

تأثیر کاربرد کودهای فسفره و همزیستی قارچ میکوریز با گیاه آفتابگردان بر قابلیت دسترسی سرب در یک خاک آلوده

مهديه آموزگار^{۱*}، علی عباسپور^۱، شاهین شاهسونی^۱، حمیدرضا اصغری^۲ و مهديه پارسائیان^۲

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۱/۹؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۶/۱۰)

چکیده

آلودگی خاک به عنصر سرب منجر به کاهش کیفیت و کمیت محصولات کشت شده می‌شود زیرا این عنصر در اشکال یونی محلول بسیار سمی می‌باشد. قابلیت دسترسی این عنصر برای ریشه گیاهان می‌تواند با تشکیل ترکیبات با حلال‌پذیری پایین و رسوب آنها توسط اصلاح‌کننده‌های فسفره کاهش یابد. همچنین همزیستی ریشه این گیاهان با قارچ میکوریز می‌تواند مقاومت گیاه را در مقابل عناصر سنگین افزایش دهد. بدین منظور پژوهشی به صورت گلدانی در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی در دانشگاه شاهرود انجام پذیرفت. تیمارها شامل قارچ میکوریز با دو سطح تلقیح و عدم تلقیح و تیمار دوم کودهای فسفری شامل تیمارهای بدون کود، اسیدهیومیک، دی‌آمونیم فسفات، پودر استخوان و کاربرد توام پودر استخوان و اسید هیومیک بود. نتایج نشان داد تلقیح میکوریز علاوه بر افزایش معنی‌دار درصد کلونیزاسیون میکوریزی، سبب افزایش EC خاک، وزن خشک و جذب فسفر اندام هوایی گیاه شده است. کاربرد کودهای فسفری نیز ضمن افزایش معنی‌دار فسفر قابل دسترسی خاک، وزن خشک و جذب فسفر اندام هوایی افزایش معنی‌دار داد. اثرات متقابل میکوریز و کودهای فسفره بر سرب تبادلی خاک معنی‌دار و کاربرد توام دی‌آمونیم فسفات و میکوریز با کاهش قابل توجه ۴۸/۲۵ درصدی، بیشترین تأثیر را بر کاهش سرب تبادلی خاک دارا بود. گیاهان میکوریزی از غلظت سرب کمتری در اندام هوایی خود به‌میزان ۱۴/۷۸ درصد برخوردار بودند و همچنین کاربرد کودهای فسفری سبب کاهش معنی‌دار سرب اندام هوایی گیاه شد.

کلمات کلیدی: اسید هیومیک، پودر استخوان، دی‌آمونیم فسفات، سرب

۱. گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهرود

۲. گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهرود

*مسئول مکاتبات: پست الکترونیکی: m_amouzegar67@yahoo.com

مقدمه

امروزه گسترش فعالیت‌های صنعتی مانند استخراج معادن، ذوب و آبکاری فلزات، احتراق سوخت‌های فسیلی و زهکش‌های صنعتی از مهم‌ترین منابع آلودگی محیط زیست به فلزات سنگین به‌شمار می‌آیند. فلزات سنگین ترکیباتی هستند که به‌طور طبیعی در خاک وجود دارند یا در نتیجه فعالیت‌های انسان وارد خاک می‌شوند (۶ و ۸). فلزات سنگین در خاک غیرقابل تجزیه هستند و به‌علت جذب توسط گیاهان و ورود به زنجیره‌های غذایی به‌عنوان آلاینده محسوب می‌شوند و سلامتی انسان را به مخاطره می‌اندازند (۴۰). به‌عنوان مثال برآورد می‌شود، عنصر سرب که یکی از ماندگارترین فلزات در خاک می‌باشد و در حدود ۱۵۰ تا ۵۰۰۰ سال در خاک ثبات دارد (۲۷). وجود فلزات سنگین در محیط یکی از عوامل محدود کننده رشد گیاهان محسوب می‌شود که در حالت شدید باعث از بین رفتن گیاه نیز می‌شود. در این حال، در بسیاری از خاک‌های آلوده به فلز، گونه‌های گیاهی مقاومی وجود دارند که برخی از این گیاهان توانایی جذب و تجمع فلز را در بافت‌های هوایی و برگ‌های خود دارند و بنابراین منبع ارزشمندی برای مقابله با آلودگی‌های زیست محیطی هستند (۸ و ۴۰). اثرات سوء سرب در انسان‌ها به‌خوبی شناخته شده است. به‌طور کلی در اطفال، سبب بروز مشکلاتی از قبیل کاهش بهره‌دهی، کند شدن رشد فیزیکی و مشکلات شنوایی می‌شود. در افراد بالغ، ممکن است سبب کم‌خونی، امراض کلیوی، آسیب رساندن به مغز و سیستم عصبی، افزایش فشار خون، و غیرعادی شدن تولید مثل و متابولیسم ویتامین D و در حالت شدید سبب مرگ گردد (۱۷).

