

## شناسایی گیاهان بومی و باکتری های مقاوم به فلزات سنگین در اراضی اطراف معدن سرب و روی عمارت شازند اراک به منظور استفاده در گیاه پالایی

بابک متشع زاده<sup>۱</sup>، غلامرضا ثواقبی فیروز آبادی<sup>۲\*</sup>، حسنعلی علیخانی<sup>۳</sup> و حسین میرسیدحسینی<sup>۴</sup>  
<sup>۱</sup>، <sup>۲</sup>، <sup>۳</sup>، <sup>۴</sup>، دانشجوی دوره دکتری، دانشیار و استادیاران پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران  
 (تاریخ دریافت: ۸۶/۱۲/۲۲ - تاریخ تصویب: ۸۷/۸/۱)

### چکیده

فلزات سنگین به علت اثرات بازدارنده ای که بر روی رشد و نمو گیاهان و ریز موجودات (میکروارگانیسم ها) می گذارند از جمله آلاینده های محیط زیست به شمار می روند و به علت توسعه کاربرد آنها در صنعت، بر سلامت انسان و تولید محصولات کشاورزی اثرات نامطلوب دارند. گیاه پالایی، فناوری استفاده از گیاهان برای استخراج، تثبیت، محبوس کردن و یا سمیت زدایی آلاینده ها می باشد. در این پژوهش، معدن سرب و روی عمارت شازند در استان مرکزی بررسی شد و ضمن تعیین میزان آلودگی فلزات سنگین در خاک، میزان انتقال این فلزات از ریشه به اندام هوایی در گیاهان منطقه بررسی و گونه های بومی جاذب فلزات سنگین شامل بومادران، گل ماهور، استپی ریش دار، چوبک، فریون و تاج خروس نیز شناسایی گردید. در بین گیاهان شناسایی شده میزان فلزات سنگین سرب، روی و کادمیوم در اندام هوایی گیاه بومادران به ترتیب با میانگین ۱۱۰/۱، ۳۸۷/۶ و ۳ میلی گرم در کیلوگرم بیشترین میزان و در سطح ۱٪ بر اساس آزمون دانکن با سایر گیاهان بومی اختلاف معنی دار داشت. همچنین میزان نیکل در ریشه گندم آبی کشت شده در منطقه مورد مطالعه با میانگین ۲۹/۵ میلی گرم در کیلوگرم نسبت به سایر گیاهان بیشتر بود. به عبارت دیگر گیاه بومادران برای استفاده در گیاه پالایی به روش گیاه جذبی گزینه مناسبی است، ضمن آنکه گندم با جلوگیری از انتقال نیکل از ریشه به اندام هوایی در تثبیت آن موثرتر بوده است. با اندازه گیری فاکتور انتقال (TF) فلزات سنگین در گیاهان، گیاه چوبک به ترتیب با فاکتور انتقال ۵/۹، ۴/۴ و ۴/۳ فلزات سرب، روی و کادمیوم بیشترین TF و بومادران با TF ۳، بیشترین فاکتور انتقال نیکل را داشت. نتایج تجزیه خاک کشاورزی اطراف معدن نشان داد که میزان فلزات سنگین بیشتر از حد متوسط خاکهاست و این امر موجب نگرانی می باشد. همچنین با جداسازی باکتری های خاک از محیط ریزوسفر و خاک های آلوده به فلزات سنگین، هفت جدایه مقاوم به فلزات سنگین شناسایی و گزارش گردید که می توان از زاد مایه آنها برای آزمایش های گیاه پالایی استفاده نمود.

واژه های کلیدی: گیاه پالایی، فلزات سنگین، باکتری، آلودگی خاک، فاکتور انتقال

## مقدمه

آلودگی فلزات سنگین در خاک ها، یک مشکل عمده زیست محیطی محسوب می شود و بر سلامت انسان، موجودات زنده، تولیدات کشاورزی و محیط زیست اثر دارد (۲، ۱۹). فلزات سنگین آلاینده عموماً شامل کادمیوم، کروم، مس، جیوه، سرب و نیکل هستند (۱۹، ۳۵). امروزه در نتیجه فعالیت های انسان نظیر حفاری و استخراج معادن و ذوب فلزات، صنایع خودرو و الکتریکی، تولید انرژی و سوخت، کودها، فاضلاب و پسماندهای تصفیه خانه ها و کاربرد علف کش ها، مشکلات بسیار زیاد زیست محیطی بروز نموده است (۳۵). زمانی که فلزات سنگین در محیط موجود باشند، به وسیله گیاهان جذب و به اندام هوایی منتقل می شوند. این امر منجر به اختلال در متابولیسم و کاهش رشد می شود (۲۷). علاوه بر بروز معضلات زیست محیطی و تهدید سلامت انسان، مقادیر بالای فلزات سنگین در خاک های آلوده، فعالیت های زیستی و حاصلخیزی خاک را کاهش داده و در نتیجه عملکرد محصولات کشاورزی نیز تقلیل می یابد (۳۵). کادمیوم به عنوان یک عنصر غیر ضروری، فلز سنگین و سمی برای گیاه محسوب شده و مانع رشد ریشه و اندام هوایی گیاهان می شود. این عنصر در محصولات کشاورزی تجمع یافته و به علت توانایی بالا در ایجاد مسمومیت در غلظت های کم، یک عنصر ویژه محسوب می شود (۵). مهمترین بخش از آلودگی فلزات سنگین در چین مربوط به عنصر کادمیوم گزارش شده که از طریق کودهای فسفاته و معادن سرب و روی به اراضی کشاورزی وارد شده است (۳۷).

مقدار نیکل در خاک ها بین ۵ تا ۵۰۰ و به طور متوسط ۱۰۰ میلی گرم در کیلو گرم است. نیکل مانند فلزات دو ظرفیتی، جذب سطحی کانی های رسی شده و با کاتیون های کلسیم، منیزیم، آهن و روی رقابت می کند، لذا میزان زیاد نیکل در محیط ریشه، ممکن است به کمبود آهن و روی در گیاه منجر شود (۵).

فلز روی به عنوان یک عنصر غذایی کم مصرف برای گیاه ضروری است اما در غلظت های بالا سمیت دارد (۱۱).

سنگ معدن روی به طور طبیعی محتوی ۰/۱ تا ۵ درصد کادمیوم است و در خاک های آلوده صنعتی نسبت کادمیوم به روی ۱ به ۱۰۰ می باشد. ضمن آن که، کادمیوم با خنثی کردن بار منفی دیواره سلولی می تواند جایگزین روی شود (۲۸).

