تحقیقات آب و خاک ایران، دوره ۴۹، شماره ۱، فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۷ (ص ۶۹-۵۹) DOI: 10.22059/ijswr.2018.213035.667517

تغییرات برخی شاخص‌های زیستی در فراریشه بنگ‌دانه (*Hyoscyamus niger* L.) در سطوح مختلف آلودگی سرب در خاک

اکبر کریمی[۱]، حبیب خداوردی‌لو[۲]، میرحسن رسولی صدقیانی[۳] و شیلا خواجوی شجاعی[۴]

۱. فارغ التحصیل کارشناسی ارشد، گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

۲. دانشیار، گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

۳. استاد، گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

۴. دانشجوی دکتری، گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز

(تاریخ دریافت: ۱۲/ ۵/ ۱۳۹۵- تاریخ بازنگری: ۷/ ۵/ ۱۳۹۶- تاریخ تصویب: ۸/ ۵/ ۱۳۹۶)

چکیده

ریزسازواره‌ها از اجزای مهم خاک بوده که جمعیت و فعالیت آنها تحت تاثیر سطوح بالای فلزات سنگین از جمله سرب قرار می‌گیرد. هدف از این پژوهش، بررسی تغییرات شاخص‌های زیستی خاک در فراریشه گیاه بنگ‌دانه در سطوح مختلف سرب در خاک بود. بدین منظور یک نمونه خاک انتخاب و غلظت‌های مختلف سرب (صفر، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) به خاک اضافه گردید. سپس خاک استریل شد و پس از مایه‌زنی با قارچ (ترکیبی از گونه‌های *Glomus intraradices*، *Funneliformis mosseae* و*Glomus fasciculatum*) و باکتری (ترکیبی از گونه‌های *Pseudomonas putida*، *Pseudomonas fluorescens* و *Pseudomonas aeruginosa*)، کاشت گیاه بنگ‌دانه (*Hyoscyamus niger* L.) انجام گرفت. این پژوهش در شرایط گلخانه‌ای به‌صورت آزمایش فاکتوریل با طرح پایه بلوک-های کامل تصادفی و در سه تکرار انجام شد. نتایج نشان داد افزایش سطوح سرب در خاک، سبب کاهش معنادار ($p\leq$۰/۰۵) کلونیزاسیون ریشه (۴۱/۱ درصد)، جمعیت باکتری‌های خاک (۵۲/۸ درصد)، عملکرد ریشه، تنفس میکروبی خاک و تنفس برانگیخته با سوبسترا، کربن زیست‌توده میکروبی و قابلیت دسترسی به کربن گردید؛ در حالی که ضریب متابولیکی (qCO_2) تغییر معناداری ($p\leq$۰/۰۵) نکرد. بیش‌ترین و کم‌ترین تغییرات (در Pb_{1000} نسبت به Pb_0) به ترتیب در شاخص‌های کربن زیست‌توده میکروبی در تیمار باکتری (۸۳/۰ درصد) و ضریب متابولیکی در تیمار قارچ (۱۸/۹ درصد)، مشاهده شد. مقدار کربن زیست‌توده میکروبی در تیمار قارچ ۱/۲۸ تا ۲/۶۲ برابر تیمار باکتری بود. نتایج این پژوهش نشان‌دهنده حساسیت بیش‌تر باکتری‌ها و بردباری بیش‌تر قارچ‌ها در سطوح بالای آلودگی سربی خاک بود.

واژه‌های کلیدی: باکتری، سرب، شاخص‌های زیستی خاک، فعالیت میکروبی، قارچ.

مقدمه

ریزجانداران خاک مهم‌ترین بخش زنده خاک بوده که نقشی مهم در تجزیه مواد آلی، چرخه عناصر غذایی و رشد و تغذیه گیاه دارند (Zhang *et al.*, 2010). باکتری‌ها به عنوان یکی از مهم-ترین و فراوان‌ترین اجزای تشکیل دهنده ریزجانداران خاک در چرخه عناصر غذایی و ارتباط با گیاهان از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند. قارچ‌ها نیز از دیگر اجزای مهم و موثر خاک بوده که بیش‌ترین بخش زیست‌توده کل میکروبی خاک را تشکیل می‌دهند (Zhang *et al.*, 2010).

در دهه‌های اخیر رشد صنعت و افزایش فعالیت‌های بشری سبب افزایش آلودگی خاک‌ها به فلزات سنگین شده است (Wu *et al.*, 2016). فلزات سنگین به‌طور بیولوژیکی تجزیه‌ناپذیر هستند و از این رو مدت زمانی طولانی در خاک باقی می‌مانند. بنابراین فلزات سنگین تهدیدی جدی برای محیط زیست، گیاهان و ریزجانداران خاک به‌شمار می‌روند (Karimi *et al.*, 2011; Liang *et al.*, 2014; Cheng *et al.*, 2015; Wu *et al.*, 2016). سرب یکی از فلزات سنگین بسیار سمی بوده و آلودگی سربی یکی از معمول‌ترین آلودگی‌های خاک است (Hui *et al.*, 2012). سرب در خاک نه تنها در فعالیت‌های زیستی خاک نقشی ندارد، بلکه به‌دلیل اثر سمیت می‌تواند تعداد، زیست‌توده، تنوع و سطح فعالیت میکروبی را تحت تأثیر قرار دهد (Khan *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2010; Pan and Yu, 2011; Zhang *et al.*, 2015). نتایج پژوهش‌های مختلف نشان داده که جمعیت قارچ‌ها و باکتری‌های خاک تحت تاثیر آلودگی فلزات سنگین قرار می‌گیرد (Wang *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2015).

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

Archive of SID
www.SID.ir

Wang *et al.* (2010) کاهش تعداد باکتری‌ها و قارچ‌ها را در خاک‌های آلوده به سرب گزارش کردند. Khan *et al.* (2010) نیز با انجام پژوهشی کاهش تعداد و فعالیت قارچ‌ها را در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین گزارش کردند. همچنین نتایج پژوهش Zhou *et al.* (2013) نشان داد که جمعیت باکتری‌ها در خاک-های آلوده به سرب کاهش می‌یابد.

ریزجانداران خاک تحت تأثیر سطوح بالای فلزات سنگین قرار می‌گیرند، در حالی‌که در این شرایط تغییرات چندانی در میزان مواد آلی خاک مشاهده نمی‌شود. بنابراین از شاخص‌های زیستی جهت ارزیابی فعالیت ریزجانداران خاک در غلظت‌های مختلف فلزات سنگین استفاده می‌شود (Zhang *et al.*, 2010). برخی شاخص‌های زیستی از جمله تنفس میکروبی، کربن زیست‌توده میکروبی[1] (MBC) و فعالیت آنزیمی توسط پژوهش-گران مختلف برای ارزیابی تأثیر آلودگی فلزات سنگین بر فعالیت میکروبی خاک پیشنهاد شده‌اند (Zhang *et al.*, 2010; Nwachukwu and Pulford, 2011). تنفس میکروبی از مهم-ترین شاخص‌های زیستی خاک است که در اثر آلودگی خاک‌ها به فلزات سنگین تغییر می‌کند (Dai *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2010; Gai *et al.*, 2011).

فرآیند تنفس میکروبی یا معدنی شدن کربن آلی خاک نه‌تنها نشان دهنده‌ی وضعیت و فعالیت میکروبی خاک است بلکه بیان‌گر روند، تعادل و چگونگی تجزیه‌ی ماده آلی و چرخه برخی عناصر غذایی خاک نیز می‌باشد (Nannipieri, 1994). تنفس برانگیخته با سوبسترا[2] (SIR) میزان کربن متصاعد شده از تنفس میکروبی پس از افزودن سوبسترایی تجزیه‌پذیر مانند گلوکز می‌باشد و اندازه‌گیری این شاخص یکی از روش‌های پایه-ای در برآورد کمی زیست‌توده میکروبی فعال خاک می‌باشد (Luo and Zhou, 2006). بیش‌تر پژوهش‌گران، کاهش تنفس میکروبی را در خاک‌های آلوده به سرب گزارش کرده‌اند (Landi *et al.*, 2000; Dai *et al.*, 2010; Verma *et al.*, 2010; Nwachukwu and Pulford, 2011). برای نمونه Berard *et al.*(2015) گزارش کردند که سطوح بالای سرب در خاک سبب کاهش تنفس میکروبی خاک می‌شود، اما برخی از پژوهش‌گران افزایش تنفس میکروبی را در خاک‌های آلوده به سرب گزارش کردند (Zhang *et al.*, 2010; Zhou *et al.*, 2013).

