطه ۱

$$\text{فاکتور انتقال} = \frac{\text{غلظت عنصر در اندام هوایی}}{\text{غلظت عنصر در ریشه}}$$

رابطه۲

$$\text{نسبت پالایش} = \left(\frac{\text{وزن خشک اندام هوایی}}{\text{وزن خاک گلدان}} \times \frac{\text{غلظت عنصر در اندام هوایی}}{\text{غلظت عنصر در خاک}}\right) \times 100$$

- تجزیهٔ آماری

داده‌ها با نرم‌افزار SAS تجزیه شدند و مقایسهٔ میانگین‌ها نیز با روش آزمون چنددامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال پنج درصد به وسیلهٔ نرم‌افزار MSTAT-C محاسبه شد.

نتایج

- عوامل زیستی

- آزمون PGPR و MIC

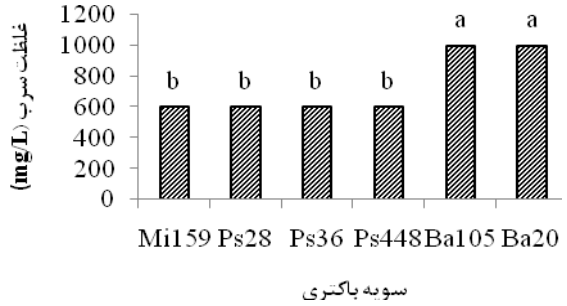
نتایج به‌دست‌آمده برای آزمون‌های خصوصیات محرک رشدی جدایه‌های باکتریایی نشان داد هر دو جدایهٔ Ba105 و Ps36، توانایی تولید IAA در محیط LB (حاوی پیش‌مادهٔ ال- تریپتوفان) و انحلال فسفات نامحلول معدنی در محیط اسپربر را داشتند، ولی توانایی تولید HCN را نداشتند ولی جدایهٔ Ps36 قادر به تولید سیدروفور بود. رنگ‌آمیزی گرم نشان داد که جدایهٔ سودوموناس گرم منفی و جدایهٔ باسیلوس گرم مثبت است. نتایج مربوط به تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده، نشان داد که هر دو جدایهٔ Ps36 و Ba105 به فلز سرب مقاومند، ولی مقاومت جدایهٔ Ba105 بیشتر بود، به‌طوری‌که تا غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم سرب در لیتر توانایی رشد داشت (شکل ۱).

- درصد کلنیزاسیون ریشه

نتایج حاصل از تجزیهٔ واریانس داده‌ها نشان داد که تیمار فلز سنگین و سطوح مختلف عامل‌های زیستی به‌صورت معنی‌داری درصد کلونیزاسیون ریشه اکالیپتوس را تحت تأثیر قرار دادند (جدول ۲).

نتایج مقایسهٔ میانگین با آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد نشان داد که بیشترین مقدار درصد کلنیزاسیون مربوط به سطح شاهد یا صفر فلز سرب بود و افزایش غلظت فلز در خاک به صورت معنی‌داری درصد کلنیزاسیون ریشه را کاهش داد. نتایج نشان داد که تلقیح با باکتری *Pseudomonas* 36 و قارچ میکوریز آربوسکولار تاثیر معنی‌داری روی این شاخص داشت و به‌صورت معنی‌داری درصد کلنیزاسیون ریشه را نسبت به شاهد افزایش داد. باکتری Ps36 درصد کلونیزاسیون ریشه را نسبت به شاهد ۲۷ درصد افزایش داد (جدول ۳).

1. Translocation Factor
2. Remediation Ratio



شکل ۱- حداقل غلظت بازدارندهٔ رشد سرب برای جدایه‌های باکتری
حروف مشترک نشان‌دهندهٔ نبود اختلاف معنی دار است.

جدول ۲- نتایج تجزیهٔ واریانس تأثیر و کارایی عامل‌های زیستی باکتریایی و قارچ میکوریزی در تیمار فلز سنگین سرب بر درصد کلنیزاسیون و مقدار جذب عناصر غذایی توسط اکالیپتوس

		F-value						
	درجهٔ آزادی	درصد کلونیزاسیون	سرب اندام هوایی	سرب ریشه	پتاسیم اندام هوایی	فسفر ریشه	TF	RR
غلظت فلز (C)	۲	۸۹/۰۸**	۲۸۵/۴۰**	۲۲۶/۶۲**	۱۰/۰۲**	۲۴/۶۱**	۸/۲۵**	۲۰/۲۲**
باکتری (B)	۲	۶/۶۹**	۲۳/۲۶**	۱۱/۸۳**	۵/۴۹**	۱۲/۵۸**	۵/۳۹**	۱۰/۴۱**
قارچ میکوریزی (M)	۱	۱۸۳۰/۶۱**	۸/۴۰**	۲۶/۹۶**	۰/۵۵ns	۱۰/۳۹**	۰/۲۲ns	۲/۳۱ns
C×B	۴	۰/۲۴ns	۱۴/۸۳**	۱۰/۵۸**	۲/۱۰ns	۰/۹۲ns	۱/۱۳ns	۴/۱۱**
C×M	۲	۶/۶۹**	۳/۹۸**	۱۰/۱۸**	۲/۵۷ns	۷/۶۷**	۱/۲۴ns	۰/۶۸ns
M×B	۲	۸۹/۰۸**	۱/۳۵*	۳/۱۳ns	۳/۱۵ns	۱۱/۵۲**	۰/۰۳ns	۱/۳۴ns
C×B×M	۴	۰/۲۴ns	۰/۹۷ns	۴/۳۹**	۲/۶۲*	۱۰/۷۰**	۰/۶۵ns	۰/۴۲ns
ضریب تغییرات		۱۱/۴۰	۳۱/۷۵	۳۰/۶۵	۱۹/۶۷	۳۸/۳۲	۵۷/۳۷	۴۹/۲۵
خطا	۵۱							

