

## The Effect of Biofertilizers Application on Growth Indices of Maize (*Zea mays*) in Lead Contaminated Soils

MOSLEM HEYDARI<sup>\*1</sup>, FATEMEH ROSTAMI<sup>2</sup>, AHMAD GOLCHIN<sup>2</sup>

1. Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Zanjan University, Zanjan, Iran.

2. Department of Soil Science Engineering, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran.

(Received: Jan. 14, 2020- Revised: Feb. 24, 2020- Accepted: March. 3, 2020)

### ABSTRACT

In order to investigate the effect of biofertilizers on growth indices of maize (*Zea mays* L.) in lead-contaminated soils, a factorial experiment based on a completely randomized design with three replications was conducted in the greenhouse of soil science department at Zanjan University in 2015. Factor I included: soil contamination levels of lead (0, 50, 100, 200 and 400 mg/kg soil) and Factor II, No inoculation (C), inoculation with soluble bacteria, Phosphate (*Pseudomonas putida*) (P), inoculation with *Funneliformis mosseae* (M), inoculation with mycorrhizal fungus *Funneliformis mosseae* + phosphate solubilizing bacterium (M + P), inoculation with *Rhizophagus intraradices* mycorrhizal (I), inoculation with mycorrhizal fungi *Rhizophagus intraradices* + phosphate-solubilizing bacterium (I + P). The measured parameters were leaf chlorophyll index, plant height, lead of shoot and root, Copper and Iron of root and shoot. Inoculation of soil with mycorrhizal fungi and bacteria improved plant growth and yield indices in the absence of lead. Inoculation with mycorrhizal fungus *Funneliformis mosseae* + phosphate-solubilizing bacterium (I + P) increased leaf chlorophyll index 11.65% compared to the no-inoculation treatment (control). Also, biofertilizers were able to increase the amount of absorbed lead in the plant root compared to the control treatment by 61.9%. In other words, they are able to retain the absorbed lead from the soil by plant root. According to the obtained results at the critical concentration of lead (400 mg/kg soil), biofertilizers could not have a beneficial and increasing effect on chlorophyll index and plant height. However, at lower concentrations of Pb, biofertilizers can decrease the harmful and adverse effects of these heavy metals on shoot and root of plant.

**Keyword:** Heavy metals, mycorrhizal fungi, plant yield, phosphate solubilizing bacteria

## تأثیر کاربرد کودهای زیستی بر شاخص‌های رشدی ذرت (*Zea mays L.*) در خاک‌های آلوده به سرب

مسلم حیدری<sup>۱\*</sup>، فاطمه رستمی<sup>۲</sup>، احمد گلچین<sup>۳</sup>

۱. گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران.

۲. گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران.

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۲۴ - تاریخ بازنگری: ۱۳۹۸/۱۲/۵ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۸/۱۲/۱۳)

### چکیده

به منظور بررسی تأثیر کودهای زیستی بر شاخص‌های رشدی گیاه ذرت (*Zea mays L.*) در خاک‌های آلوده به سرب، آزمایشی در گلخانه گروه خاک‌شناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان در سال ۱۳۹۴ به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار به اجرا درآمد. تیمارهای مورد بررسی عبارت بودند از عامل اول: سطوح آلودگی خاک به سرب (۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) و عامل دوم: بدون مایه‌زنی (C)، مایه‌زنی با باکتری حل‌کننده فسفات (*Pseudomonas putida*) (P)، مایه‌زنی با قارچ *Funneliformis mosseae* (M)، مایه‌زنی با قارچ میکوریز *Funneliformis mosseae* + باکتری حل‌کننده فسفات (M+P)، مایه‌زنی با قارچ میکوریز *Rhizophagus intraradices* (I)، مایه‌زنی با قارچ میکوریز *Rhizophagus intraradices* + باکتری حل‌کننده فسفات (I+P) بود. پارامترهای مورد اندازه‌گیری شامل: سرب، آهن و مس در ریشه و اندام هوایی، شاخص سبزی‌نگی برگ و ارتفاع گیاه بود. مایه‌زنی خاک با قارچ‌های میکوریزی و باکتری در شرایط عدم وجود عنصر سرب سبب بهبود شاخص‌های رشد و عملکرد گیاه گردید. بر این اساس تیمار مایه‌زنی با قارچ میکوریز *Funneliformis mosseae* + باکتری حل‌کننده فسفات (I+M) توانست فاکتور انتقال (TF) را ۶۷/۲۸ درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش دهد. همچنین کودهای زیستی توانستند میزان سرب جذب شده را در ریشه گیاه در مقایسه با تیمار شاهد ۶۱/۹ درصد افزایش دهند؛ به بیان دیگر توانستند سرب جذب شده از خاک توسط گیاه را در ریشه گیاه حفظ کنند. با توجه به نتایج حاصل در غلظت بحرانی سرب (۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک)، کودهای زیستی نتوانستند تأثیر مفید و فزاینده‌ای بر شاخص سبزی‌نگی برگ و ارتفاع در این رقم از ذرت (رقم ماکسیم) داشته باشند. با این حال در غلظت‌های کم‌تر از فلز سنگین سرب، کودهای زیستی می‌توانند اثرات مضر و سوء این فلزات سنگین را در اندام‌های هوایی و ریشه گیاه ذرت (رقم ماکسیم) کاهش دهند.

واژه‌های کلیدی: باکتری حل‌کننده فسفات، عملکرد گیاه، فلزات سنگین، قارچ‌های میکوریزی.

### مقدمه

آلودگی خاک، به افزایش غلظت مواد شیمیایی طبیعی و مصنوعی در پروفیل خاک اشاره دارد (Liud et al., 2010). فلزات سنگین سمی بودن آلاینده‌های معدنی هستند که در خاک به صورت طبیعی حضور داشته و یا در نتیجه فعالیت‌های بشری وارد آن می‌شوند (Rajaei and Karimian, 2006; McGrath et al., 2001). فلزات سنگین در خاک غیر قابل تجزیه بوده و می‌توانند از طریق جذب توسط گیاهان، وارد زنجیره غذایی انسان شوند (Salt et al., 1998)

یکی از عناصر سنگین خطرناک و سمی سرب است که به یکی از مهم‌ترین مشکلات زیست‌محیطی تبدیل شده و باعث بروز خطرات جدی برای انسان و محیط‌زیست می‌شود. آلودگی بیش از حد خاک‌ها به سرب، بیشتر ناشی از توان جابجایی کم آن در

محیط‌زیست و رسوب‌پذیری بالای آن است (Reeres and Baker 1999; Tangahu et al., 2011). عنصر سرب یکی از پایدارترین فلزات سنگین در خاک است و در حدود ۱۵۰ تا ۵۰۰۰ سال در خاک ثابت دارد (Kumar et al., 1995).

دامنه‌ی طبیعی غلظت سرب در گیاهان از ۰/۲ تا ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم و حد بحرانی آن ۳۰ تا ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم گزارش شده است (Abbaspour et al., 2010). در گیاهان اثرات سمی سرب معمولاً در غلظت‌های بالاتر از ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در برگ ظاهر می‌شود که در نهایت باعث کاهش سنتز کلروفیل و رشد رویشی می‌شود. سمی بودن سرب به این دلیل است که بسیاری از جنبه‌های رفتاری متابولیسمی کلسیم را تقلید می‌کند و از فعالیت بسیاری از آنزیم‌ها جلوگیری می‌کند و نکته مهم در اصلاح خاک‌های آلوده به فلزات سنگین، تحرک و حلالیت

تثبیت گیاهی (Phytostabilization) به‌طور مؤثری از ورود فلز به بخش‌های هوایی خود، علیرغم غلظت‌های زیاد فلزات سنگین در خاک، جلوگیری می‌کنند و به گیاهان اجتناب‌کننده<sup>۴</sup> معروف هستند. غلظت فلز در اندام‌های هوایی این گیاهان کمی زیاد شده یا ثابت باقی می‌ماند در حالی که ممکن است حاوی مقادیر زیادی از فلزات سنگین در ریشه‌های خود باشند. در گیاهان اجتناب‌کننده، TF کوچک‌تر از یک و BCF بزرگ‌تر از یک است (Joonki *et al.*, 2006; Mcfaralane *et al.*, 2007). دسته سوم گیاهانی هستند که با استفاده از مکانیسم گیاه جذبی (Phytoextraction) توانایی جذب و تجمع فلز در آلودگی‌های کم تا زیاد را دارند و به آن‌ها گیاهان انباشتگر گفته می‌شود، در این گیاهان TF و BCF بزرگتر از یک است (Kupper *et al.*, 1999; Memon *et al.*, 2001).