زیست توده میکروبی عامل تجزیه بقایای گیاهی و آزاد شدن عناصر غذایی در خاک می‌باشد. کربن زیست‌توده میکروبی خاک که در شرایط معمول ۱ تا ۵ درصد کل کربن آلی خاک را شامل می‌شود، شاخصی مناسب برای تعیین اثر سمیت فلزات سنگین بر ریزجانداران خاک می‌باشد (Sethi and Gupta, 2014; Zhang *et al.*, 2015). Zhang *et al.* (2010) گزارش کردند که کربن زیست‌توده میکروبی خاک همبستگی بسیار بالایی با غلظت سرب در خاک داشته و با افزایش سطوح سرب در خاک کربن زیست‌توده میکروبی خاک به‌شدت کاهش می-یابد. Khan *et al.* (2010) نیز مقدار کربن زیست‌توده میکروبی خاک در خاک‌های آلوده به سرب را کم‌تر از خاک‌های غیرآلوده گزارش نمودند.

شاخص ضریب متابولیکی (qCO_2) مقدار تنفس میکروبی خاک به ازای هر واحد زیست‌توده میکروبی در واحد زمان است (Anderson and Domsh, 1990; Zhang et *al.*, 2010). ضریب متابولیکی کارآیی مصرف سوبسترای بومی خاک توسط جمعیت میکروبی خاک را نشان می‌دهد. هرچه ضریب متابولیکی کم‌تر باشد، چرخه‌های میکروبی کارآمدتر هستند (Anderson and Domsh, 1990). نتایج مطالعات نشان داده که این شاخص در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین افزایش می‌یابد (Baath *et al.*, 1989; Landi *et al.*, 2000; Berard *et al.*, 2015). برای نمونه Berard *et al.* (2015) همبستگی مثبت بالایی را میان غلظت سرب در خاک و ضریب متابولیکی گزارش کردند.

باکتری‌ها و قارچ‌ها دو گروه اصلی از ریزجانداران خاک هستند. اندازه کوچک ریزسازواره‌ها و به دنبال آن سطح ویژه بالای آن‌ها سبب افزایش حساسیت به آلاینده‌ها می‌شود. نتایج مطالعات مختلف نشان داده که مایه‌زنی ترکیبی باکتری‌های *سودوموناس* و قارچ‌های *گلوموس* با راهکارهای مختلف سبب بهبود رشد و افزایش بردباری گیاهان در خاک‌های آلوده به سرب می‌شوند (Karimi *et al.*, 2013; Ma *et al.*, 2016). تاکنون تغییرات جمعیت و فعالیت قارچ‌ها و باکتری‌ها در سطوح مختلف فلزات سنگین در خاک‌های آهکی ایران، کم‌تر مورد توجه قرار گرفته و پژوهش‌های اندکی در این زمینه انجام شده است (Karimi and Khodaverdiloo, 2014). در اندک پژوهش-های انجام شده در این زمینه نیز جمعیت باکتری‌ها و قارچ‌های خاک و شاخص‌های زیستی خاک در حضور آن‌ها به‌طور جداگانه، مورد توجه قرار نگرفته است. همچنین پژوهش‌های انجام شده در شرایط خاک‌های بدون کشت انجام شده است. گیاه بنگ‌دانه (*Hyoscyamus niger* L.) از گیاهی مرتعی بومی استان آذربایجان‌غربی بوده که افزون بر بردباری به تنش‌های محیطی از جمله تنش خشکی، دارای رشد و زیست‌توده بسیار بالایی در شرایط طبیعی می‌باشد. بنابراین اهداف این پژوهش

1. Microbial Biomass Carbon
2. Substrate Induced Respiration

Archive of SID

www.SID.ir

شامل: ۱) بررسی تغییرات جمعیت باکتری‌ها (باکتری *سودوموناس* شامل: *P. putida*، *P. fluorescens* و *P. aeruginosa*) و همزیستی قارچ‌ها (ترکیبی از گونه‌های *Glomus intraradices*، *Funneliformis mosseae* و *Glomus fasciculatum*) با ریشه گیاه و ۲) بررسی تغییرات شاخص‌های زیستی خاک (شامل تنفس میکروبی، تنفس برانگیخته با سوبسترا، کربن زیست‌توده میکروبی، ضریب متابولیکی و شاخص قابلیت دسترسی به کربن) در فراریشه گیاه بنگ‌دانه، در سطوح مختلف آلودگی سرب در خاک و مقایسه آن با غلظت صفر سرب در خاک (خاک غیر آلوده) بود.

مواد و روش‌ها

خاک مورد مطالعه از سری Typic Halaquepts Inceptisols Fine, mixed, mesic واقع در استان آذربایجان غربی نمونه‌برداری شد. این خاک پس از خشک شدن در هوای طبیعی به دو بخش تقسیم گردید. یک بخش آن برای انجام آزمایشات فیزیکی و شیمیایی از الک دو میلی‌متری عبور داده شد و ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک به روش‌های استاندارد (Carter and Gregorich, 2008) اندازه‌گیری شد. بخش دیگر خاک پس از عبور از الک پنج میلی‌متری با غلظت‌های مختلف سرب شامل صفر، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک آلوده شد. برای آلوده کردن خاک، ابتدا مقدار لازم نیترات‌سرب $Pb(NO_3)_2$ برای آلوده کردن جرم مشخصی از خاک محاسبه شد. سپس، جرم محاسبه شده‌ی نمک به یک کیلوگرم از خاک افزوده و کاملاً با آن مخلوط گردید تا پیش‌ماده‌ای همگن بدست آید. اختلاف مقدار نیتروژن افزوده شده به خاک توسط نمک نیترات سرب در هر تیمار نسبت به تیماری که بیشترین دریافت نیتروژن را داشت (۱۰۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک)، با افزودن مقادیر محاسبه شده اوره به آن تیمار تصحیح گردید. در مرحله بعد این پیش‌ماده‌ی آلوده به‌طور کامل با توده خاک مخلوط گردید (Karimi and Khodaverdiloo, 2014; Khodaverdiloo and Hamzenejad Taghlidabad, 2014). بر پایه مطالعات پیشین (Khodaverdiloo *et al.*, 2012)، خاک آلوده به‌مدت پنج ماه در معرض تناوب‌های تر و خشک شدن و به‌مدت ۱۸ ماه دیگر در شرایط خشک شدن در هوای طبیعی قرار گرفت تا توزیع سرب در خاک به شرایط آلودگی درازمدت و طبیعی نزدیک‌تر شود.