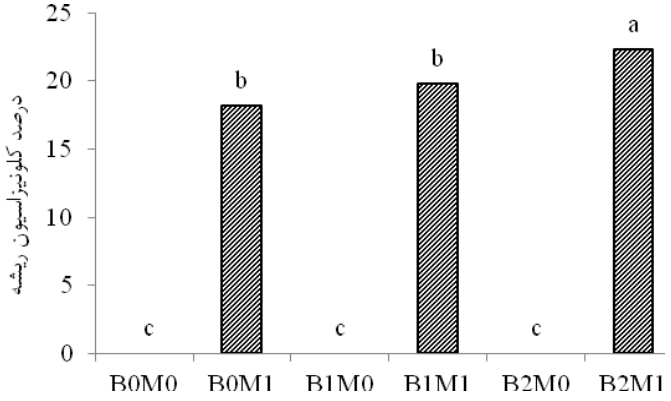
**معنی‌دار در سطح یک درصد، *معنی‌دار در سطح پنج درصد و ns غیر معنی‌دار

جدول ۳- مقایسهٔ میانگین تأثیرات مستقل غلظت و تلقیح با عوامل زیستی بر درصد کلنیزاسیون و مقدار جذب عناصر غذایی توسط اکالیپتوس

	درصد کلنیزاسیون	سرب (µg/plant)		فسفر (mg/plant)	
		اندام هوایی	ریشه	اندام هوایی	ریشه
غلظت فلز سنگین (C)					
شاهد	۱۳/۲۵a	۶/۰۷c	۲۲/۵c	۱۶/۸۷a	۷/۳۳a
۵۰mg/kg سرب	۱۱/۰۸b	۸۰/۷۷b	۲۳۳/۰b	۱۳/۵۶b	۴/۵۵b
۱۰۰ mg/kg سرب	۵/۷۹c	۲۳۹/۰a	۴۸۹/۷a	۱۳/۴۸b	۳/۴۸b
باکتری (B)					
شاهد (بدون تلقیح)	۹/۰۸b	۷۰/۰۷b	۱۹۳/۴c	۷/۲۶c	۴/۹۸b
Ba105	۹/۸۷b	۱۳۴/۱۰a	۳۰۰/۱a	۱۴/۰۳b	۳/۷۷c
Ps36	۱۱/۱۷a	۱۲۱/۷a	۲۵۱/۷b	۲۲/۶۳a	۶/۶۰a
قارچ (M)					
شاهد (بدون قارچ)	۰b	۹۶/۸۳b	۲۰۱/۸۰b	۱۳/۵۲b	۴/۳۷b
تلقیح با قارچ میکوریزی	۲۰/۰۸a	۱۲۰/۴۰a	۲۹۴/۹۹a	۱۵/۷۵a	۵/۸۶a

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصدند.

نتایج مقایسه میانگین تأثیرات متقابل باکتری در قارچ نیز نشان داد که بیشترین مقدار درصد کلنیزاسیون مربوط به تیمار باکتری Ps36 و تلقیح با قارچ میکوریزی بود و اختلاف معنی‌داری بین باکتری Ba105 و فاقد باکتری با تلقیح میکوریزی مشاهده نشد. کمترین مقدار این شاخص به تیمارهای فاقد تلقیح میکوریزی اختصاص داشت (شکل ۲).