با توجه به توسعه کشور در زمینه صنعت و فناوری و بالطبع افزایش روزافزون ضایعات و تولیدات فرعی کارخانه‌ها و معادن و ورود آن‌ها در زمین‌های کشاورزی امکان گسترش آلودگی‌هایی را فراهم می‌سازد، لذا آگاهی از میزان آلودگی خاک‌های ایران به این عناصر و اقدام در جهت رفع آن ضروری به نظر می‌رسد. استان زنجان با دارا بودن معادن و کارخانه‌های متعدد سرب و روی، منطقه‌ای مستعد برای آلوده شدن خاک‌های بخش کشاورزی به عناصر سنگینی از جمله سرب است. تحقیقات متعدد نشان داده است میزان سرب در مناطق صنعتی و حریم معادن بعضاً به ۳۵۷ تا ۱۶۲۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک می‌رسد (Abbaspour *et al.*, 2010).

امروزه به‌کارگیری کودهای آلی و زیستی راه‌کار قابل قبولی برای افزایش حاصلخیزی خاک و حفظ منابع طبیعی و محیط‌زیست است (Permakhsar and RajaSheri, 2009).

مکانیسم‌هایی که قارچ میکوریز برای کاهش تنش فلزات سنگین برای گیاهان اعمال می‌کند شامل کلات و غیرپویا شدن فلزات سنگین در میسلیوم‌های خارجی، بهبود تغذیه‌ی معدنی به‌ویژه فسفر، تغییر pH ریزوسفر، تنظیم بیان ژن‌های ناقل فلزی و غیره است (Joner and Leyval, 2000). علاوه بر این، قارچ‌های میکوریز جذب فلزات توسط گیاهان را از خاک و انتقال آن به ریشه و اندام هوایی را تحت تأثیر قرار می‌دهند که به نوع فلز، گیاه و گونه قارچ بستگی دارد. قارچ‌های میکوریزی هم‌زیست شده با گیاهان از طریق تغییر و تعدیل فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه از قبیل افزایش فعالیت فتوسنتزی می‌توانند موجب کاهش سمی بودن فلز سنگین در گیاه شوند (Han *et al.*, 2011). قارچ‌های

کم این ترکیبات و هم‌چنین تمایل اندک گیاهان به جذب سرب و انتقال آن از ریشه به اندام‌های هوایی است (Tao, and Zhiwei, 2005). علائم سمی بودن سرب در گیاهان به‌صورت تیره شدن رنگ برگ‌ها، توقف رشد قسمت هوایی، کاهش زیست‌توده، کاهش سنتز کلروفیل و حتی ناهنجاری‌های کروموزومی دیده شده است (Kapata-Pendis and Pendis, 2010).

کاهش میزان پارامترهای رشد و نمو در پاسخ به افزایش غلظت سرب در محیط رشد گیاهان دلایل متعددی از قبیل اثر بازدارنده‌ی سرب بر روی فتوسنتز، کاهش توانایی تثبیت CO<sub>2</sub>، افزایش هزینه‌ی متابولیکی گیاه در مقابله با تنش فلز سنگین، برهم زدن تعادل یونی و روابط آبی گیاه با محیط و کاهش میزان تبادلات گازی به‌علت کاهش سطح برگ دارد. محدود شدن فرآیند توسعه برگ در حضور غلظت‌های بالای سرب می‌تواند در ارتباط با کاهش رشد طولی سلول‌ها و تعداد تقسیمات آن‌ها باشد که در نهایت منجر به کاهش سطح جذب نور توسط برگ‌ها و کاهش راندمان تثبیت فتوسنتزی و زیست‌توده می‌گردد (Sharma and Dubey, 2005). سرب می‌تواند در حلقه پورفیرینی کلروفیل جانشین منیزیم شود و به این ترتیب مقدار کلروفیل را کاهش دهد (Sharma and Dubey, 2005).

سرب در گیاهان باعث اختلال در میتوز، کلروز برگ‌ها، توقف رشد ریشه و ساقه و در نهایت کاهش سنتز DNA می‌گردد و بر فعالیت‌های آنزیمی تأثیرگذار است. سرب نه‌تنها بر رشد گیاهان تأثیر منفی دارد بلکه با وارد شدن به چرخه‌ی غذایی باعث ایجاد خطراتی برای انسان‌ها و حیوانات می‌گردد (Liud *et al.*, 2010). سرب از تقسیم سلول‌های مریستمی و رشد سلول‌های ریشه جلوگیری کرده و عملکرد ریشه گیاهان را کاهش می‌دهد. همچنین این فلز قابلیت ارتجاع دیواره سلولی ریشه را کاهش داده و موجب کاهش رشد ریشه گیاهان می‌شود (Kapata-Pendis and Pendis, 2010).

گیاهان از لحاظ جذب و انتقال فلزات سنگین به سه دسته تقسیم می‌شوند. دسته اول گیاهانی هستند که فلزات سنگین را در بافت‌های خود ذخیره که به آن‌ها گیاهان شاخص<sup>۱</sup> گفته می‌شود. یکی از شاخص‌های شناسایی این گیاهان محاسبه دو عامل فاکتور انتقال<sup>۲</sup> (TF) و فاکتور تجمع زیستی<sup>۳</sup> (BCF) است. در گیاهان شاخص TF و BCF مساوی یک است (Olowoyo *et al.*, 2010). در این گیاهان غلظت فلز جذب شده در گیاه بیانگر غلظت فلز در خاک در این دسته است (Kupper *et al.*, 1999; Memon *et al.*, 2001).

میکوریزی انتقال سرب را به ساقه گیاه کاهش می‌دهند. در واقع این قارچ‌ها به دلیل تجمع عناصر سنگین در هیف‌ها و میسلیوم-های خود باعث کاهش فرم قابل جذب این عناصر در ریزوسفر گیاه می‌شوند که این امر منجر به کاهش جذب این عناصر توسط گیاه می‌شود (Gildon and Tinker, 2000).

مهم‌ترین باکتری‌های حل‌کننده فسفات از جنس *سودوموناس* و *باسیلوس* هستند. *سودوموناس*‌ها از مهم‌ترین باکتری‌های افزاینده رشد گیاه هستند. (Zahir et al., 2004). میکوریز از بااهمیت‌ترین قارچ‌های موجود در اغلب خاک‌های تخریب نشده است. در حدود ۷۰ درصد از توده زنده جامعه میکروبی خاک را ریشه‌های این قارچ‌ها تشکیل می‌دهد. از مهم‌ترین فواید کودهای زیستی می‌توان به افزایش جذب آب، کمک به کاهش تنش‌های محیطی مثل شوری و غلظت زیاد فلزات سنگین اشاره نمود (Azcon and El-Atrash, 2002) واکنش‌های بین گیاهان و ریزجانداران مفید ریزوسفر می‌تواند تولید زیست-توده و تحمل گیاه به فلزات سنگین را افزایش دهد (Glick et al., 2003). فعالیت‌های میکروارگانیسم‌ها در خاک و تغییر شرایط و ویژگی‌های ریزوسفر و در نتیجه زیست‌فراهمی فلزات، بر جذب فلزات توسط ریشه و اندام‌های هوایی گیاهان تأثیرگذار است (Joner and Leyval, 2000). مطالعاتی که در ارتباط با کودهای زیستی حاوی باکتری‌های حل‌کننده فسفات انجام شده است نشان داده‌اند که این باکتری‌ها سبب کاهش اثرات سوء کودهای شیمیایی و حفظ محیط‌زیست می‌گردد (Khan, 2006). بنابراین هدف از انجام این پژوهش بررسی تأثیر کودهای زیستی بر شاخص‌های رشدی گیاه ذرت (*Zea mays L.*) در خاک‌های آلوده به سرب بود.

## مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی تأثیر کودهای زیستی بر شاخص‌های رشدی گیاه ذرت (*Zea mays L.*) در خاک‌های آلوده به سرب، آزمایشی فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه زنجان اجرا گردید. پارامترهای آزمایش عبارت بودند از سطوح آلودگی خاک به سرب (۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰

میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) (Abbaspour et al., 2010) و مایه-زنی با کودهای زیستی مختلف شامل بدون مایه‌زنی (C)، مایه‌زنی با باکتری حل‌کننده فسفات (*Pseudomonas putida*) (P)، مایه-زنی با قارچ *Funneliformis mosseae* (M)، مایه‌زنی با قارچ میکوریز *Funneliformis mosseae* + باکتری حل‌کننده فسفات (M+P)، مایه‌زنی با قارچ میکوریز *Rhizophagus intraradices* (I)، مایه‌زنی با قارچ میکوریز *Rhizophagus intraradices* + باکتری حل‌کننده فسفات (I+P) بود. باکتری مورد استفاده، باکتری از گونه *Pseudomonas putida* یک باکتری هتروتروف آزادی است که به شکل مایع با جمعیت  $5 \times 10^8$  تهیه شده از موسسه تحقیقات خاک و آب، مورد مصرف قرار گرفت. قارچ میکوریز به کار رفته در تحقیق حاوی دو گونه: *Funneliformis mosseae* و *Rhizophagus intraradices* تهیه شده از کلکسیون میکروبی موسسه تحقیقات خاک و آب، با جمعیتی برابر و معادل ۱۱۵ اندام فعال قارچ به ازای هر گرم است. خاک مورد نظر از عمق ۲۰-۳۰ سانتی‌متری مزرعه‌ی تحقیقاتی دانشگاه زنجان تهیه و پس از هوا خشک شدن از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شد. بافت خاک به روش هیدرومتری (Gee and Bauder, 1986)، واکنش در گل اشباع با دستگاه pH متر (مدل Metrohm 691، کشور آلمان) (McLean, 1982)، قابلیت هدایت الکتریکی در عصاره اشباع خاک با دستگاه هدایت‌سنج (مدل WTW Series inolab، کشور ژاپن) (Nelson, 1982)، درصد کربن آلی به روش والکلی-بلک (Nelson and Sommers, 1986)، سرب به روش عصاره‌گیری با DTPA و به‌وسیله دستگاه جذب اتمی (مدل Spectr AA 20، کشور تایوان Varian- Spectr) (Walingh et al., 1998)، سرب قابل جذب (Norvell, 1978) و همچنین نیتروژن کل خاک با استفاده از دستگاه کج‌لدال اندازه‌گیری شد (جدول ۱). در عصاره‌های حاصل از هضم گیاهان، غلظت فسفر به روش کالری‌متری (رنگ زرد مولیبدات - وانادات) (Hanson, 1950; Kitson and Mellon, 1944) و با دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل S2000 UV/Vis، کشور آلمان) و غلظت پتاسیم با دستگاه فلیم‌فتومتر اندازه‌گیری شدند.

جدول ۱- ویژگی‌های خاک مورد آزمایش

بافت خاک	CaCl <sub>2</sub> (%)	کربن آلی (%)	pH	EC (dS/m)	نیتروژن کل (%)	فسفر (mg/kg)	پتاسیم (mg/kg)	سرب کل (mg/kg)	سرب قابل جذب (mg/kg)
لوم رسی	۱۴/۷	۱/۱	۷/۷۴	۰/۲۵	۰/۵	۱۴	۲۳۰	۲	۰/۱۱

در ریشه محاسبه شد.

به‌منظور آلوده‌سازی نمونه‌های خاک به سرب، مقادیر

فاکتور انتقال (TF) یا میزان انتقال آلاینده سرب از ریشه به اندام‌های هوایی از نسبت غلظت فلز در اندام هوایی به غلظت فلز

به‌کار می‌برد، شامل کلات کردن و غیر پویا کردن فلزات سنگین در ریشه‌های خارج ریشه‌ای است (Gonzalez-Guerrero et al., 2005). بنابراین، بیش‌ترین غلظت سرب ریشه در تیمار کود زیستی مایه‌زنی با قارچ میکوریزی *Funneliformis mosseae* + باکتری حل‌کننده فسفات (M+P) و کم‌ترین آن در تیمار شاهد یا بدون مایه‌زنی به‌دست آمد (جدول ۳). این کود زیستی میزان سرب بخش ریشه را نسبت به تیمار شاهد ۱۵۷٪ افزایش داد. یکی از دلایلی که می‌توان برای کاهش انتقال سرب به بخش هوایی گیاهان با افزایش غلظت سرب متصور بود این است که انتقال فلز به بخش هوایی از طریق آوندهای چوبی صورت می‌گیرد و عامل انتقال در این آوندها، شیب هیدرواستاتیک و شیب پتانسیل آب است. بنابراین با کاهش رشد گیاهان، میزان تبخیر و تعرق کاهش و میزان انتقال در این آوندها نیز کاهش می‌یابد. کود زیستی مایه-زنی با قارچ میکوریز *Rhizophagus intraradices* + باکتری حل‌کننده فسفات (I+P) میزان غلظت سرب اندام هوایی را به میزان ۲۶/۵٪ نسبت به تیمار شاهد کاهش داد (جدول ۳). هم-زیستی قارچ‌های میکوریزی با ریشه ذرت و شبدر باعث ترشح برخی آنزیم‌های غیرمتحرک کننده فلزات سنگین در خاک شده و میزان انباشت آن‌ها را در گیاه کاهش می‌دهد. مواد دیواره‌ی سلولی قارچ‌های آربوسکولار حاوی ترکیباتی نظیر آمینواسیدهای آزاد و گروه‌های هیدروکسیل و کربوکسیل است که قادر هستند به فلزات سنگین متصل و آنها را به حالت غیر متحرک درآورند (Kapoor and Viraraghavan, 1995). قارچ‌های میکوریز در گیاه سورگوم تلقیح شده در خاک آلوده به سرب منجر به تثبیت و غیر فعال شدن این فلز در اندام‌های قارچ توسط گرانول‌های پلی-فسفات شدند (Wong et al., 2007; Chen et al., 2003). نسبت غلظت سرب ریشه به بخش هوایی در هم‌زیستی با قارچ موسه‌آ به طور متوسط بیشتر از بوته‌های غیر هم‌زیست و تلقیح با اینترادیس بود (Amanifar et al., 2011; Weber et al., 2018). افزایش سطوح آلودگی خاک به سرب غلظت سرب بخش هوایی و ریشه گیاه ذرت را به‌طور معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد افزایش داد (جدول ۲). بیش‌ترین غلظت سرب بخش هوایی و ریشه به ترتیب ۲۳/۱۵ و ۶۲/۱۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم و از تیمار ۴۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک و کم‌ترین غلظت سرب ریشه و اندام هوایی از تیمار شاهد به‌دست آمد (جدول ۳). اثرات متقابل نوع کودهای زیستی و سطوح مختلف سرب خاک بر غلظت سرب بخش هوایی و ریشه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). بیش‌ترین غلظت سرب بخش هوایی از تیمار قارچ میکوریز *Funneliformis mosseae* و قارچ میکوریز *Rhizophagus intraradices* و سطح ۴۰۰ میلی‌گرم سرب بر

مناسب از نیترات سرب در آب مقطر حل شدند و به نمونه‌های خاک اسپری گردید (Tessier et al., 1979). پس از مصرف نیترات سرب کلیه تیمارها از لحاظ میزان نیتروژن دریافتی یکنواخت شدند (طی دو مرحله) و برای این منظور از نیترات آمونیوم استفاده شد. نمونه خاک‌های آلوده‌شده در مقادیر چهار کیلوگرمی (با ابعاد ۳۰ در ۴۵ سانتی‌متری) به داخل گلدان‌های پلاستیکی انتقال و چرخه‌های تر و خشک شدن (رسیدن رطوبت ظرفیت مزرعه به هوا خشک) بر آن‌ها اعمال شدند (Rostami et al., 2013).

پس از گذشت یک ماه دو نوع میکروارگانیسم (قارچ و باکتری) به خاک‌های آلوده و غیرآلوده افزوده شدند. محیط حاوی قارچ‌ها، جامد بود بنابراین پس از افزودن این محیط به تیمارها، به همان مقدار نیز در اتوکلاو مرطوب دو بار استریل به تیمار دارای باکتری اضافه شد. مقدار مصرف محیط جامد حاوی قارچ ۵۰ گرم برای هر گلدان بود. مقدار مصرف باکتری به ازای هر بوته دو سی‌سی بود (مقدار میکروب در هر سی‌سی  $5 \times 10^8$  عدد بود). پس از اعمال تیمارها، تعداد ۴ عدد بذر گیاه ذرت (*Zea mays* L. رقم ماکسیما (تهیه‌شده از مرکز تحقیقات کشاورزی زنجان) در هر گلدان کاشته شد. پس از ظهور گیاهچه‌ها و اطمینان از استقرار آن‌ها، تعداد بوته در هر گلدان با عملیات تنک، به سه عدد کاهش یافت. گیاهان به مدت ۷۵ روز (اتمام رشد رویشی و قبل از وارد شدن به رشد زایشی) در شرایط گلخانه‌ای در دمای ۲۵-۲۸ درجه سلسیوس (به‌طور میانگین دمای روزانه بین ۳۴-۳۰ و دمای شب ۲۴-۲۰ درجه سلسیوس بود) و تحت دامنه رطوبت ظرفیت مزرعه (با استفاده از توزین گلدان‌ها) نگهداری شدند. فاکتورهای مورد بررسی شامل: ارتفاع گیاه، شاخص سبزی‌نگی برگ (با استفاده از دستگاه اسپد (SPAD502) ساخت کشور ژاپن)، میزان سرب، آهن و مس در ریشه و اندام هوایی است. همچنین برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۱) و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ استفاده گردید.

