

بررسی تأثیر قارچ ریشه‌های آربوسکولار همزیست با گونه درختی محلب (*Cerasus mahaleb* L. Mill.) بر زیست پالایی سرب

بهمن زمانی کبرآبادی، فرهاد رجالی¹، سید محمد حجتی، مسعود اسماعیلی شریف

و حمیدرضا رحمانی

دانشجو دکتری، گروه جنگلداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری؛ Zamanikebrabadi67@gmail.com

دانشیار موسسه تحقیقات خاک و آب، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران؛ Frejali@yahoo.com

دانشیار، گروه جنگلداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری؛ S-m-hodjati@yahoo.com

استادیار، بخش منابع طبیعی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی اصفهان، ایران؛

Masoudesmaeilisharif@gmail.com

استادیار، بخش خاک و آب، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی اصفهان، ایران؛

rahmani.hrhr@gmail.com

دریافت: 98/3/11 پذیرش: 98/9/27

چکیده

افزایش غلظت فلزات سنگین در خاک یکی از نتایج فعالیت‌های صنعتی بشری است. از روش‌های پالایش زیستی این نوع آلاینده‌ها می‌توان به استفاده از همزیستی قارچ‌های میکوریزی اشاره نمود. تحقیق حاضر با هدف بررسی پتانسیل قارچ‌های میکوریزی در زیست پالایی سرب توسط محلب (*Cerasus mahaleb* L. Mill.) در سطوح مختلف آلودگی خاک با فلز سنگین سرب و تلقیح با قارچ‌های میکوریزی مورد بررسی قرار گرفت. تیمارها شامل سه سطح تلقیح با قارچ‌های میکوریزی و سه سطح آلودگی خاک به فلز سنگین سرب در چهار تکرار بود. نتایج نشان داد با افزایش آلودگی خاک به سرب درصد کلنیزاسیون قارچ‌های میکوریزی کاهش یافت. همچنین در بالاترین سطح آلودگی خاک تیمار ترکیبی قارچ میکوریزی بیشترین درصد همزیستی با ریشه گیاه محلب را به خود اختصاص داد. فاکتور انتقال (TF) فلز سرب در ساقه و برگ در تیمار خاک آلوده شدید نسبت به خاک کم آلوده افزایش یافته و تیمار ترکیبی قارچ میکوریزی در انتقال فلز سرب به برگ و ساقه محلب عملکرد به نسبت بهتری از خود نشان داد. بالاترین مقادیر مربوط به هر دو فاکتور انتقال زیستی (BCF) (تجمع در ریشه) و ضریب تجمع زیستی (BAC) (انتقال به اندام هوایی) در تیمار خاک آلوده شدید بیشترین مقدار بود، همچنین تیمار ترکیبی قارچ میکوریزی بهترین عملکرد را در افزایش دو فاکتور ذکر شده داشت. مقدار فاکتور انتقال زیستی (BCF) از ضریب تجمع زیستی (BAC) و فاکتور انتقال (TF) بیشتر و نزدیک به یک بود (مقدار محاسبه شده حدود 0/9 بود). با توجه به نتایج حاصل، نهال‌های گونه محلب اگرچه دارای توانایی انباشت فلزات سرب در ریشه و انتقال آن به اندام‌های هوایی را نشان دادند، لیکن تثبیت در ریشه را با کارایی بسیار بهتر و مؤثرتری انجام داده و بدین صورت توانسته‌اند در همزیستی با قارچ‌های میکوریزی در کاهش انتقال عنصر سنگین در خاک مؤثر عمل نمایند.

واژه‌های کلیدی: خاک آلوده، سرب، فاکتور انتقال

¹ نویسنده مسئول، آدرس: موسسه تحقیقات خاک و آب، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

شده‌اند (گاور و ادھلی، 2004). همچنین محققین زیادی عنوان نموده‌اند که اکوتیپ‌های متعلق به قارچ‌های میکوریزی جداسازی شده از خاک‌های آلوده به فلزات سنگین نسبت به قارچ‌های بومی جدا شده از خاک‌های غیر آلوده تحمل‌پذیری و مقاومت بیشتری نسبت به آلاینده‌های فلزی از خود نشان می‌دهند. گونه‌های مختلف گیاهی از انواع زراعی، مرتعی و درختی قادر به جذب فلزات سنگین از محیط کشت خود می‌باشند، لیکن، اغلب گیاهان بیش انباشته‌گر شناسایی شده فلزات سنگین، متعلق به گونه‌های زراعی و مرتعی هستند، اما در این بین، درختان نیز دارای صفات ویژه‌ای می‌باشند که آنها را برای جذب آلاینده‌ها از خاک‌های آلوده مناسب می‌سازد، گونه‌های درختی به دلیل سطح به نسبت زیاد پوشش برگ، تراکم روزنه‌ها، توانایی جذب بالای دی‌اکسیدکربن و دیگر گازهای آسیب‌زا، انواع آلودگی‌های آلی (مانند هیدروکربن‌های اروماتیک) و غیرآلی (مانند فلزات سنگین) را دارا بوده و همچنین اثرات اکولوژیکی مناسبی بر محیط می‌گذارند (پولفورد و دیکسون، 2005). گونه‌های گیاهی مناسب برای زیست‌پالایی داری خصوصیتی مانند سیستم ریشه‌ای گسترده، نرخ تعریق بالا و تولید بیوماس بالایی باشند (بلی لاک و همکاران، 2000). محلب گونه‌ای مقاوم به شرایط خشکی و خاک‌های فقیر می‌باشد که خود نشان‌دهنده اهمیت توسعه و افزایش جنگل‌کاری با این گونه است. محلب دارای توانایی ریشه‌دوانی زیاد در خاک‌های ضعیف، سبک، آهکی و سنگلاخی است (خاتم‌ساز، 1992؛ ثابتی، 1976). سیستم ریشه‌ای قوی و گسترده این گونه می‌تواند شرایط را به منظور پالایش فلزات سنگین فراهم کند. در تحقیق صورت گرفته توسط آریگادا و همکاران (2005) بر روی نهال‌های اکالیپتوس (*Eucalyptus globulus*) رشد یافته در خاک آلوده به سرب (1500 و 3000 میلی‌گرم بر کیلوگرم) و تلقیح شده با قارچ‌های میکوریزی *Septoglomus deserticola* و *Funneliformis mosseae* مشاهده شده است که کاربرد سرب، درصد کلنیزاسیون میکوریزی ریشه گیاهان را به طور معنی‌داری کاهش می‌دهد. بیسونت و همکاران (2010) طی یک آزمایش صحرایی با بررسی نهال‌های دو ساله *Salix viminalis* و *Populus. generosa* رشد یافته در خاک آلوده به فلزات سنگین کادمیم، سرب، روی و مس گزارش کردند که در هر دو گونه مورد مطالعه غلظت‌های بالایی از کادمیم و روی در اندام هوایی تجمع پیدا کرد، در حالی که فلزات سنگین سرب و مس در ریشه ذخیره شدند. تودچینی و همکاران (2007)، با

با افزایش جمعیت در قرن اخیر و گسترش دخالت‌ها و برنامه‌ریزی‌های نادرست انسان، روز به روز بر آلودگی محیط زیست افزوده می‌شود، از جمله آلودگی‌های ایجاد شده در زیست بوم، آلودگی خاک است. از موارد مهم آلودگی خاک افزایش غلظت فلزات سنگین در خاک ناشی از فعالیت‌های بشر می‌باشد (رفعتی و همکاران، 1391)، به طوری که در سال‌های اخیر آلودگی آب و خاک با فلزات سنگین مشکل عمده‌ای برای محیط زیست و سلامت انسان ایجاد کرده است. آلودگی خاک با فلزات سنگین باعث مسمومیت گیاهان، کاهش حاصلخیزی، عملکرد و فعالیت میکروبی خاک شده، در نهایت سلامت انسان و جانداران را به مخاطره می‌اندازد (داوری، 1388). در واقع فلزات سنگین پس از ورود به خاک می‌توانند بر کیفیت محصول و نهایتاً بر سلامت بشر تأثیر سوء بگذارند. متداول‌ترین نوع فلزات سنگین در خاک‌های آلوده، روی، مس، کادمیم، سرب، کروم و نیکل می‌باشند (هنری، 2000).