سرب نیز به عنوان شایع ترین منبع آلاینده محیط زیست ذکر گردیده و آلودگی این فلز در گیاهان مناطق اطراف بزرگراه ها معمولاً از متوسط تا بسیار شدید بوده و غلظت سرب در آنها در دامنه غلظت بحرانی و فراتر از آن می تواند قرار گیرد. لذا سرب جذب شده توسط گیاه می تواند هم از طریق ریشه و هم از طریق اندام هوایی ناشی از آلودگی موجود در هوا جذب شده باشد (۲۹).

گیاه پالایی، فناوری استفاده از گیاهان برای استخراج، تثبیت، محبوس کردن و یا سمیت زدایی آلاینده ها توسط گیاه با استفاده از روش های فیزیکی، شیمیایی و زیستی می باشد (۱۹، ۳۵). این فناوری روشی موثر، ارزان قیمت، زیبا پسند و متناسب با شرایط زیست بوم و سازگار با محیط زیست انسان بوده و آلودگی ها را از خاک پالایش می کند. این روش همچنین اجازه توسعه و احیاء مجدد پوشش گیاهی و فعالیت ریز موجودات خاک را فراهم نموده و نسبت به روش های شیمیایی مزایای خوبی به همراه دارد. عموماً دو دسته از گیاهان برای پالایش آلودگی از خاک، مناسب هستند. گیاهان بیش اندوز فلزات که قدرت جذب بالایی دارند و دیگری گیاهان دارای زیست توده بالا. هر یک از این دو دسته، برای استفاده در گیاه پالایی، کاستی هایی دارند. از جمله اینکه گیاهان بیش اندوز دوره رشد کوتاه و زیست توده کمی دارند. از سوی دیگر گیاهانی که زیست توده بالا تولید می کنند، عموماً به غلظت های بالای فلز، حساس بوده و توانایی کمی در انتقال فلز از ریشه به اندام هوایی خود دارند. از این رو پژوهش ها، در راستای شناسایی گیاهان بومی و بیش اندوز، گیاهان زراعی و غیر زراعی با تولید زیست توده بالا و قدرت انتقال فلز از ریشه به اندام هوایی و استفاده از باکتری های محرک رشد و شناخت بهتر از محیط فراریشه و جذب بیشتر فلز توسط ریشه، در حال گسترش می باشد (۲، ۳۵). بر اساس تحقیقات انجام شده



متقابل خاک، فلزات سنگین، باکتری و گیاه دارد. این امر توسط عوامل مختلفی نظیر خصوصیات و فعالیت گیاه و باکتری‌ها، شرایط آب و هوایی و خصوصیات خاک و غیره، تاثیر می‌پذیرد. بر این اساس، فناوری کاربرد گیاهان جهت اصلاح خاک‌های آلوده به آلاینده‌های مختلف در بسیاری از نقاط جهان مورد استفاده قرار گرفته است و امروزه نیز از بهترین روش‌های اصلاحی محیط زیست به حساب می‌آید. کاربرد این تکنیک در ایران تا کنون چندان مورد توجه قرار نگرفته است و با توجه به اینکه بسیاری از گونه‌های گیاهی بیش‌اندوز<sup>۳</sup> شناسایی شده در جهان، با شرایط آب و هوایی کشور ما سازگاری ندارند لذا شناسایی و استفاده از گونه‌های سازگار با شرایط آب و هوایی خشک و نیمه خشک کشور ما نخستین گام جهت استفاده از این روش در رفع آلودگی خاک‌های کشاورزی کشور به فلزات سنگین خواهد بود.

در این پژوهش، ضمن بررسی میزان آلودگی خاک‌ها و گیاهان اطراف معدن سرب و روی عمارت شازند در استان مرکزی، گیاهان بومی جاذب فلزات شناسایی و باکتری‌های موجود در خاک‌های ریزوسفری و غیر ریزوسفری، جدا سازی و بر روی محیط‌های آلوده به فلزات سنگین تلقیح و در نهایت جدایه‌های مقاوم به فلزات سنگین شناسایی و گزارش گردید.

### مواد و روش‌ها

به منظور بررسی وضعیت مناطق آلوده به فلزات سنگین، موقعیت معادن مختلف سرب و روی در کشور با استفاده از کتاب طلایی معدن بررسی و معدن سرب و روی عمارت شازند در استان مرکزی به علت عدم انجام مطالعات گیاه پالایی و آلودگی فلزات سنگین، انتخاب گردید (۱۵، ۲۶). معدن بین مدارهای ۳۳ درجه و ۴۵ دقیقه تا ۳۴ درجه شمالی و ۴۹ درجه و ۳۰ دقیقه تا ۴۹ درجه و ۴۵ دقیقه شرقی از نصف النهار مبدأ، در ۴۶ کیلومتری جنوب غربی اراک و در نزدیکی شهر قدمگاه و روستای عمارت واقع شده و ارتفاع آن از سطح دریا ۲۱۵۰ متر است. میانگین دما، ۱۴

برخی گیاهان بیش‌اندوز و جاذب فلزات سنگین برای استفاده در فناوری گیاه پالایی گزارش شده‌اند، از گیاهان بیش‌اندوز می‌توان به *Thlaspi caerulescens*، *Holmaniastrum robertii*، *Ipomea alpine*، *Astragalus racemosus*، *Berkheya coddii*، *Sebertia acuminata* و از گیاهان بومی و زراعی می‌توان به ازماک، آفتابگردان، سورگوم، استپی ریش دار و لگوم‌ها اشاره کرد (۵، ۱۶، ۱۹، ۲۲). گیاه پالایی فلزات سنگین معمولاً شامل مکانیسم‌های استخراج گیاهی (گیاه جذبی)، تصفیه (پالایش) ریزوسفری، تثبیت گیاهی و آزاد سازی به صورت ترکیبات گازی به هوا می‌باشد. استخراج به معنی جذب و انتقال فلزات از خاک آلوده و توانایی ریشه در انتقال این آلودگی به اندام هوایی و تصفیه ریزوسفری به مفهوم استفاده از ریشه گیاه برای جذب فلز و تغلیظ آن در ریشه و یا رسوب در سطح ریشه است. تثبیت فلز توسط گیاه نیز کاهش تحرک و یا رسوب فلز سنگین در خاک به منظور ممانعت از انتقال و جذب آن توسط گیاه است که در واقع قابلیت دسترسی گیاه به اشکال قابل جذب این فلزات را کاهش می‌دهد. تصعید گیاهی نیز یکی از طرق جذب و آزاد سازی آلاینده‌ها از گیاه به اتمسفر است که در مورد ترکیباتی نظیر جیوه، آرسنیک و سلنیوم صورت می‌گیرد (۶، ۳۵). ریزوسفر<sup>۱</sup>، به عنوان یک محیط انتقالی مهم و فصل مشترک خاک و گیاه، نقش مهمی در گیاه پالایی خاک‌های آلوده به فلزات سنگین بر عهده دارد، جایی که جمعیت میکروبی، در تحرک، جذب و قابلیت دسترسی به فلزات سنگین توسط گیاه، نقش اساسی دارد. انجام این مهم از طریق: ایجاد عوامل کلات کننده، اسیدی کردن خاک، حلالیت فسفات و تغییرات ریداکس<sup>۲</sup> صورت می‌گیرد (۳۵). امروزه به طور موفقیت آمیزی از جدایه‌های باکتری‌های مقاوم به فلزات سنگین برای پالایش آلودگی از خاک‌ها، استفاده می‌شود و این باکتری‌ها قادر به تحمل غلظت‌های بالایی از فلزات سنگین از جمله کادمیوم، روی، نیکل و سرب هستند (۲). پتانسیل گیاه پالایی بستگی به روابط