## نتایج و بحث

### سرب ریشه و اندام هوایی

مایه‌زنی با کودهای زیستی غلظت سرب بخش هوایی و ریشه گیاه ذرت را در سطح احتمال یک درصد کاهش داد (جدول ۲). بیش‌ترین غلظت سرب بخش هوایی از تیمار شاهد و کم‌ترین آن از تیمار مایه‌زنی با قارچ میکوریز *Funneliformis mosseae* + باکتری حل‌کننده فسفات (M+P) حاصل گردید (جدول ۳). سازوکارهایی که قارچ هم‌زیست برای کاهش تنش فلزات سنگین

افزایش جذب سرب توسط این قارچ شد. اندام‌های هوایی گیاهان تلقیح شده با میکوریز دارای غلظت کمتری از سرب (حدود ۳۰ درصد از گیاهان غیرمیکوریزی) بود (Andrade et al., 2004). هم‌زیستی میکوریزی، تجمع سرب را در ریشه گیاهان به‌طور معنی‌داری تشدید کرد. تجمع بیشتر سرب در ریشه توسط تیمار کود زیستی قارچ میکوریز *Funneliformis mosseae* + باکتری حل‌کننده فسفات سبب شد که غلظت سرب در بخش هوایی این تیمار کمتر باشد که می‌توان علت این امر را آزاد شدن فسفر بیشتر (Kungu et al., 2010) در این تیمار کود زیستی به‌دلیل حضور قارچ میکوریز و باکتری حل‌کننده فسفات بیان داشت (Chen et al., 2003). ۸۰ تا ۸۷ درصد از کل سرب جذب‌شده توسط آفتابگردان، در ریشه‌های آن تجمع یافت و تنها ۱۳ تا ۲۰ درصد از سرب به اندام هوایی انتقال یافت (Boonyapookana et al., 2005).

کیلوگرم خاک و کم‌ترین غلظت آن از تیمار مایه‌زنی با قارچ میکوریزی *Rhizophagus intraradices* + باکتری حل‌کننده فسفات و تیمار مایه‌زنی با قارچ میکوریزی *Funneliformis mosseae* + باکتری حل‌کننده فسفات و سطح بدون آلودگی به-دست آمد (جدول ۴). بیش‌ترین غلظت سرب ریشه از تیمار مایه-زنی با قارچ میکوریز *Funneliformis mosseae* + باکتری حل‌کننده فسفات و مایه‌زنی با قارچ میکوریز *Rhizophagus intraradices* + باکتری حل‌کننده فسفات و سطح ۴۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک و کمترین آن‌ها از تیمار شاهد یا بدون تلقیح و سطح صفر سرب خاک به‌دست آمد (جدول ۴). در خاک-های آلوده به فلزات سنگین، قارچ‌های میکوریزی این عناصر را در ریشه‌ها جمع نمودند و کمتر به بخش هوایی انتقال دادند (Andrade et al., 2004) همچنین در غلظت‌های بالای سرب اضافه‌شده به خاک، تلقیح گیاه سویا با قارچ میکوریز، سبب

جدول ۲- تجزیه واریانس اثرات ساده و متقابل تیمارهای آزمایشی در گیاه ذرت

منابع تغییرات	df	سرب ریشه		فاکتور انتقال (TF)	ارتفاع گیاه (cm)	کلروفیل	میانگین مربعات		مس ریشه	
		سرب هوایی (mg/kg)	سرب ریشه (mg/kg)				آهن هوایی	آهن ریشه		
Pb	۴	۹۸۱۷/۴۵**	۱۱۰/۱۱۶**	۱/۳۱۵۵۰**	۱۶۴/۶۰**	۱۳/۷۷**	۵۳۵۱۹/۸۵**	۲۹۱۸۰/۱۸۷**	۴۶۳۴/۵۶**	۶۰۴۴/۰۸**
F	۵	۱۰۲۱/۱۸**	۷۶/۵۹**	۰/۰۷۶۱۱**	۱۱۵/۹۱**	۲/۱۳**	۱۳۸۸۲/۷۱**	۲۳۳۸۸۵/۵۴**	۴۷۳۲/۷۵**	۵۶۰۵/۳۲**
F*Pb	۲۰	۲۴۹/۳۹**	۱۲/۳۵**	۰/۰۴۹۸۳**	۱۲/۸۷ <sup>ns</sup>	۰/۱۸ <sup>ns</sup>	۲۵۰۳/۱۶**	۱۰۴۳۹/۳۶**	۳۰۵/۰۶**	۲۶۲/۱۴**
E	۶۰	۴/۶۶	۲/۵۳	۰/۵۵	۱۲/۸۴	۰/۲۶	۳۷۰/۵۱	۷۱۰/۱۶	۸۰/۲۷	۹۸/۸۰

\*\* و \* به ترتیب در سطح ۱٪ و ۵٪ معنی‌دار و <sup>ns</sup> اختلاف معنی‌دار نیست.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات نوع کود زیستی و سطوح سرب (Pb) بر سرب، آهن و مس در ریشه و اندام هوایی و ارتفاع گیاه و کلروفیل برگ در گیاه ذرت

	سرب ریشه (mg/kg)	سرب هوایی (mg/kg)	فاکتور انتقال (TF)	ارتفاع (cm)	کلروفیل	آهن هوایی (mg/kg)	آهن ریشه (mg/kg)	مس هوایی (mg/kg)	مس ریشه (mg/kg)
نوع کود زیستی									
C	۱۵/۱۴e	۱۶/۳۳a	۱/۰۷a	۴۸/۹۰d	۷/۳۸d	۲۱۴/۴۸c	۳۱۰/۰۶f	۲۴/۴۴c	۳۳/۳۴d
P	۲۷/۵۶d	۱۱/۵۵d	۰/۴۲bc	۵۲/۷۰c	۸/۱۶ab	۲۹۶/۷۳a	۶۵۷/۹۰a	۲۶/۶۷c	۴۵/۵۶c
M	۳۱/۶۷c	۱۴/۳۳b	۰/۴۵b	۵۲/۶۹bc	۷/۶۹cd	۲۸۴/۵۰ab	۴۳۷/۸۶d	۴۸/۸۹b	۶۳/۳۴b
M+P	۳۹/۰۰a	۹/۸۹e	۰/۳۵c	۵۵/۶۰ab	۸/۲۴a	۲۹۱/۱۶a	۵۵۱/۲۲b	۶۵/۵۶a	۸۳/۳۵a
I	۲۸/۶۷d	۱۳/۰۰c	۰/۴۵b	۵۴/۴۰abc	۷/۸۳bc	۲۷۲/۲۷b	۳۷۲/۲۹e	۵۳/۳۴b	۶۷/۷۹b
I+P	۳۵/۳۴b	۱۲/۰۰cd	۰/۳۳cd	۵۶/۹۴a	۸/۳۸a	۲۸۶/۲۷ab	۴۷۰/۹۴c	۶۳/۳۴a	۷۸/۹۰a
سرب									
۰	۵/۵۵e	۲/۵۹e	۰/۴۶c	۵۷/۳۶۱a	۹/۱۱۱a	۳۳۹/۸۸a	۶۳۱/۶۰a	۶۷/۶۰a	۸۴/۲۶a
۵۰	۱۵/۶۵d	۸/۴۲d	۰/۵۳b	۵۵/۹۶۹a	۸/۳۴۱b	۳۱۴/۸۷b	۵۵۰/۱۱b	۵۷/۴۱b	۷۵/۰۱b
۱۰۰	۱۹/۲۶c	۱۳/۶۱c	۰/۷۰a	۵۲/۷۲۲b	۷/۹۶۳c	۲۷۴/۱۲c	۴۶۱/۲۰c	۴۷/۲۳c	۶۲/۰۴c
۲۰۰	۴۵/۱۹b	۱۶/۴۸b	۰/۳۶d	۵۲/۸۰۶b	۷/۵۶۹d	۲۳۴/۳۰d	۳۶۷/۶۶d	۳۴/۲۶d	۵۰/۰۱d
۴۰۰	۶۲/۱۴a	۲۳/۱۵a	۰/۳۷d	۴۹/۶۶۷c	۶/۷۶۱e	۲۰۸/۳۷e	۳۲۲/۲۸e	۲۸/۷۰d	۳۸/۸۹e

میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشترک باهم دارند، از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری باهم ندارند. (بدون تلقیح (C)، تلقیح با باکتری حل‌کننده فسفات (P)، تلقیح با قارچ میکوریز *Funneliformis mosseae* (M)، تلقیح با قارچ میکوریز *Funneliformis mosseae* + باکتری حل‌کننده فسفات (M+P)، تلقیح با قارچ میکوریز *Rhizophagus intraradices* (I)، تلقیح با قارچ میکوریز *Rhizophagus intraradices* + باکتری حل‌کننده فسفات (I+P)).

