اثر پلیمر سوپر جاذب، اسید هیومیک و باکتری بر صفات فیزیولوژیک یونجه یکساله (*Medicago scutellata*) در خاک‌های آلوده به سرب

حمیدرضا جوانمرد*[۱]، حسین مختاری کرچگانی[۲] و علی غلامی[۳]

۱) استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران.
۲) دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.
۳) دانشیار گروه خاک‌شناسی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران.

* نویسنده مسئول: **javanmard@khuisf.ac.ir**

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۷/۰۴ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۰/۰۳

چکیده

با توجه به افزایش آلودگی‌های زیست‌محیطی به‌خصوص فلزات سنگین، یافتن روش‌های نو و ارزان برای پاک‌سازی خاک‌ها و آب‌های آلوده ضروری به‌نظر می‌رسد. سرب یکی از مهم‌ترین آلاینده‌های محیط زیست به‌شمار می‌آید که جذب عناصر غذایی توسط گیاه را مختل می‌کند. به‌منظور بررسی پتانسیل برخی عوامل زیستی در گیاه پالایی سرب و جذب عناصر غذایی توسط یونجه یکساله در خاک آلوده به سرب، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. در این آزمایش فاکتور اول، سطوح فلز سنگین سرب که شامل غلظت سرب (۱۷/۵، ۴۱۷/۵ و ۸۱۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و فاکتور دوم ترکیبات تیماری شامل کاربرد و عدم کاربرد پلیمر نانو سوپر جاذب، اسید هیومیک و باکتری بود. نتایج نشان داد که افزایش غلظت سرب در خاک موجب کاهش زیست توده و میزان آب نسبی برگ شده و در گیاه ایجاد سمیت شد. اما کاربرد هم‌زمان باکتری و سوپر جاذب سبب جذب آب و کاربرد اسید هیومیک، کارایی گیاه در جذب مواد غذایی را افزایش داد. بیش‌ترین میزان فاکتور انتقال در تیمار کاربرد ۸۱۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب و کم‌ترین مقدار آن در تیمار عدم کاربرد سرب مشاهده شد. هم‌چنین کاربرد اسید هیومیک و باکتری موجب افزایش فاکتور انتقال شد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد، پالایش سرب توسط گیاه یونجه امکان‌پذیر است و اسید هیومیک به‌عنوان یک کلات‌کننده به همراه سوپرجاذب و باکتری به خوبی می‌تواند اثرات سمیت سرب را در گیاه یونجه کاهش دهد.

واژه‌های کلیدی: آب، فاکتور انتقال، فلزات سنگین و گیاه پالایی.

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

آلودگی آب و خاک به فلزات سمی علاوه بر تهدید اکوسیستم سبب کاهش باروری خاک، کیفیت آب و سلامت انسان می‌گردد. امروزه گسترش سریع شهر نشینی، تولیدات صنعتی، فاضلاب شهری و استفاده‌ی بیش از حد آفت‌کش‌ها در کشاورزی فشرده نقش به‌سزایی در آلودگی فلزات سنگین دارد (Kong and Glick, 2017) و بر متابولیسم بسیاری از آنزیم‌ها با تشکیل کمپلکس اسیدهای نوکلوئیک اثر می‌گذارد. اختلال در بیوسنتز هموگلوبین و کم خونی، بروز سرطان، افزایش فشار خون، آسیب به کلیه‌ها، سقط جنین، اختلال سیستم عصبی، کاهش قدرت یادگیری و اختلالات رفتاری در کودکان، برخی از عوارض ناشی از افزایش غلظت سرب در بدن می‌باشد (Pruvot and Douay, 2006). گیاه پالایی، فناوری نوظهوری است که با استفاده از گیاهان مقاوم، به حذف و پالایش مواد آلاینده (فلزات سنگین) از خاک، آب و هوا به شیوه‌ای مؤثر، کارآمد و کم‌هزینه می‌پردازند (Ma *et al*., 2016). برخی از گیاهان مانند قدومه (*Alyssum serpyllifolium*)، آرابیدوپسیس (*Arabidopsis halleri*)، گیاه سوییس (*Thlaspi caerulescens*)، تاجریزی (*Solanum nigrum*) و گل‌ناز (*Sedum plumbizincicola*)، قابلیت جذب غلظت‌های بالایی از فلزات سنگین را دارند (Ma *et al*., 2015a; Chen *et al*., 2014; Wei *et al*., 2014). یونجه یکساله (*Medicago scutellata*) یکی از گیاهان مهم زنجیره غذایی در سراسر حوزه مدیترانه است و با همزیستی باکتری *Sinorhizobium meliloti* علاوه‌بر تولید علوفه با کیفیت، نیتروژن هوا را تثبیت کرده و سبب افزایش حاصلخیزی خاک می‌شود (Darvishi and Kamajian, 2014). مناسب‌ترین روش افزایش استخراج بخش نامحلول این فلزات از خاک، توسط ترکیبات شیمیایی طبیعی و باکتری‌ها می‌باشد. مواد طبیعی کم هزینه، فراوان و حاوی گروه‌های هیدروکسیل، کربوکسیل و فنل با میل ترکیبی قوی از مهم‌ترین ترکیبات برای حذف فلزات سنگین می‌باشند (Javanmard *et al*., 2012). اسیدهای هومیک با بهبود خواص بیولوژیکی و فیزیکی، افزایش متابولیسم، جذب عناصر، ریشه‌دهی، آنتی اکسیدانت‌ها و مقاومت به استرس‌های خشکی و شوری سبب افزایش رشد گیاهان شد (Khaled and Fawy, 2011). باکتری‌های فرا ریشه‌ای مقاوم به فلزات سنگین به واسطه‌ی مکانیسم‌هایی نظیر تثبیت نیتروژن اتمسفری، تولید سیدروفور، انحلال فسفات‌ها یا تولید تنظیم کننده‌های رشد گیاه (فیتوهورمون‌ها) از قدرت خاصی در جهت رشد گیاه میزبان برخوردارند (محمدی و همکاران، ۱۳۹۰). تحقیقات نشان می‌دهد باکتری‌ها قادرند رشد گیاه را در حضور فلزات سنگین نظیر کادمیوم، سرب و نیکل افزایش دهند (محمدی و همکاران، ۱۳۹۰). از سوی دیگر پلیمرهای سوپرجاذب، شبکه‌های سه بعدی با پیوندهای عرضی هستند که، حل نمی‌شوند و قادرند صدها برابر وزن خود آب ذخیره نمایند. به‌طوری که از طریق افزایش ظرفیت نگهداری آب، کاهش شستشوی مواد غذایی و میزان تبخیر از سطح خاک موجب افزایش عملکرد در شرایط معمولی و تنش می‌شوند (Pawlowski *et al*.,

Archive of SID

www.SID.ir

2009). در این پژوهش اثر مواد افزودنی سوپر جاذب، اسیدهیومیک، باکتری و غلظت کاربرد سرب بر فعالیت‌های متابولیکی اندام گیاه یونجه یکساله، میزان جذب و پالایش عنصر سرب از خاک مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال ۱۳۹۴ در مرکز تحقیقات گلخانه‌ای دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان) با حداقل، حداکثر و متوسط دمای گلخانه به‌ترتیب ۱۲، ۳۷ و ۳۲ درجه سانتی‌گراد در خرداد ماه در گلخانه آغاز و در آبان ماه پایان یافت. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار به‌صورت گلدانی انجام شد. در این آزمایش فاکتور اول، سطوح فلز سنگین سرب شامل (۱۷/۵، ۴۱۷/۵ و ۸۱۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و عامل دوم ترکیبات تیماری شامل کاربرد و عدم کاربرد پلیمر نانو سوپر جاذب، اسیدهیومیک و باکتری بود. به‌منظور تهیه خاک آلوده به سرب ابتدا خاک هوا خشک، و سپس از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شد. پس از آن به‌صورت یکنواخت با ضخامت یک سانتی‌متر، بر روی سطح هموار قرار داده و با استات سرب $Pb(C_2H_3O_2)_2$ تیمار شد. برای تامین غلظت سرب کل از غلظت اولیه (شاهد) ۱۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به دو سطح ۴۱۷/۵ و ۸۱۷/۵ میلی‌گرم برکیلوگرم، به ازای هر کیلوگرم خاک به‌ترتیب ۷۸۹/۷۷ و ۱۵۷۹/۵۴ میلی‌گرم استات سرب بر روی سطح خاک پاشیده شد. به‌منظور انجام این آزمایش گلدان‌های پلاستیکی ۷ کیلوگرمی (ارتفاع ۲۷ و قطر داخلی ۲۴ سانتی‌متر)، پلیمر نانو سوپر جاذب از گرانول‌های ریز ماده استاکوزورب شرکت اوونیک دگوساکرویس آلمان و اسیدهیومیک، از گرانول‌های پرل هوموس شرکت هومینتک آلمان تهیه شد. با توجه به وزن گلدان‌ها مقدار اسیدهیومیک و سوپرجاذب مصرفی در هر گلدان به‌ترتیب ۱۲۵ و ۵ گرم توزین و بسته-بندی شد. گونه‌های باکتری‌های مورد استفاده در این آزمایش شامل *Azotobacter chroococcum*، *Azospirillum lipoferum* و *Pseudomonas putida* به‌صورت ترکیبی (هر میلی‌لیتر از مایه تلقیح دارای 10^7 سلول زنده و فعال از هر جنس باکتری) توسط بخش بیولوژی خاک موسسه تحقیقات خاک و آب کرج جدا و خالص‌سازی شد. بذور مناسب برای کشت یونجه یکساله دارای درجه خلوص ۹۸درصد، قوه نامیه حداقل ۹۵درصد انتخاب و به مدت ۲۴ ساعت در آب خیسانده سپس به‌صورت خطی با تراکم مناسب و در عمق حدود ۲ سانتی‌متری از سطح خاک درون گلدان‌های آبیاری شده (در حد ظرفیت زراعی) کشت شد. بر اساس آزمون خاک عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم در حد کفایت بوده و هیچ کودی به گلدان‌ها افزوده نشد. عملیات سله شکنی (جلوگیری از مشکل در جوانه‌زنی) و آبیاری یکنواخت به همه گلدان‌ها و بر اساس ۷۵ درصد ظرفیت زراعی، روزانه انجام شد، به گونه‌ای که هیچ زه آبی از گلدان خارج نشود و در صورت خروج زه آب از زیر گلدانی به گلدان‌ها برگردانده شد. پس از گذشت دو هفته و استقرار کامل، بوته‌ها تا تراکم مناسب تنک شدند. برداشت گیاهان و نمونه‌های خاک از هر گلدان پس از تمایل برگ‌ها به رنگ بنفش، هم‌زمان صورت گرفت، و نمونه‌های