سرب یکی از مهم‌ترین آلاینده‌های زیست محیطی است که از منابع گوناگون به اکوسیستم، پیکره گیاه و نهایتاً به زنجیره غذایی انسان و حیوانات راه می‌یابد. این فلز به طور مستقیم خاک را آلوده کرده و به صورت غیر مستقیم مسمومیت مصرف‌کنندگان فرآورده‌های کشاورزی را بدنبال دارد. (خداوردی لو، 1385). با توجه به وسعت به نسبت زیاد خاک‌های آلوده به فلزات سنگین و عدم کارایی آنها برای تولید محصولات کشاورزی و سایر کاربری‌ها متداول، پالایش خاک‌های آلوده به فلزات سنگین به ویژه در کشورهای در حال توسعه از اهمیت زیادی برخوردار گردیده است. پالایش زیستی فرآیندی است که از موجودات زنده (باکتری‌ها، قارچ‌ها، جلبک‌ها، پلانکتون‌ها، پروتوزوآها و گیاهان) برای پالایش خاک‌ها و آب‌های آلوده استفاده می‌شود (داوری، 1388). در میان فاکتورهای زیستی مؤثر بر فرآیند گیاه پالایی نقش ریزجانداران خاکزی به ویژه قارچ‌های میکوریزی حائز اهمیت می‌باشد (آریگادا و همکاران، 2005). گزارشات متعددی از حضور قارچ‌های میکوریزی و همزیست شدن با سیستم ریشه‌ای گیاهان در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین در مراجع علمی منتشر گردیده است (تودس کین و همکاران، 2007؛ کیکاتلی و همکاران، 2010؛ لینگوا و همکاران، 2012 و پالارا و همکاران، 2013). قارچ‌های میکوریزی متعلق به گونه‌های مختلف جنس *Funneliformis* از متداول‌ترین نوع این قارچ‌ها در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین گزارش

این شاخص در نهال‌های غیر میکوریزی در هر دو گونه به طور معنی‌داری بیشتر از نهال‌های میکوریزی بود. هدف از انجام این تحقیق بررسی کارایی گونه گیاهی محلب به تنهایی و در همزیستی با قارچ‌های میکوریزی و برآورد کارایی آن در انتقال عنصر آلاینده سرب به اندام هوایی یا تثبیت در سیستم ریشه‌ای است.

مواد و روش‌ها

تهیه نهال‌های محلب

به منظور اجرای پژوهش، نهال‌های یکساله و با مورفولوژی مشابه حاصل از بذر پایه مادری یکسان، انتخاب شدند. نهال‌ها متعلق به گونه درختی محلب *Cerasus mahaleb* L. Mill با متوسط ارتفاع 50-70 سانتیمتر، حداقل قطر طوقه 1-1/5 سانتیمتر و تعداد برگ حداقل تا 30 عدد (سعی شد تمامی نهال‌های مورد استفاده دارای میانگین شرایط ارتفاع، قطر، شادابی، تعداد برگ یکسان باشند)، از نهالستان جبل عاملیان وابسته به اداره کل منابع طبیعی استان اصفهان انتخاب شدند. نهال‌های منتخب به گلخانه مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان منتقل و به مدت بیست روز برای ایجاد سازگاری در شرایط جدید نگهداری شدند.

تهیه خاک

در این پژوهش نیاز به تأمین خاک آلوده به عنصر سنگین سرب در شرایط طبیعی بود. به همین منظور مقدار خاک آلوده مورد نیاز از معدن باما با مختصات جغرافیایی، طول 45' 51° تا 31' 51° و عرض 37' 32° تا 28' 32° در 20 کیلومتری جنوب غربی شهر اصفهان از عمق صفر تا 10 سانتی‌متر برداشت شد (سامانی مجد و همکاران، 2007). نمونه خاک تهیه شده هوا خشک شده و پس از عبور از الک دو میلی‌متری، برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن به همراه مقدار فلز سنگین سرب بر اساس روش‌های استاندارد اندازه‌گیری گردید.

بررسی درصد کلنیزاسیون میکوریزی ریشه صنوبرهای *Populus. alba* و *P. nigra* همزیست شده با قارچ‌های *F. mosseae* و *Rhizophagus. irregularis* در یک خاک آلوده به غلظت‌های بالای فلز مس نشان دادند که تنها تلقیح با قارچ *R. irregularis* منجر به افزایش معنی‌دار میزان کلنیزاسیون میکوریزی ریشه نهال‌های *P. nigra* شد. حال آنکه این تأثیر در تلقیح با قارچ *F. mosseae* و در تلقیح با هر دو قارچ میکوریزی در نهال‌های *P. alba* مشاهده نگردید. همچنین نتایج نشان داد که درصد کلنیزاسیون میکوریزی ریشه در *P. nigra* بیشتر از *P. alba* بود. نتایج بررسی لینگووا و همکاران (2008) بر روی تأثیر تلقیح با قارچ‌های میکوریزی *F. mosseae* و *R. irregularis* بر انتقال و تجمع فلز سنگین روی در اندام‌های مختلف کلن‌هایی از *P. nigra* و *P. alba* نشان داد که در کلن *P. alba* با قارچ *F. mosseae* به طور معنی‌داری تجمع روی را در برگ نسبت به گیاهان تلقیح نشده کاهش داد. با این وجود در این کلن بیشترین مقدار کل روی در گیاهان تلقیح شده با *F. mosseae* مشاهده شد. در این کلن تأثیرات مشابه بر روی اندام‌های دیگر و یا تلقیح با قارچ *R. irregularis* مشاهده نشد. در کلن *P. nigra* تنها تلقیح با قارچ میکوریزی *R. irregularis* به طور معنی‌داری تجمع روی را در ساقه گیاه کاهش داد. در این کلن بیشترین مقدار کل روی در گیاهان تلقیح نشده مشاهده گردید. به طور کلی مقدار کل روی گیاه، در کلن *P. alba* بیشتر از کلن *P. nigra* بود. محاسبه فاکتور تجمع زیستی (BCF) برگ و ساقه نهال‌های *S. viminalis* و *P. Generosa* تلقیح شده با قارچ *R. irregularis* و رشد یافته در خاک آلوده به فلزات کادمیم، سرب، روی و مس در مطالعه بیسونت و همکاران (2010) نشان داد که نهال‌های میکوریزی و غیرمیکوریزی صنوبر از نظر شاخص BCF کادمیم (ساقه) و مس (ساقه و برگ) اختلاف معنی‌داری را نشان دادند. به طوری که

جدول 1- برخی ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی خاک معدن

مقدار عددی/نوع	شاخص اندازه‌گیری شده
0-10	عمق (cm)
1/6	قابلیت هدایت الکتریکی (dS/m)
7/62	پ هاش (pH)
0/03	نیترژن کل % (Total N)
0/27	کربن آلی % (O.C)
8/22	فسفر قابل جذب mg/kg(P)
350	پتاسیم قابل جذب mg/kg(K)
2/44	مس قابل جذب mg/kg(Cu)
7/2	روی قابل جذب mg/kg(Zn)
2/52	منگنز قابل جذب mg/kg(Mn)
0/9	آهن قابل جذب mg/kg(Fe)
535	سرب قابل جذب mg/kg (Pb)
54	شن % (Sand)
26	سیلت % (Silt)
20	رس % (Clay)
لوم رسی شنی	بافت (Texture)

اعمال آلودگی و گرماگذاری

قسمت ته گلدان خروج آب وجود نداشته باشد) انجام گرفت که به املاح خاک اجازه داده شود تا با عمل آبیاری به عمق گلدان بروند و با انجام عمل تبخیر به سطح خاک انتقال یابند و به این ترتیب در کل خاک به طور یکنواخت توزیع شوند (یزوئنگ و همکاران، 2009). تفاوت در نیترات تیمارهای مختلف خاک آلوده از طریق کود اوره محاسبه و اعمال شد جمله حذف شده است.

سه سطح آلودگی زیاد، متوسط و کم از خاک معدن انتخاب شد و خاک‌ها به مدت پنج ماه در دمای 25 درجه سانتی‌گراد در شرایط گرماگذاری قرار گرفت و در طول گرماگذاری، با توجه به خشک شدن خاک سطح گلدان‌ها، آبیاری با آب مقطر، در حد ظرفیت مزرعه (با توجه به حجم خاک گلدان‌ها آب به مقداری اضافه گردید که از

جدول 2- غلظت قابل جذب سرب در خاک‌های مختلف مورد آزمایش

سرب $\text{mg kg}^{-1}(\text{Pb})$	مشخصات نمونه*
535	خاک آلوده (با شدت آلودگی زیاد)
350	خاک آلوده (شدت آلودگی متوسط)
170	خاک آلوده (شدت آلودگی کم)

* لازم به ذکر است برای ایجاد سطوح متوسط و کم آلودگی سرب در خاک، از اضافه کردن مقادیر مناسب از یک خاک غیر آلوده به سرب به خاک آلوده معدن استفاده شد. مقادیر مختلف سرب در تیمارهای خاک آلوده با دستگاه جذب اتمی (مدل AA-670) اندازه‌گیری گردید

انجام آزمون گلخانه‌ای

میکوریزی برای تلقیح نهال‌های محلب مشخص گردیدند (زمانی و همکاران، 1399).
فاکتورهای آزمون گلخانه‌ای شامل
 تیمار قارچ‌های میکوریزی در سه سطح، سطح اول حاوی چهار گونه قارچ میکوریزی به نام‌های *F. Claroideoglomus etunicatum* ، *R. irregularis mossea* و *Diversispora versiformis* با جمعیت معادل حدود 70

ابتدا با انجام یک پیش آزمون گلخانه‌ای و برآورد تأثیر گونه‌های مختلف قارچ‌های میکوریزی بر شاخص‌های رشدی نهال‌های محلب از جمله سطح برگ، وزن تر و خشک ریشه، وزن تر و خشک اندام هوایی، ارتفاع نهال-ها، رویش قطری و درصد کلنیزاسیون ریشه در شرایط تنش ناشی از فلز سنگین سرب، بهترین تیمار قارچ‌های

ژورته 50 میلی متری توسط قیف شیشه ای و کاغذ صافی 9 سانتی متری صاف گردید و با آب مقطر دو بار تقطیر به حجم رسید (باکر و همکاران، 1994) سپس نمونه‌ها با دستگاه جذب اتمی (مدل AA-670) برای عنصر سرب مورد آنالیز قرار گرفت (یواس ای پی، 1992).