شکل۲- تأثیرات متقابل تیمار باکتریایی در قارچ میکوریزی بر درصد کلنیزاسیون ریشه

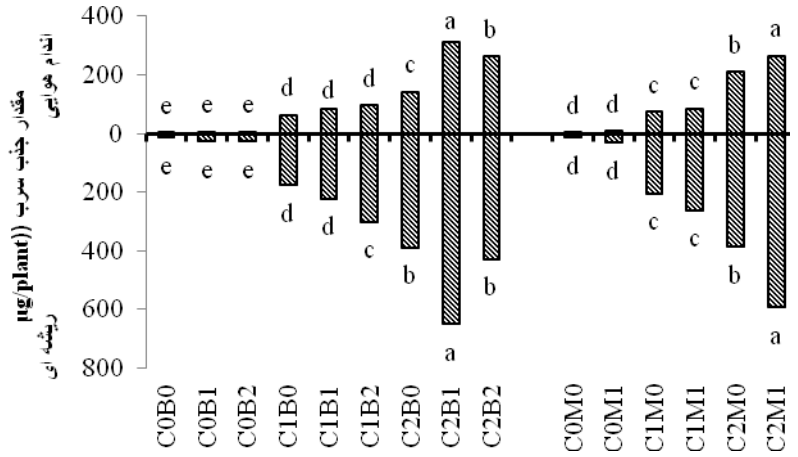
B0: فاقد باکتری، B1: باکتری Ba105، B2: باکتری Ps36 ، M0: فاقد تلقیح میکوریزی، M1: تلقیح میکوریزی

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصدند.

- جذب سرب و عناصر غذایی توسط اکالیپتوس

- مقدار سرب در اندام هوایی و ریشه

نتایج تجزیهٔ واریانس نشان داد که افزایش غلظت سرب در خاک تأثیر معنی‌داری روی مقدار جذب سرب در اندام هوایی و ریشه دارد ($P<0.01$). تلقیح گیاهان با باکتری‌های محرک رشد و قارچ میکوریزی نیز مقدار جذب سرب در اندام هوایی و ریشه را در سطح احتمال یک درصد تحت تاثیر قرار داد (جدول۲). براساس نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول۳)، با افزایش مقدار سرب در خاک، مقدار آن در اندام هوایی و ریشه افزایش یافت و مقدار افزایش آن نسبت به تیمار شاهد برای اندام هوایی و ریشه به‌ترتیب ۴۰ و ۲۲ برابر بود. تلقیح با باکتری Ba105 سبب افزایش معنی‌دار مقدار جذب سرب در ریشه شد و این تیمار به افزایش ۵۵ و ۱۹/۵ درصدی مقدار جذب سرب به‌ترتیب نسبت به تیمار شاهد (بدون تلقیح) و تلقیح با باکتری Ps36 انجامید. تلقیح گیاهان با قارچ میکوریزی نیز روی مقدار جذب سرب اندام هوایی و ریشه معنی‌دار بود، به‌طوری‌که موجب افزایش ۲۳/۷ و ۴۴ درصدی مقدار جذب سرب در اندام هوایی و ریشه شد (جدول ۳). تأثیرات متقابل دوگانه نشان داد (شکل۳) که بیشترین مقدار جذب سرب در اندام هوایی و ریشه در تیمار تلقیح با قارچ میکوریزی و غلظت سطح ۱۰۰ سرب (C2M1) در خاک مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت ($P<0.05$). تیمار تلقیح با باکتری Ba105 در سطح ۱۰۰ سرب (C2B1) در خاک دارای بیشترین مقدار جذب سرب در اندام هوایی و ریشه بود و این تیمار مقدار جذب را در اندام هوایی و ریشه به‌ترتیب ۷۸ و ۵۰ برابر افزایش داد (شکل ۳).

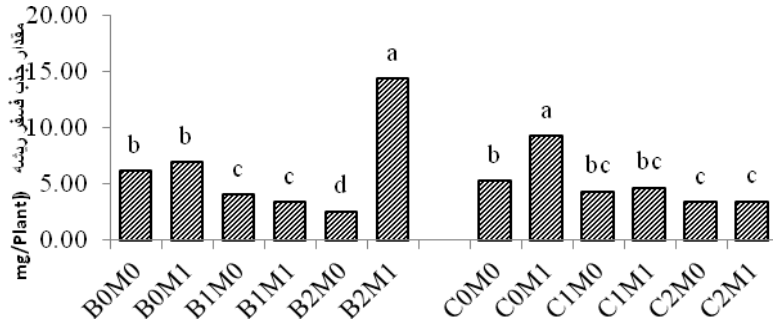


شکل ۳- تأثیرات متقابل تلقیح عامل‌های زیستی در غلظت سرب خاک بر مقدار جذب سرب در گیاه

B0: فاقد باکتری، B1: باکتری Ba105، B2: باکتری Ps36، C0: سطح صفر سرب، C1: سطح ۵۰ سرب،
C2: سطح ۱۰۰ سرب، M0: فاقد تلقیح میکوریزی، M1: تلقیح میکوریزی
میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصدند.