Archive of SID

www.SID.ir

گیاهی کاملاً با آب مقطر شسته شدند. اندام هوائی و ریشه جداگانه به صورت تر توزین و دورن پاکت‌های کاغذی به مدت ۴۸ ساعت با دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد با دستگاه آون خشک و برای تعیین عملکرد توزین شدند. سپس به منظور اندازه‌گیری غلظت فلزات سنگین در اندام گیاه با استفاده از کروماتوگرافی گازی (GC)، یک گرم پودر گیاهی آسیاب شده، درون بوته چینی ریخته و به تدریج در عرض ۲ ساعت به دمای۵۵۰ درجه سانتی‌گراد رسانده و ۴ تا ۶ ساعت در این حرارت درون کوره نگه داشته شد. پس از خنک شدن نمونه‌ها، مقدار ۱۰ میلی‌لیتر اسید هیدروکلریک ۲ مولار به خاکسترها اضافه شد و بر روی اجاق برقی با درجه حرارت ۸۰ درجه سانتی‌گراد، تا خروج اولین بخارات سفید قرار داده شد. پس از گذر از صافی محلول‌های به حجم رسانده، مورد سنجش قرار گرفت (Arriagada *et al*., 2007). هم زمان با برداشت گیاهان، از هر گلدان نیز نمونه خاک تهیه شد. نمونه‌های خاک پس از هوا خشک شدن از الک ۲ میلی‌متری گذرانده و جهت انجام تجزیه‌ها به آزمایشگاه منتقل شد. برای اندازه‌گیری غلظت فلزات سنگین در خاک، هضم خاک به روش اکسیداسیون تر انجام گرفت (Ryan *et al*., 2001). به‌منظور اندازه‌گیری مقدار قابل جذب فلزات سنگین در خاک، نمونه‌ها با DTPA ۰/۰۰۵ مولار عصاره‌گیری شدند (Lindsay and Norwell, 1978). غلظت سرب قابل جذب با استفاده از دستگاه جذب اتمی مدل پرکین المر ۳۰۳۰ در محلول صاف شده اندازه‌گیری شد. فاکتور انتقال (Translocation factor)، از رابطه‌ی نسبت غلظت عناصر فلزی در قسمت‌های هوایی گیاه به غلظت همان عنصر در ریشه (Marchiol *et al*., 2004) نیز محاسبه شد. به‌منظور سنجش میزان آب نسبی برگ در مرحله شروع گل‌دهی به صورت تصادفی ۳۰ برگ از بوته‌های هر واحد آزمایشی جدا شد و بلافاصله وزن تر آن‌ها با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم اندازه‌گیری و به عنوان وزن‌تر برگ ثبت شد، سپس برگ‌ها به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد داخل آون (خشک کن) قرار گرفت و دوباره توزین شدند، که به عنوان وزن خشک برگ (DW= Dry Weight) یادداشت شد. از طریق رابطه نسبت تفاضل وزن‌تر و خشک برگ بر وزن‌تر برگ، میزان آب نسبی برگ (RWC) بر حسب درصد محاسبه شد (Alidibe *et al*., 1990). میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز و گلوتامین پراکسیداز به‌ترتیب بر اساس روش Maehly و Chance (۱۹۹۵) و Dhindsa و همکاران (۱۹۸۱) اندازه‌گیری شد. تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS, v 9.2 و برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel 2010 و STATISTICA, v10 استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت.

نتایج و بحث

براساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، برهمکنش سطوح مختلف سرب، کاربرد سوپرجاذب، اسید هیومیک و باکتری بر کلیه صفات مورد بررسی در سطح یک درصد اثر معنی‌داری نشان داد (جدول ۱).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱: نتایج تجزیه واریانس اثر سطوح سرب و کاربرد پلیمر سوپرجاذب، هومیک اسید و باکتری بر یونجه یکساله

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		ارتفاع گیاه در زمان برداشت	وزن زیست توده (گرم)	میزان آب نسبی برگ	غلظت سرب در ریشه	غلظت سرب در اندام هوایی	غلظت سرب با در خاکDTPA
عنصر سرب (A)	۲	۱۱۳/۰۱**	۱/۶۸ **	۰/۲۲**	۶۲۲۴/۷۶**	۱۰/۲۳**	۲۳۹/۰۴ **
ترکیبات تیماری (B)	۷	۶/۵۲**	۱/۸۳ **	۰/۳۴**	۳۵۵/۱۶**	۰/۶۰**	۱۳/۵۶ **
اثر متقابل (A×B)	۱۴	۴/۸۶**	۱/۰۱ **	۰/۲۷**	۳۴۰/۳۱**	۰/۵۷**	۲۶/۱۵ **
خطا	۷۲	۰/۹۹	۰/۰۱۴	۰/۰۲۴	۱۵/۸۴	۰/۰۵	۶/۳۱
ضریب تغییرات (٪)		۸/۵۴	۱۱/۱۷	۸/۲۲	۲/۵۲	۴/۶	۱۱/۵

* و ** : به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

ادامه جدول ۱: نتایج تجزیه واریانس اثر سطوح سرب و کاربرد پلیمر سوپرجاذب، هومیک اسید و باکتری بر یونجه یکساله

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		وزن خشک اندام هوایی در گلدان	وزن خشک ریشه در گلدان	فاکتور انتقال	آنزیم های آنتی اکسیدانی	
					کاتالاز	سوپر اکسید دیسموتاز	گلوتامین پروکسیداز
عنصر سرب (A)	۲	۰/۰۵ **	۰/۰۰۴ **	۰/۰۱۶ **	۶۵۶۹/۸۲**	۱۶۹۳/۲۹**	۶۹۶۴/۰۶**
ترکیبات تیماری (B)	۷	۰/۰۹ **	۰/۰۰۳ **	۰/۰۰۴ **	۵۲۶/۱۱**	۱۸۰/۴۹**	۵۲۰/۲۸**
اثر متقابل (A×B)	۱۴	۰/۰۴ **	۰/۰۰۳ **	۰/۰۰۶ **	۱۸۸/۴۸**	۵۱/۲۶**	۲۲۳/۳۷**
خطا	۷۲	۰/۰۲۲	۰/۰۰۴	۰/۰۰۱	۶۵۴/۹۳	۲۶۸/۷۲	۱۰۴۵/۴۴
ضریب تغییرات (٪)		۸/۷۴	۱۵/۷۷	۳/۶	۷/۵۵	۶/۹۴	۷/۳۴

* و ** : به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

ارتفاع و وزن زیست توده گیاه در زمان برداشت

با توجه به نتایج مقایسه میانگین برهمکنش داده‌ها در غلظت ۱۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب، تیمارهای سوپرجاذب و اسید هیومیک به‌ترتیب با ۵ و ۳/۳ درصد افزایش نسبت به تیمار شاهد بیش‌ترین ارتفاع ساقه را نشان داد (جدول ۲). هم‌چنین با افزایش غلظت سرب (۴۱۷/۵ و ۸۱۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب)، بیش‌ترین ارتفاع ساقه به‌ترتیب با کاربرد توام تیمارهای باکتری و سوپرجاذب + باکتری با ۱۷/۳۹ و ۷/۵ درصد افزایش نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد. کم‌ترین ارتفاع ساقه در زمان برداشت مربوط به غلظت ۸۱۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب بود (جدول ۲). با توجه به نتایج حاصل از برهمکنش داده‌ها، بیش‌ترین وزن زیست توده گیاه در زمان برداشت تحت غلظت ۱۷/۵ (میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب) در تیمار باکتری مشاهده شد (جدول ۲). هم‌چنین با افزایش غلظت سرب (۴۱۷/۵ و ۸۱۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب) کاربرد توام تیمارهای سوپرجاذب و باکتری + اسید هیومیک به‌ترتیب با ۳۹/۷۵ و ۲۲/۲۰ درصد افزایش نسبت به تیمار شاهد بیش‌ترین وزن زیست توده را به خود اختصاص دادند. به‌علاوه کاربرد توام تیمارهای سوپرجاذب+ اسید هیومیک+

Archive of SID

www.SID.ir

باکتری به‌دلیل جذب و تجمع سرب به داخل گیاه کم‌ترین وزن زیست توده را رقم زد، به‌طوری که وزن زیست توده یونجه یکساله همگام با افزایش غلظت سرب در خاک کاهش یافت و در میان گیاهان تیمار شده با تیمارهای فوق اختلاف معنی‌داری مشاهده شد که این خود مؤید افزایش جذب توسط گیاه می‌باشد (جدول ۲). محققین ادعا نمودند غلظت ۵۰ میلی‌مولار سرب درون برگ به اندازه‌ای کافی است که بتواند زیست توده گیاهی را کاهش دهد. به‌علاوه توانایی بالای باکتری‌ها، اسید هیومیک و سوپرجاذب در انتقال فلزات از ریشه به اندام‌های هوایی به احتمال زیاد به‌علت سیستم‌های انتقال فلزات کارآمد گیاه و تسریع توقف فلزات در واکوئل و آپوپلاست برگ، توانسته بر ظرفیت بسیار بالای گیاه یونجه در جذب سرب به‌وسیله ریشه و ذخیره‌سازی آن‌ها در اندام هوایی کمک کند. نتایج به‌دست آمده در این پژوهش با بسیاری از یافته‌ها در این مورد مشابه بود (امینی و همکاران، ۱۳۹۱؛ Chen *et al*., 2014).