جدول ۴- اثرات متقابل نوع کود زیستی و سطوح سرب خاک بر غلظت سرب، آهن و مس بخش‌های هوایی و ریشه گیاه ذرت

کود زیستی	سرب	سرب هوایی	سرب ریشه	فاکتور انتقال (TF)	آهن هوایی	آهن ریشه	مس هوایی	مس ریشه
	(mg/kg)							
C	۰	۲/۷۷hi	۲/۲۲p	۱/۲۴b	۳۰۵/۰۵c-f	۴۴۴/۵۳ef	۲۷/۷۸hi	۳۸/۸۹j-l
	۵۰	۱۴/۴۴d	۱۵/۵۵j-l	۰/۹۲cd	۲۵۵/۶۱h-k	۳۷۲/۳۰hi	۲۲/۲۲hi	۳۸/۸۹j-l
	۱۰۰	۱۷/۷۸c	۱۲/۷۸aml	۱/۳۹ab	۲۲۷/۸۲k-n	۳۲۷/۸۴۳jz	۲۷/۷۸hi	۲۷/۷۸kl
	۲۰۰	۲۰/۵۵bc	۱۸/۸۹j	۱/۰۸bc	۱۸۳/۳۷op	۲۳۸/۴۹l	۲۲/۲۲hi	۳۸/۸۹j-l
	۴۰۰	۲۶/۱۱a	۲۶/۱۱i	۱c	۱۶۱/۱۴p	۲۱۶/۷l	۲۲/۲۲hi	۲۲/۲۷l
P	۰	۳/۳۳hi	۲/۲۲p	۱/۵a	۳۳۸/۹۵bc	۸۴۴/۶۱a	۳۸/۸۹f-h	۶۱/۱۲g-j
	۵۰	۶/۶۶fg	۱۶/۱۱jkl	۰/۴۱g	۳۲۲/۲۹cd	۸۲۲/۳۸a	۲۷/۷۸hi	۵۵/۵۶h-j
	۱۰۰	۱۳/۳۳de	۱۹/۴۴j	۰/۶۸ef	۲۷۷/۸۳e-h	۶۸۳/۴۷b	۲۷/۷۸hi	۴۴/۴۵i-k
	۲۰۰	۱۳/۸۹d	۴۵/۵۶h	۰/۳۰hi	۳۰۵/۶۲e-h	۴۳۳/۴۲fg	۲۲/۲۲hi	۳۸/۸۹j-l
	۴۰۰	۲۰/۵۵bc	۵۴/۴۵def	۰/۳۷gh	۲۳۸/۹۳i-m	۵۶۱/۲۲c	۱۶/۶۷i	۲۷/۷۸kl
M	۰	۲/۷۷hi	۷/۷۷no	۰/۳۵h	۴۰۰/۰۸a	۵۶۱/۲۲c	۷۲/۲۳cd	۸۸/۹۰b-e
	۵۰	۱۱/۶۶de	۱۳/۸۹kl	۰/۸۳de	۳۲۷/۸۴cd	۵۰۵/۶۶d	۶۱/۱۲de	۷۲/۲۳e-h
	۱۰۰	۱۲/۷۸de	۱۸/۸۹j	۰/۶۷ef	۲۵۰/۰۵h-k	۴۶۱/۲۰def	۵۰/۰۱e-g	۶۶/۶۸f-h
	۲۰۰	۱۸/۳۳bc	۴۸/۸۹gh	۰/۳۷gh	۲۳۳/۳۸j-n	۳۷۲/۳۰hi	۳۳/۳۴g-i	۴۴/۴۵i-k
	۴۰۰	۲۶/۶۷a	۶۸/۹۰c	۰/۳۸gh	۲۱۱/۱۵l-o	۲۸۸/۹۴jk	۲۷/۷۸hi	۴۴/۴۵i-k
M+P	۰	۱/۶۶i	۷/۲۲no	۰/۲۲i	۳۷۲/۲۹ab	۸۲۲/۳۸a	۹۴/۴۶a	۱۱۱/۱۲a
	۵۰	۴/۴۴g-i	۱۷/۷۸jk	۰/۳۴i	۳۷۷/۸۵a	۶۸۳/۴۷b	۸۳/۳۵a-c	۱۰۰/۰۲a-c
	۱۰۰	۱۲/۷۸de	۲۵/۵۶i	۰/۵fg	۳۲۲/۲۹cd	۴۸۸/۹۸de	۶۱/۱۲de	۸۳/۳۵c-f
	۲۰۰	۱۰/۵۵e	۵۸/۹۰d	۰/۱۷jz	۲۰۰/۰۴no	۳۸۸/۹۷gh	۵۰/۰۱e-g	۶۶/۶۸f-h
	۴۰۰	۲۰/۰۰bc	۸۵/۵۷a	۰/۲۳i	۱۸۳/۳۷op	۳۷۲/۳۰hi	۳۸/۸۹gh	۵۵/۵۶h-j
I	۰	۳/۳۳hi	۴/۴۴op	۰/۷۵e	۳۳۸/۹۵bc	۴۸۸/۹۸de	۷۷/۷۹bc	۹۴/۴۶a-d
	۵۰	۷/۷۸f	۱۳/۸۹kl	۰/۵۶f	۳۰۰/۰۶d-g	۴۳۳/۴۲fg	۶۱/۱۲de	۷۷/۷۹d-g
	۱۰۰	۱۱/۶۶de	۱۹/۴۴j	۰/۵۹f	۲۷۲/۲۷e-h	۳۷۷/۸۵h	۵۵/۵۶ef	۷۲/۲۳e-h
	۲۰۰	۱۷/۷۸c	۴۷/۷۸gh	۰/۳۷gh	۲۴۴/۴۹۲h-l	۳۱۱/۱۷j	۳۸/۸۹gh	۵۵/۵۶h-j
	۴۰۰	۲۴/۴۴a	۵۷/۷۸de	۰/۴۲g	۲۰۵/۵۹m-o	۲۵۰/۰۵kl	۳۳/۳۴g-i	۳۸/۸۹j-l
I+P	۰	۱/۶۶i	۹/۴۴mn	۰/۱۷jz	۳۳۸/۹۵bc	۶۷۷/۱۹b	۹۴/۴۶a	۱۱۱/۱۲a
	۵۰	۵/۵۵h-f	۱۶/۶۷l-j	۰/۳۳h	۳۱۱/۱۷c-e	۴۸۳/۴۳de	۸۸/۹۰ab	۱۰۵/۰۲ab
	۱۰۰	۱۳/۸۹d	۱۹/۴۴j	۰/۷۱e	۲۶۶/۷۲g-j	۴۲۷/۸۶fg	۶۱/۱۲de	۷۷/۷۹d-g
	۲۰۰	۱۷/۷۸c	۵۱/۱۲fg	۰/۳۴h	۲۶۶/۷۲g-j	۳۸۸/۹۷gh	۳۸/۸۹gh	۵۵/۵۶h-j
	۴۰۰	۲۱/۱۱b	۸۰/۱۹b	۰/۲۶i	۲۵۰/۰۵h-k	۳۷۲/۳۰hi	۳۳/۳۴g-i	۴۴/۴۵i-k

میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشترک باهم دارند، از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری باهم ندارند. (بدون تلقیح (C)، تلقیح با باکتری حل‌کننده فسفات (P)، تلقیح با قارچ میکوریز *Funneliformis mosseae* (M)، تلقیح با قارچ میکوریز *Funneliformis mosseae* + باکتری حل‌کننده فسفات (M+P)، تلقیح با قارچ میکوریز *Rhizophagus intraradices* (I)، تلقیح با قارچ میکوریز *Rhizophagus intraradices* + باکتری حل‌کننده فسفات (I+P).

#### فاکتور انتقال (TF)

با توجه به جدول (۲)، مقایسه فاکتور انتقال (TF) برای تیمار کودهای زیستی، سرب و اثرات متقابل کودهای زیستی و سرب در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار گردید. فاکتور انتقال در تیمار مایه‌زنی با قارچ میکوریز *Funneliformis mosseae* + باکتری حل‌کننده فسفات (I+M) کم‌تر از یک (۰/۳۵) و در تیمار شاهد بیش‌تر از یک (۱/۰۷) بود. بر این اساس تیمار مایه‌زنی با قارچ میکوریز *Funneliformis mosseae* + باکتری حل‌کننده فسفات (I+M) توانست فاکتور انتقال (TF) را ۶۷/۲۸ درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش دهد. پایین بودن فاکتور انتقال سرب می‌تواند نشانگر توانایی بالای گیاه در جلوگیری از انتقال سرب از ریشه به

بخش‌های هوایی باشد (Wierzbicka, 1995). در حالی که معدودی از گیاهان قادر به انتقال سرب از ریشه به بخش‌های هوایی خود هستند و به‌طور عمده سرب را در سلول‌های اندام هوایی ذخیره می‌کنند (Feng et al., 2005; Fang et al., 2007; Tiwari et al., 2008; Mellem et al., 2009; Ndeda and Manohar, 2014; Tafvizi and Motesharezadeh, 2014; Pachura et al., 2016). بیشترین فاکتور انتقال در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب (۰/۷۰) به‌دست آمد (جدول ۳) به نحوی که در مقایسه با تیمار شاهد (۰/۴۶) میزان انتقال سرب از ریشه به اندام هوایی را ۳۴ درصد افزایش داد. عدم انتقال سرب از ریشه به اندام هوایی و یا به عبارت دیگر ذخیره‌سازی سرب در

بر فعالیت‌های آنزیمی تأثیرگذار است (Liud *et al.*, 2010). اثر متقابل سرب و کودهای زیستی اثر معنی‌داری بر ارتفاع گیاه ذرت نداشت (جدول ۲).