- فسفر اندام هوایی و ریشه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که هر سه عامل غلظت فلز سنگین سرب، باکتری و تلقیح قارچ میکوریزی به‌صورت معنی‌داری مقدار جذب فسفر در اندام هوایی و ریشه را تحت تأثیر قرار دادند ($P<0.01$) (جدول ۲). نتایج مندرج در جدول ۳ نشان می‌دهد که تیمار شاهد سرب، دارای بیشترین مقدار جذب فسفر در اندام هوایی و ریشه بود و با افزایش مقدار سرب خاک، مقدار جذب فسفر در اندام هوایی و ریشه کاهش یافت. تلقیح با باکتری Ps36 و همچنین قارچ میکوریزی موجب افزایش مقدار فسفر جذب‌شده در ریشه و اندام هوایی، نسبت به تیمار شاهد شد (جدول ۳). اثر متقابل غلظت سرب در باکتری و همچنین اثر متقابل تلقیح قارچ میکوریزی در تلقیح باکتریایی روی مقدار جذب فسفر ریشه معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسهٔ میانگین‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد نشان داد که بیشترین مقدار جذب فسفر در ریشه به‌ترتیب مربوط به تیمارهای باکتری Ps36 و تلقیح میکوریزی (B_2M1) و سطح صفر فلز سرب در خاک و تلقیح میکوریزی ($C0M_1$) است (شکل ۴).



شکل ۴- تأثیرات متقابل تیمار تلقیح با باکتری در قارچ میکوریزی و تلقیح میکوریزی در غلظت سرب خاک بر مقدار جذب فسفر ریشه

B0: فاقد باکتری، B1: باکتری Ba105، B2: باکتری Ps36، C0: سطح صفر سرب، C1: سطح ۵۰ سرب،
C2: سطح ۱۰۰ سرب، M0: فاقد تلقیح میکوریزی، M1: تلقیح میکوریزی
میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصدند.

- فاکتور انتقال و نسبت پالایش

نتایج نشان داد با افزایش مقدار سرب در خاک فاکتور انتقال افزایش یافت و با افزایش غلظت سرب از صفر به ۱۰۰، فاکتور انتقال سه برابر شد. بیشترین مقدار نسبت پالایش سرب در تیمار شاهد فلز به‌دست آمد، اما این تیمار اختلاف معنی‌داری با تیمار ۱۰۰ سرب در خاک نداشت. تلقیح گیاهان با باکتری Ps36 موجب افزایش معنی‌دار فاکتور انتقال سرب در گیاه نسبت به شاهد و باکتری Ba105 شد، درحالی که تلقیح گیاهان با باکتری Ba105 بیشترین تأثیر را در افزایش نسبت پالایش در خاک داشت و اختلاف آن با دیگر تیمارها معنی‌دار بود (جدول ۴).

جدول ۴- مقایسهٔ میانگین تأثیرات مستقل غلظت سرب و تلقیح با باکتری روی فاکتور انتقال و نسبت پالایش

	فاکتور انتقال	نسبت پالایش سرب (٪)
غلظت فلز سنگین (C)		
شاهد	۰/۰۱c	۰/۱۹a
۵۰mg/kg سرب	۰/۰۲b	۰/۰۹b
۱۰۰ mg/kg سرب	۰/۰۳a	۰/۱۸a
باکتری (B)		
شاهد (بدون تلقیح)	۰/۰۱۷b	۰/۱۲b
Ba105	۰/۰۲۲b	۰/۲۰a
Ps36	۰/۰۲۹a	۰/۱۴b

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصدند.

بحث

نتایج مربوط به آزمون‌های زیستی نشان داد، سویه‌های باکتریایی Ps36 و Ba105 از نظر خصوصیات محرک رشد و مقاومت به فلز سنگین سرب، برتری محسوسی نسبت به دیگر سویه‌ها داشتند. رنگ‌آمیزی گرم نشان داد سویهٔ Ps36 گرم منفی و سویهٔ Ba105 گرم مثبت است، باکتری‌های گرم مثبت به‌دلیل ساختار دیوارهٔ سلولی ساده‌تر، کنترل کمتری نسبت به ورود مواد خارجی نشان می‌دهند، در صورتی که باکتری‌های گرم منفی دیوارهٔ سلولی، ساختار پروتئینی پیچیده‌تری دارند و بنابراین ورود و جذب آلاینده‌های معدنی موجود در محیط بیرونی این باکتری‌ها، از جمله فلزات سنگین، با کنترل بیشتر و به مقدار کمتری صورت می‌گیرد. تحمل به فلزات سنگین در باکتری‌ها اغلب شامل اتصال فلزات توسط دیوارهٔ سلولی یا پروتئین‌ها و پلیمرهای خارج‌سلولی، تشکیل سولفیدهای نامحلول فلز، تصعید و افزایش خروج از سلول است (Malik, 2004). در میان باکتری‌های محرک رشد گیاه، باکتری‌های جنس *سودوموناس* به‌دلیل توزیع گسترده در خاک، توانایی کلونیزاسیون در فراریشهٔ بسیاری از گیاهان و تولید دامنه متنوعی از متابولیت‌ها، اهمیت ویژه‌ای دارند (Suresh *et al.*, 2010). نتایج بررسی مقدار کلونیزاسیون ریشه بیانگر تأثیر تلقیح قارچ میکوریزی و باکتری در افزایش درصد کلونیزاسیون ریشه بود (جدول۳ و شکل ۲). Bafel (2008) نشان داد که گیاهان تلقیح‌شده با قارچ میکوریزی درصد کلونیزاسیون بیشتری از گیاهان تلقیح‌نشده داشتند. وی همچنین بیان کرد، با افزایش غلظت فلزات سنگین، درصد کلونیزاسیون قارچ میکوریز آربسکولار (AMF) به‌صورت معنی‌داری کاهش یافت. نتایج نشان داد که افزایش غلظت سرب در خاک، مقدار جذب فسفر در اندام هوایی و ریشه را کاهش داد، ولی موجب افزایش مقدار جذب پتاسیم