عصاره‌گیری نمونه‌ها

اندام‌های هوایی و ریشه ای محلب، داخل آون در دمای 65 درجه سانتیگراد به مدت 72 ساعت خشک و سپس آسیاب شدند. از روش اکسیداسیون تر برای عصاره‌گیری نمونه‌ها استفاده شد. در این روش یک گرم از ماده خشک آسیاب شده، با پنج میلی‌لیتر اسید نیتریک غلیظ مخلوط شد و دما به آرامی به 420 درجه سلسیوس افزایش یافت تا بیشتر اسید تبخیر شود، پس از سرد شدن نمونه‌ها، پنج میلی‌لیتر مخلوط سه اسید (شامل نسبت حجمی 10:4:1 از اسید سولفوریک: اسیدپرکلریک: اسید نیتریک) به آن اضافه شد و دوباره حرارت داده شد تا مایع زلالی به دست آید. در انتها پنج میلی‌لیتر اسید کلریدریک شش نرمال به آن اضافه شده و در بالن 100 میلی‌لیتری صاف شد و به حجم رسید (رایان و رشید، 2001). میزان عنصر سرب با استفاده از دستگاه جذب اتمی مدل (AA-670) قرائت به صورت میلی‌گرم بر کیلوگرم گزارش شد. همچنین فاکتورهای انتقال ساقه و برگ (رابطه 1)، فاکتور غلظت زیستی (رابطه 2) و ضریب تجمع زیستی (رابطه 3) از طریق روابط زیر محاسبه شد (زاک‌چینی و همکاران، 2009).

1 غلظت فلز در ریشه / Translocation Factor Steam رابطه 1

(TF_r) غلظت فلز در ساقه

2 غلظت فلز در ریشه / Translocation Factor Leaf رابطه 2

(TF_L) غلظت فلز در برگ

3 غلظت فلز در بستر رشد / Bio Concentration Factor رابطه 3

(BCF) غلظت فلز در ریشه

4 غلظت فلز / Biological Acumulation Coefficient رابطه 4

(BAC) در بستر رشد / غلظت فلز در اندام هوایی

تجزیه آماری

تجزیه و تحلیل داده‌های تحقیق حاضر با نرم‌افزار آماری SPSS انجام شد. برای مقایسه میانگین متغیرهای اندازه‌گیری شده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (Compare Means Test-Duncan) استفاده شد. به منظور بررسی میزان تأثیر توأم تیمارهای قارچ و خاک بر روی متغیرهای اندازه‌گیری شده نیز از آزمون تجزیه واریانس تک متغیره (Univariate) استفاده شد.

الی 80 اندام فعال قارچ به ازای هر گرم از مایه تلقیح قارچی مربوط به مجموع چهار گونه با جمعیت برابر. سطح دوم گونه *F. mossea* به تنهایی و با جمعیت حدود 80 اندام فعال قارچ به ازای هر گرم از مایه تلقیح و سطح سوم تیمار بدون استفاده از مایه تلقیح قارچ‌های میکوریزی تیمار خاک آلوده در سه سطح آلودگی شامل آلودگی شدید، متوسط و کم به عنصر فلزی سرب (جدول شماره 2).

کشت گلخانه‌ای به صورت آزمون فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با دو فاکتور، هر کدام در سه سطح و در چهار تکرار، با 36 گلدان اجرا شد.

به منظور اعمال تیمار قارچ‌های میکوریزی طبق نظر لی و همکاران (2012) مقدار 50 تا 60 گرم زادمایه قارچ‌های میکوریزی تهیه شده در موسسه تحقیقات خاک و آب کشور در اطراف ریشه‌های نهال‌های یکساله پخش و روی آنها با خاک پوشانده شد. پس از کاشت و تلقیح، نهال‌های محلب در گلخانه تحقیقاتی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان با استفاده از نور طبیعی و در دمای بیشینه 28 درجه سانتی‌گراد و کمینه 15 درجه سانتی‌گراد به مدت شش ماه نگهداری شدند. آبیاری گلدان‌ها تا حد ظرفیت مزرعه با آب مقطر انجام گردید. عناصر معدنی مورد نیاز نهال‌های محلب طبق توصیه کارشناسان منابع طبیعی استان اصفهان با استفاده از کود کامل محلول در آب در طی دو مرحله و با فاصله زمانی 60 روز تأمین گردید.

اندازه‌گیری درصد کلونیزاسیون ریشه

در پایان دوره کشت مقدار یک تا دو گرم از ریشه‌های تازه در الکل 50 درصد (V/V) نگهداری شد و سپس با استفاده از روش تقاطع خطوط شبکه درصد کلونیزاسیون ریشه محاسبه شد. ریشه‌ها با محلول تری پن بلو (Giovannetti and Mosse, 1980) رنگ‌آمیزی شدند.

اندازه‌گیری میزان عنصر آلاینده فلزی سرب در خاک

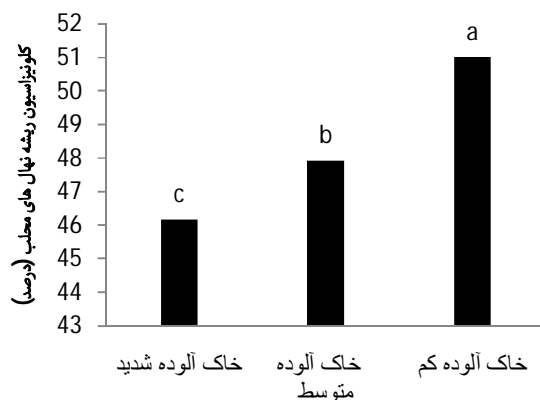
مقدار سرب در خاک به روش هضم اسیدی، پیشنهاد شده توسط اسپوزیتو و همکاران (1982) انجام شد. ابتدا نمونه خاک با غربال 2 میلی متری غربال گردید و حدود 5 گرم از هر نمونه در هاون چینی به خوبی سائیده شد و در دمای 70 درجه سانتی‌گراد به مدت 5 ساعت در آون خشک گردید. سپس 500 میلی‌گرم از خاک حاصل را در داخل لوله آزمایش ریخته و به هر لوله 10 میلی‌لیتر اسید کلریدریک 37% و اسید نیتریک 65% به نسبت 3 به 1 اضافه گردید. لوله‌ها به مدت یک ساعت در حمام شنی در دمای 100 درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا خاک به خوبی تجزیه شود. محلول حاصل در بالن

نتایج

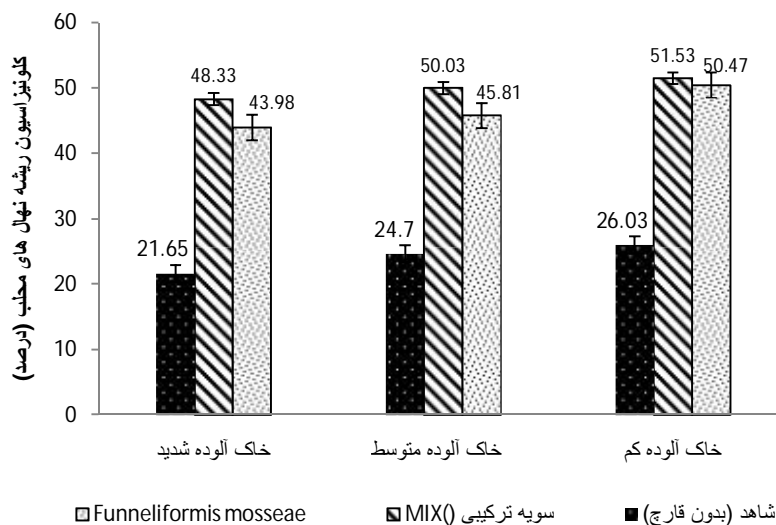
درصد کلنیزاسیون میکوریزی ریشه

یافته است (نمودار 1). دو تیمار ترکیبی قارچ میکوریزی و *F. mosseae* درصد همزیستی میکوریزی در تمام سطوح آلودگی خاک با سرب را به صورت معنی دار آماری افزایش دادند. (نمودار 2). اثر متقابل تیمارهای قارچ میکوریز و سطوح مختلف آلودگی خاک بر درصد کلنیزاسیون قارچ دارای اختلاف معنی دار بود (جدول 3).