3. Hyperaccumulator

1. Rhizosphere  
2. Redox

با افزایش غلظت فلزات، محدود گردد. برای بررسی میزان مقاومت باکتری ها به فلزات سنگین (سرب، روی، کادمیوم و نیکل) از نمک های نیترات سرب، کلرید روی، کلرید کادمیوم و کلرید نیکل استفاده گردید. در ابتدا محلول مادر با غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر از هر یک از این فلزات تهیه و سپس از محلول مادر، محلول های لازم تهیه گردید. برای شناسایی باکتری های مقاوم، ترتیب افزایش سطوح آلودگی فلزات عبارت بودند از: شاهد (۰)، ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر. برای کشت و تلقیح باکتری در ظروف پتری ۲ تکرار در نظر گرفته شد و پس از افزودن فلز به محیط کشت آگار، محیط مذکور در اتوکلاو استریل شده و پس از توزیع این محیط کشت ها درون ظروف پتری و سرد شدن آنها، تلقیح باکتری ها با استفاده از کلنی تازه باکتری ها، بر روی محیط جامد آگار محتوی فلز سنگین، صورت گرفت. پس از جداسازی جدایه های مقاوم به هر فلز در سطوح بالای آلودگی، نسبت به شناسایی این جدایه ها بر اساس دستور العمل Bergey (۱۸)، در آزمایشگاه باکتری شناسی موسسه تحقیقات واکنس و سرم سازی رازی، اقدام گردید.

### نتایج

#### غلظت فلزات سنگین در خاک های اراضی اطراف معدن

بررسی غلظت فلزات سنگین در خاک های مورد مطالعه (جدول یک) نشان داد که غلظت سرب و کادمیوم در خاک های زراعی اطراف معدن که بصورت دیم و آبی برای کشاورزی مورد استفاده قرار می گیرد، بالاتر از حد متوسط و معمول خاک ها است (۲۸). بر این اساس در حالی که متوسط غلظت سرب و کادمیوم در خاک ها به ترتیب ۱۹ و ۰/۳۵ میلی گرم در کیلو گرم خاک می باشد، غلظت این فلزات در بسیاری از نقاط مورد مطالعه بالاتر از این میزان بود و آلودگی خاک به مرور و در طول زمان و سال های بهره برداری از معدن (بیش از ۲۰ سال) و با توسعه حفاری و کاوش های اطراف تونل ها و انباشت باطله های معدن، زمینه گسترش آلودگی، فراهم آمده است. از سوی دیگر،

درجه سانتی گراد و متوسط بارندگی سالانه ۴۲۷ میلی متر گزارش شده است. پوشش گیاهی عمدتاً علف و بوته زار های تیغ دار از جمله گون است (۲۰). ۱۹ نمونه ساده خاک، از عمق (۲۰-۰) و (۴۰-۲۰) سانتی متری و نیز مخلوطی از هر دو عمق از مناطق نزدیک معدن، به صورت تصادفی، برداشت گردید و غلظت فلزات سنگین روی، نیکل، سرب و کادمیوم قابل جذب آنها به روش عصاره گیری با DTPA (۲۳) و با دستگاه جذب اتمی اندازه گیری شد.

جهت شناسایی گونه های بومی گیاهی، از گیاهان موجود در اطراف معدن نمونه برداری انجام و با استفاده از فلور ایران، جنس و گونه آنها تعیین گردید (۳، ۱۴). برای اندازه گیری غلظت فلزات سنگین در گیاهان، از روش خاکستر خشک استفاده شد (۱۲). داده های حاصله در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار، با نرم افزار آماری SAS تجزیه و تحلیل شد و مقایسه میانگین ها توسط آزمون دانکن در سطح ۱٪ انجام گردید. برای بررسی میزان انتقال فلزات از ریشه به اندام هوایی، فاکتور انتقال<sup>۱</sup> از تقسیم غلظت فلز در اندام هوایی به غلظت آن در ریشه تعیین گردید (۲۴). به منظور جدا سازی و شناسایی جدایه های باکتری از خاک ریزوسفر، ۱۹ نمونه از خاک ریزوسفر و غیر ریزوسفر تهیه گردید (۳۰) و موقعیت نقاط نمونه برداری با دستگاه موقعیت یاب جغرافیایی (GPS)، ثبت گردید. برای شمارش جمعیت باکتری ها از روش سری های رقت استفاده شد و با استفاده از محیط کشت آگار، بیش از ۱۳۰ باکتری از خاک های مورد مطالعه جدا گردید. دو نمونه تصادفی از هر باکتری با رقت  $10^{-8}$  cfu/ml درون اسلنت کشت و پس از رشد، در دمای +۴ یخچال نگهداری گردید. در ادامه، هر کلنی خالص شده و تیپیک باکتری، به پتری آلوده به هر یک از فلزات سنگین (شامل سرب، روی، نیکل و کادمیوم) با غلظت های مختلف و افزاینده ای از فلزات که در ادامه ذکر می شود منتقل و در مراحل بعد غلظت فلزات سرب، روی، نیکل و کادمیوم در محیط کشت غذایی آگار افزایش یافت تا تعداد باکتری های مقاوم به مرور

1 - Translocation Factor



میانگین ۳ در سطح a و پس از آن ریشه بومادران با میانگین ۲/۴ در سطح b و اندام هوایی سلمه تره نیز در پایین ترین سطح غلظت (۰/۱) قرار دارند و در نهایت غلظت روی در اندام هوایی بومادران با میانگین ۳۸۷/۶ در سطح a و پس از آن ریشه استپی ریش دار با میانگین ۲۹۲/۶ در سطح b و ریشه سلمه تره با میانگین ۳۲/۳ میلی گرم در کیلوگرم ماده خشک در پایین ترین سطح قرار دارد.