شد (جدول ۳، شکل‌های ۴ و ۵). افزایش غلظت فلزات سنگین در خاک جذب عناصر غذایی برای رشد گیاه را کاهش می‌دهد که ممکن است به‌دلیل ممانعت از فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز باشد که از طریق تنش فلز سنگین ایجاد می‌شود (Di *et al*., 2006). غلظت عناصر غذایی خاک و فراهمی آنها، متأثر از فلزات سنگین است، که جذب عناصر غذایی توسط گیاهان را تحت تأثیر قرار داده و مقدار عناصر در اندام هوایی را کاهش می‌دهد. نتایج نشان می‌دهد غلظت فسفر در خاک با افزایش غلظت سرب کاهش می‌یابد که می‌تواند به ترسیب احتمالی فسفر با فلزات اضافه‌شده نسبت داده شود (Ma *et al*., 1997). ریزسازواره‌های خاک در پاره‌ای از فرآیندها دخالت دارند که تغییر شکل فسفر و در نهایت فراهمی آن برای گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. نمونه‌های متنوعی از ریزسازواره‌ها قادر به رهاسازی فسفر از منابع رسوب‌یافته فسفر گزارش شده‌اند. از میان آنها غالب‌ترین گونه‌ها متعلق به جنس باسیلوس، سودوموناس، پنی سیلیوم و آسپرژیلوس است (Fageria, 2009). افزایش مقدار فسفر در اندام هوایی در تیمارهای میکوریزی ممکن است ناشی از تمایل زیاد به سازوکارهای جذب فسفر، سطح جذب وسیع هیف‌های قارچی، تولید اسیدهای آلی و افزایش قابلیت دسترسی عناصر غذایی باشد (Sheng & Xia, 2006; Hofer, 1996). رضوانی و همکاران (۱۳۸۶) تأثیر گونه‌های مختلف قارچ‌های میکوریزی را بر رشد و جذب عناصر معدنی گیاه یونجه بررسی کردند و نتیجه گرفتند که از بین گونه‌های مختلف قارچ‌های میکوریزی گونهٔ *G. mosseae* توانسته است جذب و انتقال عناصر فسفر، روی و پتاسیم را در سطح معنی‌دار، در گیاه یونجه افزایش دهد. در کشت شبدر قارچ میکوریزی *G. mosseae* از طریق افزایش معنی‌دار جذب فسفر و نیتروژن وزن علوفهٔ تولیدی را افزایش داد. نتایج نشان داد با افزایش غلظت سرب در خاک، مقدار جذب آن نیز، در اندام هوایی و ریشه اکالیپتوس افزایش یافت (جدول ۳). براساس نتایج به‌دست‌آمده مقدار جذب سرب در ریشه بیشتر از اندام هوایی بود، که نشان‌دهندهٔ عدم انتقال این فلز از ریشه به اندام هوایی است. تثبیت فلز در ریشه و ممانعت از انتقال آن به اندام هوایی، یا تبدیل به ترکیبات کم‌خطر و گازی، از جمله سازوکارهای گیاه در مواجهه با آلودگی فلزات سنگین است (Prasad, 2004). Shanker *et al*. (2006) بیان کردند که تجمع فلز در ریشه‌ها به‌طور معمول بسیار بیشتر از اندام‌های هوایی است که ممکن است به‌دلیل سکوستره کردن در واکوئل‌ها و سلول‌های ریشه باشد و به‌عنوان سازوکار سمیت‌زدایی در نظر گرفته می‌شود. Yancheshmeh *et al*. (2011) نشان دادند که جذب سرب در ریشه‌ها بیشتر از اندام هوایی گیاهان رشدکرده در تیمارهای فلزات سنگین بود. بر اساس گزارش علی‌زاده و همکاران (۱۳۹۰)، روند انباشت سرب در اندام‌های مختلف نهال‌های سپیدار و تبریزی به‌صورت ریشه > ساقه/ شاخه > برگ بود، یعنی بیشترین انباشت در ریشه اتفاق افتاد که علت آن می‌تواند تحرک و حلالیت کم سرب، حتی در غلظت‌های زیاد باشد (Marin *et al*., 2009). نتایج نشان داد با افزایش غلظت سرب در خاک، مقدار فاکتور انتقال نیز افزایش یافت و تیمار ۱۰۰mg/kg سرب دارای بیشترین مقدار فاکتور انتقال (TF=۰/۰۳) بود (جدول ۴). مقدار فاکتور انتقال بالاتر بیان می‌کند که گیاه می‌تواند سرب را از خاک بگیرد و با بازده بالایی در اندام هوایی ذخیره کند (Zhou & Sheng, 2004). *E. Camaldulensis* گیاه بیش‌اندوز نیست با این‌حال غلظت‌های زیاد سرب را در بافت‌های خود نسبت به خاک تجمع می‌دهد (Nenman *et al*., 2012). گیاه‌پالایی خاک‌های آلوده، روش نسبتاً جدید و با مزایای خاص است و از طریق همیاری بین گیاه و ریزجانداران مفید (باکتری و قارچ) می‌توان محدودیت‌های آن را برطرف کرد و موجب ارتقای کارایی آن شد، ضمن آنکه می‌توان از برخی گیاهان با تولید زیست‌توده بالا، سریع‌الرشد و دارای ریشه‌های عمیق، همچون اکالیپتوس، از طریق فرایند ریشه صافی یا تثبیت ریشه آلاینده، از انتشار فلزات سنگین در محیط جلوگیری کرد. به‌طورکلی نتایج نشان داد که