نمونه‌های خاک آلوده شده در دو نوبت در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۵ بار در داخل کیسه‌های کنفی در اتوکلاو استریل شدند. عمل استریل سطحی گلدان‌ها نیز با استفاده از الکل ۷۰ درصد انجام گردید (Karimi *et al.*, 2013). خاک‌های استریل به گلدان‌هایی با ظرفیت ۲/۵ کیلوگرم منتقل گردید. برای اعمال تیمارهای میکروبی، در تیمار مربوط به قارچ قبل از کشت، در زیر بذرها مقدار ۲۵ گرم از زادمایه قارچ (ترکیبی از گونه‌های *Glomus intraradices*، *Funneliformis mosseae* و *Glomus fasciculatum*) شامل هیف، اسپور و قطعات کلنیزه شده ریشه‌ای (با کلنیزاسیون ۸۰ تا ۸۵ درصد) بصورت لایه‌ای به ضخامت تقریبی ۲ سانتی‌متر، در عمق ۳ سانتی‌متری خاک، اضافه شد (Karimi *et al.*, 2013). تعداد کل اسپورهای قارچ زادمایه، ۲۵۰ اسپور در هر ۵۰ گرم زادمایه بود. برای تیمار باکتریایی، پس از کشت گیاهان، ۱۵ میلی‌لیتر از محیط کشت مایع Nutrient Broth حاوی باکتری‌ها (ترکیبی از باکتری‌های جنس *سودوموناس* شامل گونه‌های *P. putida*، *P. fluorescens* و *P. aeruginosa*) به گلدان‌ها مایه‌زنی گردید. جمعیت این باکتری‌ها حدود ($CFU\ ml^{-1}$) $۲/۶ \times ۱۰^{۸}$ بود (Karimi and Khodaverdiloo, 2014). گونه‌های قارچ و باکتری از بانک میکروبی گروه علوم خاک دانشگاه ارومیه و بخش بیولوژی خاک، مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور تهیه شدند.

پس از رساندن رطوبت گلدان‌ها به ظرفیت زراعی در هر گلدان ۸ بذر سالم و استریل بنگ‌دانه، با فواصل منظم در گلدان‌های مورد نظر کشت گردید. گلدان‌ها در طول دوره رشد در گلخانه پژوهشی گروه علوم خاک دانشگاه ارومیه و در درجه حرارت ۵ ± ۲۵ درجه سلسیوس نگه‌داری شدند. وزن هر گلدان در رطوبت ظرفیت مزرعه بر روی آن یادداشت شد تا در مراحل بعدی آبیاری برای جلوگیری از هر گونه تنش رطوبتی آبیاری گردد. همچنین پس از پایان ماه دوم رشد گیاه برای جلوگیری از تنش تغذیه ای کوددهی به‌صورت محلول غذایی بدون فسفر انجام شد. در پایان ماه پنجم رشد، حدود یک گرم از ریشه‌های ریز و ظریف برای رنگ‌آمیزی و تعیین درصد کلونیزاسیون قارچی ریشه، جداسازی و نگه‌داری شدند. بقیه ریشه‌ها به‌مدت ۷۲ ساعت در آون در دمای ۷۰ درجه سلسیوس قرار داده شدند. سپس عملکرد ماده‌خشک ریشه اندازه‌گیری گردید (Karimi and Khodaverdiloo, 2014).

برای اندازه‌گیری شاخص‌های زیستی خاک، ماه پنجم رشد خاک فراریشه به آرامی از ریشه‌های گیاهان جدا گردید (Rasouli Sadaghiani and Sepehr, 2011). خاک جدا شده به آزمایشگاه منتقل شد. سپس، جمعیت باکتری‌های فراریشه‌ای خاک، درصد کلنیزاسیون ریشه، تنفس میکروبی پایه، تنفس برانگیخته با سوبسترا و کربن زیست‌توده میکروبی خاک

Archive of SID

www.SID.ir

اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری جمعیت باکتری‌های خاک ۱۰ گرم خاک به ۹۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل اضافه شد. سپس از سوسپانسیون تهیه شده، سری‌های رقت ده‌دهی (تا 10^{-8}) تهیه شد. سپس کشت باکتری‌ها از سری‌های رقت (مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر) در محیط غذایی استریل شده Nutrient Agar و در سه تکرار انجام شد. در نهایت با استفاده از شمارش کلونی‌ها در پتری‌دیش‌ها، جمعیت باکتری‌ها تعیین شد (Wollum, 1982). درصد کلنیزاسیون ریشه توسط قارچ با روش رنگ‌آمیزی با محلول رنگی تریپان بلو و شمارش خطوط تلاقی شبکه اندازه-گیری شد (Giovannetti and Mosse, 1980).

تنفس میکروبی با روش گردآوری CO_2 آزاد شده در هیدروکسید سدیم و تیتراسیون برگشتی مقدار باقی‌مانده‌ی آن با اسیدکلریدریک، تعیین گردید (Anderson، 1982). در اندازه-گیری تنفس برانگیخته از گلوکز یک درصد به‌عنوان سوبسترا استفاده شد و به‌روش Alef and Nannipieri (1995) مقدار CO_2 آزاد شده محاسبه و میزان تنفس برانگیخته با سوبسترا ($mg\ CO_2\text{-}C\ g^{-1}\ day^{-1}$) برآورد شد.

کربن زیست‌توده میکروبی خاک با روش تدخین (گازدهی) با کلروفرم و استخراج (عصاره‌گیری) با محلول سولفات پتاسیم اندازه‌گیری شد (Jenkinson and Ladd, 1981). از اختلاف مقدار کربن نمونه‌های تدخین شده و تدخین نشده مقدار MBC محاسبه شد. سپس برای ارزیابی تاثیر آلودگی سربی خاک بر قارچ‌ها و باکتری‌ها ضریب متابولیکی با استفاده از رابطه (۱) محاسبه گردید (Cheng *et al.*, 1993):

$$qCO_{2=}\frac{BR}{MBC}$$ (رابطه ۱)

که در آن qCO_2 ضریب متابولیکی ($\mu g\ CO_2\text{-}C\ mg^{-1}\ MBC\ day^{-1}$)، BR تنفس میکروبی پایه ($\mu g\ CO_2\text{-}C\ g^{-1}\ day^{-1}$) و MBC کربن زیست‌توده میکروبی ($mg\ CO_2\text{-}C\ kg^{-1}$) است. همچنین، شاخص دسترسی به کربن با استفاده از رابطه (۲) محاسبه شد (Cheng *et al.*, 1993):

$$CAI = \frac{BR}{SIR}$$ (رابطه ۲)

که در آن CAI شاخص دسترسی به کربن، BR تنفس میکروبی پایه ($mg\ CO_2\text{-}C\ g^{-1}\ day^{-1}$) و SIR تنفس برانگیخته با سوبسترا ($mg\ CO_2\text{-}C\ g^{-1}\ day^{-1}$) است.

این پژوهش در قالب آزمایش فاکتوریل با دو فاکتور غلظت سرب (در چهار سطح صفر، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی-گرم بر کیلوگرم) و تیمار میکروبی (در دو سطح شامل ترکیب قارچ و ترکیب باکتری) در قالب طرح پایه بلوک‌های کاملاً تصادفی (در مجموع ۲۴ نمونه) و در سه تکرار انجام شد. تجزیه آماری داده‌ها با نرم‌افزار SAS، مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. بررسی همبستگی بین پارامترهای اندازه‌گیری شده با استفاده از نرم-افزار SPSS انجام شد و نمودارها در محیط Excel رسم شدند.

نتایج و بحث

ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک

جدول (۱) برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه را نشان می‌دهد. این خاک دارای بافتی متوسط، pH آن در محدوده‌ی خاک‌های آهکی، غیر شور، غیر سدیمی و با توجه به حدود مجاز گزارش شده در منابع (Cariny, 1995)، غیرآلوده به فلزات‌سنگین بود (جدول ۲).

جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکی وشیمیایی اندازه‌گیری شده در خاک مورد مطالعه

ویژگی	شن	سیلت	رس	مواد آلی	کلاس بافتی	ظرفیت تبادل کاتیونی	هدایت الکتریکی عصاره اشباع	سدیم تبادلی	کربنات کلسیم معادل	pH
واحد	(%)					($cmol_c kg^{-1}$)	($dS\ m^{-1}$)	(%)		
مقدار	۳۲/۳	۴۰/۳	۲۷/۴	۲/۶۹	لوم	۲۲/۱	۲/۵	۳	۳۰/۵	۸/۱

جدول ۲- غلظت اولیه برخی عناصر اندازه‌گیری شده در خاک مورد مطالعه

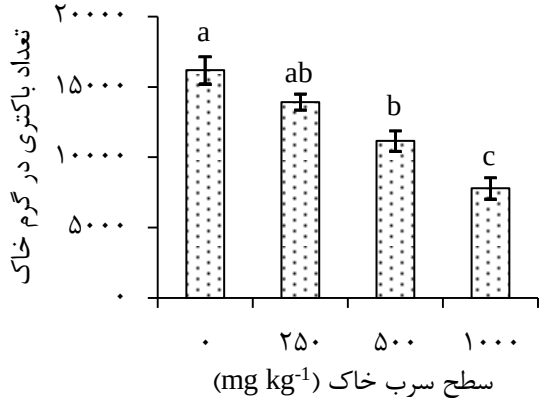
ویژگی (واحد)	مقدار	ویژگی (واحد)	مقدار
کلسیم محلول ($mg\ L^{-1}$)	۱/۲	سولفات محلول ($mg\ L^{-1}$)	۳/۸
منیزیم محلول ($mg\ L^{-1}$)	۰/۴	سرب کل ($mg\ kg^{-1}$)	۲۱/۴۲
سدیم محلول ($mg\ L^{-1}$)	۲۳/۸	کادمیم کل ($mg\ kg^{-1}$)	۱/۴۷
کربنات محلول ($mg\ L^{-1}$)	۰/۸	آهن کل ($mg\ kg^{-1}$)	۲۹۵/۵
بی‌کربنات محلول ($mg\ L^{-1}$)	۵/۶	روی کل ($mg\ kg^{-1}$)	۶۲
کلر محلول ($mg\ L^{-1}$)	۱۵/۲	مس کل ($mg\ kg^{-1}$)	۱۴/۱۱

Archive of SID

www.SID.ir

جمعیت باکتری‌ها

نتایج این پژوهش نشان داد با افزایش شدت آلودگی سربی خاک تا ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، کاهش معناداری ($p\leq$۰/۰۵) در جمعیت باکتری‌های سودوموناس در فراریشه بنگ‌دانه مشاهده نشد. با این حال، در غلظت‌های بالاتر (۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) جمعیت باکتری‌ها نسبت به سطح صفر سرب خاک به‌طور معناداری ($p\leq$۰/۰۵) کاهش یافت (شکل ۱). همچنین میان جمعیت باکتری در سطوح ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تفاوت معناداری ($p\leq$۰/۰۵) وجود نداشت. پاسخ جمعیت باکتریایی به تنش آلودگی فلزات سنگین به غلظت فلز سنگین و همچنین زیست فراهمی آن بستگی دارد (Wang *et al.*, 2010). کاهش جمعیت باکتری‌های خاک در غلظت‌های بالای سرب در مقایسه با غلظت صفر سرب (خاک غیرآلوده)، احتمالاً به‌دلیل سمیت سرب می‌باشد. Hetzer *et al.* (2016) نشان داد که سرب برای باکتری‌های خاک سمی است. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد سطوح بالای سرب در خاک با مهار سنتز پروتئین، جلوگیری از فرآیندهای آنزیمی و مهار تقسیم سلولی باکتری‌ها، به سلول‌های باکتری‌ها آسیب رسانده و سبب اختلال در تقسیم سلولی باکتری‌ها و فرآیندهای سلولی می‌شود (Hetzer *et al.*, 2006).

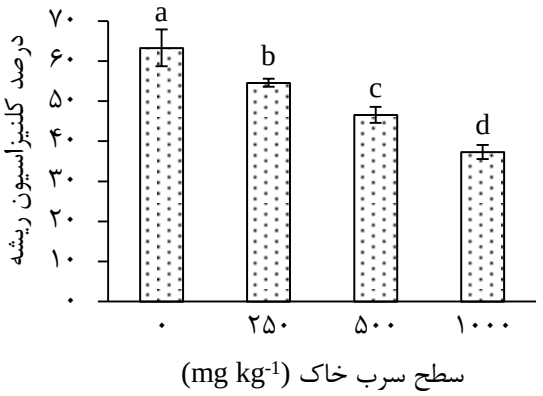


شکل ۱. جمعیت باکتری‌های فراریشه در سطوح مختلف سرب در خاک. میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معناداری ($p\leq$۰/۰۵) ندارند.

در این پژوهش عملکرد ریشه گیاه با افزایش غلظت سرب در خاک در هر دو تیمار قارچ و باکتری کاهش یافت (جدول ۳). با توجه به این‌که با کاهش عملکرد ریشه معمولاً ترشحات ریشه‌ای کاهش می‌یابد (Maier *et al.*, 2000)، یکی دیگر از دلایل کاهش جمعیت باکتری‌های خاک در سطوح بالای سرب در خاک احتمالاً کاهش ترشحات ریشه گیاه می‌باشد. بسیاری از پژوهش‌گران کاهش جمعیت باکتری‌ها را در سطوح بالای فلزات سنگین در خاک گزارش کرده‌اند (Wang *et al.*, 2010; Anyanwu and Nwachukwu, 2011; Pan and Yu, 2011; Zhou *et al.*, 2013).

درصد کلونیزاسیون ریشه

درصد کلونیزاسیون ریشه گیاه بنگ‌دانه با افزایش سطوح سرب در خاک، به‌طور معناداری ($p\leq$۰/۰۵) کاهش یافت (شکل ۳). بیش‌ترین و کمترین درصد کلونیزاسیون به‌ترتیب در غلظت‌های صفر و ۱۰۰۰ سرب مشاهده شد. کاهش و یا افزایش درصد کلونیزاسیون ریشه در شرایط آلودگی خاک به فلزات‌سنگین به ویژگی‌هایی مانند غلظت فلز سنگین در خاک، نیز بستگی دارد (Awotoye *et al.*, 2009). نتایج این پژوهش نشان داد غلظت بالای سرب در خاک می‌تواند کلونیزاسیون قارچی را کاهش دهد. کاهش درصد کلنیزاسیون ریشه در خاک‌های آلوده به‌دلیل سمیت ناشی از فلزات سنگین برای اندام‌های قارچی، می‌باشد، که کلونیزاسیون قارچی را کاهش می‌دهد. نتایج پژوهش Gattai *et al.* (2015) نشان داد سمیت سرب در خاک گسترش ریسه-های درون ریشه‌ای را محدود می‌کند و در غلظت‌های بالا گسترش ریسه‌های برون‌ریشه‌ای را نیز تحت تأثیر قرار دهد (Gattai *et al.*, 2011). کاهش کلونیزاسیون ریشه در خاک‌های آلوده به سرب توسط برخی پژوهش‌گران نیز گزارش شده است. برای نمونه Awotoye *et al.* (2009) گزارش کردند کلونیزاسیون قارچ‌ها با ریشه گیاه در خاک‌های آلوده به سرب کاهش می‌یابد.



شکل ۲. درصد کلونیزاسیون ریشه گیاه در سطوح مختلف سرب در خاک میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معناداری ($p\leq$۰/۰۵) ندارند.

عملکرد ماده خشک ریشه

عملکرد ماده‌خشک ریشه‌ی بنگ‌دانه با افزایش سطوح سرب در خاک، در هر دو تیمار قارچ و باکتری به‌طور معناداری ($p\leq$۰/۰۵) کاهش یافت. اختلاف میان عملکرد ماده‌خشک ریشه

Archive of SID

www.SID.ir

بنگ‌دانه در تیمارهای باکتری و قارچ در غلظت‌های صفر و ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم معنادار ($p\leq$۰/۰۵) نبود. در حالی‌که در غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مقادیر عملکرد ماده‌خشک ریشه در تیمار قارچ به‌طور معناداری ($p\leq$۰/۰۵) بیش‌تر از تیمار باکتری بود. این یافته می‌تواند بیانگر بردباری بیش‌تر گیاه همزیست با قارچ نسبت به باکتری در سطوح بالای سرب باشد. کاهش عملکرد ماده‌خشک ریشه گیاه در سطوح بالای سرب در خاک به‌دلیل سمیت سرب برای گیاه می‌باشد. کاهش عملکرد ریشه گیاهان در اثر سمیت سرب به این دلیل است که سرب از تقسیم سلول‌های مریستمی و رشد سلول‌های ریشه جلوگیری کرده و عملکرد ریشه‌گیاهان را می‌کاهد همچنین سرب قابلیت ارتجاع دیواره سلولی ریشه را کاسته و موجب کاهش رشد ریشه گیاهان می‌شود (Cencki *et al.*, 2010).