#### شاخص سبزی‌نگی

استفاده از کودهای زیستی مختلف شاخص سبزی‌نگی برگ گیاه ذرت را ( $p \leq 0/01$ ) افزایش داد (جدول ۲). از این رو بیش‌ترین میزان شاخص سبزی‌نگی برگ از تیمار مایه‌زنی با قارچ میکوریز *Funneliformis mosseae* + باکتری حل‌کننده فسفات (M+P) و تیمار مایه‌زنی با قارچ میکوریز *Rhizophagus intraradices* + باکتری حل‌کننده فسفات (I+P) و کمترین میزان آن از تیمار بدون مایه‌زنی یا شاهد به‌دست آمد (جدول ۳). این کودهای زیستی توانستند میزان شاخص سبزی‌نگی برگ را به ترتیب به میزان ۱۱/۶۵ و ۱۳/۵۵ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش دهند. بیش‌تر بودن میزان شاخص سبزی‌نگی برگ در تیمار ترکیبی قارچ و باکتری نسبت به تیمار شاهد، احتمالاً به دلیل افزایش جذب عناصر غذایی مؤثر در فتوسنتز و تولید کلروفیل برگ به‌ویژه فسفر و فراهم نمودن امکان به‌کارگیری فسفر در بیوسنتز ATP به‌عنوان حامل انرژی در فتوسنتز و همچنین افزایش جذب منیزیم و آهن باشد (Demir, 2004). نتایج جدول (۳) حاکی از آن است که کاربرد مجزای باکتری حل‌کننده فسفات تأثیر بیشتری بر شاخص سبزی‌نگی برگ نسبت به قارچ *Funneliformis mosseae* داشته است. علت این اختلاف را می‌توان در توان بیشتر این باکتری در حلالیت و تسهیل در جذب حداکثری فسفر برای گیاه که منجر به تولید بیشتر ATP و همچنین آنزیم‌های دخیل در فتوسنتز (Demir, 2004) و نهایتاً افزایش کلروفیل در گیاه داشته باشد، دانست.

مایه‌زنی با قارچ *Funneliformis mosseae* در خاک آلوده به سرب سبب افزایش مقدار کلروفیل برگ گیاهان شد (Ponamia *et al.*, 2010) همچنین افزایش میزان کلروفیل برگ در اثر مایه‌زنی با قارچ میکوریز می‌تواند ناشی از جذب فسفر از خاک توسط گیاه باشد (Smith and Read, 2008).

با افزایش سطوح آلودگی خاک به سرب میزان شاخص سبزی‌نگی برگ به‌طور معنی‌داری ( $p \leq 0/01$ ) کاهش یافت (جدول ۲). بیش‌ترین شاخص سبزی‌نگی برگ از تیمار شاهد و کمترین میزان آن از سطح ۴۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک به‌دست آمد. تیمار ۴۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک شاخص سبزی‌نگی برگ را به میزان ۲۵/۷٪ نسبت به تیمار شاهد کاهش داد (جدول ۳). فلزات سنگین مانند سرب به علت افزایش تجزیه رنگدانه‌های کلروفیل برگ باعث کاهش در میزان کلروفیل برگ

ریشه و برخی گیاهان از جمله ذرت از این جهت می‌تواند یک مزیت باشد که از انتقال سرب به بخش‌های هوایی و خصوصاً بلال و دانه ذرت جلوگیری می‌کند. تیمار مایه‌زنی با قارچ میکوریز *Funneliformis mosseae* + باکتری حل‌کننده فسفات (I+M) در حضور ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب (۰/۲۳) توانست فاکتور انتقال نسبت به تیمار شاهد (۱/۵) را ۸۴ درصد کاهش دهد (جدول ۴). قارچ‌های میکوریزی انتقال سرب را به ساقه گیاه کاهش می‌دهند. در واقع این قارچ‌ها به دلیل تجمع عناصر سنگین در هیف‌ها و میسلیوم‌های خود باعث کاهش فرم قابل جذب این عناصر در ریزوسفر گیاه و نهایتاً ذخیره‌سازی عناصر سنگین در ریشه گیاهان می‌شوند (Gildon and Tinker, 2000).

#### ارتفاع بوته

مایه‌زنی با کود زیستی، ارتفاع بوته ذرت را به‌طور معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد افزایش داد (جدول ۲). بیش‌ترین میزان ارتفاع گیاه ذرت در اثر مایه‌زنی با قارچ میکوریز *Rhizophagus intraradices* + باکتری حل‌کننده فسفات (I+P) و کمترین میزان آن از تیمار بدون مایه‌زنی (C) حاصل شد (جدول ۳). مایه‌زنی با کود زیستی قارچ گلوبوس اینتراردیس و باکتری حل‌کننده فسفات میزان ارتفاع گیاه ذرت را ۱۶/۴۴ درصد نسبت به تیمار بدون تلقیح افزایش داد (جدول ۳). مایه‌زنی با باکتری‌های محرک رشد تولید اتیلن در گیاه را کاهش داده و موجب افزایش زیست‌توده و ارتفاع گیاه می‌شود (Hall, 2002; Glick *et al.*, 2003; Zhuang *et al.*, 2007). اثر تیمارهای به‌کار برده شده بر ارتفاع بوته را می‌توان به تولید اکسین و جیبرلین و تأمین بهینه عناصر غذایی ارتباط داد. گزارش‌های متعددی به تأثیر مثبت باکتری‌های محرک رشد و قارچ‌های میکوریزی بر ارتفاع بوته اشاره کرده‌اند (Ansari *et al.*, 2014; Dehghani *et al.*, 2011). گیاه‌چه‌های نارنگی تلقیح شده با قارچ میکوریز آربوسکولار نسبت به تیمار کنترل، از ارتفاع بیشتری برخوردار بودند (Wu and Xia, 2006). با افزایش میزان سرب خاک ارتفاع بوته ذرت به‌طور معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد کاهش یافت (جدول ۲). بیش‌ترین میزان ارتفاع بوته ذرت از سطح صفر سرب خاک و کم‌ترین میزان آن از سطح ۴۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک به‌دست آمد (جدول ۳). ارتفاع گیاه در تیمار ۴۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک به میزان ۱۳/۴٪ نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت (جدول ۳). علت کاهش در ارتفاع گیاه تحت تیمار سرب می‌تواند به این دلیل باشد که سرب در گیاهان باعث اختلال در میتوز، کلروز برگ‌ها، توقف رشد ریشه و ساقه، جلوگیری از تقسیم سلول‌های مریستمی و در نهایت کاهش سنتز DNA می‌گردد و



اثرات متقابل نوع کودهای زیستی و سطوح مختلف سرب خاک بر غلظت آهن بخش هوایی و ریشه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). بیشترین غلظت آهن بخش هوایی و ریشه از تیمار تلقیح با قارچ میکوریز *Funneliformis mosseae* و سطح صفر سرب خاک و کمترین آن از تیمار بدون تلقیح یا شاهد و سطح ۴۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک به‌دست آمد (جدول ۴).

#### مس ریشه و بخش هوایی

غلظت مس بخش هوایی و ریشه گیاه با استفاده از کودهای زیستی به‌طور معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد افزایش یافت (جدول ۲). بیش‌ترین غلظت مس بخش هوایی و ریشه از تیمار تلقیح با قارچ میکوریز *Funneliformis mosseae* + باکتری حل‌کننده‌ی فسفات (M+P) و یا تلقیح با قارچ میکوریز *Rhizophagus intraradices* + باکتری حل‌کننده‌ی فسفات (I+P) به‌دست آمد (جدول ۳). کودهای زیستی میزان غلظت مس بخش هوایی ریشه گیاه ذرت را به ترتیب به میزان ۱۵۰ و ۱۵۹/۱۶ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش دادند (جدول ۳). احتمالاً تأثیر بیشتر این کودهای زیستی به این علت باشد که باکتری‌های محرک رشد با تولید تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه، افزایش رشد ریشه و قارچ‌های میکوریزی با گسترش سطح ریشه، جذب آب و مواد غذایی از خاک را بهبود می‌بخشند (اگام‌بردیو و هوفلیچ، ۲۰۰۳). اصفهانی و بشارتی (۱۳۹۰) در تحقیقی اثر کاربرد باکتری *Sodomonas* را روی خیار مورد بررسی قرار گرفت که نتایج حاکی از افزایش جذب عناصر کم‌مصرف مانند مس بود (Esfehani and Besharati, 2012).