تلقیح با باکتری *Pseudomonas* 36 و قارچ میکوریز آربوسکولار تأثیر معنی‌داری بر درصد کلونیزاسیون ریشه نسبت به شاهد نشان داد. باکتری Ps36 درصد کلونیزاسیون ریشه را نسبت به شاهد ۲۷ درصد افزایش داد. تلقیح با باکتری Ba105 موجب افزایش معنی‌دار مقدار جذب سرب در ریشه شد و این تیمار به افزایش ۵۵ و ۱۹/۵ درصدی مقدار جذب سرب به‌ترتیب نسبت به تیمار شاهد (بدون تلقیح) و تلقیح با باکتری Ps36 انجامید. تلقیح گیاهان با قارچ میکوریزی نیز روی مقدار جذب سرب اندام هوایی و ریشه معنی‌دار بود، به‌طوری‌که موجب افزایش ۲۳/۷ و ۴۴ درصدی مقدار جذب سرب در اندام هوایی و ریشه شد. با توجه به نتایج به‌دست آمده، گیاه اکالیپتوس همراه با عوامل زیستی توانایی پاکسازی و پالایش خاک‌های آلوده به سرب را دارد.

سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت مالی بنیاد ملی نخبگان و در قالب موافقتنامه طرح پژوهشی گیاه‌پالایی به شمارهٔ ۸۳/۱۵۴۰ مورخ ۱۳۸۹/۲/۲۱ معاونت پژوهش و فناوری پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران اجرا شد که بدین‌وسیله سپاسگزاری می‌شود.

منابع

امامی، عاکفه، ۱۳۷۵. روش‌های تجزیه گیاه، نشریه شماره ۹۸۲، موسسهٔ تحقیقات خاک و آب، تهران، ایران، ۱۲۸ص.

رضوانی، محمد، محمدرضا اردکانی، فرهاد رجالی، قربان نورمحمدی، فائزه زعفریان و سعداله تیموری، ۱۳۸۶. تأثیر سویه‌های مختلف قارچ‌های میکوریزا روی ویژگی‌های ریشه و غلظت فسفر، پتاسیم، روی و آهن یونجه، دانش نوین کشاورزی، ۱۵(۵): ۶۶-۵۵.

رضوانی، محمد، قربان نورمحمدی و فائزه زعفریان، ۱۳۸۴. پاکسازی مواد آلایندهٔ خاک، آب‌های زیرزمینی و هوا بوسیلهٔ گیاهان (Phytoremediation)، مجلهٔ علوم کشاورزی، ۱۱(۱): ۲۵-۷.

زارعی، مهدی، ۱۳۸۷. بررسی تنوع قارچ‌های میکوریز آربسکولار در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین و کارایی آن‌ها در گیاه‌پالایی، رسالهٔ دکتری گروه مهندسی علوم خاک پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران، ۲۱۹ ص.

عصاره، محمد حسن و آناهیتا شریعت، ۱۳۸۷. بررسی مقاومت به شوری در مرحلهٔ جوانه‌زنی و رشد رویشی در چهار گونهٔ اکالیپتوس، مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ۶۸(۶): ۱۵۷-۱۴۵.

علی‌زاده، مهدی، قوام‌الدین زاهدی امیری، غلامرضا ثواقبی فیروزآبادی و وحید اعتماد، ۱۳۹۰. تاثیر بهبود شرایط خاک بر پاسخ‌های انباشت فلز کادمیوم در نهال‌های یکساله صنوبر، مجله جنگل ایران، ۴(۳): ۳۶۶-۳۵۵.

Alexander, D.B. & D. A. Zuberer, 1991. Use of chrome azurol S reagents to evaluate siderophore production by rhizosphere bacteria, *Biology and Fertility of Soils*, 12: 39-45.

Ashraf, M.Y., N. Azhar, M. Ashraf, M. Hussain & M. Arshad, 2011. Influence of lead on growth and nutrient accumulation in canola (*Brassica napus* L.) cultivars, *Journal of Environmental Biology*, 32: 659-666.