جدول ۳. مقایسه میانگین شاخص‌های اندازه‌گیری شده در سطوح مختلف آلودگی سربی خاک در تیمارهای باکتری و قارچ

ریزجاندار	کل سرب افزوده شده به خاک ($mg\ kg^{-1}$)				میانگین
	صفر	۲۵۰	۵۰۰	۱۰۰۰	
	عملکرد ماده خشک ریشه ($g\ pot^{-1}$)				
باکتری	۴/۷۴ ± ۰/۲۵^{a,a}	۳/۸۰ ± ۰/۲۹^{b,a}	۳/۰۲ ± ۰/۱۷^{c,b}	۲/۴۴ ± ۰/۲۲^{d,b}	۳/۵۰ B
قارچ	۴/۶۸ ± ۰/۱۱^{a,a}	۴/۰۶ ± ۰/۱۷^{b,a}	۳/۵۵ ± ۰/۱۲^{c,a}	۳/۲۴ ± ۰/۰۸^{c,a}	۳/۸۹ A
	تنفس میکروبی ($mg\ CO_2\text{-}C\ g^{-1}\ day^{-1}$)				
باکتری	۰/۲۳ ± ۰/۰۰^{a,a}	۰/۱۵ ± ۰/۰۱^{b,a}	۰/۱۰ ± ۰/۰۱^{c,a}	۰/۰۵ ± ۰/۰۰^{d,a}	۰/۱۹ A
قارچ	۰/۲۷ ± ۰/۰۱^{a,a}	۰/۲۱ ± ۰/۰۱^{b,a}	۰/۱۵ ± ۰/۰۱^{c,a}	۰/۱۱ ± ۰/۰۱^{d,a}	۰/۲۵ A
	تنفس برانگیخته با سوبسترا ($mg\ CO_2\text{-}C\ g^{-1}\ day^{-1}$)				
باکتری	۰/۲۸ ± ۰/۰۰^{a,a}	۰/۲۳ ± ۰/۰۱^{ab,a}	۰/۱۸ ± ۰/۰۱^{bc,a}	۰/۱۰ ± ۰/۰۰^{c,a}	۰/۲۰ A
قارچ	۰/۳۱ ± ۰/۰۱^{a,a}	۰/۲۶ ± ۰/۰۱^{a,a}	۰/۲۱ ± ۰/۰۱^{b,a}	۰/۱۸ ± ۰/۰۱^{b,a}	۰/۲۴ A
	کربن زیست‌توده میکروبی ($mg\ CO_2\text{-}C\ kg^{-1}$)				
باکتری	۴۹/۳۶ ± ۳/۰۵^{a,b}	۲۸/۰۲ ± ۳/۹۹^{b,b}	۱۷/۳۵ ± ۲/۳۱^{c,b}	۸/۳۹ ± ۱/۵۳^{d,b}	۲۵/۷۸ B
قارچ	۶۳/۳۶ ± ۴/۱۶^{a,a}	۴۵/۳۵ ± ۲/۳۱^{b,a}	۳۲/۶۸ ± ۳/۰۶^{c,a}	۲۲/۰۱ ± ۲/۰۱^{d,a}	۴۰/۸۵ A
	ضریب متابولیکی (qCO_2) ($\mu g\ CO_2\text{-}C\ mg^{-1}\ MBC\ day^{-1}$)				
باکتری	۴/۷۴ ± ۰/۳۳^{a,a}	۵/۲۹ ± ۰/۶۴^{a,a}	۵/۷۷ ± ۰/۲۴^{a,a}	۵/۹۸ ± ۱/۱۸^{a,a}	۵/۴۵ A
قارچ	۴/۲۴ ± ۰/۴۷^{a,a}	۴/۵۹ ± ۰/۳۷^{a,a}	۴/۶۸ ± ۰/۶۶^{a,a}	۵/۰۴ ± ۰/۷۲^{a,a}	۴/۶۴ A
	قابلیت دسترسی به کربن (CAI)				
باکتری	۰/۸۴ ± ۰/۰۶^{a,a}	۰/۶۳ ± ۰/۰۷^{b,a}	۰/۵۸ ± ۰/۱۱^{b,a}	۰/۴۹ ± ۰/۰۹^{b,a}	۰/۶۴ A
قارچ	۰/۸۷ ± ۰/۰۴^{a,a}	۰/۷۹ ± ۰/۱۲^{a,a}	۰/۷۴ ± ۰/۱۲^{a,a}	۰/۶۲ ± ۰/۰۶^{a,a}	۰/۷۶ A

حروف کوچک بالانویس اول و دوم بر روی هر عدد به ترتیب نشان دهنده اختلاف آماری ($P\leq$۰/۰۵) در هر ردیف و هر ستون می‌باشند.
حروف بزرگ مقایسه میانگین شاخص‌ها در تیمارهای باکتری و قارچ را نشان می‌دهد.
اعداد مقابل داده ها انحراف معیار داده‌ها در ۳ تکرار را نشان می‌دهند.
میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معناداری ($P\leq$۰/۰۵) ندارند.

تنفس میکروبی و تنفس برانگیخته با سوبسترا (SIR)

تنفس میکروبی در هر دو تیمار قارچ و باکتری در سطوح بالای سرب در خاک به‌طور معناداری ($P\leq$۰/۰۵) کاهش یافت (جدول ۳). مقدار کاهش این شاخص با افزایش غلظت سرب در خاک در تیمار باکتری و قارچ به‌ترتیب ۷۸/۲ و ۵۹/۲ درصد بود. همچنین میان مقادیر تنفس میکروبی در تیمار قارچ و باکتری در فراریشه بنگ‌دانه در تمامی سطوح سرب در خاک، اختلاف معناداری ($P\leq$۰/۰۵) وجود نداشت. هر چند مقادیر این شاخص در حضور قارچ بیشتر از باکتری بود. سرب در خاک نقش زیستی مشخصی نداشته و سمیت بالایی برای ریزجانداران خاک

Archive of SID
www.SID.ir

دارد. به‌طور کلی، فلزات‌سنگین با ایجاد کمپلکس با خارج نمودن سوبسترا از دسترس ریزجانداران خاک سبب کاهش تنفس خاک می‌شوند (Morawska-Płoskonka and Niklinska, 2013). همچنین کاهش تنفس میکروبی در سطوح بالای فلزات سنگین می‌تواند به‌دلیل برهمکنش فلزات و سمیت یونی باشد که بر مسیر متابولیکی سلول‌های میکروبی تأثیر می‌گذارد (Sethi and Gupta, 2014). نتایج این پژوهش با نتایج Khan *et al.* (2010) که گزارش کرده بودند تنفس میکروبی در سطوح بالای سرب در خاک کاهش می‌یابد، مشابه بود.