#### تعیین فاکتور انتقال

بررسی میزان غلظت فلزات در اندام های گیاهی از دیدگاه متفاوتی نیز قابل بررسی است. فاکتور انتقال نمایه ای است که موفقیت انتقال عناصر را از ریشه به اندام هوایی مشخص می کند و در گیاهان بیش اندوز بالاتر از یک است. این فاکتور در گیاهان شناسایی شده، بررسی و تعیین گردید. بعد از اندازه گیری میزان سرب، روی، کادمیوم و نیکل، در اندام هوایی و ریشه، از تقسیم کردن غلظت هر عنصر در بخش هوایی به غلظت آن در ریشه، فاکتور انتقال برای هر عنصر و هر گونه گیاهی بدست آمد (جدول سه). بر این اساس در مورد سرب، فاکتور انتقال گون، گاو چاق کن، ماهور، فرفیون، چوبک، بومادران و سلمه تره بیش از یک می باشد. بیشترین فاکتور انتقال مربوط به چوبک و بومادران به ترتیب ۵/۹ و ۴/۸ تعیین گردید. فاکتور انتقال در مورد عنصر کادمیوم در گیاه چوبک ۴/۳ و در مورد عنصر نیکل، بیشترین میزان فاکتور انتقال در گیاهان بومادران و تاج خروس به ترتیب ۳ و ۲/۶ تعیین گردید. بیشترین میزان فاکتور انتقال در مورد عنصر روی نیز در چوبک و بومادران بترتیب ۴/۴ و ۳/۲ تعیین گردید. به عبارت دیگر برای گیاه پالایی فلز سرب، چوبک و بومادران بیشترین کارایی و برای تثبیت فلز در ریشه استپی ریش دار و گندم بیشترین کارایی را داشتند. برای گیاه پالایی فلز روی، چوبک و بومادران و برای استفاده در فرایند تثبیت فلز، استپی ریش دار و گندم بیشترین کارایی را داشتند. در مورد فلز نیکل، بومادران و تاج خروس بیشترین کارایی گیاه پالایی و ریشه گندم و استپی ریش دار بهتر از سایر گیاهان نسبت به تجمع و تثبیت آن در ریشه اقدام نموده و در مورد فلز

مقایسه میزان فلزات سنگین در خاک سطحی با خاک زیرین نشان دهنده تجمع عمده این فلزات در لایه سطحی خاک است (به طور مثال خاک های شماره ۱، ۲، ۳، ۴، ۵ و ۶ در عمق ۲۰-۰ سانتی متر). این نمونه ها از مناطق مختلف اطراف معدن با فاصله ای حدود ۱۵۰۰ متر برداشته شده است. خاک های شماره ۱ تا ۴ در حال حاضر تحت کشت گندم آبی و در ارتفاع ۲۰۶۴ متری از سطح دریا و خاک شماره ۵ و ۶ منطقه مرتعی دارای پوشش گون و در ارتفاع ۲۰۹۰ متری می باشد و وجود غلظت بالای سرب در خاک لایه سطحی در شرایطی که کشت و کار در منطقه در حال انجام است جای تامل و دقت بیشتری دارد.

#### - غلظت فلزات سنگین در گیاهان

بررسی غلظت فلزات سنگین شامل سرب، روی، نیکل و کادمیوم در اندام هوایی و ریشه گیاهان شناسایی شده (جدول دو) نشان می دهد که غلظت عناصر سرب و روی در اندام هوایی و ریشه گیاهان بومی و حتی زراعی بالا می باشد. این امر نشان دهنده انتقال فلزات سنگین در گیاهان از ریشه به اندام هوایی و خطر انتقال از طریق زنجیره غذایی به سایر موجودات می باشد. بر این اساس در حالی که حد طبیعی فلز سرب در گیاه، حداکثر ۲۰ میلی گرم در کیلو گرم می باشد (۱). این عنصر در ریشه و اندام هوایی گیاهان بومی، بسیار بالاتر از حد طبیعی مشاهده شد. در بین فلزات سنگین، میزان سرب در اندام هوایی بومادران با میانگین ۱۱۰/۱ میلی گرم در کیلوگرم در سطح a نسبت به سایر گیاهان در سطح ۱٪ معنی دار بود و پس از آن اندام هوایی ماهور با میانگین ۸۹/۲ میلی گرم در کیلوگرم در سطح b و در اندام هوایی گندم با میزان یک، در پایین ترین سطح (m)، قرار دارد.

در مورد فلز نیکل غلظت آن در ریشه گندم با میانگین ۲۹/۵ میلی گرم در کیلوگرم در سطح a نسبت به سایر تیمارها معنی دار شده و پس از آن ریشه استپی ریش دار با میانگین ۱۹/۸ در سطح b قرار دارد و در نهایت اندام هوایی سلمه تره با میانگین ۰/۹ پایین ترین غلظت را داراست. در مورد عنصر کادمیوم اندام هوایی بومادران با

کادمیوم، بومادران و تاج خروس در گیاه پالایی و در تثبیت آن بومادران، موفق تر از سایر گیاهان بود.

جدول ۱- غلظت قابل جذب فلزات سنگین (میلی گرم در کیلوگرم) در نمونه های خاک زراعی و غیر زراعی اطراف معدن عمارت شازند