Awokunmi E. E., Asaolu S. S., Ajayi and O. A., Adebayo, 2012. The role of EDTA on heavy metals phytoectraction by *Jatropha gossypifolia* grown on soil collected from dumpsites in Ekiti state Nigeria. *British journal of Environmental & Climate change*, 2(2): 153-162.

Bafel, S., 2008. Contribution of Mycorrhizae in Phytoremediation of Lead Contaminated Soils by Eucalyptus rostrata Plants, *World Applied Sciences Journal*, 5(4): 490-498.

Blaster, P., S. Zimmermann, J. Luster & W. Shotyk, 2000. Critical examination of trace element enrichment and depletion in soils: As, Cr, Cu, Ni, Pb and Zn in Swiss forest soil, *Science of Total Environment*, 249: 257-280.

Di Gregorio, S., M., Barbafieri, S., Lampis, A.M., Sanangelantoni, E., Tassi and G., Vallini, 2006. Combined application of Triton X-100 and Sinorhizobium sp. Pb002 inoculum for the improvement of lead phytoextraction by *Brassica juncea* in EDTA amended soil. *Chemosphere*, 63, 293-299.

Donate-Correa, J., M. Leon-Barrios & R. Perez-Galdona, 2004. Screening for plant growth-promoting Rhizobacteria in *Chamuechtisus proliferus* (Tagasaste), a forage tree-shrub legume endemic to the Canary Island, *Plant & Soil*, 266: 261- 272.

Fageria, N.K., 2009. The use of nutrients in crop plants. CRC Press, Taylor & Francis Group, LLC. USA. New York.

Gohre, V. & U. Paszkowski, 2006. Contribution of the arbuscular mycorrhizal symbiosis to heavy metal phytoremediation. *Planta*, 223:1115-1122.

Harrison, R. M. & D.P.H. Laxen, 1977. A comparative study on methods for soil analysis of total lead in soil, *Water, Air, &, Soil Pollution*, 8: 387-392.

Hofer, R.M., 1996. Root hairs. In: Waisel Y, Eshel A, Kafkafi U (eds) Plant roots, The hidden half, Dekker, NewYork, 111– 126 pp.

Kloepper, J.W., J., Leong, M., Teuntze, and M.N. Schroth, 1980. Enhanced plant growth by siderophore produced by plant growth–promoting rhizobacteria, *Nature*, 286: 885-886.

Kormanik, P. P. and A. C. McGraw. 1982. Quantification of Vesicular-arbuscular Mycorrhizae in Plant Roots. In Methods and Principles of Mycorrhizal Research. Ed. N.C. Schenck. The American Phytopathological Society. pp. 37-36.

Lee, j., S.H. Park & A.H. Eom, 2006. Molecular Identification of Arbuscular Mycorrhizal Fungal Spores Collected in Korea, *Microbiology*, 34(1): 7-13

Li, T., E. Islam, X.,,Yang, D., Liu, X., Jin and F.Meng, 2007. Effect of Pb toxicity on root morphology, physiology and ultrastructure in the tow ecotype Elsholtzia argyi, *Journal of hazardous material*, 147: 806-816.

Ma, B.L., M.J. Morrison & L.M. Dwyer, 1997. Canopy light reflectance and field greenness to assess nitrogen fertilization and yield of maize, *Agronomy Journal*, 88: 915-920.

Malik, A., 2004. Metal bioremediation through growing cells, *Environment International*, 30: 261– 278.

Marchiol, L., S. Assolari, P. Sacco and G. Zerbi, 2004. Phytoextraction of heavy metals by canola and radish grown on multi-contaminated soil. *Environmental Pollution*, 132: 21-27.

Marin M., C., Varga L., Mihaly- Cozmuta A., Peter A.Mihaly- Cozmuta and D. Boltea, 2009. Evaluation of the phytoremediation potential of the populous tremula in tailing ponds, *Bulletin UASVM Agriculture*, 66(2):124-131.

Mattina, M.J.I., W. Lannucci-Berger, C. Musante & J.C. White, 2003. Concurrent plant uptake of heavy metal and persistent organic pollutants from soil, *Environmental Pollution*, 124: 375-378.

Motesharezadeh, B. & Gh.R. Savaghebi-Firoozabadi, 2010. Bioaccumulation and phyto-translocation of Nickel by *Medicago sativa* in a calcareous soil of Iran, *Desert*, 15: 61-69.

Nenman,V.D., N. Nimyel & I. Daniang-Ezekiel, 2012. The Potentials of Eucalyptus camaldulensis for the Phytoextraction of Six Heavy Metals in Tin – mined Soils of Barkin Ladi L.G.A. of Plateau State, Nigeria, *International Journal of Engineering Research and Applications*, 2(2): 346-349.

Pandey, S., K. Gupta & A.K. Mukherjee, 2007. Impact of cadmium and lead on *Catharanthus roseus* - A phytoremediation study, *Journal of Environmental Biology*, 28(3): 655-662.