با افزایش سطوح آلودگی خاک به سرب غلظت مس بخش هوایی و ریشه گیاه ذرت به‌طور معنی‌داری ( $p \leq 0/01$ ) کاهش یافت (جدول ۳). بیشترین غلظت مس هر دو بخش هوایی و ریشه از تیمار شاهد (عدم اعمال سرب) و کمترین غلظت مس از تیمار ۴۰۰ میلی‌گرم سرب در کیلوگرم خاک به‌دست آمد (جدول ۳). تیمار ۴۰۰ میلی‌گرم سرب در کیلوگرم خاک غلظت مس ریشه و اندام هوایی را به ترتیب ۵۳/۸ و ۵۷/۵ درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش داد. اثرات متقابل نوع کودهای زیستی و سطوح مختلف سرب خاک بر غلظت مس بخش هوایی و ریشه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). بیش‌ترین میزان غلظت مس بخش هوایی و ریشه از تیمار تلقیح با قارچ میکوریز *Funneliformis mosseae* + باکتری حل‌کننده‌ی فسفات و کمترین غلظت آن از تیمار بدون تلقیح و سطح ۴۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک به‌دست آمد (جدول ۴).

می‌شوند (Gajewska et al., 2006) از طرف دیگر یکی از علل کاهش شاخص سبزیگی برگ، مهار بیوسنتز آن به‌وسیله فلزات سنگین به‌خصوص سرب است. فلزات سنگین به‌وسیله مهار آنزیم‌های گاما-آمینو لوالونیک اسید دهیدروژناز و پروتوکلروفیل ردوکتاز سبب مهار بیوسنتز کلروفیل برگ می‌شوند. برهم‌کنش متقابل فلز سنگین با گروه سولفیدریل آنزیم‌ها مهم‌ترین مکانیسم این مهار عنوان شده است (Katebi et al., 2008). برهم‌کنش سرب و مایه‌زنی با کودهای زیستی نتوانست از نظر آماری اثری معنی‌داری بر شاخص کلروفیل برگ گیاه ذرت داشته باشد (جدول ۲).

#### آهن ریشه و بخش هوایی

استفاده از کودهای زیستی غلظت آهن بخش هوایی و ریشه گیاه را به‌طور معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد افزایش داد (جدول ۲). باکتری‌های محرک رشد قادر به تجزیه سیلیکات‌ها در خاک بوده و عناصری همانند آهن را آزاد می‌کنند (Shadi et al., 1984). از این رو بیش‌ترین غلظت آهن بخش هوایی از تیمارهای کود زیستی باکتری حل‌کننده‌ی فسفات و هم‌چنین کود زیستی تلقیح با قارچ میکوریز *Funneliformis mosseae* + باکتری حل‌کننده‌ی فسفات و بیشترین غلظت آهن بخش ریشه از تیمار کود زیستی باکتری حل‌کننده‌ی فسفات (P) به‌دست آمد (جدول ۳). این کودهای زیستی میزان غلظت آهن بخش هوایی و ریشه را به ترتیب به میزان ۳۸/۳۴ و ۱۱۲/۱۸ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش دادند. کم‌ترین غلظت آهن بخش هوایی و ریشه از تیمار شاهد به‌دست آمد.

بیشتر بودن غلظت آهن در این کود زیستی می‌تواند به دلیل تولید سیدروفور توسط باکتری‌های محرک رشد باشد. قارچ‌های میکوریزی نیز از طریق ترشح انواعی از سیدروفور موجب کلاته شدن آهن و افزایش جذب و انتقال آن به گیاه بادام‌زمینی و سورگوم شدند (Caris et al., 1998).

با افزایش سطوح آلودگی خاک به سرب غلظت آهن بخش هوایی و ریشه گیاه ذرت به‌طور ( $p \leq 0/01$ ) کاهش یافت (جدول ۲). بیش‌ترین غلظت آهن هر دو بخش هوایی و ریشه از تیمار شاهد و کمترین غلظت این بخش‌ها در سطح ۴۰۰ میلی‌گرم سرب در کیلوگرم خاک به‌دست آمد (جدول ۳). تیمار ۴۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک غلظت آهن را به میزان ۴۹٪ در ریشه و ۳۸/۶٪ در بخش هوایی نسبت به تیمار شاهد کاهش داد. سرب از طریق اختلال در فعالیت ناقل‌های غشای سلولی سلول‌های ریشه باعث کاهش جذب عناصر ضروری مانند کلسیم، منیزیم و آهن می‌شود و در نتیجه گیاهان تیمار شده با سرب علائم کمبود این عناصر ضروری را نشان می‌دهند (Bingham et al., 1984).

## نتیجه‌گیری

غلظت‌های بالای عنصر سنگین (سرب) استفاده‌شده در این مطالعه برای گیاه ذرت سمی بود و توانست اثرات سوئی بر شاخص‌های اندازه‌گیری شده داشته باشد. نتایج نشان داد در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سرب شاخص‌های اندازه‌گیری شده از قبیل: شاخص سبزی‌نگی برگ (۲۵/۷ درصد) و ارتفاع گیاه (۱۳/۴ درصد)، در مقایسه با تیمار شاهد (عدم استفاده از سرب) کاهش پیدا کند. مایه‌زنی خاک با قارچ‌های میکوریزی و باکتری در شرایط عدم وجود عنصر سرب سبب بهبود شاخص‌های رشد و عملکرد گیاه گردید. بر این اساس تیمار مایه‌زنی با قارچ میکوریز *Funneliformis mosseae* + باکتری حل‌کننده فسفات (I+P) توانست شاخص سبزی‌نگی برگ را ۱۱/۶۵ درصد نسبت به تیمار بدون مایه‌زنی (شاهد) افزایش دهد. از طرف دیگر مایه‌زنی خاک با قارچ‌های میکوریزی و باکتری در شرایط عدم وجود عنصر سرب سبب بهبود شاخص‌های رشد و عملکرد گیاه گردید. بر این اساس تیمار مایه‌زنی با قارچ میکوریز *Rhizophagus intraradices* + باکتری حل‌کننده فسفات (I+P) توانست ارتفاع گیاه را ۱۶/۴۴ درصد نسبت به تیمار بدون مایه‌زنی (شاهد) افزایش دهد.

اعمال قارچ‌های میکوریز و باکتری به خاک‌های حاوی سرب توانست اثرات مضر این عنصر را کاهش دهد. در شرایط اعمال توأم تیمار قارچ *Funneliformis mosseae* و باکتری حل‌کننده فسفر (M+P) و سرب به گلدان‌های حاوی ذرت، توانست میزان سرب ریشه ۲۷/۳ درصد و سرب اندام هوایی ۱۳/۶ درصد در مقایسه با شرایط کاربرد ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب را کاهش دهد. همچنین اعمال قارچ‌های میکوریز و باکتری به خاک‌های حاوی سرب توانست اثرات مضر این عنصر را کاهش دهد. نتایج این تحقیق به طور واضح نشان داد که کاربرد غلظت بحرانی عنصر سرب به صورت مجزا، به شدت برای گیاهان خطرناک و مضر است و در این شرایط اعمال کودهای زیستی، عملاً توانایی خنثی‌سازی این خطرات را به طور کامل نخواهد داشت. با توجه به نتایج حاصله در غلظت بحرانی سرب (۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک)، کودهای زیستی نتوانستند تأثیر مفید و فزاینده‌ای بر شاخص سبزی‌نگی برگ و ارتفاع در این رقم از ذرت (رقم ماکسیما) داشته باشند. با این حال در غلظت‌های کمتر از فلز سنگین سرب، کودهای زیستی می‌تواند اثرات مضر و سوء این فلزات سنگین را در اندام‌های هوایی و ریشه گیاه ذرت (رقم ماکسیما) کاهش دهند.