با افزایش غلظت سرب از صفر به ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در هر دو تیمار قارچ و باکتری تغییر معناداری ($p\leq$۰/۰۵) در SIR مشاهده نشد (جدول ۳). در حالی‌که در غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰، SIR در هر دو تیمار در فراریشه گیاه بنگ‌دانه به‌طور معناداری ($p\leq$۰/۰۵) کاهش یافت. مقدار کاهش این شاخص در تیمار باکتری و قارچ به‌ترتیب ۶۴/۳ و ۴۱/۹ درصد بود. میان مقادیر این شاخص در تیمارهای قارچ و باکتری در تمامی سطوح مختلف سرب در خاک، اختلاف معناداری ($p\leq$۰/۰۵) وجود نداشت. با توجه به SIR می‌توان به جمعیت میکروبی فعال خاک پی برد. آلودگی سربی خاک سبب کاهش SIR شد، که این کاهش در غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نمایان‌تر بود. این نتایج بیان‌گر آن است که سوبسترای اضافه شده به خاک (گلوکز) در غلظت‌های۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک با وجود کاهش جمعیت قارچ‌ها و باکتری‌ها، برای آن‌ها به‌سهولت قابل دسترس نبوده است و سرب سبب ایجاد تاخیر در رشد نمایی میکروب‌های فعال خاک می‌شود (Landi *et al.*, 2000). نتایج این پژوهش با نتایج برخی از پژوهش‌ها همخوانی داشت (Gai *et al.*, 2011; Morawska-Płoskonka and Niklinska, 2013; Karimi and Khodaverdiloo, 2014; Berard *et al.*, 2015). این نتایج همچنین برخلاف نتایج برخی از پژوهش‌گران (Zhang *et al.*, 2010; Zhou *et al.*, 2013) بود که گزارش کرده بودند در شرایط آلودگی سربی خاک، تنفس میکروبی خاک افزایش می‌یابد. به‌نظر می‌رسد با توجه به به تنوع گونه‌های میکروبی و بردباری گونه‌های مختلف به سمیت سرب، تغییرات تنفس میکروبی در خاک‌های مختلف، متفاوت است. بنابراین ارزیابی تغییرات تنفس میکروبی در سطوح مختلف آلودگی سربی خاک، در حضور گونه‌های مختلف قارچ و باکتری با بردباری متفاوت، نیاز به بررسی‌های بیش‌تری دارد.

کربن زیست‌توده میکروبی

کربن زیست‌توده میکروبی یکی از مهم‌ترین شاخص‌های زیستی خاک برای تعیین اثر سمیت فلزات سنگین بر جمعیت میکروبی خاک است (Sethi and Gupta, 2014). نتایج این پژوهش نشان داد که کربن زیست‌توده میکروبی خاک با افزایش سطوح سرب در خاک در هر دو تیمار قارچ و باکتری به‌طور معناداری ($p\leq$۰/۰۵) کاهش یافت (جدول ۳). بیشترین و کم‌ترین مقدار این شاخص به‌ترتیب در تیمار قارچ در سطح صفر و در تیمار باکتری در سطح ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب مشاهده شد. افزایش سطوح سرب در خاک، مقادیر کربن زیست توده میکروبی در تیمارهای قارچ و باکتری را به‌ترتیب ۶۵/۳ و ۸۳/۰ درصد کاهش داد. همچنین کربن زیست‌توده میکروبی در تیمار قارچ به‌طور معناداری ($p\leq$۰/۰۵) بیش‌تر از تیمار باکتری بود (جدول ۳). کاهش کربن زیست‌توده میکروبی خاک سطوح بالای سرب، احتمالاً به این دلیل است که این قارچ‌ها و باکتری‌ها در شرایط آلودگی سربی خاک برای بردباری به سمیت ایجاد شده به انرژی بیش‌تری نیاز دارند، به‌همین دلیل کربن جذب‌شده کم‌تری در ساختار ترکیبات آلی شرکت می‌نماید. نتایج این پژوهش با نتایج Khan *et al.* (2010) که گزارش کردند کربن زیست‌توده میکروبی خاک در اثر آلودگی سربی خاک کاهش می‌یابد، مشابه بود. Karimi and Khodaverdiloo (2014) نیز کاهش کربن زیست‌توده میکروبی خاک را در سطوح بالای آلودگی سربی خاک گزارش کردند.

قابلیت دسترسی به کربن (CAI)

شاخص قابلیت دسترسی به کربن در تیمار باکتری با افزایش سطوح سرب در خاک به‌طور معناداری ($p\leq$۰/۰۵) کاهش یافت (جدول ۳). این در حالی است که در تیمار قارچ کاهش این شاخص معنادار ($p\leq$۰/۰۵) نبود. دلیل کاهش CAI در سطوح بالای سرب در خاک، احتمالاً به‌دلیل کاهش عملکرد ریشه گیاه در اثر افزایش غلظت سرب در خاک بوده است (جدول ۳). چرا که نتایج مطالعات نشان داده که کاهش عملکرد ریشه می‌تواند سبب کاهش ترشحات ریشه شود (Maier *et al.*, 2000). درنتیجه کاهش احتمالی ترشحات ریشه ریشه‌ها مهم‌ترین منبع تولیدکننده‌ی کربن برای میکروب‌های خاک به‌ویژه هتروتروف‌ها می‌باشند و هر گونه کاهش در تراوشات ریشه‌ای موجب کاهش فعالیت میکروبی خاک می‌شود. زیرا آزاد شدن ترکیبات آلی از ریشه عامل مهمی در فراهم کردن کربن در محیط فراریشه است (Dai *et al.*, 2004). مقادیر CAI در تیمار قارچ بیش‌تر از تیمار باکتری بود هر چند که این اختلاف معنادار ($p\leq$۰/۰۵) نبود. این احتمالاً به‌دلیل زیست‌توده بیش‌تر ریشه و در نتیجه ترشحات بیش‌تر ریشه (Maier *et al.*, 2000) در تیمار قارچ بود (جدول ۳).

Archive of SID

www.SID.ir

ضریب متابولیکی (qCO_2)

با افزایش سطوح سرب در خاک، مقادیر شاخص ضریب متابولیکی در هر دو تیمار باکتری و قارچ افزایش یافت (جدول ۳). qCO_2 نسبت تنفس خاک به‌عنوان میزان انرژی لازم برای بقا و رشد سلول، به کربن زیست‌توده میکروبی خاک به‌عنوان میزان رشد سلولی است (Pereira *et al.*, 2008). خاکی که qCO_2 بالایی دارد نشان دهنده شرایط محیطی ناپایدار و یا شرایط نامناسب خاک می‌باشد (Pereira *et al.*, 2008). این نتایج نشان می‌دهد که افزایش آلودگی سرب در خاک مطالعه شده سبب ایجاد شرایط ناپایدار در خاک شده است. این شاخص در خاک‌های آلوده به فلزات‌سنگین تغییر می‌کند، چون در این خاک‌ها فعالیت متابولیکی و بازده مصرف کربن توسط میکروب‌ها تغییر می‌کند (Baath, 1989). بدین ترتیب که میکروب‌های خاک در شرایط تنش، کربن موجود را صرف اعمال حیاتی می‌نمایند و کربن کم‌تری برای تشکیل بافت‌های جدید میکروبی مصرف می‌شود. (Baath, 1989). بنابراین افزایش qCO_2 نشان دهنده مصرف انرژی بیشتر برای کارکرد حیاتی توسط باکتری و قارچ در سطوح بالای سرب در خاک می‌باشد (Zhang *et al.*, 2010). مقادیر کم‌تر ضریب متابولیکی در تیمار قارچ نسبت به تیمار باکتری نشان‌دهنده کارآیی بیشتر قارچ‌ها در تبدیل کربن به زیست‌توده جدید می‌باشد (Islam and Weil, 2000).

همبستگی بین تغییرات شاخص‌های زیستی در سطوح مختلف آلودگی سربی خاک

ضرایب همبستگی خطی بین سرب کل خاک و شاخص‌های زیستی بررسی شده در جدول (۴) آمده است. تمامی شاخص‌های بررسی شده بجز qCO_2 همبستگی منفی معناداری را با غلظت سرب کل خاک و سرب فراهم خاک نشان دادند. برخلاف انتظار، qCO_2 همبستگی خطی معناداری با غلظت سرب کل خاک و سرب زیست‌فراهم خاک نداشت (جدول ۴). از میان شاخص‌های اندازه‌گیری شده درصد کلونیزاسیون ریشه (۰/۹۸− = r) و جمعیت باکتری‌های خاک (۰/۹۹− = r) بالاترین و شاخص قابلیت دسترسی به کربن کم‌ترین مقدار ضریب همبستگی (۰/۸۲− = r) را با غلظت سرب کل خاک و سرب - زیست‌فراهم خاک نشان دادند. همچنین تمامی شاخص‌های بررسی شده در این پژوهش همبستگی بالاتری را با سرب - زیست‌فراهم خاک نسبت به سرب کل خاک نشان دادند. با توجه به نتایج این پژوهش می‌توان تغییرات شاخص‌های زیستی را نسبت به سرب زیست‌فراهم خاک ارزیابی نمود و آن‌را به غلظت سرب کل خاک تعمیم داد. این نتایج با نتایج برخی از پژوهش‌گران مشابه بود (Khan *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2010; Berard *et al.*, 2015). همان‌طور که در جدول (۵) نشان داده شده تمامی شاخص‌های اندازه‌گیری شده بجز qCO_2 همبستگی مثبت معناداری با یکدیگر داشتند. در حالی‌که qCO_2 با سایر شاخص‌های اندازه‌گیری شده همبستگی منفی معناداری داشت. با توجه به این نتایج می‌توان در ارزیابی تغییرات شاخص‌های زیستی در سطوح مختلف آلودگی سربی خاک، با اندازه‌گیری تغییرات هر یک از شاخص‌ها، تغییرات سایر شاخص‌ها را نیز پیش‌بینی کرد.