میزان آب نسبی برگ

نتایج مقایسه میانگین برهمکنش داده‌ها نشان داد که، با افزایش میزان تنش سرب محتوای نسبی آب کاهش می‌یابد (جدول ۲). به‌طوری‌که میزان آب نسبی برگ در تیمار شاهد در اثر افزایش سمیت سرب در مقایسه با کاربرد توام باکتری + سوپرجاذب به شدت کاهش یافت (جدول ۲). هم‌چنین کاربرد تیمارهای سوپرجاذب، باکتری+ اسید هیومیک و سوپرجاذب + باکتری در غلظت ۱۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب، بیش‌ترین میزان آب نسبی برگ را نشان داد. به‌طوری که با افزایش غلظت سرب (۴۱۷/۵ و ۸۱۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب)، کاربرد تیمار سوپر جاذب + باکتری توانست به میزان ۱۰۰ درصد آب نسبی برگ را در مقایسه با شاهد افزایش دهد (جدول۲). تغییرات محتوای رطوبتی برگ به‌عنوان یک واکنش کوتاه مدت به تنش و معیاری از توان حفظ قدرت منبع در شرایط تنش مورد استفاده قرار می‌گیرد. میزان عملکرد با آب نسبی برگ ارتباط مستقیم دارد و هرچه میزان آب نسبی برگ بیش‌تر باشد عملکرد نیز بیش‌تر است. نتایج به‌دست آمده از این پژوهش با نتایج دیگر محققین همسو بود (شریفی و همکاران، ۱۳۹۶). در بررسی اثر سرب و نقش قارچ میکوریزا بر فعالیت‌های آنزیمی و فیزیولوژیک گیاه ماشک گل‌خوشه‌ای گزارش شد فعالیت آنزیمی بالا به‌دلیل حضور قارچ مایکوریزا کم‌ترین تخریب سلولی را در گیاه موجب شد (درویشی، ۱۳۹۴).

غلظت عنصر سرب در گیاه

نتایج مقایسه میانگین برهمکنش داده‌ها نشان داد، با افزایش غلظت سرب روندی صعودی انباشتگی عنصر سرب در اندام هوایی به‌وجود آمده است. به‌طوری‌که غلظت (۱۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب) و کاربرد تیمارهای باکتری و هیومیک اسید، غلظت سرب فراهم در ریشه را با فعال سازی مکانیسم افزایش جذب به میزان ۷/۴۷ و ۴/۳۴ درصد نسبت

Archive of SID

www.SID.ir

به تیمار شاهد افزایش دادند، و تیمار ۱۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم، سوپرجاذب+ اسید هیومیک+ باکتری میزان غلظت عنصر در ریشه را به میزان ۱۴/۹۵ درصد کاهش داد (جدول ۲). Joner و Leyval (۱۹۷۷) گزارش کردند که با افزایش غلظت کادمیوم در حضور قارچ‌های میکوریزا جذب این عنصر توسط گیاه شبدر افزایش می‌یابد، به‌طوری‌که باکتری‌ها، رشد گیاه را در حضور فلزات سنگینی نظیر کادمیوم، سرب و روی افزایش می‌دهند (Burd *et al*., 2000). بعضی از فلزات سنگین از جمله Co، Cr، Cu، Fe، Mn، Mo، Ni و Zn در مقادیر کم برای رشد و حیات گیاهان یا جانوران ضروری می‌باشند. اثر سمیت عناصری مثل سرب و کادمیوم ناشی از رقابت آن‌ها با عناصر ضروری سبک‌تر در رفتار بیوشیمیایی و جذب به‌وسیله گیاه است، که در نتیجه جای آن‌ها را در وظایف بیوشیمیایی می‌گیرند. به‌عنوان مثال، کادمیوم می‌تواند جذب و وظایف متابولیسمی شبیه روی داشته باشد (کوپایی و همکاران، ۱۳۹۴). مقایسه نتایج تیمار ۸۱۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب نسبت به تیمار ۱۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب نشان داد که افزایش غلظت، انباشت سرب در ریشه یونجه یکساله به میزان ۳۰۰ برابر افزایش می‌یابد (جدول ۲). اثر کاربرد همزمان تیمارهای سوپر جاذب و سوپر جاذب + باکتری به‌وسیله‌ی توسعه ریشه، افزایش سطح جذب و تأمین آب مورد نیاز گیاه بر غلظت سرب فراهم در ریشه اثر معنی‌داری داشت (جدول ۲). Citterio و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند که کشت همزمان گیاه شاهدانه و قارچ‌های میکوریزا در خاک‌های آلوده به عناصر سنگین، میزان عناصر سنگین در برگ و ساقه‌ی گیاهان را افزایش می‌دهد، که این امر مؤید جذب فعال ریشه در حضور قارچ میکوریزا می‌باشد. علاوه بر این کاربرد غلظت ۸۱۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب همزمان با تیمار سوپرجاذب + باکتری مقاومت یونجه یکساله را به‌دلیل افزایش جذب عناصر در برابر تنش ناشی از فلزات سنگین افزایش نداد و این امر نیز سبب کاهش وزن خشک ریشه و اندام هوایی شد (جدول ۲). محققین در بررسی توانایی اندوزش کادمیوم توسط یونجه یکساله (*Medicago scutellata* L.) با استفاده‌ی همزمان از اسید هومیک و باکتری بیان داشتند بیش‌ترین نرخ انباشتگی در ساقه‌ها و استخراج فلز کادمیوم در غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از خاک مشاهده شد (Darvishi and Kamajian, 2014). بیش‌ترین غلظت عنصر سرب در اندام هوایی در تیمار ۸۱۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب مشاهده شد، این در حالی است که برخلاف آن در بین تیمارهای ۱۷/۵ و ۴۱۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. هم‌چنین ترکیب تیماری اسید هیومیک + باکتری و غلظت ۴۱۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب، سبب افزایش جذب ۳۶/۸۱ درصدی این عنصر در اندام هوایی یونجه نسبت به تیمار شاهد شد (جدول ۲). نتایج بیانگر برقراری رابطه‌ی همزیستی با باکتری‌ها بوده و استفاده از اسید هیومیک مقاومت گیاه را در برابر تنش ناشی از فلزات سنگین افزایش می‌دهد.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲: مقایسه میانگین برهمکنش سطوح مختلف سرب و کاربرد پلیمرسوپرجاذب، هیومیک اسید و باکتری بر جذب و پالایش سرب در یونجه یکساله