شماره خاک	عمق نمونه برداری (cm)	طول و عرض جغرافیایی محل نمونه برداری	روی	نیکل	سرب	کادمیوم
۱*	۰-۲۰	۲۳° ۵۰' ۷۸۷"	۵۰	۳	۷۳	۰/۵
		۴۹° ۳۷' ۲۳۸"				
۲	۲۰-۴۰	۲۳° ۵۰' ۷۸۷"	۱۲	۲/۸	۳۱	۰/۲
		۴۹° ۳۷' ۲۳۸"				
۳	۰-۲۰	۲۳° ۵۰' ۷۸۲"	۲۷	۱/۴	۲۸	۰/۳
		۴۹° ۳۷' ۲۵۴"				
۴	۲۰-۴۰	۲۳° ۵۰' ۷۸۲"	۲۲	۲	۳۲/۵	۰/۳
		۴۹° ۳۷' ۲۵۴"				
۵	۰-۲۰	۲۳° ۵۰' ۹۰۹"	۲۸	۱/۲	۳۸	۰/۳
		۴۹° ۳۶' ۸۶۸"				
۶	۲۰-۴۰	۲۳° ۵۰' ۹۰۹"	۱۰	۰/۵	۱۹	۰/۱
		۴۹° ۳۶' ۸۶۸"				
۷	۰-۲۰	۲۳° ۵۰' ۹۰۸"	۲۲	۰/۸	۲۴	۰/۳
		۴۹° ۳۶' ۸۶۳"				
۸	۲۰-۴۰	۲۳° ۵۰' ۹۰۸"	۳۵	۰/۷	۳۸	۰/۴
		۴۹° ۳۶' ۸۶۳"				
۹	۰-۲۰	۲۳° ۵۰' ۹۰۷"	۴۳	۱/۲	۵۹	۰/۴
		۴۹° ۳۶' ۸۶۳"				
۱۰	-۲۰	۲۳° ۵۰' ۹۰۹"	۱۹	۰/۶	۲۳	۰/۳
		۴۹° ۳۶' ۸۷۱"				
۱۱	۲۰-۴۰	۲۳° ۵۰' ۹۰۹"	۳۱	۰/۶	۳۱	۰/۳
		۴۹° ۳۶' ۸۷۱"				
۱۲	-۴۰	۲۳° ۵۰' ۸۸۸"	۴۲	۰/۶	۳۴	۰/۳
		۴۹° ۳۶' ۹۰۶"				
۱۳**	-۴۰	۲۳° ۵۰' ۸۹۸"	۶۳	۰/۸	۵۸	۰/۵
		۴۹° ۳۶' ۸۶۳"				
۱۴	-۴۰	۲۳° ۵۰' ۹۹۴"	۶۰	۱	۴۶	۰/۴
		۴۹° ۳۶' ۸۹۹"				
۱۵	۰-۴۰	۲۳° ۵۰' ۸۸۲"	۱۶	۱	۲۱	۰/۲
		۴۹° ۳۶' ۹۴۱"				
۱۶	۰-۴۰	۲۳° ۵۰' ۸۶۷"	۲۱	۱	۲۵	۰/۲
		۴۹° ۳۶' ۹۷۸"				
۱۷	۰-۴۰	۲۳° ۵۰' ۸۵۵"	۱۶	۱	۲۶	۰/۲
		۴۹° ۳۷' ۰۱۲"				
۱۸	۰-۴۰	۲۳° ۵۰' ۸۴۱"	۲۴	۱	۳۱	۰/۲
		۴۹° ۳۷' ۰۵۷"				
۱۹	۰-۴۰	۲۳° ۵۰' ۷۴۵"	۲۰	۱/۶	۲۴	۰/۲
		۴۹° ۳۷' ۳۳۳"				
گستره تغییرات	-	-	۱۰-۶۳	۰/۵-۳	۱۹-۷۳	۰/۱-۰/۵
میانگین ( $\bar{X}$ )	-	-	۲۹/۵	۱/۲	۳۴/۸	۰/۳

\* نمونه های خاک شماره ۱ تا ۸ و ۱۰ و ۱۱ از دو عمق مختلف برداشت شد.

\*\* نمونه های خاک شماره ۱۳ تا ۱۹ با هدف بررسی میزان فلزات سنگین در خاک با افزایش فاصله از معدن برداشت شد.

جدول ۲- میانگین غلظت فلزات سنگین (میلی گرم در کیلو گرم ماده خشک) در اندام هوایی و ریشه گیاهان اطراف معدن

نام علمی گیاه و اندام آن	سرب	روی	کادمیوم	نیکل
<i>Astaragalus sp</i> (ریشه گون)	۱۳/۸ j	۷۸/۴ k	۰/۳ ijk	۶/۶ efg
اندام هوایی گون	۱۵ j	۶۱/۷ m	۰/۴ ij	۷ ef
<i>Amaranthus retroflexus</i> (ریشه تاج خروس)	۴/۵ l	۴۶ n	۰/۱ lm	۱/۶ kl
اندام هوایی تاج خروس	۲/۴ lm	۶۶/۵ l	۰/۲ kl	۴/۲ hi
<i>Verbascum speciosum</i> (ریشه گل ماهور)	۲۶/۷ h	۱۳۱/۵ g	۰/۱۶ gh	۳/۵ hij
اندام هوایی گل ماهور	۸۹/۲ b	۲۷۵ c	۰/۷ fg	۳/۲ j
<i>Stipa barbata</i> (ریشه استپی ریش دار)	۷۹/۱ c	۲۹۲/۶ b	۱ d	۱۹/۸ b
<i>Stipa barbata</i> (اندام هوایی)	۲۱/۳ i	۹۸/۲ i	۰/۲ kl	۸ cd
<i>Scariola orientalis</i> (ریشه گاوچاق کن)	۷/۳ k	۴۵/۲ n	۰/۴ ij	۲/۷ j
اندام هوایی گاوچاق کن	۱۶ j	۶۱/۹ m	۰/۱۶ gh	۱/۳ l
<i>Euphorbia macroclada</i> (ریشه فرفیون)	۲۹/۲ h	۸۹/۹ j	۰/۱۵ hi	۶/۱ fg
اندام هوایی فرفیون	۶۵/۷ e	۲۱۴/۳ e	۰/۸ ef	۷/۵ de
<i>Aconthophyllum microcephallam</i> (ریشه چوبک)	۸/۵ k	۴۱/۱ o	۰/۳ ijk	۱/۶ kl
اندام هوایی چوبک	۵۰ f	۱۸۰/۳ f	۱/۳ c	۲/۷ j
<i>Achillea wilhelmsii</i> (ریشه بومادران)	۲۳/۱ i	۱۲۱/۲ h	۲/۴ b	۲/۹ j
اندام هوایی بومادران	۱۱۰/۱ a	۳۸۷/۶ a	۳ a	۸/۸ c
ریشه گیاه خانواده کاسنی	۳۵/۱ g	۱۳۳/۵ g	۰/۲ kl	۴/۳ h
اندام هوایی کاسنی	۸/۲ k	۴۶/۶ n	۰/۳ ijk	۵/۷ g
<i>Triticum sp</i> (ریشه گندم)	۷۵/۸ d	۲۲۷/۶ d	۱ d	۲۹/۵ a
اندام هوایی گندم	۱ m	۴۹ n	۰/۲ kl	۲/۵ jk
<i>Chenopodium album</i> (ریشه سلمه تره)	۲/۶ lm	۳۲/۳ p	۰/۲ kl	۳/۳ ij
اندام هوایی سلمه تره	۴ lm	۹۵/۱ i	۰/۱ lm	۰/۹ l

میانگین های هر ستون که حداقل دارای یک حرف لاتین مشترک هستند، فاقد اختلاف معنی دار به روش آزمون دانکن در سطح یک درصد می باشند.