جدول ۴. ضرایب همبستگی پیرسون (r) بین سرب کل خاک و سرب زیست‌فراهم خاک با شاخص‌های بررسی شده (n = ۲۴)

شاخص	سرب کل خاک	سرب فراهم خاک
سرب کل خاک	۱/۰۰	
سرب زیست‌فراهم خاک	۰/۹۷***	۱/۰۰
عملکرد ماده خشک ریشه	−۰/۸۴**	−۰/۸۸**
جمعیت باکتری‌های خاک	−۰/۹۹***	−۰/۹۹***
درصد کلونیزاسیون ریشه	−۰/۹۸***	−۰/۹۹***
تنفس میکروبی	−۰/۸۹**	−۰/۹۱***
تنفس برانگیخته	−۰/۹۱**	−۰/۹۱**
کربن زیست‌توده میکروبی	−۰/۸۵**	−۰/۸۸**
ضریب متابولیکی	۰/۶۴ns	۰/۶۵ns
شاخص قابلیت دسترسی به کربن	−۰/۸۲*	−۰/۸۳*

ns، ***، ** و * به‌ترتیب غیر معنادار، معنادار در سطح احتمال ۰/۱ درصد، ۱ و ۵ درصد

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۵- ضرایب همبستگی پیرسون (r) بین شاخص‌های بررسی شده (n = ۲۴)

شاخص	Y_{root}	BR	SIR	MBC	qCO_2	CAI
Y_{root}	۱/۰۰					
BR	۰/۹۶***	۱/۰۰				
SIR	۰/۹۷***	۰/۹۸***	۱/۰۰			
MBC	۰/۹۴***	۰/۹۹***	۰/۹۶***	۱/۰۰		
qCO_2	-۰/۸۷**	-۰/۸۹**	-۰/۸۷**	-۰/۹۱***	۱/۰۰	
CAI	۰/۹۴***	۰/۹۷***	۰/۹۴***	۰/۹۶***	-۰/۹۴***	۱/۰۰

***، ** به‌ترتیب معنادار در سطح احتمال ۰/۱ و ۱ درصد

Y_{root} عملکرد ماده خشک ریشه، BR تنفس میکروبی، SIR تنفس برانگیخته با سوبسترا، MBC کربن زیست توده میکروبی، qCO_2 ضریب متابولیکی و CAI شاخص قابلیت دسترسی به کربن

نتیجه‌گیری کلی

نتایج به‌دست آمده از این پژوهش نشان داد افزایش سطوح سرب در خاک با کاهش عملکرد ریشه گیاه، سبب کاهش همزیستی قارچ‌ها با ریشه گیاه و کاهش جمعیت باکتری‌های خاک می‌شود. همچنین در سطوح بالای سرب در خاک احتمالاً به‌دلیل ایجاد شرایط نامطلوب برای فعالیت قارچ‌ها و باکتری‌ها، مقادیر شاخص‌های زیستی خاک در فراریشه گیاه کاهش یافت. تمامی شاخص‌های زیستی اندازه‌گیری شده در فراریشه گیاه به‌جز qCO_2، همبستگی بالایی با سطوح سرب در خاک داشتند، بنابراین این شاخص‌ها جهت ارزیابی تأثیر آلودگی سرب بر فعالیت قارچ‌ها و باکتری‌ها، شاخص‌های مناسبی می‌باشند. از میان شاخص‌های بررسی شده در این پژوهش شاخص کربن زیست‌توده میکروبی به‌عنوان حساس‌ترین شاخص زیستی در سطوح بالای سرب در خاک شناخته شد. همچنین در این پژوهش باکتری‌ها نسبت قارچ‌ها به‌عنوان ریزجانداران حساس‌تر در سطوح بالای آلودگی سربی خاک شناسایی شدند. با توجه به نتایج این پژوهش پیشنهاد می‌شود در پژوهش‌های آتی غلظت بازدارندگی سرب برای گونه‌های مختلف قارچ و باکتری و همچنین تاثیر آلودگی سرب در گونه‌های مختلف میکروبی و شناسایی گونه‌های بردبار به سرب بررسی شود.

REFERENCES

Alef, K., and Nannipieri, P. (1995). Methods in applied soil microbiology and biochemistry. Academic Press. London. 608p.

Anderson, J. P. E. (1982). Soil respiration. P831-871, In: A.L. and R.H. Mille (Eds.), Methods of Soil Analysis. Part 2, Chemical and microbiological properties. American Society of Agronomy. Madison. WI.

Anderson, T. and Domsch, K. (1990). Application of eco-physiological quotients (qCO2 and qD) on microbial biomasses from soils of different cropping histories. *Soil Biology And Biochemistry*, 22(2), 251-255.

Anyanwu, C. U. and Nwachukwu, O. N. (2011). Heavy metal resistance in bacteria isolated from contaminated and uncontaminated soils. *International Journal of Research in Chemistry and Environment*, 1(1), 173-178.

Awotoye, O. O., Adewole, M. B., Salami, A. O. and Ohiembor, M. O. (2009). Arbuscular mycorrhiza contribution to the growth performance and heavy metal uptake of *Helianthus annuus LINN* in pot culture. *African Journal of Environmental Science and Technology*, 3, 157-163.

Baath E. (1989). Effects of heavy metals in soil on microbial processes and populations. Water Air and Soil Pollution, 47, 335-379.

Berard, A., Capowiez, L., Mombo, S., Schreck, E., Dumat, C., Deola, F. and Capowiez, Y. (2015). Soil microbial respiration and PICT responses to an industrial and historic lead pollution: a field study. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(5), 4271-4281.

Cariny, T. (1995) The reuse of contaminated land. John Wiley and Sons Ltd. Publisher. 219p.

Carter, M. R. and Gregorich, E. G. (2008) Soil sampling and methods of analysis (2nd ed). CRC Press. Boca Raton. FL. 1204p

Cenkci, S., Cioerci, I.H., Yildiz, M., Oezay, C., Bozdao A. and Terzi, H. (2010). Lead contamination reduces chlorophyll biosynthesis and genomic template stability in *Brassica rapa L. Environmental and Experimental Botany*, 67, 467-473.

Cheng, W., Coleman, D. C., Carroll, C. R. and Hoffman, C. A. (1993). In situ measurements of root respiration and soluble carbon concentrations in the rhizosphere. *Soil Biology and Biochemistry*, 25, 1189-1196.

Cheng, Q., Wang, R., Huang, W., Wang, W. and Li, X. (2015). Assessment of heavy metal contamination in the sediments from the Yellow River Wetland National Nature Reserve (the Sanmenxia section), China. *Environmental science and pollution research*, 1, 1-8.

Archive of SID

www.SID.ir

Dai, J., Becquer, T., Rouiller, J. H., Reversat, G., Bernhard-Reversat, F., Nahmani, J., and Lavelle, P. (2004). Influence of heavy metals on C and N mineralization and microbial biomass in Zn, Pb, Cu and Cd contaminated soils. *Applied Soil Ecology*, 25, 99-109.