نتایج آزمون تجزیه واریانس درصد همزیستی تیمار قارچ‌های میکوریزی در سطوح مختلف آلودگی خاک در سیستم ریشه گونه گیاهی محلب در سطح احتمال 5% دارای اختلاف معنی‌دار بود (جدول 3). نتایج آزمون مقایسه میانگین دانکن نشان داد، با افزایش سطح آلودگی به سرب در خاک درصد همزیستی میکوریزی کاهش



شکل 1- درصد کلنیزاسیون ریشه توسط قارچ‌های میکوریز آربوسکولار در نهال‌های محلب *CerasusmahalebL. Mill.* در سطوح مختلف آلودگی خاک به سرب



شکل 2- درصد کلنیزاسیون ریشه توسط تیمارهای مختلف قارچ‌های میکوریز آربوسکولار در نهال‌های محلب *Cerasus mahalebL. Mill.* در سطوح مختلف خاک آلوده حاوی سرب

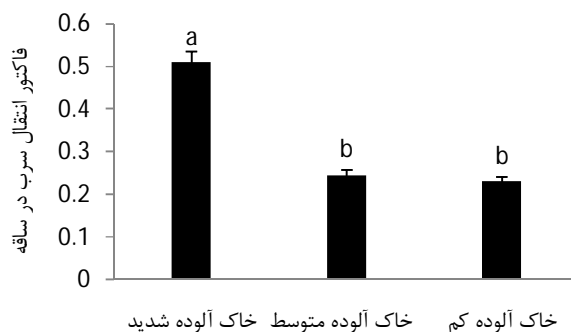
جدول 3- نتایج آزمون تجزیه واریانس تیمارهای مختلف خاک (Soil) و قارچ میکوریز آربوسکولار (AMF) و اثرات متقابل آن‌ها (Soil × AMF) بر مهم‌ترین فاکتورهای زیست پالایی و درصد کلینزاسیون قارچ در نهال‌های محلب *Cerasus mahaleb* L. Mill.

ردیف	پارامتر	خاک		قارچ		خاک × قارچ	
		P-value	F	P-value	F	P-value	F
1	کلینزاسیون قارچ (%)	0/00*	181/8	0/00*	4319/1	0/00*	20/49
2	BAC-Pb	0/00*	143/1	0/00*	155/8	0/00*	41/5
3	BCF-Pb	0/00*	546/4	0/00*	467/04	0/005*	54/7
4	TF leaf-Pb	0/00*	15/4	0/288 ^{ns}	8/1	0/00*	4/2
5	TF stem-Pb	0/00*	343/5	0/959 ^{ns}	66/2	0/00*	49/1

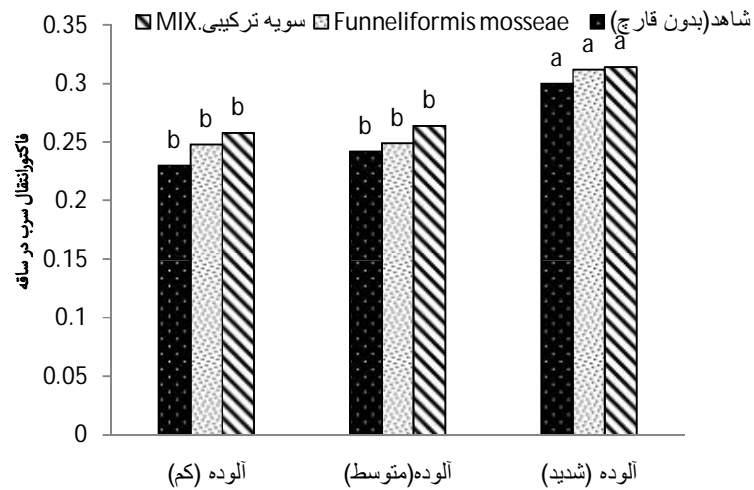
نتایج بررسی فاکتور انتقال سرب در برگ (TF Leaf) و ساقه (TF Stem) گونه گیاهی محلب

تجزیه واریانس نشان داد که تأثیر تیمار سطح آلودگی خاک و اثر متقابل آن در تیمار تلقیح قارچ میکوریزی از نظر انتقال سرب در برگ اختلافات معنی‌داری در سطح 5% را بدنبال داشته است (جدول 3) (نمودارهای 5 و 6). با توجه به مقادیر TF محاسبه شده برای ساقه و برگ، صرفنظر از تیمار قارچ میکوریزی، کمترین میزان TF ساقه و برگ در نهال‌های شاهد مشاهده شد. بیشترین میزان TF عنصر فلزی سرب در ساقه و برگ در بالاترین سطح آلودگی خاک مشاهده گردید. همچنین در تمام سطوح آلودگی خاک با عنصر سرب، TF ساقه مقادیر بیشتری نسبت به TF برگ را به خود اختصاص داد که این امر نشان دهنده انتقال و تجمع بیشتر سرب در اندام ساقه نسبت به برگ در گیاه محلب می‌باشد.

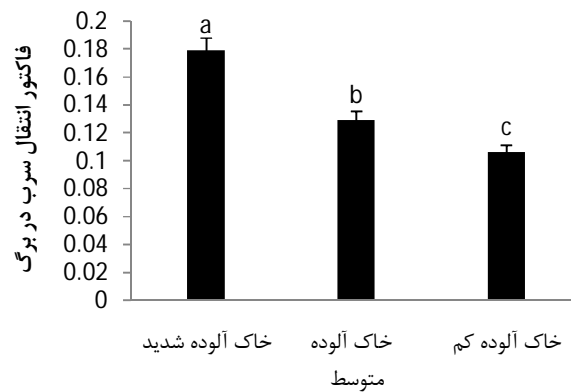
نتایج آزمون تجزیه واریانس نشان داد، تأثیر تیمار سطح آلودگی خاک و اثر متقابل سطح آلودگی خاک در تلقیح قارچ در فاکتور انتقال سرب در ساقه نهال‌های محلب دارای اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال 5% بود (جدول 3). فاکتور انتقال فلز سرب به ساقه در تیمار بالاترین سطح آلودگی خاک بیشترین مقدار بود (نمودار 3). لیکن تأثیر تلقیح قارچ‌های میکوریزی بر فاکتور انتقال فلز سرب به ساقه فاقد اختلاف معنی‌داری برآورد گردید (جدول 3). اثر متقابل تیمار سطح آلودگی خاک در تلقیح قارچ بر فاکتور انتقال سرب در ساقه دارای اختلاف معنی‌دار در سطح آماری 5% بود (نمودار 4). نتایج آزمون



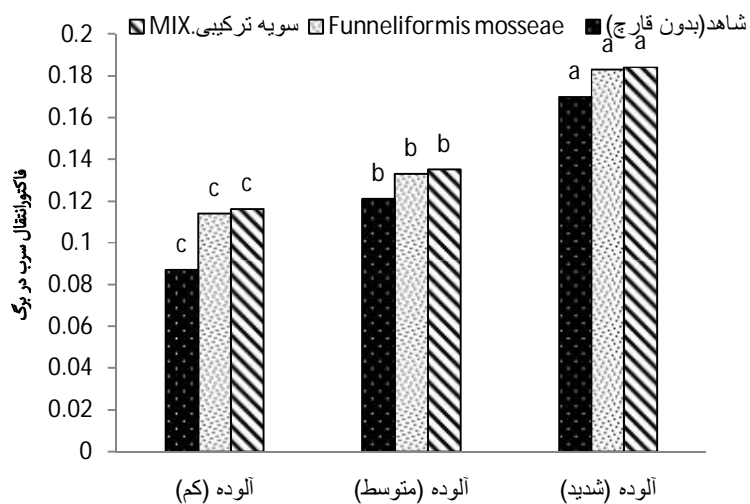
شکل 3- فاکتور انتقال سرب به ساقه نهال‌های محلب *Cerasus mahaleb* L. Mill در سطوح مختلف آلودگی خاک



شکل 4- اثر متقابل تلقیح در سطح آلودگی خاک بر فاکتور انتقال سرب در ساقه نهال‌های محلب *Cerasus mahaleb* L. Mill.



شکل 5- فاکتور انتقال سرب در برگ نهال‌های محلب *Cerasus mahaleb* L. Mill. در سطوح مختلف آلودگی خاک



شکل 6- اثر متقابل تلقیح با قارچ‌های میکوریزی در سطح آلودگی خاک بر فاکتور انتقال سرب در برگ نهال‌های محلب *Cerasus mahaleb* L. Mill.