جدول ۳- فاکتور انتقال (TF) فلزات سنگین برای گیاهان اطراف معدن

TF				نام گیاه
نیکل	کادمیوم	روی	سرب	
۱/۰۶	۱/۳	۰/۸	۱/۰۸	گون ( <i>Astaragalus sp</i> )
۲/۶	۲	۱/۴	۰/۱۵	تاج خروس ( <i>Amaranthus retroflexus</i> )
۰/۹	۱/۲	۲/۱	۳/۳	گل ماهور ( <i>Verbascum speciosum</i> )
۰/۴	۰/۲	۰/۳	۰/۳	استپی ریش دار ( <i>Stipa barbata</i> )
۰/۱۵	۱/۵	۱/۴	۲/۲	گاو چاق کن ( <i>Scariola orientalis</i> )
۱/۲	۱/۶	۲/۴	۲/۵	فرفیون ( <i>Euphorbia macroclada</i> )
۱/۷	۴/۳	۴/۴	۵/۹	چوبک ( <i>Aconthophyllum microcephallam</i> )
۳	۱/۲	۳/۲	۴/۸	بومادران ( <i>Achillea wilhelmsii</i> )
۱/۳	۱/۵	۰/۳	۰/۲	گیاه خانواده کاسنی ( <i>Compositae</i> )
۰/۰۸	۰/۲	۰/۲	۰/۰۱	گندم ( <i>Triticum sp</i> )
۰/۳	۰/۱۵	۱/۵	۱/۵	سلمه تره ( <i>Chenopodium album</i> )

جدول ۴- جدایه های مقاوم به فلزات سنگین شناسایی شده در غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر فلز



رنگ آمیزی	مقاومت به کادمیوم (200mgkg <sup>-1</sup> )	مقاومت به نیکل (1000mgkg <sup>-1</sup> )	مقاومت به روی (1000mgkg <sup>-1</sup> )	مقاومت به سرب (1000mgkg <sup>-1</sup> )	باکتری / خصوصیت	ردیف
+	+	+	+	+	<i>Bacillus mycoides</i> M1	۱
+	+	+	-	-	<i>Micrococcus roseus</i> M2	۲
-	+	-	-	+	<i>Bacillus circulans</i> M3	۳
+	-	-	-	+	<i>Bacillus pumilis</i> M4	۴
-	-	-	+	-	<i>Bacillus coagulans</i> M5	۵
+	-	-	-	+	<i>Bacillus cereus</i> M6	۶
+	-	-	-	+	<i>Micrococcus luteus</i> M7	۷

+: پاسخ مناسب به خصوصیت موردنظر - : عدم وجود خصوصیت مورد نظر

### جداسازی و شناسایی باکتری ها

در آزمایش های تحقیقاتی داخلی و خارجی، باکتری ها در غلظت های مختلفی تا حدود ۱۰۰ میلی گرم در لیتر یا بالاتر آلودگی فلز، آزمایش و معرفی شده اند (۲، ۱۰، ۳۱). در تحقیق حاضر برای محدود کردن تعداد باکتری ها و معرفی سویه های برتر جهت استفاده در گیاه پالایی خاک های آلوده، حداکثر غلظت فلزات سنگین در محیط کشت N.A، ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر تعیین گردید و در واقع مبنای انتخاب و جداسازی باکتری ها، جدایه های رشد نموده در سطوح بالای آلودگی فلزات بود. سپس از جدایه های مقاوم، کشت تازه تهیه و در آزمایشگاه باکتری شناسی موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، جنس و گونه باکتری ها شناسایی گردید (جدول چهارم). از آنجایی که جدایه های باکتری از محیط ریزوسفری و غیر ریزوسفری اطراف معدن جدا گردیده بود، بین جدایه های مندرج در جدول چهارم و محیطی که باکتری از خاک یا گیاه پیرامون آن جدا سازی گردیده بود رابطه ای مشاهده نگردید.

بر اساس نتایج حاصله، تعداد باکتری های مقاوم به فلزات سرب، روی و نیکل بیشتر از تعداد باکتری های مقاوم به کادمیوم بود. مضافاً بر اینکه میزان مقاومت باکتری ها به این فلزات بیشتر از کادمیوم مشاهده گردید. در ادامه آزمایش ها، برخی خصوصیات باکتری های محرک رشد (PGPR) در برخی از سویه های باکتری ها نظیر *Bacillus mycoides* M1 و *Micrococcus roseus* M2 نیز مشاهده گردید که بعداً به عنوان یکی از مکانیسم های انجام گیاه پالایی فلزات

سنگین در خاک های آلوده قابل بررسی دقیق تر خواهد بود.

### بحث

هدف از انجام این تحقیق در قدم اول، شناسایی گیاهان بومی جاذب فلزات سنگین و بررسی فاکتور انتقال و بررسی امکان استفاده از آن ها در فناوری گیاه پالایی خاک های آلوده به فلزات سنگین بوده است. اصولاً برای داشتن کارایی لازم جهت انجام گیاه پالایی باید میزان تولید زیست توده گیاهی بالا و قدرت جذب فلزات توسط آن زیاد و در عین حال مقاوم به آلودگی فلزات سنگین باشند (۸). ضمناً دوره رویشی آن نیز حتی الامکان کوتاه باشد. از آن جایی که بسیاری از گیاهان بومی و غیر بومی دارای یک یا چند خصوصیت عمده مورد نیاز برای استفاده در گیاه پالایی نیستند، سعی در شناخت و مطالعه بیشتر این روش و راه های افزایش کارایی گیاه پالایی از اهمیت بالایی برخوردار است. نتایج حاصل از تجزیه خاک های اطراف معدن نشان داد که میزان آلودگی خاک به سرب و کادمیوم، بالاتر از حد متوسط این فلزات در خاک های دنیا می باشد (۲۸) و این نشان دهنده بروز آلودگی های زیست محیطی در منطقه و امکان انتقال آن به محصولات غذایی است و این همه حاکی از آلودگی بالای خاک کشاورزی اطراف معدن مورد مطالعه دارد. بنابراین کاشت و برداشت گیاهان زراعی که مورد استفاده مستقیم انسان می باشد، باید با احتیاط بیشتر انجام شود و حتی المقدور از کشت آنها خودداری