Gai, N., Yang, Y., Li, T., Yao, J., Wang, F. and Chen, H. (2011). Effect of lead contamination on soil microbial activity measured by microcalorimetry. *Chinese Journal of Chemistry*, 29, 1541-1547.

Gattai, G. S., Pereira, S.V., Costa, C. M. C., Lima, C. E. P. and Maia, L. C. (2011). Microbial activity, arbuscular mycorrhizal fungi and inoculation of Woody plants in lead contaminated soil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42, 859-867.

Giovannetti, M. and Mosse, B. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist*, 84, 489-500.

Hetzer, A., Daughney, C.J. and Morgan, H.W. (2006). Cadmium Ion Biosorption by the Thermophilic Bacteria *Geobacillus stearothermophilus* and *G. thermocatenulatus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 72, 4020-4027.

Hui, N., Liu, X. X., Kurola, J., Mikola, J. and Romantschuk, M. (2012). Lead (Pb) contamination alters richness and diversity of the fungal, but not the bacterial community in pine forest soil. *Boreal Environment Research*, 17(1), 46–58.

Islam, K. R. and Weil, R. R. (2000). Soil quality indicator properties in mid-Atlantic soils as influenced by conservation management. *Journal of Soil and Water Conservation*, 54, 69-78.

Jenkinson, D. S. and Ladd, J. N. (1981). Microbial biomass in soil measurement and turnover. P415-471, In: Paul E.A., Ladd, J.N. (Eds). Soil Biochemistry, Marcel Dekker, Inc., NY.

Karimi, A., Khodaverdiloo H., Sepehri, M. and Rasouli Sadaghiani, M.H. (2011). Arbuscular mycorrhizal fungi and heavy metal contaminated soils. *African Journal of Microbiology Research.* 5(13), 1571-1576.

Karimi, A., Khodaverdiloo, H. and Rasouli Sadaghiani, M.H. (2013). Enhanced soil Pb extraction by Acroptilon (*Acroptilon repens*) through inoculation with some arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting rhizobacteria. *Journal of Water and Soil Conservation*. 20(3), 193-210.

Karimi, A. and Khodaverdiloo, H. (2014). Soil Biological Quality as Influenced by Lead (Pb) Contamination under Centaurea (*Centaurea cyanus*) Vegetation. *Soil Management and Sustainable Production*, 4(1), 127-143.

Khan, S., El-Latif Hesham, A., Qiao, M., Rehman, S. and He, J. (2010). Effects of Cd and Pb on soil microbial community structure and activities. *Environmental Science and Pollution Research*, 17(2), 288-296.

Khodaverdiloo, H., Rahmanian, M., Rezapour, S., Ghorbani Dashtaki, Sh., Hadi, H., and Han, F. X. (2012). Effect of Wetting-Drying Cycles on Redistribution of Lead in Some Semi-Arid Zone Soils Spiked with a Lead Salt. *Pedosphere*, 22(3), 304-313.

Khodaverdiloo, H. and Hamzenejad Taghlidabad, R. (2014). Phytoavailability and potential transfer of Pb from a salt-affected soil to *Atriplex verucifera*, *Salicornia europaea* and *Chenopodium album*. *Chemistry and Ecology*. 30: 216-226.

Landi, L., Renella, G., Moreno, J., Falchini, L. and Nannipieri, P. (2000). Influence of cadmium on the metabolic quotient, l -:d -glutamic acid respiration ratio and enzyme activity: microbial biomass ratio under laboratory conditions. *Biology and Fertility of Soils*, 32(1), 8-16.

Liang, J., Liu, J., Yuan, X., Zeng, G., Lai, X., and Li, X., Wu, H., Yuan, Y. and Li, F. (2014). Spatial and temporal variation of heavy metal risk and source in sediments of Dongting Lake wetland, mid-south China. *Journal of Environmental Science and Health*, Part A, 50(1), 100-108.

Luo, Y. Q. and Zhou, X. (2006). Soil respiration and the environment. Academic Press, Elsevier, 334p.

Ma, Y., Oliveira, R.S., Freitas, H. and Zhang, C. (2016). Biochemical and Molecular Mechanisms of Plant-Microbe-Metal Interactions: Relevance for Phytoremediation. *Frontiers in Plant Science*. 7:918.

Maier, R.M., Papper, L.L. and Gebra, C.P. (2000). Environmental Microbiology. Academic Press, Chapter 17, 403-423.

Morawska-Płoskonka, J. and Niklinska, M. (2013). Effects of Soil Moisture and Nickel Contamination Microbial Respiration Rates in Heavy Metal-Polluted Soils. Polish Journal of Environmental Studies, 22, 1411-1418.

Nannipieri, P. (1994). The potential use of soil enzymes as indicators of productivity, sustainability and pollution. P238-244, In: Pankhurst, C. E., Doube. B. M., Gupta, V.V.S.R., Grace. P.R. (Eds). Soil Biota: Management in Sustainable Farming Systems. CSIRO Publications, Melbourne, Australia.

Nwachukwu, O. and Pulford, I. (2011). Microbial respiration as an indication of metal toxicity in contaminated organic materials and soil. *Journal of Hazardous Materials*, 185(2-3), 1140-1147.

Pan, J. and Yu, L. (2011). Effects of Cd or/and Pb on soil enzyme activities and microbial community structure. *Ecological Engineering*, 37, 1889–1894.

Pereira, J. L., Picanco, M. C., Silva, A. A., Santos, E. A., Tome, H. V. V. and Olarte, J. B. (2008). Effects of glyphosate and endosulfan on soil microorganisms in soybean crop. *Planta Daninha*, 26, 56–62.

Rasouli Sadaghiani, M.H. and Sepehr, E. (2011). The Effect of Sewage Sludge and Manures Application on Nitrogen Mineralization and Rhizosphere Characteristics in Corn and Sunflower Plants. *Journal of Water and Soil*, 25(2), 327-337.

Archive of SID

www.SID.ir

Sethi, S. and Gupta, S. (2014). Heavy metal Impact on Soil Microbial Biomass, Soil dehydrogenase activity and Soil Respiration rate. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences*, 1(6), 29-34.

Verma, R. K., Yadav, D. V., Singh, C. P., Suman, A., and Gaur, A. (2010). Effect of heavy metals on soil respiration during decomposition of sugarcane *(Saccharum officinarum L.)* trash in different soils. *Plant Soil Environment*, 56, 76–81.

Wang, F., Yao, J., Si, Y., Chen, H.L., Russel, M., Chen, K., Qian, Y.G., Zaray, G. and Bramanti, E. (2010). Short-time effect of heavy metals upon microbial community activity. *Journal of Hazardous Meterials*, 173, 510-516.

Wollum, A.G. (1982). Cultural methods for soil microorganisms, P 781-801. In: A.L. Page (ed.), Methods of soil Analysis, Part 2. Am. Soc. Agron. and Soil Sci. Soc. Am. Madison, WI.

Wu, Z. P., Wu, W. D., Zhou, S. L. and Wu, S. H. (2016). Mycorrhizal inoculation affects Pb and Cd accumulation and translocation in Pakchoi (*Brassica chinensis* L.). *Pedosphere*, 26(1), 13–26.

Zhang, F.P., Li, C.F., Tong, L.G., Yue, L.X., Li, P., Ciren, Y.J. and Cao, C.G. (2010). Response of microbial characteristics to heavy metal pollution of mining soils in central Tibet, China. *Applied Soil Ecology*, 45, 144 –151.

Zhang, J., Wang, L., Yang, J., Liu, H. and Dai, J. (2015). Health risk to residents and stimulation to inherent bacteria of various heavy metals in soil. *Science of The Total Environment*, 508, 29-36.

Zhou, D., Zhang, F., Duan, Z., Liu, Z., Yang, K., Guo, R., Yuan, Tian, Y. and Li, C. (2013). Effects of heavy metal pollution on microbial communities and activities of mining soils in Central Tibet, China. Journal of Food, *Agriculture and Environment*, 11(1), 676-681.

Archive of SID

www.SID.ir