تیمارها		میانگین مربعات										
غلظت سرب	ترکیبات تیماری	ارتفاع در زمان برداشت (سانتی‌متر)	وزن زیست توده (گرم)	میزان آب نسبی برگ (RWC)	غلظت سرب در ریشه	غلظت سرب در اندام هوایی	غلظت سرب با دی تی پی ای در خاک	وزن خشک اندام هوایی در گلدان (گرم)	وزن خشک ریشه در گلدان (گرم)	فاکتور انتقال	آنزیم های آنتی اکسیدانی: کاتالاز	آنزیم های آنتی اکسیدانی: سوپر اکسید دیسموتاز	آنزیم های آنتی اکسیدانی: گلوتامین پرواکسیداز
۱۷/۵ (شاهد)	شاهد	۱۵/۰۰ a	۱/۴۳ a	۴۳/۰۶ l	۱۱/۵۰ ij	۰/۰۰۱ h	۰/۳۲ g	۰/۲۸ d	۰/۰۶ de	۰/۰۰۰۱ j	۴۳/۱۳ c	۳۰/۹۵ cd	۵۷/۴۳ b
	باکتری	۱۳/۲۵ b	۳/۰۹ a	۴۹/۴۵ i	۱۲/۳۶ gh	۰/۰۰۱ h	۰/۳۶ g	۰/۵۹ a	۰/۰۵ ef	۰/۰۰۰۱ j	۵۰/۵۱ b	۳۳/۳۵ c	۶۲/۵۶ b
	اسید هیومیک	۱۵/۵۰ a	۱/۲۳ bcdef	۴۵/۳۷ k	۱۲/۰۰ hi	۰/۰۰۱ h	۰/۳۶ g	۰/۲۳ ef	۰/۰۷ cd	۰/۰۰۰۱ j	۵۲/۵۱ b	۳۳/۳۳ c	۶۲/۷۶ b
	باکتری + اسید هیومیک	۱۳/۵۰ b	۰/۶۹ def	۶۶/۸۱ e	۹/۷۸ k	۰/۰۰۱ h	۰/۳۲ g	۰/۱۵ hi	۰/۰۸ c	۰/۰۰۰۱ j	۶۱/۸۶ a	۳۹/۱۲ ab	۷۵/۸۹ a
	سوپرجاذب	۱۵/۷۵ a	۱/۱۱ bcdef	۶۷/۸۳ d	۹/۷۸ k	۰/۰۰۱ h	۰/۳۶ g	۰/۲۲ ef	۰/۰۵ ef	۰/۰۰۰۱ j	۵۱/۰۳ b	۳۳/۷۱ c	۶۲/۳۳ b
	سوپرجاذب + باکتری	۱۲/۷۵ b	۰/۵۷ ef	۶۸/۷۳ c	۱۱/۵۰ ij	۰/۰۰۱ h	۰/۲۸ g	۰/۰۸ lm	۰/۰۵ ef	۰/۰۰۰۱ j	۶۱/۸۳ a	۳۸/۳۵ ab	۷۵/۶۲ a
	سوپرجاذب + اسید هیومیک	۱۳/۰۰ b	۰/۸۳ def	۵۱/۴۰ i	۱۰/۸۹ j	۰/۰۰۱ h	۰/۳۲ g	۰/۱۳ ij	۰/۱۰ b	۰/۰۰۰۱ j	۶۳/۵۹ a	۳۷/۸۹ b	۷۵/۷۱ a
	سوپرجاذب+ اسید هیومیک+ باکتری	۱۱/۵۰ c	۰/۸۵ cdef	۴۲/۱۳ m	۹/۷۸ k	۰/۰۰۱ h	۰/۳۲ g	۰/۱۶ ef	۰/۰۷ cd	۰/۰۰۰۱ j	۶۴/۵۷ a	۴۱/۱۳ a	۷۷/۰۹ a
۴۱۷/۵	شاهد	۱۱/۵۰ c	۰/۸۳ def	۲۴/۰۵ r	۱۲/۰۰ hi	۰/۵۶۵ f	۳/۴۱ e	۰/۲۲ hi	۰/۰۴ fg	۰/۰۵ f	۳۳/۷۷ d	۲۴/۵۵ fg	۴۷/۱۶ c
	باکتری	۱۳/۵۰ b	۰/۹۵ bcdef	۵۳/۵۷ h	۶/۲۱ m	۰/۶۶۳ e	۳/۳۰ e	۰/۱۵ g	۰/۰۳ gh	۰/۰۲ i	۳۷/۳۳ d	۲۷/۵۱ d	۴۶/۴۵ c
	اسید هیومیک	۱۰/۷۵ cde	۱/۰۱ bcdef	۵۱/۱۷ i	۶/۴۳ m	۰/۶۶۳ e	۴/۱۳ cd	۰/۱۹ klm	۰/۰۵ ef	۰/۰۳ h	۶۸/۹۸ d	۲۸/۱۲ de	۴۷/۴۱ c
	باکتری+ اسید هیومیک	۱۱/۵۰ c	۰/۶۰ ef	۷۱/۸۹ b	۱۱/۵۰ ij	۰/۷۷۳ d	۳/۳۲ e	۰/۰۹ fg	۰/۰۶ de	۰/۰۷ d	۵۱/۹۹ b	۳۳/۴۴ c	۶۲/۵۵ b
	سوپرجاذب	۱۰/۵۰ de	۰/۲۶ f	۴۶/۳۸ j	۷/۲۱ l	۰/۶۶۳ e	۲/۹۷ e	۰/۲۱ hi	۰/۰۳ gh	۰/۰۹ c	۲۰/۳۳ f	۱۷/۰۲ i	۳۳/۳۴ d
	سوپرجاذب + باکتری	۹/۵۰ f	۱/۱۶ bcde	۸۶/۶۰ a	۱۲/۹۱ fg	۰/۶۶۳ e	۴/۲۱ cd	۰/۱۵ hi	۰/۱۱ b	۰/۰۵ f	۲۶/۴۶ e	۲۱/۳۲ h	۳۴/۹۷ d
	سوپرجاذب + اسید هیومیک	۱۰/۰۰ ef	۰/۵۷ ef	۶۷/۵۹ d	۱۳/۱۱ f	۰/۶۶۳ e	۳/۰۹ e	۰/۱۵ jk	۰/۰۲ h	۰/۰۵ f	۲۶/۷۴ e	۲۱/۱۲ h	۳۵/۴۹ d
	سوپرجاذب+ اسید هیومیک+ باکتری	۱۱/۰۰ cd	۱/۱۵ bcde	۴۶/۸۲ j	۱۱/۵۰ k	۰/۶۶۳ e	۴/۰۵ cd	۰/۱۱ jk	۰/۰۶ de	۰/۰۶ e	۴۳/۳۱ c	۳۰/۶۹ cd	۵۶/۹۶ b
۸۱۷/۵	شاهد	۱۰/۰۰ ef	۱/۴۴ bcde	۱۰/۶۵ v	۴۹/۹۳ a	۱/۰۴۳ c	۴/۷۰ ab	۰/۳۷ bc	۰/۰۲ h	۰/۰۲ i	۲۶/۸۱ e	۲۲/۰۲ gh	۳۸/۸۸ d
	باکتری	۱۰/۰۰ ef	۱/۵۱ bcd	۳۰/۳۳ p	۴۴/۶۶ b	۱/۰۴۳ c	۴/۴۴ bc	۰/۳۸ b	۰/۰۲ h	۰/۱۱ a	۳۳/۹۹ d	۲۵/۴۳ ef	۴۶/۹۲ c
	اسید هیومیک	۱۰/۵۰ de	۱/۷۲ bc	۳۱/۶۷ o	۴۰/۲۷ c	۱/۰۱۲ c	۳/۹۹ d	۰/۱۳ ij	۰/۰۲ h	۰/۱۰ b	۲۶/۳۲ e	۲۱/۰۰ h	۳۵/۹۰ d
	باکتری + اسید هیومیک	۱۰/۵۰ de	۱/۷۶ b	۶۳/۳۵ f	۳۸/۸۳ d	۱/۴۹۸ b	۳/۹۹ d	۰/۲۴ e	۰/۰۲ h	۰/۰۴ g	۴۳/۲۶ c	۳۰/۶۲ cd	۵۷/۳۶ b
	سوپرجاذب	۱۱/۰۰ cd	۰/۶۶ def	۵۸/۳۳ g	۹/۷۸ K	۰/۴۴۲ g	۲/۱۲ f	۰/۰۷ m	۰/۰۶ de	۰/۰۵ f	۲۰/۲۳ f	۱۳/۴۲ j	۳۵/۴۳ d
	سوپرجاذب+ باکتری	۱۰/۷۵ cde	۰/۷۳ def	۳۳/۴۲ n	۹/۷۸ k	۰/۴۴۲ g	۲/۱۲ f	۰/۳۵ c	۰/۰۴ fg	۰/۰۵ f	۳۴/۳۶ d	۲۵/۳۳ ef	۴۶/۹۹ c
	سوپرجاذب + اسید هیومیک	۹/۲۵ f	۱/۰۵ bcdef	۱۹/۰۸ s	۳۹/۴۹ d	۱/۰۰۸ c	۳/۹۹ d	۰/۱۳ ij	۰/۰۲ h	۰/۰۳ h	۲۰/۵۴ f	۱۷/۲۴ i	۳۵/۰۶ d
	سوپرجاذب+ اسید هیومیک+ باکتری	۹/۵ f	۰/۷۵ def	۱۶/۰۳ t	۴۴/۶۶ b	۲/۵۲۲ a	۴/۹۲ a	۰/۱۰ kl	۰/۱۳ a	۰/۰۶ e	۲۶/۳۲ e	۲۱/۰۳ h	۳۵/۴۰ d

حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده‌ی عدم وجود اختلاف معنی دار بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد می‌باشد.

www.SID.ir

علاوه بر این کاهش سمیت عنصر سرب توسط باکتری و اسیدهیومیک، سبب افزایش اندوزش در اندام هوایی و ریشه‌ای گونه‌ی مورد نظر شد. تجمع سرب در ریشه و اندام هوایی مؤید فاکتور انتقال فعال گیاه یونجه یکساله در انتقال سرب از خاک به گیاه در حضور اسید هیومیک و باکتری است. این ویژگی می‌تواند عاملی در جهت موفقیت تکنیک گیاه پالایی اراضی آلوده باشد و می‌توان مقادیر بالایی از عناصر سنگین را از اراضی آلوده استخراج کرد. تحقیقات محققین نشان داد که استفاده از باکتری و قارچ‌های میکوریزی در خاک‌های آلوده به عناصر سنگین، زیست توده گیاه را افزایش دادند (Bhakta, 2016). بررسی رشد گوجه فرنگی در زمین‌های آلوده به عناصر سنگین نشان داد که استفاده از قارچ میکوریزی، رشد گیاهان را نسبت به تیمار شاهد افزایش می‌دهد (Handreek, 1994). نتایج نشان داد، با افزایش غلظت سرب در خاک، جذب این عنصر توسط گیاه افزایش می‌یابد. تلقیح با باکتری باسیلوس Ba105 موجب افزایش معنی دار ۲۳ درصدی مقدار جذب سرب در اندام ریشه شد (محمدی و همکاران، ۱۳۹۰).