فاکتور غلظت زیستی (BCF) و ضریب تجمع زیستی (BAC) سرب در محلب

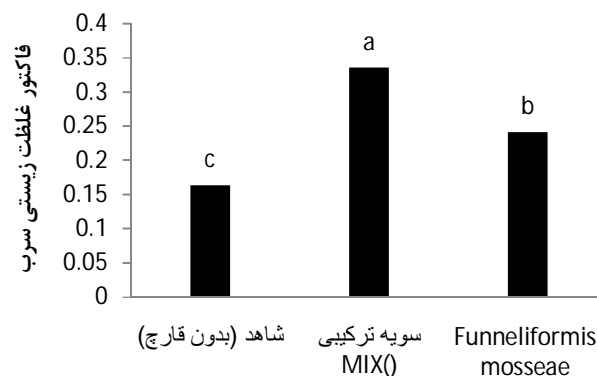
پتانسیل گیاه پالایی یک گونه گیاهی با اندازه-گیری مقادیر فاکتور انتقال (TF)، فاکتور تجمع زیستی (BCF) و ضریب تجمع زیستی (BAC) برآورد می‌شود (فونتم، 2014). گونه های گیاهی که مقدار شاخص های TF و BAC در آنها بزرگتر از یک باشد، برای فرآیند گیاه استخراجی مناسب هستند. گیاهانی که در آنها مقدار TF کمتر از یک و مقدار BCF بیشتر از یک باشد، برای فرآیند گیاه تثبیتی مناسب تر هستند (چراغی و همکاران، 2011). جمله حذف شده است.

نتایج آزمون تجزیه واریانس نشان داد تأثیر سطوح مختلف آلودگی خاک، سطوح مختلف تلقیح با قارچ های میکوریزی و اثر متقابل این دو بر دو شاخص BAC و BCF دارای اختلاف معنی دار در سطح احتمال 5% می-باشد (جدول 3). فاکتور غلظت زیستی فلز سرب در تیمار خاک آلوده شدید بیشترین مقدار و در تیمار خاک کم آلوده کمترین مقدار بود (نمودار 7). تلقیح با قارچ میکوریزی بر شاخص غلظت زیستی سرب دارای تأثیر معنی دار در سطح احتمال 5% بود (جدول 3).

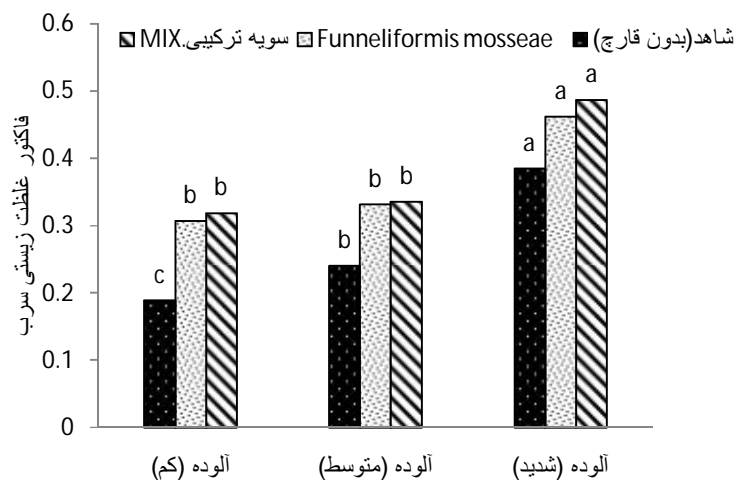
نتایج نشان داد در نهال های گونه گیاهی محلب با در نظر گرفتن شاخص غلظت زیستی سرب تیمار تلقیح ترکیبی اختلاف معنی داری با تیمار *F. mosseae* و شاهد تلقیح نشده داشت (نمودار 8).



شکل 7- فاکتور غلظت زیستی سرب در نهال های محلب *Cerasus mahaleb* L. Mill در سطوح مختلف آلودگی خاک



شکل 8- تأثیر سطوح مختلف تلقیح با قارچ های میکوریزی بر فاکتور غلظت زیستی سرب در نهال های محلب *Cerasus mahaleb* L. Mill

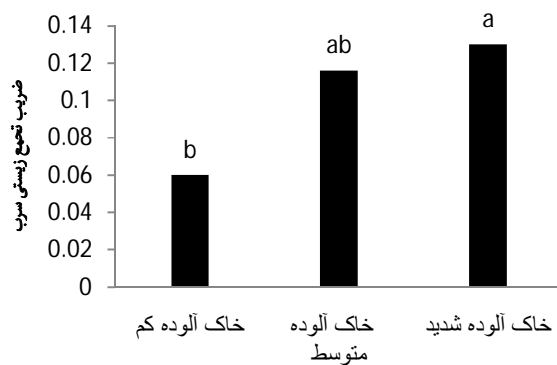


شکل 9- اثر متقابل تلقیح با قارچ‌های میکوریزی در سطح آلودگی خاک بر فاکتور غلظت زیستی سرب در نهال‌های محلب *Cerasus mahaleb* L. Mill

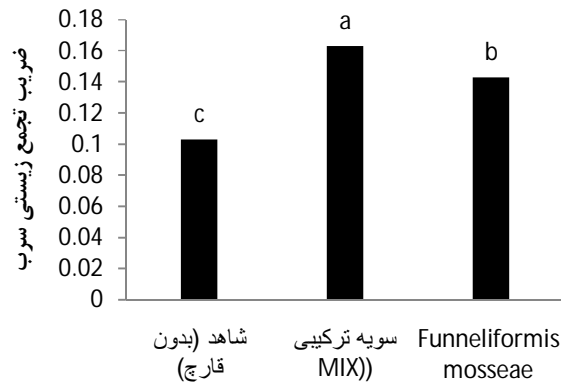
خاک آلوده کم بود، تأثیر قارچ میکوریز آربوسکولار بر ضریب تجمع زیستی سرب دارای اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال 5% بود (جدول 3). سویه ترکیبی بهترین عملکرد را نسبت به ضریب تجمع زیستی سرب نشان داد (نمودار 11). همچنین اثر متقابل تیمار تلقیح با قارچ میکوریزی و سطوح مختلف آلودگی خاک در ضریب تجمع زیستی سرب دارای اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال 5% بود (جدول 3) (نمودار 12).

قارچ‌های میکوریزی باعث حرکت سرب به ریشه از خاک و افزایش غلظت سرب در ریشه شده‌اند. اثر متقابل تیمار تلقیح قارچ و سطح آلودگی سرب در خاک در ارتباط با شاخص غلظت زیستی سرب نیز دارای تأثیر معنی‌دار در سطح احتمال 5% بود (جدول 3) (نمودار 9). فاکتور غلظت زیستی در نهال‌های محلب حدود 0/5 محاسبه گردید.

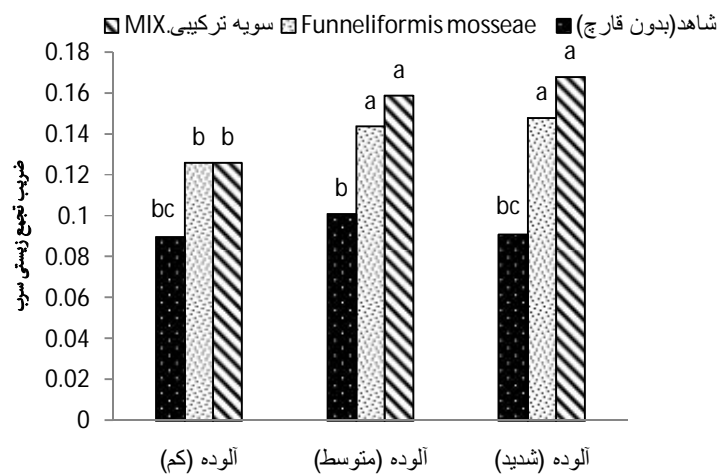
بیشترین مقدار ضریب تجمع زیستی فلز سرب در تیمار خاک آلوده شدید و کمترین مقدار آن مربوط به



شکل 10- فاکتور تجمع زیستی سرب در نهال‌های محلب *Cerasus mahaleb* L. Mill در سطوح مختلف آلودگی خاک



شکل 11- تأثیر سطوح مختلف تلقیح با قارچ‌های میکوریزی بر فاکتور تجمع زیستی سرب در نهال‌های محلب *Cerasus mahaleb* L. Mill



شکل 12- اثر متقابل تلقیح با قارچ‌های میکوریزی در سطح آلودگی خاک بر فاکتور تجمع زیستی سرب در نهال‌های محلب *Cerasus mahaleb* L. Mill