کلرور نیکل، کلرور کادمیوم، کلرور روی و کلرور سرب استفاده گردید. یکی از مکانیسم های جذب فلزات سنگین توسط باکتری ها در این تحقیق، به صورت ایجاد پیوند با فلز سنگین گزارش گردید (۱۰). همچنین باکتری ها می توانند به طور مستقیم زیست فراهمی فلزات را با تغییر جنبه های شیمیایی نظیر pH، میزان مواد آلی، پتانسیل ریداکس و غیره تغییر دهند. این عوامل می تواند به شستشو و انتقال فلزات از خاک ها کمک کند. به طور مثال جدایه *Pseudomonas maltophilia* با احیاء کروم +۶ به کروم +۳ سمیت و تحرک آن را از بین برد (۸، ۳۵). باکتری های مقاوم به کروم و نیکل برای جذب فلزات سنگین در مناطق آلوده صنعتی توصیه شده و باکتری های جنس *Micrococcus sp* و قارچ *Aspergillus sp* قادر به جذب این عناصر تا غلظت ۱۰۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم گزارش شده اند (۱۰). علاوه بر این در تحقیقات متعددی روش های زیستی و استفاده از باکتری ها در حذف آلودگی بازدهی خوبی داشته و مورد مطالعه قرار گرفته است (۳۲، ۳۵). باکتری های محرک رشد با داشتن خصوصیات مفید نظیر توان تولید آنزیم ACC دامیناز و توان تولید سیدروفور می توانند به رشد بهتر گیاه در مواجهه با غلظت های بالای فلزات سنگین کمک کنند. شناسایی و بررسی دقیق این خصوصیات در شناخت مکانیسم های گیاه پالایی فلزات سنگین می تواند مفید باشد. کوفنر و همکاران (۲۰۰۸) تاثیر باکتری های ریزوسفری بر جذب و تجمع فلزات را در بید مطالعه و ۱۰ جدایه باکتری را از خاک های آلوده معادن سرب شناسایی و گزارش نمودند (۲۱). در بین جدایه های شناسایی شده، باکتری های شش جنس به شرح ذیل اعلام گردید: *Pseudomonas*, *Janthinobacterium*, *Serratia*, *Flavobacterium*, *Streptomyces*, *Agromyces*. در بین جدایه ها، چهار جدایه (از جنس های *Pseudomonas*, *Serratia* و دو جدایه از جنس *Streptomyces*) دارای توان تولید سیدروفور، و سه جدایه (دو جدایه از *Janthinobacterium* و یک جدایه از جنس *Serratia*) دارای توان تولید اکسین بودند. ضمناً هیچیک از ۱۰ جدایه توان تولید آنزیم ACC دامیناز را نداشتند. مقاومت این باکتری ها به فلزات روی، کادمیوم و سرب نیز مورد ارزیابی قرار گرفت. در مجموع باکتری های مفید ریزوسفر با اثر بر pH خاک، تامین آهن از طریق تولید

بر اساس گزارش هادا و سیزی موری (۱۹۸۱)، اگر چه ممکن است در منطقه غیر آلوده نیز باکتری ها به غلظت های بالای فلز سازش یافته باشند اما شواهد حاکی از وجود جدایه های مقاوم بیشتری در مناطق آلوده نسبت به نقاط غیر آلوده است (۱۷). همچنین بین میزان فلز در خاک و میزان مقاومت باکتری به فلز، همبستگی گزارش شده است. ضمناً باکتری های گرم مثبت و گرم منفی هر دو می توانند به فلزات سنگین مقاوم باشند (۳۳). کارایی گیاه پالایی تحت تاثیر زیست فراهمی فلزات سنگین از خاک به گیاه قرار دارد و باکتری ها می توانند فلزات سنگین را به فرم های قابل جذب بالا به ریشه منتقل کنند (۳۵). از سوی دیگر فلزات سنگین می توانند فعالیت های متابولیکی باکتری های منطقه فرا ریشه، وزن زیست توده و تنوع زیستی را کاهش دهند که این با نتایج حاصله از تعداد باکتری های مقاوم به فلزات و محدود شدن آنها به هفت باکتری در غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر فلز، همخوانی دارد.

یکی از ویژگی های این پژوهش، مطالعه بر روی باکتری های خاک و شناسایی باکتری های مقاوم به فلزات سنگین بوده است تا بتوان از این سویه های بومی شناسایی شده برای کمک به فناوری گیاه پالایی استفاده نمود. باکتری ها عمدتاً از طریق دو مکانیسم به گیاه پالایی کمک می کنند، روش غیر مستقیم و روش مستقیم. در روش غیر مستقیم با کاهش اثر پاتوژن ها و عوامل بیماری زا و در روش مستقیم از طریق مکانیسم های تثبیت نیتروژن، تولید و سنتز سیدروفور و حلالیت آهن در خاک، تولید هورمون های گیاهی مانند اکسین و سیتوکینین و کمک به رشد گیاه و افزایش حلالیت عناصر معدنی نظیر فسفات (۳۵). در جدیدترین تحقیق انجام شده در هند، گزارش شد که باکتری های جدا شده از خاک مربوط به خانواده های *Enterobacteriaceae* و *Pseudomonas* برای پالایش آب های آلوده کارخانه ها از فلزات کادمیوم، روی، نیکل و سرب با موفقیت جداسازی شدند. این باکتری ها قادر به جذب مقادیر بالای فلزات فوق (کادمیوم تا ۲۰۰، روی تا ۴۰۰، نیکل تا ۸۰۰ و سرب تا ۱۶۰۰ میکرو گرم در میلی لیتر) می باشند. در تحقیق مذکور، برای ایجاد آلودگی فلزات از



اثر بر کاهش جمعیت باکتری‌ها همخوانی دارد (۳۱) و این همه حاکی از سمیت این عنصر برای موجودات زنده و لزوم انجام تحقیقات بیشتر در راستای افزایش کارایی گیاه پالایی فلزات از محیط زیست به روش پالایش سبز می‌باشد.

### سپاسگزاری

این مقاله مستخرج از طرح پژوهشی مصوب قطب علمی بهبود کیفیت خاک برای تغذیه متعادل گیاه در دانشگاه تهران می‌باشد که بدینوسیله تشکر و قدردانی می‌نمایم. از آزمایشگاه باکتری‌شناسی موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، آقای مهندس رمک معصومی و دیگر عزیزانی که در انجام این پژوهش ما را یاری رساندند سپاسگزاری می‌گردد.

سیدروفور، افزایش حلالیت فسفر، اثر بر پاتوزن‌های گیاهی، مقاومت به تنش خشکی و شوری، تولید ایندول استیک اسید، تولید آنزیم ACC دامیناز و کاهش اتیلن‌تنشی ضمن افزایش انتقال فلز از خاک به گیاه، باعث افزایش کارایی گیاه پالایی و مقاومت گیاه به سمیت فلز نیز می‌شوند (۳۵). در کنار این نتایج، کاهش جمعیت باکتری‌ها و محدود شدن آنها در غلظت‌های بالای آلودگی مانند آنچه در مورد غلظت کادمیوم در این پژوهش مورد بررسی قرار گرفت و تنها یک جنس و گونه باکتری در محیط کشت با غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر کادمیوم، رشد نمود با تحقیقات قبلی در زمینه سمیت کادمیوم برای رشد گیاه و