غلظت عنصر سرب در خاک

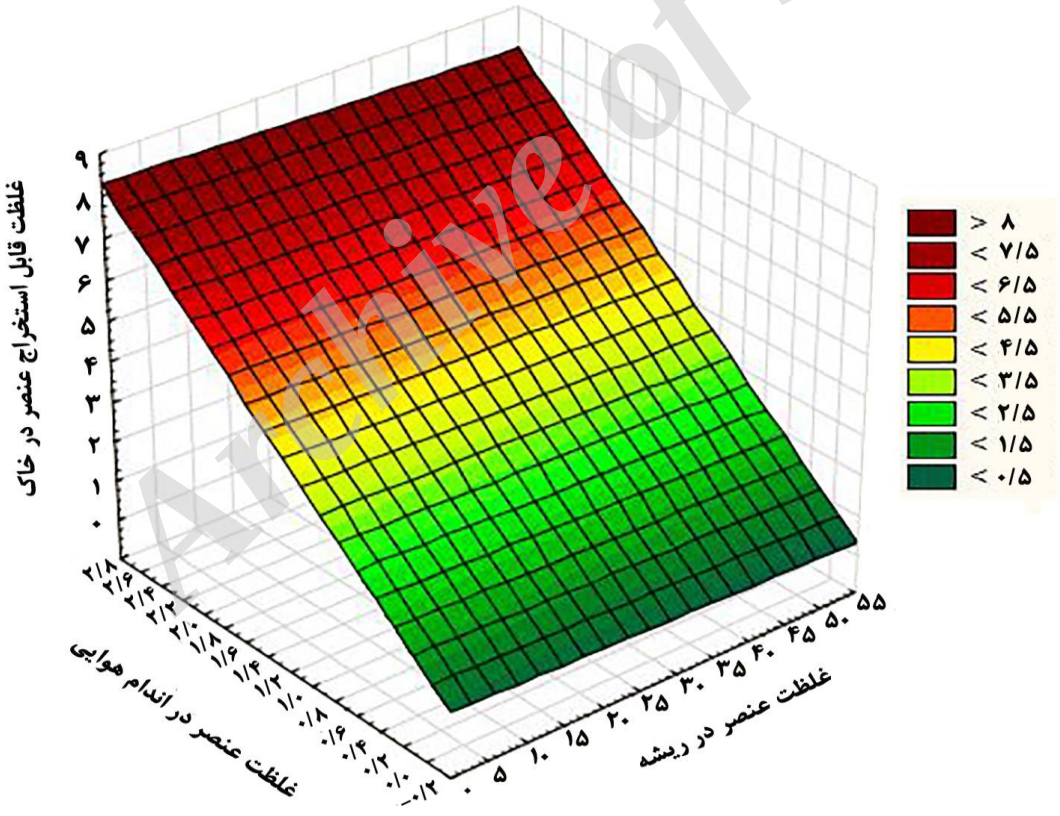
مقایسه میانگین برهمکنش داده‌ها نشان داد با افزایش سطح سرب در خاک، میزان جذب افزایش یافت؛ به‌طوری‌که بیش‌ترین و کم‌ترین میزان جذب در غلظت ۸۱۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب در تیمارهای سوپرجاذب+ اسید هیومیک+ باکتری و سوپرجاذب+ باکتری به‌ترتیب با ۴/۶۸ و ۵۴/۸۹ درصد افزایش و کاهش نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد (جدول ۲). نتایج فوق می‌تواند به‌دلیل اثر کاربرد هم‌زمان تیمارها، در رشد زیاد، توسعه ریشه و در نتیجه افزایش سطح جذب گیاه باشد، که خود عاملی مهم در جذب عناصر می‌باشد. به‌عنوان مثال کاربرد پلیمر سوپرجاذب به‌دلیل تأمین آب مورد نیاز گیاه، عاملی مهم در جهت افزایش مقاومت گیاه نسبت به تنش فلزات سنگین می‌باشد. تحقیقات بر روی باکتری‌های محرک رشد و سوپر جاذب‌ها نشان می‌دهد که تأمین عناصر غذایی، اثرات سمی فلزات سنگین را تعدیل کرده و مقدار جذب را افزایش می‌هد (Vassilev *et al*., 2002). هم‌چنین حضور اسید هومیک در محل ریشه اتصال یونی فلزات سنگین و تارهای کشنده ریشه را فراهم کرده و مقدار جذب فلزات سنگین را افزایش می‌دهد (Tang *et al*., 2014). بر اساس نتایج برهمکنش سه بعدی، بیش‌ترین میزان اندوزش سرب به‌ترتیب در ریشه، خاک و اندام هوایی مشاهده شد (شکل ۱).

به‌طورکلی اندزوش بیش‌تر سرب در ریشه و عدم سهولت برداشت و پاکسازی آن از خاک، سبب شده تا استفاده از ترکیبات سوپرجاذب + اسید هیومیک + باکتری به‌عنوان راه‌کاری مناسب در جهت انتقال سرب از ریشه به اندام هوایی و پاکسازی خاک‌های آلوده به سرب باشد. Kuffner و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که، بهبود جذب روی، کادمیوم و سرب توسط باکتری‌های مفید خاک در نتیجه تولید سیدروفور و اکسین می‌باشد. به‌طوری‌که برخی جدایه‌ها باکتری با

Archive of SID

www.SID.ir

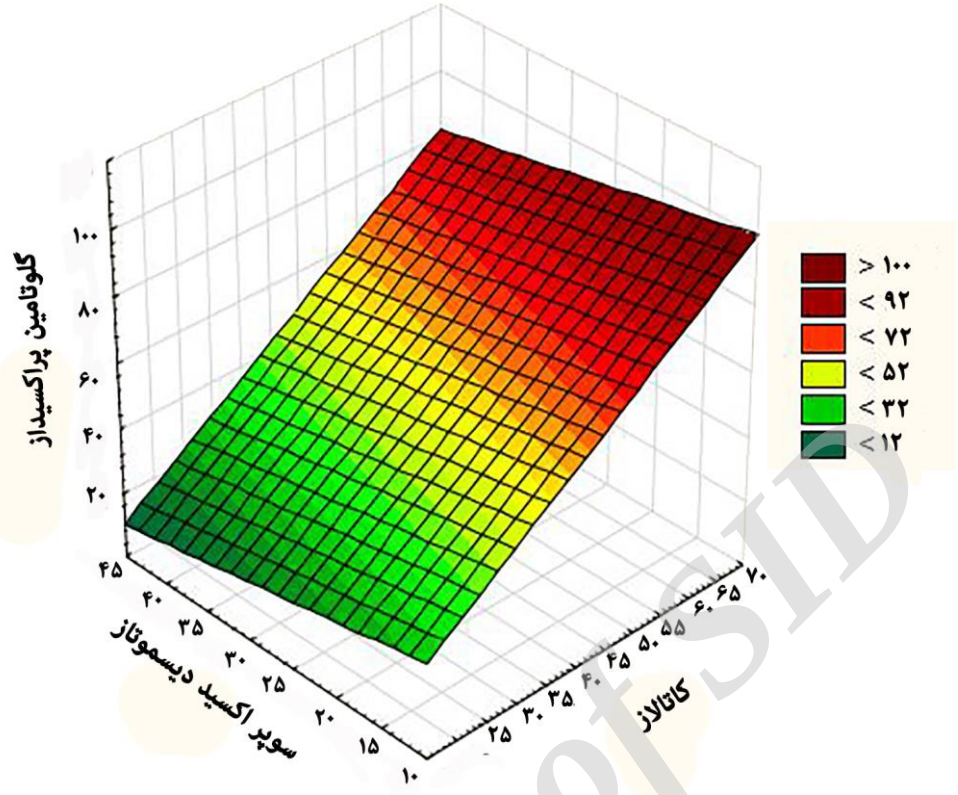
افزایش رشد گیاه، جذب روی و کادمیوم را افزایش می‌دهند. در بررسی گیاهان دیگر گزارش شد که، کاربرد ۵۰۰ و ۸۰۰ میکرو مولار سرب، به ترتیب رشد طولی ریشه درخت بید و واریته‌های حساس برنج را به میزان ۵۰ و ۸۰ درصد کاهش می‌دهد (Schmidt, 2003; Shaffer, 2001). صادری و همکاران (۱۳۹۰) در بررسی بابونه آلمانی بیان داشتند، با افزایش سطوح کاربرد سرب تا ۲۴۰ میکرو مولار، وزن خشک ریشه در مقایسه با تیمار کاربرد ۱۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب، به میزان ۱۵ درصد کاهش می‌یابد. بیش‌ترین و کم‌ترین وزن خشک اندام هوایی در تیمارهای عدم کاربرد سرب + باکتری و ۸۱۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب + سوپرجاذب به‌ترتیب به میزان ۰/۵۹ و ۰/۷ گرم مشاهده شد (جدول ۲). با افزایش غلظت سرب در خاک وزن خشک اندام هوایی کاسته شد، اما استفاده از تیمارهای باکتری، سوپرجاذب + باکتری در سطح ۸۱۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب توانست وزن خشک را نسبت به تیمار شاهد (۱۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب) به میزان ۳۳/۳ درصد افزایش دهد (جدول ۲).



شکل ۱: مقایسه میانگین سه بعدی غلظت عنصر سرب در خاک و اندام هوایی

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۲: مقایسه میانگین سه بعدی اثر غلظت سرب بر آنزیم‌های آنتی اکسیدانی

وزن خشک گیاه

بیش‌ترین و کم‌ترین وزن خشک اندام هوایی در تیمارهای عدم کاربرد سرب + باکتری و ۸۱۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب+ سوپرجاذب به‌ترتیب به میزان ۰/۵۹ و ۰/۷ گرم مشاهده شد (جدول ۲). با افزایش غلظت سرب در خاک وزن خشک اندام هوایی کاسته شد، اما استفاده از تیمارهای باکتری، سوپرجاذب+ باکتری در سطح ۸۱۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب توانست وزن خشک را نسبت به تیمار شاهد (۱۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب) به میزان ۳۳/۳ درصد افزایش دهد (جدول ۲). این امر بیانگر توانایی سوپرجاذب و باکتری در کاهش اثرات سوء سرب در غلظت‌های بالا می‌باشد. هم‌چنین همزیستی گیاه با باکتری و اسید هیومیک، میزان مقاومت گیاه را در برابر تنش ناشی از فلزات سنگین افزایش می‌دهد، و کاهش سمیت عنصر سرب توسط موارد فوق بر جذب سرب توسط اندام‌های گیاه می‌افزاید. محققین بیان داشتند که برهم‌کنش فلزات سنگین با گروه‌های سولفیدریل و غیر فعال کردن پروتئین‌های گیاهی، از رشد ریشه و اندام هوایی جلوگیری می‌کند (Kayser *et al.*, 2000). هم‌چنین در بررسی هوشمندفر و طهرانی (۱۳۸۷) بر روی گیاه گلرنگ زراعی، بیش‌ترین وزن خشک اندام هوایی در تیمار عدم کاربرد سرب، گزارش شد. نتایج مقایسه میانگین برهمکنش داده‌های وزن خشک ریشه یونجه یکساله نشان داد، با افزایش غلظت سرب در خاک وزن خشک ریشه به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (جدول ۲).