بحث

کلنیزاسیون ریشه، سمیت ناشی از میزان بسیار زیاد سرب در خاک است. با توجه به اینکه گونه‌های قارچی استفاده شده در این پژوهش از خاک‌های غیر آلوده به سرب در جداسازی و تکثیر شده اند لذا با افزایش میزان سرب در خاک، درصد کلنیزاسیون ریشه، کاهش یافته است. به طور کلی قارچ‌های بومی موجود در خاک آلوده به سطوح بالاتری از فلزات سنگین در خاک مقاومت نشان می‌دهند. برخی از محققین نیز کاهش کلنیزاسیون ریشه را یک مکانیسم برای محدود کردن جذب اضافی برخی از فلزات سنگین از طریق هیف‌های قارچی و یا به دلیل اثرات متقابل قارچ و گیاه در مقادیر بالای فلزات سنگین دانسته‌اند (آوده و همکاران، 2002). گلیدون و تیکتر (1983) نیز گزارش داده اند که حضور فلزات سنگین در خاک می‌تواند گسترش هیف‌های داخل ریشه‌ای را محدود کند و حتی در غلظت‌های بالای فلزات، گسترش هیف‌های

نتایج این پژوهش نشان داد در نهال‌های گونه گیاهی محلب تیمار ترکیبی قارچ بیشترین درصد کلنیزاسیون میکوریزی ریشه را نسبت به نهال‌های غیر میکوریزی در تمام سطوح خاک آلوده به خود اختصاص داده است (نمودار 1). این امر نشان دهنده این واقعیت است که تلقیح قارچی می‌تواند باعث تقویت و جبران کمبود جمعیت فعال قارچ‌های میکوریزی در خاک شود (تورنائو، 1998). همچنین آرمند و همکاران (1394) در خاک غیر آلوده، گونه‌های قارچی *Funneliformis mosseae* و *Glomus hoi* را به عنوان گونه‌های قارچی بومی و هم‌زیست برای گونه گیاهی محلب معرفی کردند. با افزایش سطح آلودگی با سرب درصد هم‌زیستی میکوریزی در تمامی تیمارها نسبت به خاک غیر آلوده کاهش یافت. احتمالاً یکی از علل کاهش درصد

غلظت فلز سنگین در ریشه به غلظت فلز سنگین در بستر رشد (BCF) و ضریب تجمع زیستی بیانگر نسبت غلظت فلز سنگین اندام هوایی به غلظت فلز سنگین در بستر رشد (BAC) گیاه است (زاک چینی و همکاران، 2009). این فاکتورها دارای ارزش کلیدی برای تخمین پتانسیل گیاه برای استخراج گیاهی و یا تثبیت گیاهی است. به طوری که گیاهانی با BAC بیشتر از 1 برای فرآیند استخراج گیاهی مناسب هستند و گیاهانی با BCF بالاتر از 1 پتانسیل تثبیت گیاهی دارند (رائی و ساروت، 2009؛ زاک چینی و همکاران، 2009). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که در نهال‌های گونه گیاهی محلب در تمام سطوح خاک آلوده بررسی شده، BCF نسبت به BAC مقادیر بیشتری داشته به صورتی که BCF فلز سرب به ترتیب 2/5 و 3/6 برابر بیشتر از BAC مشاهده گردید، که این امر نشان دهنده تجمع بیشتر سرب در ریشه نسبت به اندام هوایی گیاه است. چنانکه یانکون و همکاران (2004) نیز با بررسی BCF سرب 17 گونه گیاهی رشد یافته در خاک آلوده به سرب، نشان دادند که BCF سرب اغلب گونه‌های گیاهی مطالعه شده از یک کمتر بود. همچنین در همین راستا بیسونت و همکاران (2010) با محاسبه BCF برگ و ساقه نهال‌های *S. viminalis* و *P. × generosa* تلقیح شده با *R. irregularis* و رشد یافته در خاک آلوده به فلزات سنگین کادمیم، سرب، روی و مس گزارش کردند که BCF کادمیم و روی بالای 1 و BCF سرب و مس زیر 1 اندازه‌گیری شده است. در تحقیق حاضر، BCF محاسبه شده عنصر سرب برای نهال‌های میکوریزی و غیر میکوریزی اختلاف معنی‌داری نشان دادند. همسو با نتایج حاضر بیسونت و همکاران (2010) نیز نشان دادند تأثیر تلقیح قارچی بر BCF کادمیم، روی و مس، معنی‌دار و تأثیری بر BCF سرب گونه‌های مورد بررسی نداشته است. کانوال و همکاران (2015) دریافتند که با افزایش غلظت سرب و روی مقدار تجمع این دو عنصر فلزی افزایش یافته و این مقدار در ریشه‌ها بیشتر از اندام‌های هوایی بود. دائی و همکاران (2013) در بررسی دو فلز سرب و روی در گونه درختی *Populus . canescens* L نیز به این نتیجه رسیدند که تجمع سرب و روی در اندام ریشه و ساقه با افزایش سرب و روی به صورت خطی افزایش می‌یابد و تجمع در ریشه 485 برابر بیشتر از ساقه بود.

نتیجه‌گیری نهایی

بر اساس نتایج به دست آمده، گونه گیاهی محلب با توجه به جذب سرب از خاک و همچنین مقادیر شاخص‌های BAC، TF و BCF کمتر از یک، نمی‌تواند

خارج ریشه‌ها را نیز محدود می‌کند. از طرف دیگر گسترش همزیستی، تابع شرایط گیاه میزبان نیز می‌باشد و در شرایط نامساعد میزبان، میزان کلنیزاسیون میکوریزی ریشه تحت تأثیر قرار می‌گیرد (چارت و پاولوسک، 2004). در مطالعات صورت گرفته تأثیرات مثبت، منفی و خنثی فلزات سنگین خاک بر کلنیزاسیون میکوریزی ریشه گیاه میزبان گزارش شده است. نتایج متناقضی در مورد تأثیر فلزات سنگین بر درصد کلنیزاسیون ریشه وجود دارد، که این کاهش و افزایش درصد کلنیزاسیون ممکن است در ارتباط با تفاوت در تحمل گیاهان یا قارچ میکوریزی به فلزات سنگین و نیز شرایط محیطی خاص نظیر، غلظت فلز سنگین در خاک، نوع فلز و pH خاک باشد (آدت و کاراست 2007) (گیلدون و تینکر، 1983). کاهش کلنیزاسیون قارچ‌های میکوریزی در نتیجه سمیت سرب توسط محققان متعددی گزارش شده است (وگل-میکوس و همکاران، 2006 و چاو و وانگ 1990). شدت کلنیزاسیون علاوه بر نوع گیاه و سیستم ریشه‌ای به غلظت فسفر خاک نیز بستگی دارد.

نتایج این آزمون حاکی از این است که به طور کلی غلظت فلز سنگین سرب در ریشه نهال‌های محلب بیش از اندام‌های هوایی بود (نمودارهای 9 و 12). سل و همکاران (2005) نیز با بررسی تأثیر همزیستی با سه قارچ اکتومیکوریزی (*Paxillus Hebeloma crustuliniforme*، *Pisolithus tinctorius* و *involutus*) بر فاکتورهای انتقال ساقه و برگ نهال‌های *S. viminalis* و *P. Canadensis* مشاهده کردند که تیمارهای تلقیح قارچی بر فاکتور انتقال ساقه (TFs) و فاکتور انتقال برگ (TF_L) نهال‌های این دو گونه گیاهی تأثیری نداشت. فقط در نهال‌های *P. canadensis* تلقیح با قارچ *P. involutus* منجر به افزایش معنی‌دار TF_L نسبت به نهال‌های غیر میکوریزی شد. در مقابل نتایج بررسی لینگووا و همکاران (2008) بر روی *P. nigra* و *P. alba* همزیست شده با قارچ‌های *F. mosseae* و *R. Irregularis* تحت تنش فلز روی نشان داد که در تیمارهای مورد بررسی TFs مقادیر کمتری نسبت به TF_L را به خود اختصاص داده است. ویسنهورن و لیوال (1995) مشاهده کردند غلظت سرب، به ویژه در ریشه ذرت، با افزایش کلنیزاسیون میکوریزی تمایل به افزایش نشان داده و انتقال مس و روی (نه سرب و کادمیم) از ریشه به بخش هوایی با کلنیزاسیون میکوریزی افزایش یافت. برای ارزیابی توانایی نهال‌ها در استخراج فلز سنگین از بستر آلوده و تجمع آن در اندام‌های گیاه، فاکتور تجمع زیستی (BCF) و ضریب انباشت زیستی (BAC) محاسبه شد. فاکتور غلظت زیستی در واقع بیانگر نسبت

(اسناکر گانش و همکاران، 2006). قارچ‌های میکوریز آربوسکولار در نهال‌های گونه محلب باعث افزایش تجمع سرب در ریشه شدند. و بدین صورت می‌توانند از انتقال آلاینده‌های فلزی مثل سرب به آب‌های زیرزمینی جلوگیری نمایند. افزون بر آن، استقرار پوشش گیاهی و ریشه‌دوانی آن با جلوگیری از فرسایش بادی از پخش شدن آلاینده‌ها می‌کاهد. استفاده از پوشش گیاهی دائمی مثل گونه درختی محلب، شبکه خاک را تثبیت کرده و فرسایش خاک و جابه‌جایی آلاینده‌ها را کاهش می‌دهد (کوستی زی و همکاران، 2006). تثبیت گیاهی در مواردی که سطح آلودگی پایین بوده و یا در مورد آلودگی‌های گسترده که سایر روش‌های پالایش در محل کارآمد نیست، تنها ترین راهکار تلقی می‌گردد. در مناطقی که غلظت آلاینده بالا باشد، اجرای تثبیت گیاهی به دلیل سمیت زیاد ممکن است با مشکل مواجه شود که در این صورت معمولاً افزودن بهسازهای خاک از جمله عناصر غذایی، آهک، مواد آلی، کود حیوانی، کمپوست و ... مورد استفاده قرار می‌گیرد (کوستی زی و همکاران، 2006). در نهایت توصیه می‌شود به منظور دستیابی به نتایج قطعی تر، این آزمون با سایر گونه‌های درختی که به منظور ایجاد فضای سبز مورد استفاده قرار می‌گیرند و همچنین سایر گونه‌های قارچ‌های میکوریزی و در مناطق حاوی مقادیر مختلف و انواع متفاوت عناصر سنگین مورد بررسی مجدد قرار گیرد.