### REFERENCES

- Alloway, B.J. 1990. Heavy metals in soils. John Wiley & Sons, Inc . New York. USA.
- Ansari, M. I. & A. Malik. 2007. Biosorption of nickel and cadmium by metal resistant bacterial isolates from agricultural soil irrigated with industrial wastewater. *Bioresource Techn.* 98: 3149-3153.
- Asadi, M. 1998-2005. Flora of iran. No.1-53, Reserarch Institute of Forests and Rangelands Pub. Tehran, Iran.
- Broad Burst, C.L., R.L. Chaney, J.S. Angle, E.F. Erbe & T.K.Maugel. 2004. Nickel localization and response to increasing Ni soil levels in leaves of the Ni hyperaccumulator *Alyssum Murale*. *Plant and Soil*, 265: 225-242.
- Brooks, R.R. 1998. Plants that hyperaccumulate heavy metals. CABI Pub. UK. 375 pp.
- Cheng, S. 2003. Heavy metal pollution in china: origin, pattern and control. *ESPR- Environ. Sci. & Pollut. Res.*, 10(3): 192-198.
- Cheng, S. 2003. Effects of heavy metals on plants and resistance mechanisms. *Environ. Sci. & Pollut. Res.*, 10(4): 256-264.
- Cheng, S. (2003). Heavy metals in plants and phytoremediation. *Environ. Sci. & Pollut. Res.*, 10(5): 335-340.
- Cheng, W., G. Zhang, H. Yao, P.Dominy, W.Wu. & R.Wang. 2004. Posibility of predicting heavy metal contents in rice grains based on DTPA-extracted levels in soil. *Soil Sci. and Plant Anal.*, 35 (19,20): 2731-2745.
- Congeevaram, S., S. Dhanarani., J. Park., M. Dexilin & K. Thamaraiselvi. 2007. Biosorption of chromium and nickel by heavy metal resistant fungal and bacterial isolates. *J. of Hazardous Materials*, 146(1-2): 270-277.
- Deng, H.Z.H.Ye., & M.H. Wong. 2004. Accumulation of lead , zinc, copper and cadmium by 12 wet land plant species thriving in metal contaminated sites in china. *Environ. Pollut.*, 132: 29-40.
- Emami, A. 1996. Methods of plant analysis, Publication No: 982. Soil and Water Research Institute, Tehran, Iran.
- Eshchi malayeri, B. 2004. Evaluation of cadmium nitrate and chloride application on growth and cadmium absorbtion and accumulation in root and shoot organs of tomato in hydroponic culture, *Journal of Environmental Studies*, Vol 35: 85-88.
- Ghahraman, A. 1979-1998. Colorful flora of Iran. Vol 2-22. Research Institute of Forests and Rangelands Pub. Tehran, Iran.



15. Ghorbani, M. & et al. 2000. Lead-zinc deposites in Iran. Geological survey and mineral exploration of Iran Pub. Tehran, Iran.
16. Golchin, A., A. S. Safari & K. Atashnama. 2006. Aboriginal plants that lead and zinc hyperaccumulator in Zanjan province, pp: 15-16. In: Proceeding of Soil, Environment and Sustainable Development Congress. College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.
17. Hada, H. S. & R.K. Sizemore. 1981. Incidence of plasmids in marine vibrio spp. isolated from an oil field in the north western gulf of mexico. Applied and Environ. Microb., 41, 199-202.
18. Holt, J.G., Kreig, N.R., Sneath, P.H.A., Staley & J.T., Williams, S.T. 1994. Bergeys manual of determinative bacteriology, Ninth ed. Williams and Wilkins Pub. Baltimore, maryland.
19. Jankite, A., & S. Vasarevicius. 2007. Use of poacea f. species to decontaminate soil from heavy metals. Ekologija, 53(4): 84-89.
20. Karimzadeh, A. R. 1992. Evaluation of type, mineralogy, geochemical and probably genese of lead and zinc Araks Mine, M.S thesis in Pedology , Tarbiat Moallem University , Tehran, Iran.
21. Kuffner, M., M. Puschenreiter, G. Wieshammer, M. Gorfer, & A. Sessitsch, 2008. Rhizosphere bacteria affect growth and metal uptake of heavy metal accumulating willows, Plant Soil, 304: 35-44.
22. Lasat, M. M. 2000. The use of plants for the removal of toxic metals from contaminated soil, Grant No. CX 824823.
23. Lindsay, W.L. & W.A. Norvell. 1978. Development of DTPA soil test for zinc, iron, manganese and copper. Soil Sci. Soc. of Am. J., 42: 421-428.
24. Marchiol, L., S. Assolari, P. Sacco, & G. Zerbi. 2004. Phytoextraction of heavy metals by canola and radish grown on multicontaminated soil. Environ. Pollut., 132: 21-27.
25. Navab Daneshmand, T. 2004. Study of cadmium absorbtion and accumulation in edible plants, M. S. in Environment, University of Tehran, Tehran, Iran.
26. Parsa, M. 2003. Golden book of mine. Mahrang Pub. Tehran, Iran.
27. Prasad, M.N.V. 2004. Heavy metal stress in plants, Second Ed. Norosa Publishing House. USA.
28. Purohit, S.S. & A.K. Agrawal. 2006. Environmental Pollution. Agrobios Pub. India.
29. Rahmani, H. R., M. Kalbasi and S. Haj Rasoliha. 2000. Plant pollution by lead from automobile around the some of Iran highways, Journal of Environmental Studies, 26: 76-83.
30. Reddy, G. B., Ed wenda, F. & D. Aldridge. 1986. Seasonal changes in bacterial numbers and plant nutrients in point and non-point source ponds. Environ. Pollut. (Series A) 40, 359-367.
31. Sepehri, M. 2003. The effects of soil pollution by cadmium on growth, nodulation and nitrogen fixation of native strains of sinorhizobium meliloti, M.S. thesis in Soil Science, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.
32. Shahriyari, M. H., Gh. R. Savaghebi-Firoozabadi, D. Minai-Tehrani & M. Padidaran. 2006. The effect of mixed plant alfafa and fescue on the phytoremediation of light crude oil in soil, Environmental sciences, 13: 33-40.
33. Silver, S. & T. K. Misra. 1998. Plasmid mediated heavy metal resistance. Annual Review of Microb., 42, 717-743.
34. Solhi, M. 2005. Phytoremediation of soil polluted by Pb and Zn and use of radioisotope for study of Zn-behavior in soil and plant, Ph.D. thesis in Soil Science, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.
35. Yan-de, J., H. Zhen-li & Y. Xiao. 2007. Role of soil rhizobacteria in phytoremediation of heavy metal contaminated soils. J. Zhejiang Univ. Sci., 8(3): 197-207.
36. Yang, X.E., H.B. Ye, X.X. long, B. He, Z.L. He, P.J. Stoffella, & D.V. Calvert. 2004. Uptake and accumulation of cadmium and zinc by Sedum Alfredii hance at different cd/zn supply leavels. J. Plant. Nut., 27(11): 1963-1977.
37. Youn-Joo, A. 2004. Soil ecotoxicity assessment using cadmium sensitive plants. Environ. Pollut., 127: 21-26.