Archive of SID

www.SID.ir

بیش‌ترین وزن خشک ریشه در تیمار ۸۱۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب و سوپرجاذب+ اسید هیومیک+ باکتری مشاهده شد. مهم‌ترین صدمه ناشی از سمیت سرب، کاهش تولیدات فتوسنتزی و زیست توده تولیدی گیاه می‌باشد (Pendias, 2001). نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که تجمع زیاد سرب و اثر سمی این عنصر بر سلول‌های ریشه اولین عامل بازدارنده رشد ریشه می‌باشد (Ma *et al*., 2016). Foy و همکاران (۱۹۸۷) گزارش نمودند، اکثر سرب جذب شده توسط گیاه، در سلول‌های ریشه رسوب کرده و از رشد طولی ریشه جلوگیری می‌نماید. در بررسی گیاه گندم مشاهده شد، فلزات سنگین سبب کاهش رشد، توقف رشد ریشه و کاهش وزن‌تر و خشک ریشه نیز شد (Abdu *et al*., 2017). هم‌چنین می‌توان کاهش رشد ریشه را در نتیجه لیگنینی شدن دیواره سلولی تحت اثر تنش فلزات سنگین (Almeida *et al*., 2007) یا اثر مستقیم تنش مذکور بر هسته سلولی دانست (Dauda *et al*., 2009). بیش‌ترین وزن خشک ریشه در غلظت‌های ۴۱۷/۵ و ۱۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب به‌ترتیب در حضور تیمارهای سوپرجاذب+ باکتری و سوپرجاذب+ اسید هیومیک مشاهده شد. هم‌چنین کاربرد توام سوپرجاذب+ اسید هیومیک+ باکتری با توجه به میزان انباشتگی بیش‌تر در ریشه‌ها نسبت به اندام هوایی (شکل ۱)، به‌عنوان عامل افزایش رشد و پالایش خاک شناخته شد (جدول ۲). مطالعات فلزات سنگین نشان داد سرب موجب کاهش ارتفاع گیاه، وزن خشک ریشه، بخش هوایی و سطح برگ گیاه شد (Sharma, and Dubey, 2005). بر اساس تحقیقات، مصرف هیومیک اسید+ باکتری با افزایش جذب عناصر، تولید ریشه، فتوسنتز و جذب فسفر، موجب افزایش زیست توده گیاه می‌شود (Fiorentino *et al*., 2017). هم‌چنین هیومیک اسید با پیوند شیمیایی با سرب، جذب آن را توسط گیاه کاهش می‌دهد. در شرایط تنش سرب، در حضور هیومیک اسید به‌دلیل افزایش جذب مواد غذایی، زیست توده تولیدی گیاه افزایش می‌یابد. در بررسی اثر کادمیوم بر کاهو، بیش‌ترین زیست توده، در تیمار هیومیک اسید گزارش شد (حقیقی و همکاران، ۱۳۹۰). Kaschel و همکاران (2002) بیان داشتند، کاربرد هیومیک اسید در حضور کادمیوم موجب افزایش زیست توده تولیدی می‌شود.

فاکتور انتقال

مقایسه میانگین کاربرد سطوح سرب در خاک نشان داد که، بیش‌ترین (۰/۱۱) و کم‌ترین (۰/۰۰۰۱) میزان انتقال به ترتیب در تیمار ۸۱۷/۵ و ۱۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب مشاهده شد (جدول ۲). به‌طوری‌که، بیش‌ترین میزان انتقال در غلظت ۸۱۷/۵ میلی‌گرم سرب و کاربرد تیمار هیومیک اسید و باکتری با تفاوت معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها مشاهده شد (جدول ۲). به استناد کاهش غلظت سرب در ریشه در حضور تیمار اسید هیومیک+ باکتری، و در راستای گیاه پالایی یونجه یکساله به نظر می‌رسد کاربرد کودهای بیولوژیک، پلیمر سوپرجاذب و هومیک اسید نقش بسزایی در جذب سرب از خاک‌های آلوده و انباشت آن در اندام گیاه دارد. محققین در بررسی اثر رشد گیاه کلم در خاک حاوی سرب دریافتند،

Archive of SID

www.SID.ir

کاربرد کلات‌ها، موجب افزایش فاکتور انتقال از ۰/۳۵ به ۰/۷۳ می‌شود (Vargas *et al*., 2016). هم‌چنین استفاده از کلات‌های شیمیایی مانند EDTA موجب افزایش فاکتور انتقال در خاک‌های تیمار شده می‌شود (Bloem *et al*., 2016). میزان تجمع عنصر سرب توسط ریشه بسیار بیش‌تر از اندام هوایی یونجه بود، و استفاده از تیمارهای ترکیبی سبب افزایش انتقال فلز سرب از ریشه به اندام هوایی شد. این امر بیانگر فاکتور انتقال بالای یونجه یکساله از ریشه به اندام هوایی در راستای هدف گیاه پالایی اراضی آلوده می‌باشد. نتایج به‌دست آمده از این تحقیق با نتایج محمدی و همکاران (۱۳۹۰) مطابقت داشت. پرنیان و همکاران (۱۳۹۰) در بررسی گیاه مرتعی علف شاخی بیان داشتند، با افزایش غلظت نیکل در خاک میزان فاکتور انتقال به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. هم‌چنین Beladi و همکاران (۲۰۱۱) در بررسی گیاه اسپرس (*Onobrychis vicifolia*) بیان داشتند، با افزایش غلظت آلودگی خاک به سرب میزان فاکتور انتقال از ریشه به اندام هوایی نیز افزایش می‌یابد. به‌طوری‌که افزایش عناصر غذایی موجود در خاک تا حدی مشخص، همواره غلظت عناصر در گیاه را افزایش داده و این امر مؤید وابستگی غلظت عناصر موجود در خاک و گیاه می‌باشد (Rodríguez-Rodríguez *et al*., 2016). حضور و جذب فلزات سنگین در محدوده ریشه گیاهان موجب کاهش رشد و متابولیسم سلولی شده و بر فرآیندهای مهمی هم‌چون انتقال آب، فسفوریلاسیون، اکسیداتیو میتوکندری و فتوسنتز اثر منفی می‌گذارد (Rizwan *et al*., 2016).

آنزیم‌های آنتی اکسیدانی

مقایسه میانگین برهمکنش داده‌ها نشان داد، با افزایش سطح سرب در خاک از فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوتامین پراکسیداز کاسته می‌شود (جدول ۲). هم‌چنین بیش‌ترین فعالیت آنزیم کاتالاز در غلظت‌های ۴۱۷/۵ و ۸۱۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب در حضور تیمارهای اسید هیومیک، اسید هیومیک+ باکتری، باکتری و سوپرجاذب+ باکتری به‌ترتیب با ۱۰۴، ۶۱/۳۷، ۲۸/۱۶ و ۲۶/۷۸ درصد افزایش نسبت به تیمار شاهد خود مشاهده شد (جدول ۲). نکته قابل توجه نشان از افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در حضور تیمارهای باکتری، اسید هیومیک و سوپرجاذب در غلظت ۱۷/۵، ۴۱۷/۵ و ۸۱۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب بود، اما با افزایش جذب سرب در گیاه به‌دلیل حضور تیمارها میزان آنزیم کاتالاز نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت. تحقیقات نشان داده است که یک ارتباط قوی بین تحمل به تنش‌های اکسیداتیو ناشی از تنش‌های فلزات سنگین و افزایش غلظت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در گیاهان فتوسنتزکننده وجود دارد (درویشی، ۱۳۹۴). که این امر در حضور تیمارهای باکتری، سوپرجاذب و اسید هیومیک با اثر بر سیستم ریشه‌ای، و افزایش جذب آب سبب انتقال مواد در گیاه می‌شود. تحقیقات نشان داده است که یک ارتباط قوی بین تحمل به تنش‌های اکسیداتیو ناشی از تنش‌های فلزات سنگین و افزایش غلظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهان فتوسنتزکننده وجود دارد. رادیکال‌های