به‌عنوان یک گیاه دارای توانایی گیاه پالایی (گیاه استخراجی) معرفی شود. البته ذکر این نکته ضروری است که مقدار سطح آلودگی به فلزات سنگین در زیست پالایی بسیار مهم است، استفاده از سطوح بالای آلودگی به سرب به شکل مصنوعی و طبیعی می‌تواند کمک بهتری در بروز توانایی زیست پالایی گونه بیان کند. در این پژوهش مقدار BCF از BAC و TF بیشتر و نزدیک به عدد یک بود (0/9) که خود نشان دهنده این موضوع است که نهال‌های گونه گیاهی محلب دارای توانایی بیشتری در انباشت سرب در ریشه نسبت به استخراج (انباشت در اندام هوایی) در خاک‌های آلوده از خود نشان می‌دهند. تجمع بیشتر سرب اساساً در ریشه نسبت به اندام‌های دیگر در مطالعات بائوم و همکاران (2006)، بوریسو و همکاران (2009)، بوجارزوک و کیلیسوسکا-روکیکا (2010) و بایوسنت و همکاران (2010) در مورد سایرگونه‌های چوبی نیز گزارش شده است. دیکسون و پولفورد (2005) نیز بیان کردند که فلز سنگین سرب نسبت به سایر فلزات سنگین، بیشتر در ریشه تجمع پیدا می‌کند. در واقع تثبیت و تجمع فلز سنگین در ریشه و ممانعت از انتقال آن به اندام هوایی که ممکن است به دلیل سکوستره شدن آلاینده فلزی در واکنش‌ها و سلول‌های ریشه باشد، از جمله ساز و کارهایی است که برخی گیاهان برای مقابله با سمیت فلزات سنگین به کار می‌برند. زیرا به‌این وسیله اندام هوایی که در متابولیسم گیاه نقش مهمتری دارد از آسیب ناشی از فلز سنگین محافظت می‌شود

فهرست منابع:

1. آرمند ن، متینی زاده م، ا. شیروانی ا، و خوشنویس م. (1394). اثر تلقیح قارچ‌های میکوریزی بر رشد نونهال‌های محلب در شرایط گلخانه‌ای. تحقیقات جنگل و صنوبر، 24 (4): 656-664.
2. خداوردی لو، ح. 1385. مدل سازی پالایش سبز خاک های آلوده به کادمیم و سرب. رساله دکتری خاکشناسی. دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس. 131 صفحه.
3. داوری، م. 1388. مدل سازی پالایش سبز خاک‌های آلوده با دو آلاینده نیکل و کادمیم. رساله دکتری خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس. 149 صفحه.
4. رضوانی، م، زعفریان، ف. و قلیزاده، ع. 1391. جذب سرب و عناصر غذایی به وسیله گیاه چمن شور تحت اثر سطوح مختلف سرب در خاک. نشریه دانش آب و خاک، جلد 22 (3): 73-86.
5. رفعتی، م، خراسانی ن، مراقبی، ف، شیروانی، ا. 1391. توانایی گونه های توت سفید (*Morus alba*) و سپیدار (*Populus alba*) در تثبیت و برداشت فلزات سنگین، نشریه محیط زیست طبیعی، مجله منابع طبیعی ایران، 65: 191-181.

6. زمانی، ب، حجتی، م، رجالی، ف، اسماعیلی، م و رحمانی، ح، ر. 1399. شناسایی و بررسی اثرات قارچ‌های میکوریز آربوسکولار مقاوم به سرب و روی بر ویژگی‌های مورفولوژیکی گونه محلب *Cerusus mahaleb* L. Mill. مجله پژوهش و توسعه جنگل (در نوبت چاپ)
7. عباسی، ه. پورمجیدیان، م. ر، حجتی، س. م. و فلاح، ا. 1395. مقایسه مقاومت نهال‌های یکساله شیردار (*Acer cappadocicum* Gled.) و ون (*Fraxinus excelsior* L.) تحت خاک‌های آلوده به فلز سنگین سرب. نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، 11 (42): 1-12.
8. Arriagada C.A., Herrera M.A., Ocampo J.A., 2005. Contribution of arbuscular mycorrhizal and saprobe fungi to the tolerance of *Eucalyptus globulus* to Pb. Water, Air, and Soil Pollution, 166: 31-47.
9. Baker, A. J. M., Reeves, R. D. and Hajar, A. S. M. (1994) Heavy metals accumulation and Tolerance British populations of the metalophyte *Thlaspi caerulescens* j. & C. presl (*Brassicaceae*). *New Phytologist* 127: 61-68.
10. Baum C. Hryniewicz K., Leinweber P., Meissner R., 2006. Heavy-metal mobilization and uptake by mycorrhizal and nonmycorrhizal willows (*Salix X dasyclados*). *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 169: 516-522.
11. Bierman, B. and R. G. Linderman. 1980. Quantifying vesicular – arbuscular mycorrhizae: a proposed method towards standardization. *New Phytol.* 87:63 – 67.
12. Bissonnette L., St-Amaud M., Labrecque M., 2010. Phytoextraction of heavy metals by two *Salicaceae* clones in symbiosis with arbuscular mycorrhizal fungi during the second year of a field trial. *Plant and Soil*, 332:55-67.
13. Bojarczuk K. Kieliszewska-Rokicka B., 2010. Effect of ectomycorrhiza on Cu and Pb accumulation in leaves and roots of silver birch (*Betula pendula* Roth.) seedlings grown in metal-contaminated soil. *Water, Air, and Soil Pollution*, 207: 227-240.
14. Borišev M., Pajević S., Nikolić N., Pilipović A., Krstić B., Orlović S., 2009. Phytoextraction of Cd, Ni, and Pb using four willow clones (*Salix* spp.). *Polish Journal of Environmental Studies*, 18:553-561.
15. Chaney R.L., 1983. Plant uptake of inorganic waste constituents. In *Land Treatment of Hazardous Wastes*. Edited by Parr JF, Marsh PD. Kla JM. Park Ridge, NJ: Noyes Data Corporation: 50-76.
16. Chao, C. C., and Y. P. Wang. 1990. Effects of heavy metals on the infection of vesicular arbuscular mycorrhizae and the growth of maize. *Journal of Agriculture Association*, 152: 34-45.
17. Chao, C. C., and Y. P. Wang. 1990. Effects of heavy metals on the infection of vesicular arbuscular mycorrhizae and the growth of maize. *Journal of Agriculture Association*, 152: 34-45
18. Chen X., Wu C., Tang J., Hu S., 2005. Arbuscular mycorrhizae enhance metal lead uptake and growth of host plants under a sand culture experiment. *Chemosphere*, 60: 665-671.
19. Cicatelli A., Lingua G., Todeschini V., Biondi S., Torrigiani P. Castiglione S, 2010, Arbuscular mycorrhizal fungi restore normal growth in a white poplar clone grown on heavy metal-contaminated soil, and this is associated with upregulation of foliar metallothionein and polyamine biosynthetic gene expression. *Annals of Botany*, 106: 791-802
20. Dai, Hui-Ping, Shan, Chan-Juan, Jia, Genliang, Lu, Chao, Yang, Tu-Xi and Wei, An-Zhi (2013) "Cadmium detoxification in *Populus × canescens*", *Turkish Journal of Botany*, No. 37, pp. 950-955.
21. Di Baccio D., Tognetti R., Sebastiani L., Vitagliano C., 2003. Responses of *Populus deltoides* x *Populus nigra* (*Populus* x *euramericana*) clone 1-214 to high zinc concentrations. *New Phytologist*, 159: 443-452.