Patten, C.L. & B.R. Glick, 2002. Role of *pseudomonas putida* indole acetic acid in development of host plant root system, *Applied and Environmental Microbiology*, 3795- 3801.

Ping, L.Y. & W. Boland, 2004. Signals from the underground: bacterial volatiles promote growth in Arabidopsis, *Trends in Plant Science*, 9: 263-266.

Prasad, M.N.V., 2004. Heavy metal stress in plant, Second Ed, Norosa publishing house, USA, 463 pp.

Ryan, J. & A. Rashid, 2001. Soil and Plant Analysis Laboratory Manual. Second Edition, Available from ICARDA, Aleppo, Syria, 172 pp.

Schippers, B., A.W. Bakker, P.A.H.M. Bakker & R. Vanpeer, 1990. Beneficial and deleterious effects of HCN-production pseudomonads on rhizosphere interaction, *Plant and Soil*, 129: 75-83.

Shankar Ganesh, K., P. Sundaramoorthy & A.L.A. Chidambaram, 2006. Chromium toxicity effect on blackgram, soybean and paddy, *Pollution Research*, 25(4): 257-261.

Sheng, X.F. & J.J. Xia, 2006. Improvement of rape (*Brassica napus*) plant growth and cadmium uptake by cadmium-resistant bacteria, *Chemosphere*, 64: 1036–1042.

Sperber, J.I., 1958. The incidence of apatite solubilizing organisms in the rhizosphere and soil, *Australian Journal of Agriculture Research*, 9(6): 778-781.

Suresh, A., P., Pallavi, P., Srinivas V.P.,, Kumar and S.J. Chandra. 2010. Plant growth promoting activities of fluorescent pseudomonads associated with some crop plants, *African Journal of Microbiology Research*, 4: 1491-1494.

Washington J. A. & V. L. Shutter, 1980. Dilution susceptibility test: agar and macro-broth dilution procedures. Manual of clinical microbiology. 3rd edn, ed. Lennette, E. H., Balows, A,. Hausler, W. J. Jr. & Truant, J. P. p 453-458.

Yancheshmeh, J.B., K. Khavazi, E. Pazira & M. Solhi, 2011. Evaluation of inoculation of plant growth-promoting rhizobacteria on cadmium and lead uptake by canola and barley, *African Journal of Microbiology Research*, 5(14): 1747-1754.

Yizong, H., H.U. Ying & L.I.U. Yunxia, 2009. Combined toxicity of copper and cadmium to six rice genotypes (*Oryza sativa* L.), *Journal of Environmental Sciences*, 21: 647-653.

Zhou, Q.X. & Y.F. Song, 2004. Principles and Method of Treating Contaminated Soil Remediation, Science Press, Beijing, 489 pp.

Effects of some biotic factors in lead phytoremediation and phosphorous uptake by Eucalyptus (*Eucalyptus Camaldulensis*)

S. Kamalpour[1], B. Motesharezadeh[2*], H. A. Alikhani[3], and M. Zarei[4]

[1] M.Sc. Graduated, Soil Science Engineering Department, University of Tehran, I. R. Iran
[2] Assistant Prof., Soil Science Engineering Department, University of Tehran, I. R. Iran
[3] Associate Prof., Soil Science Engineering Department, University of Tehran, I. R. Iran
[4] Assistant Prof., Soil Science Engineering Department, Agriculture Faculty, Shiraz University, I. R. Iran

(Received: 22 January 2013; Accepted: 12 January 2014)

Abstract

Lead is one of the most important environmental pollutants which disturbed nutrient uptake by plant. Present study was conducted with the aim of evaluation of some biotic factors potential in lead (Pb) phytoremediation and nutrient uptake by eucalyptus in Pb-contaminated soil. Treatments include three levels of bacteria (B0, Ba105 and Ps36), two levels of mycorrhiza (M0 and M1) and three levels of Pb (0, 50 and 100 mg/kg). Bacterial isolates were *pseudomonas* and *bacillus* and fungi was *Glomus moseae*. Results showed that increasing in soil Pb concentration improved Pb uptake by plants. Inoculation with Ba105 caused significant increase in shoot Pb uptake and this treatment caused in 55 and 19.5% increase in Pb uptake compared to control (without inoculation) and inoculation with *pseudomonas* Ps36. Also, mycorrhizal inoculation resulted in 23.7 and 44% increase in shoot and root Pb uptake compared to control. The greatest phosphorous uptake occurred in 0 mg/kg Pb. As Pb concentration in soil is increased, shoot and root phosphorous uptake by eucalyptus significantly. Inoculations with Ps36 and Ba105 along with mycorrhiza caused increase in shoot and root phosphorus and potassium uptake. Association of soil beneficial microorganisms (bacteria and fungi) with fast-growing and high biomass producer tree species like eucalyptus could cause improvement in phytoremediation efficiency under heavy metal stress.

Keywords: Associative symbiosis, Biomass, Eucalyptus, Mycorrhizal fungi, *Pseudomonas*.

[*]Corresponding author Tel: +982632231787 Email: moteshare@ut.ac.ir