Archive of SID

www.SID.ir

سوپراکسید تولید شده با فعال شدن آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به پراکسیدهیدروژن (H_2O_2) تبدیل شده و فعالیت آنزیم کاتالاز از تجمع پراکسیدهیدروژن جلوگیری می‌نماید. از آن‌جایی‌که فلز سنگین سرب میزان ساخت گونه‌های فعال اکسیژن را در گیاه افزایش داده و منجر به ایجاد تنش اکسیدی در آن‌ها می‌شود، بنابراین افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان خاصی نیز در چنین گیاهانی دیده می‌شود (درویشی، ۱۳۹۴). محققین در بررسی اثر سرب بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی کالوس گیاه پریوش بیان داشتند در کالوس‌های تیمار شده با غلظت‌های ۱۰ و ۵۰ میکرومولار سرب، فعالیت آنزیم کاتالاز در مقایسه با تیمار شاهد به‌ترتیب ۳۵ و ۲۴ درصد افزایش داشت (امیرجانی و همکاران، ۱۳۹۴). بیش‌ترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز همانند آنزیم کاتالاز در غلظت ۱۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب و تیمار سوپرجاذب + اسید هیومیک+ باکتری با ۳۲/۸۹ درصد افزایش نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد. هم‌چنین کم‌ترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در تیمار ۸۱۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب+ سوپرجاذب با ۳۹/۰۵ درصد کاهش نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد (جدول ۲). معمولاً رادیکال سوپراکسید اولین رادیکال آزادی است که در طی تنش تولید می‌شود و سریعاً رادیکال سوپراکسید را به پراکسید هیدروژن و اکسیژن مولکولی تبدیل می‌کند و با حذف سوپراکسید نقش حیاتی‌تری را در سیستم آنتی‌اکسیدانتی نسبت به آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز ایفا می‌کند، لذا سبب افزایش مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی می‌شود. در اکثر مطالعات میزان سوپراکسید دیسموتاز به‌دلیل فاکتورهای مورد آزمایش مانند گونه‌گیاهی، نوع بافت، نوع فلز، غلظت فلز مورد تیمار، و مدت زمان تیمار می‌باشد. محققین در بررسی کالوس گیاه پریوش بیان داشتند میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در اثر غلظت‌های ۱۰ و ۵۰ میکرومولار سرب، نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار یافت و بیش‌ترین فعالیت آنزیم در غلظت ۵۰ میکرومولار بود (امیرجانی و همکاران، ۱۳۹۴). هم‌چنین بررسی تیمار گندم با غلظت‌های ۱۰۰، ۵۰۰، ۲۵۰۰۰ میکرومولار نیترات سرب نشان داد که فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در طی تنش افزایش یافت (Kaur *et al.*, 2012). بیش‌ترین و کم‌ترین فعالیت آنزیم گلوتامین پراکسیداز در تیمارهای ۱۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب + سوپرجاذب + اسید هیومیک+ باکتری و ۸۱۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب + سوپرجاذب + اسید هیومیک به‌ترتیب با ۳۴/۲۳ و ۹/۸۲ درصد افزایش و کاهش نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد. در مجموع نتایج مقایسه میانگین سه بعدی داده‌ها نشان داد، پاسخ فعالیت آنزیم‌ها در کلیه تیمارها به دلیل اثرات سوء سرب بر گیاه روند یکسانی دارند و آنزیم گلوتامین پراکسیداز کم‌تر اثرپذیری دارد (شکل ۲). محققین بیان کردند که با افزایش سن گیاه، مقاومت گیاه به فلزات سنگین افزایش می‌یابد. در گیاهان، سرب به‌دلیل ممانعت از فعالیت فتوسیستم دو (II) و سطح پلاستوکینون سبب کاهش فتوسنتز و رشد گیاه شد. عنصر سرب هم‌چنین با ممانعت از فعالیت آنزیم ATPase غشایی و اثر بر یکپارچگی غشاء، سبب آسیب فرا ساختار سلول‌های برگ، تورم کلروپلاست، شکست و حذف پوشش‌های

Archive of SID

www.SID.ir

کلروپلاست، سبب ممانعت از فعالیت بیوسنتز کلروفیل توسط آنزیم‌های روبیسکو و فسفو ریبولوکیناز غیرفعال می‌شود. (Adam *et al*., 2006). اثرات با نتایج هیومیک‌اسید در گندم و نعناع، در کاهش جذب فلزات سنگین مطابقت داشت (Lee and Bartlett, 1976). هم‌چنین در بررسی بابونه آلمانی، بیش‌ترین جذب سرب توسط ریشه در تیمار ۱۸۰ میکرومولار سرب مشاهده شد (صادری و همکاران، ۱۳۹۰). ارزیابی عناصر کادمیوم و سرب بر رشد گیاه ذرت نشان داد این عناصر در ریشه گیاه ذرت انباشته شده و گیاه مورد نظر توانایی انتقال مقادیر جزئی از این عناصر را به اندام هوایی دارد (Baker *et al*., 2000). در این مطالعه سرب جذب شده توسط یونجه یک‌ساله عمدتاً در ریشه تجمع پیدا کرده بود که با نتایج تحقیق سایر محققان بر روی فلزات سنگین هماهنگی دارد (Brown *et al*., 2005 ; Ansari *et al*., 2007).

نتیجه‌گیری

نتایج آزمایش نشان داد، گیاه یونجه یکساله (*Medicago scutellata*) از توانایی بالایی جهت جذب عنصر سنگین سرب از خاک‌های آلوده توسط ریشه و اندام هوایی خود برخوردار است. علاوه بر این ترکیب هم‌زمان باکتری، سوپرجاذب و اسید هیومیک با افزایش غلظت سرب میزان یا عملکرد صفات فیزیولوژیک (ارتفاع، زیست توده و میزان آب نسبی برگ) را افزایش داد که خود امری موثر در شرایط تنش فلزات سنگین می‌باشد. هم‌چنین میزان اندوزش فلز سنگین سرب توسط اندام هوایی یونجه یکساله بیش‌تر از ریشه آن بود و این امر مؤید فاکتور انتقال بالا، جهت انتقال عناصر سنگین از ریشه به اندام هوایی و بهبود گیاه پالایی اراضی آلوده توسط گونه مذکور می‌باشد. هم‌چنین با افزایش غلظت عنصر سرب و افزایش DTPA در خاک توانایی معنی‌دار استخراج سرب از خاک توسط گیاه یونجه یکساله مشخص شد. بنابر این اثرات افزایشی باکتری‌های محرک رشد، هیومیک اسید و پلیمر سوپر جاذب در جذب و پالایش سرب در اندام هوایی و ریشه گیاه یونجه یکساله، می‌تواند راه‌گشای مشکل گیاه پالایی اراضی آلوده به فلزات سنگین باشد.

منابع

امیرجانی، م. آبنوسی، م، ح. مهدیه، م. و قره‌شیخ لو، س. ۱۳۹۴. بررسی اثر سرب بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی، میزان پرولین و آلکالوئید کل کالوس گیاه پریوش. مجله سلول و بافت. جلد ۶ شماره ۱، ص ۹-۲۱.

امینی، ف. و امیرجانی، م. ۱۳۹۱. اثر تیمار نیکل و سرب بر محتوای کلروفیل و تجمع‌ای فلزات در گیاه یونجه (*Medicago sativa*) تحت تنش سمیت تولوئن در شرایط هیدروپونیک. مجلهٔ تولید و فرآوری محصولات زراعی و باغی، سال ۲ شمارهٔ ۶، ص ۷۰-۸۵.

Archive of SID

www.SID.ir

پرنیان، ا. چرم، م. حقیقی فرد، ن. و دیناروند، م. ۱۳۹۰. گیاه پالایی نیکل از محیط هیدروپونیک به کمک علف شاخی (*Ceratophyllum demersum* L). علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای. سال ۲ شماره ۶، ص ۷۵-۸۴.

حسن پور درویشی، ح. ۱۳۹۴. بررسی اثر سرب و روی و نقش قارچ میکوریزا بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و بیومارکرهای تخریب در یونجه، خلر و ماشک گل خوشه‌ای. فصلنامه فیزیولوژی گیاهان زراعی، سال ۶، شماره ۲۵، ص ۷۳-۸.

شریفی، م.، خوشگفتار، ب.، قناتی، ح. و اهتمام، م. ۱۳۹۶. اثر تغذیه سیلیکون بر برخی شاخص‌های رشدی و فیزیولوژیک گیاه یونجه (*Medicago sativa*) تحت تنش سمیت تولوئن در شرایط هیدروپونیک. مجلهٔ فرآیند وکارکرد گیاهی، جلد ۶ شمارهٔ ۱۹، ص ۴۵۷-۴۷۰.

صادری، ز. زرین کمر، ف. و زینلی، ح. ۱۳۹۰. بررسی جذب و تجمع سرب در مراحل مختلف رشد و نمو بابونه آلمانی *Matricaria chamomilla* . زیست شناسی گیاهی سال ۳ شماره ۹، ص ۵۳-۶۲.

کوپایی، ع، ج. متین، ن و طهرانی، م، ج. ۱۳۹۴. جذب کادمیوم توسط سه گیاه شاهی، کاهو و گوجهفرنگی در خاک آلوده به کادمیوم. علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای. سال۶ شماره ۲۱، ص ۴۱-۵۲.

محمدی، م. حبیبی، د. اردکانی، م.ر. و اصغرزاده، ا. ۱۳۹۰. تأثیر کاربرد کودهای بیولوژیک، هیومیک اسید و پلیمر سوپر جاذب بر جذب و پالایش کادمیوم توسط یونجه یکساله (*Medicago scutellata* L.). یافته های نوین کشاورزی سال ۶ شماره ۲، ص ۱۷۳-۱۹۰.

هوشمندفر، ع. و طهرانی، م. ۱۳۷۸. بررسی پتانسیل استخراج سرب و روی خاک به وسیله گیاه گلرنگ. مجله گیاه و زیست بوم شماره ۱۴، ص ۷۷-۸۶.

Abdu, N., Abdullahi, A. A., and Abdulkadir, A. 2017. Heavy metals and soil microbes. Environmental Chemistry Letters, 15(1): 65-84.

Adam, T., Nilesh, R., Sharma, C., Sahi, S. V., Singh, S. R. and Sajwan, K. S. 2006. Effects of lead and chelators on growth, photosynthetic activity and Pb uptake in Sesbania drummondii grown in soil. Environmental Pollution, 144: 11-18.

Almeida, A. F., Valle, A. A., Mielke, M. S., Gomes, F. P. and Braz, J. 2007. Tolerance and prospection of phytoremediator woodg species of Cd, Pb, Cu and Cr. Plant Physiology, 19: 83-98.