## REFERENCES

- Abbaspour, A., Kalbasi, M., Haj Rasooliha, SH., and Golchin, A. (2010). Survey of contamination of some Iranian agricultural soils with cadmium and lead, 13th Congress of Soil Science, Tehran-Soil Conservation and Watershed Research Center.
- Amanifar, S., Asgharzadeh, N. A., Najafi, N., Ostan, Sh. V., and Bolandnazar. S. (2011). Effect of mycorrhizal fungi on lead phytoremediation by sorghum (*Sorghum bicolor* L.). *Water and Soil Science* 22, 16-1. (In Persian with English abstract)
- Andrade, S. A. L., Abreu, C. A., De Abreu, M. F., and Silveira, A. P. D. (2004). Influence of lead additions on *arbuscular mycorrhiza* and *Rhizobium symbioses* under soybean plants. *Applied Soil Ecology*, 26(2), 123-131.
- Ansari, A., Razmjoo, J., Karim Majani, H., and M., Zarei, (2014). Effect of mycorrhizal inoculation and pre-treatment with salicylic acid at different levels of drought on morphological factors on *Brassica napus*. *Journal of Crop Production and Processing*, 4(12), 181-194. (In Persian)
- Boonyapookana, B., Parkpian, P., Techapinyawat, S., Delaune, R. D., and Jugsujinda, A. (2005). Phytoaccumulation of lead by Sunflower (*Helianthus annuus*), Tobacco (*Nicotiana tabacum*), and Vetiver (*Vetiveria zizanioides*). *Journal of Environmental Science and Health*, 40(1), 117-137.
- Chen, B. D., Li, X. L., Tao, H. Q., Christie, P., and Wong, M. H. (2003). The role of *arbuscular mycorrhiza* in zinc uptake by red clover growing in a calcareous soil spiked with various quantities of zinc. *Chemosphere*, 50(6), 839-846.
- Dehghani Mashkani, M. R., Naghdi Badi, H., Darzi, M. T., Mehrafarin, A., Rezazadeh, Sh., and Kadkhoda, Z. (2011). The Effect of Biological and Chemical Fertilizers on Quantitative and Qualitative Yield of Shirazian Baboonch (*Matricaria recutita* L.). *Journal of Medicinal plants*, 2 (38): 35-48.
- Demir, S. (2004). Influence of *arbuscular mycorrhiza* on some physiological growth parameters of pepper. *Turkish Journal of Biology*, 28(2-4), 85-90.
- Fang, J., Wen, B., Shan, X., Lin, J. and Owens, G. (2007). Is an adjusted rhizosphere-based method valid for field assessment of metal phytoavailability? Application to noncontaminated soils. *Environmental Pollution*. 150: 209-217.
- Feng, M. H., Shan, X. Sh., Zhang, Sh., and Wen, B. (2005). A comparison of the rhizosphere based method with DTPA, EDTA, CaCl<sub>2</sub>, and NaNO<sub>3</sub> extraction methods for prediction of bioavailability of metals in soil to barley. *Environmental Pollution*. 137: 231-240.
- Gajewska, E., Słaba, M., Andrzejewska, R., and Skłodowska, M. (2006). Nickel-induced inhibition

- of wheat root growth is related to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production, but not to lipid peroxidation. *Plant Growth Regulation*, 49(1), 95-103.
- Gee, G. W., and Bauder, J. W., (1986). Particle-size analysis. Methods of soil analysis: Part 1 Physical and Mineralogical Methods, Soil Science Society of America. Inc., Madison, WIS, USA
- Gildon, A. A., and Tinker, P. B. (2000). Interactions of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection and heavy metals in plants. *Journal of New Phytologist*, 95(2), 247-261.
- Glick, B. R., Penrose, D. M., and Li, J. (2003). A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth-promoting bacteria. *Journal of theoretical biology*, 190(1), 63-68.
- Gonzalez-Guerrero, M., Azcon-Aguilar, C., Mooney, M., Valderas, A., MacDiarmid, C. W., Eide, D. J., and Ferrol, N. (2005). Characterization of a *Glomus intraradices* gene encoding a putative Zn transporter of the cation diffusion facilitator family. *Fungal Genetics and Biology*, 42(2), 130-140.
- Hall, J. L. (2002). Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 53(366), 1-11.
- Han, S. H., Kim, D. H., and Lee, J. C. (2011). Effects of the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus tinctorius* and Cd on physiological properties and Cd uptake by hybrid poplar *Populus alba* × *glandulosa*. *Journal of Ecology and Environment*, 34(4), 393-400.
- Hanson, W. C. (1950). The photometric determination of phosphorus in fertilizers using the phosphovanado-molybdate complex. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1(6), 172-173.
- Joner, E., and Leyval, C. (2000). Time-course of heavy metal uptake in maize and clover as affected by root density and different mycorrhizal inoculation regimes. *Biology and Fertility of Soils*, 33(5), 351-357.
- Kapoor, A., and Viraraghavan, T. (1995). Fungal biosorption an alternative treatment option for heavy metal bearing wastewaters: a review. *Bioresource Technology*, 53(3), 195-206.
- Khan, A. G. (2006). Mycorrhizoremediation an enhanced form of phytoremediation. *Journal of Zhejiang University Science B*, 7(7), 503-514.
- Kitson, R. E., and Mellon, M. G. (1944). Colorimetric determination of phosphorus as molybdivanadophosphoric acid. *Journal of Industrial & Engineering Chemistry Analytical Edition*, 16(6), 379-383.
- Kumar, P. N., Dushenkov, V., Motto, H., and Raskin, I. (1995). Phytoextraction: The Use of Plants to Remove Heavy Metals from Soils. *Environmental Science and Technol*, 29(5), 1232-1238.
- Kungu, J. B., Lasco, R., Delacruz, L., Delacruz, R., and Husain, T. (2010). Effect of vesicular arbuscular mycorrhiza (VAM) fungi inoculation on coppicing ability and drought resistance of *Senna spectabilis*. *Pakistan Journal of Botany*, 40(5), 2217-2224.
- Lindsay, W. L. and Norvel, W. A. (1978). Development of a DTPA soil tests for zinc, iron, manganese and copper. *Soil Science Society of America Journal*. 42: 421-428.
- Liud, J., Li, K., Xu, J., Zhang, Z., Ma, T., Lu, X., Yang, J. H., and Zhu, Q. (2010). Lead toxicity, uptake, and translocation in different rice cultivars. *Plant Science*, 165(4), 793-802.
- McGrath, S. P., Zhao, F. J., and Lombi, E. (2001). Plant and rhizosphere processes involved in phytoremediation of metal-contaminated soils. *Plant and Soil*, 232(1-2), 207-214.
- Mclean, E. O. (1982). Soil pH and Lime Requirement. In: Page, A.L., Ed., Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties, American Society of Agronomy, Soil Science Society of America, Madison, 199-224.
- Mellem, J. J., Bajinath, H. and Odhav, B. (2009). Translocation and accumulation of Cr, Hg, As, Pb, Cu and Ni by *Amaranthus dubius* (Amaranthaceae) from contaminated sites. *Journal of Environmental Science and Health*.
- Ndeda, L. A. and Manohar, S. (2014). Bio Concentration Factor and Translocation Ability of Heavy Metals within Different Habitats of Hydrophytes in Nairobi Dam, Kenya. *Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*. 8(5): 42-45.
- Pachura, P., Ociepa-Kubicka, A. and SkowronGrabowska, B. (2016). Assessment of the availability of heavy metals to plants based on the translocation index and the bioaccumulation factor. *Journal of Desalination and Water Treatment*. 57(3): 1469-1477.
- Rajae, A., and Karimian, M. (2006). Mineral nutrition, toxic element accumulation and water relations of arbuscular mycorrhizal plants. *Mycorrhizal symbiosis*, 4(12), 75-88.
- Rostami, Gh., Gholamalizadeh Ahangar, A., and Lakzian, A. (2013). The effect of time on the distribution of lead forms in contaminated soil. *Journal of Water and Soil*, 5(27), 1057-1066. (In Persian).
- Salt, D. E., Smith, R. D., and Raskin, I. (1998). Phytoremediation. *Annual Review of Plant Biology*. 49(1): 643-668.
- Sharma, P., and Dubey, R. S. (2005). Lead toxicity in plants. *Plant Physiology. Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17(1), 35-52.
- Smith, S. E., and Read, D. J. (2008). Mineral nutrition, toxic element accumulation and water relations of arbuscular mycorrhizal plants. *Mycorrhizal Symbiosis*, 45(3), 11-28.
- Tangahu, B. V., Abdullah, S. R. S., Basri, H., Idris, M., Anuar, N. and Mukhlisin, M. (2011). A review on heavy metals (As, Pb, and Hg) uptake by plants through phytoremediation. *International Journal of Chemical Engineering*, <http://dx.doi.org/10.1155/2011/93916>.
- Tao, L., and Zhiwei, Z. (2005). Arbuscular mycorrhizas in a hot and arid ecosystem in southwest China.

*Applied Soil Ecology*, 29(2), 135-141.

Tessier, A., Campbell, P. G. C., and Bisson M. (1979). Sequential Extraction procedure for the speciation of particular trace metals. *Analytical Chemistry*, 51(7), 1-22.

Tiwari, S., Kumari, B. and Singh, S. N. (2008). Evaluation of metal mobility/immobility in fly ash induced by bacterial strains isolated from the rhizospheric zone of *Typha latifolia* growing on fly ash dumps. *Bioresource Technology*, 99: 1305-1310.

Wierzbicka, M. (1995). How lead loses its toxicity to plants. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 64:

81-90.

Wong, C. C., Wu, S. C., Kuek, C., Khan, A. G., and Wong, M. H. (2007). The role of mycorrhizae associated with vetiver grown in Pb-/Zn-contaminated soils: greenhouse study. *Restoration Ecology*, 15(1), 60-67.

Wu, Q. S., and Xia, R. X. (2006). Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of citrus under well-watered and water stress conditions. *Journal of Plant Physiology*, 163(4), 417-425.