22. Dickson, A., Leaf, A.L. and Hosner, J.F., 1960. Quality appraisal of white spruce and white pineseedling stock in nurseries. *For. Chronicle*, 36:10–13.
23. Fontem Lum, A., E.S.A. Ngwa, D. Chikoye & C.E. Suh, 2014. Phytoremediation Potential of Weeds in Heavy Metal Contaminated Soils of the Bassa Industrial Zone of Douala, Cameroon. *International Journal of Phytoremediation*, 16:302–319.
24. Gaur A., Adholeya A., 2004. Prospects of arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of heavy metal-contaminated soils. *Current Science*, 86: 528-534.
25. Gildon, A., and P. B. Tikner. 1983. Interaction of vesicular arbuscular mycorrhizal infection and heavy metals in plants. The effect of heavy metals on the development of vesicular arbuscular mycorrhizas. *New Phytologist*, 95: 247-261.
26. Giovannetti, M. and B. Mosse. 1980. An evaluation of techniques to measure vesicular-arbuscular infection in roots. *New Phytol.* 84: 489-500.
27. Joner EJ and Leyval C, 2001. Time course of heavy metal uptake in maize and clover as affected by root density and different mycorrhizal inoculation regimes. *Biol Fert Soils* 33: 351-357.
28. Kanwal, Sadia, Bano, Asma and Malik, Riffat-Naseem (2015) “Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on wheat growth, physiology, nutrition and cadmium uptake under increasing cadmium stress”, *International Journal of Agronomy and Agricultural Research*, No. 7(5), pp. 30-42.
29. Kormanik, P. P. and A. C. McGraw. 1982. Quantification of Vesicular-arbuscular Mycorrhizae in Plant Roots. In *Methods and Principles of Mycorrhizal Research*. Ed. N.C. Schenck. The American Phytopathological Society. pp. 37-36.
30. Lingua G. Franchin C., Todeschini V., Castiglione S., Biondi S., Burlando B., Parravicini V., Torrigiani P., Berta G., 2008. Arbuscular mycorrhizal fungi differentially affect the response to high zinc concentrations of two registered poplar clones. *Environmental Pollution*, 153: 137-147.
31. Lingua G., Bona E., Todeschini V., Cattaneo C., Marsano F. Berta G., Cavaletto M., 2012. Effects of Heavy Metals and Arbuscular Mycorrhiza on the Leaf Proteome of a Selected Poplar Clone: A Time Course Analysis. *PLOS ONE*, 7: e38662
32. Li, H., Li, X., Dou, Z., Zhang, J. and Wang, C. 2012. Earthworm (*Aporrectodea trapezoides*)–mycorrhiza (*F.intraradices*) interaction and nitrogen and phosphorus uptake by maize. *Biology and Fertility of Soils*, 48 (1), pp.75-85.
33. Motesharezadeh, B. & Gh.R. Savaghebi-Firoozabadi, 2010. Bioaccumulation and phyto-translocation of Nickel by *Medicago sativa* in a calcareous soil of Iran, Desert, 15: 61-69.
34. Oudeh M., Khan M., Scullion J., 2002. Plant accumulation of potentially toxic elements in sewage sludge as affected by soil organic matter level and mycorrhizal fungi. *Environmental Pollution*, 116: 293-300.
35. Pallara G., Todeschini V., Lingua G., Camussi A., Racchi ML, 2013. Transcript analysis of stress defence genes in a white poplar clone inoculated with the arbuscular mycorrhizal fungus *F.mosseae* and grown on a polluted soil. *Plant Physiology and Biochemistry*, 63: 131-139.
36. Phillips, S.M. and U.S. Hayman. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal for rapid assessment of infection. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 55: 158-161.
37. Pulford, LD., Dickinson, N.M., 2005. Phytoremediation technologies using trees. In: Prasad MNV, Naidu R [eds.], *Trace elements in the environment*, 375-395. CRC Press, New York.
38. Ryan, J. & A. Rashid, 2001. *Soil and Plant Analysis Laboratory Manual*. Second Edition, Available from ICARDA, Aleppo, Syria, 172 pp.

39. Samani Majd, S., Sabeti, A. and Afiouni, M. 2007. Soil pollution of urban roadsides to lead and cadmium. *Journal of Environmental studies*, 33(43): 1-10.
40. Sankar Ganesh K., Sundaramoorthy P., Chidambaram ALA., 2006. Chromium toxicity effect on blackgram, soybean and paddy, *Pollution Research*, 25: 257-261
41. Sell J., Kayser A., Schulin R., Brunner I., 2005. Contribution of ectomycorrhizal fungi to cadmium uptake of poplars and willows from a heavily polluted soil. *Plant and Soil*. 277: 245-253.
42. Sharma, P., and R. S. H. Dubey. 2005. Lead toxicity in Plants. *Plant Physiology*, 17: 35-52.
43. Sposito, G., Lund, L.J., and Chang, A.C. 1982. Trace metal chemistry in arid-zone field soils amended with sewage sludge: I. Fractionation of Ni, Cu, Zn, Cd and Pb in solid phases. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 46: 260-264
44. Todeschini V., Franchin C., Castiglione S. 2007. Responses to copper of two registered poplar clones inoculated or not with arbuscular mycorrhizal fungi. *Caryologia*, 60: 146-155.
45. Todeschini V., Franchin C., Castiglione S. 2007. Responses to copper of two registered poplar clones inoculated or not with arbuscular mycorrhizal fungi. *Caryologia*, 60: 146-155.
46. Turnau K, 1998. Heavy metal content and localization in mycorrhizal *Euphorbia cyparissias* from zinc wastes in southern Poland. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 67: 105-113.
47. US EPA., 1992. Method B11, Method 1311. <http://www.caslab.com/EPA-Method-1311/>.
48. Vogel-Mikus, K., P. Pongrac, P. Kump, M. Necemer, and M. Regvar. 2006. Colonisation of a Zn, Cd and Pb hyperaccumulator *Thlaspi praecox* Wulfen with indigenous arbuscular mycorrhizal fungal mixture induces changes in heavy metal and nutrient uptake. *Environmental Pollution*, 139: 362-371.
49. Yizong, H., H.U. Ying & L.I.U. Yunxia, 2009. Combined toxicity of copper and cadmium to six rice genotypes (*Oryza sativa* L.), *Journal of Environmental Sciences*, 21: 647-653.
50. Zacchini M., Pietrini F., Mugnozza G.S., Iori V., Pietrosanti L, Massacci A., 2009. Metal tolerance, accumulation and translocation in poplar and willow clones treated with cadmium in hydroponics. *Water, Air, and Soil Pollution*, 197: 23-34.

Effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Lead Bioremediation by *Cerasus mahaleb* L. Mill.

**B. Zamani Kebrabadi, F. Rejali¹, M. Hodjati, M. Esmaeili Sharif,
and H. R. Rahmani**

Ph.D. Student, Department of Forestry, Faculty of Natural Resources, Sari Agricultural Sciences and Natural Resource University; E-mail: Zamanikebrabadi67@gmail.com

Associate Professor, Soil and Water Research Institute, Agricultural, Research, Education and Extension Organization, Karaj, Iran; E-mail: Frejali@yahoo.com

Associate Professor, Department of Forestry, Faculty of Natural Resources, Sari Agricultural Sciences and Natural Resource University; E-mail: S-m-hodjati@yahoo.com

Assistant professor, Division of Natural Resources, Isfahan Agricultural and Natural Resources, Agricultural, Research, Education and Extension Organization, Isfahan, Iran;
E-mail: Masoudesmaeilisharif@gmail.com

Assistant professor, Division of Soil and Water, Isfahan Agricultural and Natural Resources, Agricultural, Research, Education and Extension Organization, Isfahan, Iran;
E-mail: rahmani.hrhr@gmail.com

Received: June, 2019 & Accepted: December, 2019

Abstract

One of the most important results of human industrial activities is the increased concentration of heavy metals in the soil. Application of mycorrhizal symbiosis is one of the bioremediation methods of heavy metals contaminated soils. The purpose of this study was to investigate the potential of mycorrhizal fungi in lead phytoremediation by *Cerasus mahaleb* in soil contaminated with different levels of lead. The treatments were three levels of mycorrhizal fungi and three levels of soil contaminated with lead in four replications. The results showed that the percentage of root colonization decreased by increasing soil contamination with lead. Also, in the highest level of soil contamination, the mixed mycorrhizal treatment had the highest percentage of root colonization. The transfer factor (TF) of lead in stems and leaves in the soil with high contamination was more than low contamination. Mixed mycorrhizal treatment showed the highest effect in lead transfer to leaf and stem. The highest bioconcentration factor (BCF) and bioaccumulation coefficient (BAC) were related to soil with high contamination. Also, the mixed mycorrhizal treatment had the best performance in increasing BCF and BAC. The amount of BCF was greater than BAC and TF and was close to one (0.9). Although *C. mahaleb* seedlings could accumulate lead in roots and transfer it to shoot, they effectively stabilized lead in root and thus decreased lead translocation from soil to plant shoot.

Keywords: Contaminated Soil, Lead, Transfer Factor

¹ Corresponding author: Soil and Water Research Institute, Agricultural, Research, Education and Extension Organization, Karaj, Iran