Archive of SID

www.SID.ir

Ansari, A., Hajabbasi, M. A., Khademi H., and Kazemian, H. 2007. Soil cadmium stabilization usingan Iranian natural Zeolite. Geoderma, 137: 388-393.

Arriagada, C. A., Herrera, M. A. and Ocampo, J. A. 2007. Benficial effect of saprobe and arbuscular mycorrhizal fungi on growth of Eucalyptus globules co-cultured with Glycine max in soil contaminated with heavy metals. J. Environ.manage, 84: 93-99.

Baker, A. J. M., Mc Grath, S. P., Reeves, R. D. and Smith, J. A. C. 2000. Metal hyperaccumulator plants, Areview of the ecology and physiology of a biological resource for phytoremediation of metalpolluted soils. In, Terry, N. and Banuelos, G. phytoremediation of contaminated soil and water.Lewis Publ. CRC, Boca Raton, 85-107.

Beladi, M., Habibi, D., Kashani, A Paknejad, F and Nooralvandi, T. 2011. Phytoremediation of Lead and Copper by Sainfoin (*Onobrychis vicifolia*): Role of Antioxidant Enzymes and Biochemical Biomarkers. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences, 10(3): 440-449.

Brown, S., Christensen, B., Lombi, E., Mc Laughlin, M., Mc Grath, S., Colpaert, J., and Vangronsveld, J. 2005. An inter-laboratory study to test the ability of amendments to reduce the availability of Cd, Pb, and Zn in situ. Environmental Pollution, 138(1): 34-45.

Burd, G. I., Dixon, D. G. and Glick, B. R. 2000. Plant growth promoting bacteria that decrease heavy metal toxicity in plants. Canadian Journal of Microbiology, 46: 237-245.

Chance, B., and Maehly, A.C. 1995. Assay of catalase and peroxidase. Methods inenz enzmology. Academic Press. New York, 2: 764-765.

Chen, L., Luo, S. L., Li, X.J., Wan, Y., Chen, J. L., Liu, C. B., 2014. Interaction of Cdhyperaccumulator *Solanum nigrum* L. and functional endophyte Pseudomonas sp. Lk9 on soil heavy metals uptake. Soil Biology. Biochemistry, 68: 300-308.

Citterio, S., Prato, N., Fumagalli, P., Aina, R., Massa, N., Santagostino, A., Sgorbati, S. and Berta, G. 2005. The arbuscular mycorrhizal fungus Glomus mosseae induces growth and metal accumulation changes in Cannabis sativa L. Chemosphere, 59(1): 21-29.

Darvishi, H. H., and Kamajian, M. 2014. Cd accumulation abilities of annual alfalfa (*Medicago scutellata* L.) by humic acid and growth promoting bacteria association. Physiology, 5(1): 1243-1247.

Dauda, M. K., Variatha, M. K., Shafaqat, A., Najeeba, U., Jamilb, M., Hayat, Y., Dawooda, M., Khand, M. I., Zaffar, M., Cheemad, S. A., Tonga, X. H. and Zhua, S.2009. Cadmiuminduced ultramorphological and physiological changes in leaves of two transgenic cotton cultivars and their wild relative. Journal of Hazardous Materials, 168: 614-625.

Archive of SID

www.SID.ir

Dhindsa, R. S., Plumb-Dhindsa, P., and Thorpe, T. A. 1981. Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. Journal of Experimental botany, 32(1): 93-101.

Fiorentino, N., Ventorino, V., Rocco, C., Cenvinzo, V., Agrelli, D., Gioia, L., and Fagnano, M. 2017. Giant reed growth and effects on soil biological fertility in assisted phytoremediation of an industrial polluted soil. Science of the Total Environment, 575: 1375-1383.

Foy, C. D., Chaney, R. L. and White, M. C. 1978. The physiology of metal toxicity Annu. Rev. physiol., 29: 511-566.

Handreek, K. A. 1994. Effect of pH on the uptake of Cd and Zn from soil less media Containing sewage sludge Commun. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 25: 1913-1927.

Javanmard, H. R., Habibi, D., Hoodaji, M., Paknejad, F., and Boojar, M. M. A. 2012. Influence of humic acid, super absorbent and bacteria usage on the lead phytoextraction by annual alfalfa (*Medicago scutellata* L.) from contaminated soil. Research on crops, 13(3): 1048-1052.

Joner. E. J. and Leyval, C. 1997. Plant uptake of Cd through arbuscular mycorrhiza. An important group of symbiotic fungi. Conference paper- Journal-article.

Kaschel, A., Römheld, V. and Chen, Y. 2002. Cadmium binding by fractions of dissolved organic matter and humic substances from municipal solid waste compost. Journal of Enviromental Quality, 31: 1885–1892.

Kaur, G., Singh, H. P., Batish, D. R., and Kumar, R. K. 2012. Growth, photosynthetic activity and oxidative stress in wheat (*Triticum aestivum* L.) after exposure of lead to soil. Journal of environmental biology, 33(2), 265.

Kayser, A., Wenger K., Keller A., Attinger W. and Schulin R. 2000. Enhancment of phytoextraction of Zn, Cd, and Cu from calcarieous soil: The use of NTA and sulfur amendments. Environmental Science and Technology, 34: 1778-1783.

Khaled, H. and H. A. Fawy. 2011. 'Effect of different levels of Humic Acids on the nutrient content, plant growth, and soil properties under conditions of Salinity. Soil and Water Research, 6(1): 21–29.

Kong, Z., and Glick, B. R. 2017. The Role of Plant Growth-Promoting Bacteria in Metal Phytoremediation. Advances in Microbial Physiology.

Kuffner, M., Puschenreiter, M., Wieshammer, G., Gorfer, M. and Sessitsch, A. 2008. Rhizospher bacteria affect growth and metal uptake of heavy metal accumulating willows. plant Soils, 304: 35-44.

Archive of SID

www.SID.ir

Lee, Y.S. and R.J. Bartlett. 1976. Stimulation of plant growth by humic substances. Soil Science Society of American Journal, 40: 876-879.

Lindsay ,W. L, Norwell WA. 1978. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese and copper. Journal of Soil Science Society of America, 42: 421-328.

Ma, Y., Oliveira, R.S., Nai, F. J., Rajkumar, M., Luo, Y. M., Rocha, I., Freitas, H., 2015a. The hyperaccumulator Sedum plumbizincicola harbors metal-resistant endophytic bacteria that improve its phytoextraction capacity in multi-metal contaminated soil. J. Environ. Manage 156: 62-69.

Ma, Y., Rajkumar, M., Zhang, C., and Freitas, H. 2016. Beneficial role of bacterial endophytes in heavy metal phytoremediation. Journal of environmental management, 174: 14-25.

Marchiol L, Assolari S, Sacco P, Zerbi G. 2004. Phytoextraction of heavy metals by canola (*Brassica napus*) and radish (*Raphanus sativus*) grown on multicontaminated soil. Journal of Environmental Pollution, 132: 21-27.

Norris, J. R., Read, D. J. and Varma, A. K. 1992. Methods in microbiology. Techniques for the study of mycorrhiza. Academic press, London. Volume 23.

Pawlowski, A., Lejcus, K., Garlikowski, D. and Orezesyna, H. 2009. Geocomposite with superabsorbent as an element improving water availability for plants on slopes. Geophysical Research Abstracts, 11: 1-2.

Pendias, H. 2001. Trace Elements in Soils and Plants. CRC Press, London.

Pruvot, C., Douay, F. 2006. Heavy metals in soil, Crops and Grass as a source of Human Exposure in the Former Mining Areas. Journal of Soil Sediments, 6: 215-220.

Rodríguez-Rodríguez, N., Rivera-Cruz, M. C., Trujillo-Narcía, A., Almaráz-Suárez, J. J., and Salgado-García, S. 2016. Spatial Distribution of Oil and Biostimulation through the Rhizosphere of Leersia hexandra in Degraded Soil. Water, Air, and Soil Pollution, 227: 319.

Ryan, J., Estefan, G., Rashid, A. 2001. Soil and plant analysis laboratory manual.International Center for Agriculture Research in Dry Areas (ICARDA) and the National Agriculture Research Center (NARC).Available from ICARDA, Aleppo, Syria.172.

Schmidt, U. 2003. Enhancing phytoextraction: The effect of chemical soil manipulation on mobility, plant accumulation and leaching of heavy metals. Journal of Environmental Quality, 32: 1939-1954.

Shaffer, M. 2001. Waste lands: The treat of toxic fertilizer. California's Advocate for the Public Interest, Los Angeles, CA.

Sharma, P. and Dubey, R. S. 2005. Lead toxicity in plants. Brazilian Journal of Plant Physiology, 17(1): 35-52.

Archive of SID

www.SID.ir

Tang, W. W., Zeng, G.M., Gong, J. L., Liang, J., Xu, P., Zhang, C., and Huang, B. B. 2014. Impact of humic/fulvic acid on the removal of heavy metals from aqueous solutions using nanomaterials: a review. Science of the total environment, 468: 1014-1027.

Vargas, C., Pérez-Esteban, J., Escolástico, C., Masaguer, A., and Moliner, A. 2016. Phytoremediation of Cu and Zn by vetiver grass in mine soils amended with humic acids. Environmental Science and Pollution Research, 23(13): 13521-13530.

Vassilev, A., Vangronsveld, J. and Yordanov, I. 2002. Cadmium phytoextraction: Present state, Biological Backgrounds and Research Needs. Bulgarian Journal of Plant Physiology, 28(3-4): 68-95.

Wei, Y., Hou, H., Xian, Y., Guan, S., Li, J. N., Li, F. S. 2014. Genetic diversity of endophytic bacteria of the manganese-hyperaccumulating plant Phytolacca Americana growing at a manganese mine. European Journal of Soil Biology, 62: 15-21.

Archive of SID

www.SID.ir