روش‌های مختلفی جهت اصلاح خاک‌های آلوده به سرب وجود دارد. یکی از روش‌های کاهش قابلیت دسترسی سرب در خاک‌های آلوده، غیرمتحرک نمودن سرب توسط برخی ترکیبات آلی و غیرآلی می‌باشد. از جمله اصلاح‌کننده‌ها، می‌توان به ترکیبات فسفردار اشاره نمود (۴ و ۲۹). استفاده از فسفات در تثبیت شیمیایی سرب، تکنیکی می‌باشد که به‌صورت گسترده در

تثبیت سرب از محلول آب و خاک‌های آلوده دارای مقبولیت می‌باشد (۳۰، ۳۳ و ۳۹)، همچنین جذب سرب توسط گیاه را کاهش می‌دهد (۱۵، ۲۲ و ۲۸). استفاده از فسفات به‌عنوان بهترین روش مدیریتی برای محدوده‌هایی که فسفر در آن به اشکال فلزی و چندین شکل دیگر مانند کربنات‌ها و اکسیدها می‌باشد، مطرح شده است (۱۴). منابع فسفات محلول می‌تواند فراوانی فسفر محلول را فراهم کند و در نتیجه کارایی تشکیل ترکیبات معدنی فسفر با فلز سنگین را افزایش دهد (۳۶). ما و رائو (۲۹) نشان دادند که وجود سنگ فسفات، سرب قابل دسترس گیاه را کاهش می‌دهد و دامنه این کاهش از ۱۰ تا ۹۶٪ بود.

ریزوسفر زیستگاه مناسبی برای فعالیت بسیاری از میکروارگانیسم‌های مفید خاکزی می‌باشد (۱). در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین، حضور ریز جاندارانی مانند قارچ‌های میکوریز آربسکولار در ریزوسفر، می‌تواند فراهمی و سمیت فلزات سنگین را برای گیاه تغییر دهد و از این طریق نقش مهمی در گیاه پالایی داشته باشد (۷). قارچ میکوریز آربسکولار نقش اکولوژیک قابل توجهی در تثبیت فلزات سنگین توسط گیاه در خاک‌های آلوده به این فلزات با ایجاد کمپلکس، ایفا می‌کند و به‌نوبه خود به بقای گیاه میکوریزی کمک می‌کند. از طرف دیگر، برخی گزارش‌ها حاکی از افزایش جذب فلزات سنگین توسط گیاهان میکوریزی است که در این صورت از جهت استخراج فلزات از خاک توسط گیاه حائز اهمیت بوده و برای اصلاح خاک‌های آلوده مفید خواهد بود (۳۵). اگرچه نتایج آزمایش‌های انجام یافته در زمینه قارچ‌های میکوریز و فلزات سنگین، متنوع و وابسته به شرایط آزمایش از جمله ویژگی‌های بستر رشد، نوع گیاه و گونه قارچ هم‌زیست می‌باشد ولی به‌طور کلی به‌نظر می‌رسد قارچ‌های میکوریز آربسکولار قادر به تعدیل سمیت ایجاد شده توسط فلز سنگین برای گیاه می‌باشند (۷). آندرد و همکاران (۵) در غلظت‌های بالای سرب اضافه شده به خاک مشاهده کردند تلقیح گیاه سویا با قارچ میکوریز، سبب افزایش جذب سرب توسط این قارچ شد و لیتولید اندام‌های هوایی گیاهان تلقیح یافته با میکوریز با غلظت‌های کمتر سرب

جدول ۱. مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش

پارامتر	مقدار	واحد
هدایت الکتریکی	۰/۶۵	dS m^{-1}
pH	۸/۲۲	-
فسفر قابل جذب	۱۴	میلی گرم بر کیلوگرم
سرب کل	۱۲۳۴	میلی گرم بر کیلوگرم

جدول ۲. مشخصات اسید هیومیک مورد استفاده

نوع	مواد آلی	اسید هیومیک	اسید فولویک	pH	EC
جامد	٪۹۲/۸	٪۷۵	٪۵	۶	$240 \mu\text{S/cm}$

جدول ۳. خصوصیات پودر استخوان مورد استفاده

پارامتر	pH	EC (۱:۲)	C/N	N(Mg/Kg)	Fe (%)	Na (%)	Ca (%)	K (%)	P (%)	کربن آلی (%)
مقدار	۵/۹	۳۹	۱۱	۴۹	۰/۰۷	۰/۱	۱۷	۰/۰۱	۱۲	۲۱/۴

کودهای فسفره (شاهد، اسید هیومیک، کود شیمیایی دی آمونیوم فسفات، پودر استخوان، پودر استخوان + اسید هیومیک) بود. گلدان‌ها با خاک کشاورزی اطراف معدن سرب و روی منطقه انگوران استان زنجان که دارای آلودگی طبیعی بود، پر شد. برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه در جدول (۱) آورده شده است.

تیمار کودی شامل اسید هیومیک به مقدار ۲۵ کیلوگرم در هکتار (خصوصیات اسید هیومیک مورد استفاده در جدول ۲ آورده شده است)، پودر استخوان تهیه شده از کشتارگاه صنعتی دام مشهد به مقدار ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار (با خصوصیات آورده شده در جدول ۳) و دی آمونیوم فسفات به مقدار ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار محاسبه و قبل از کشت با خاک گلدان‌ها مخلوط شدند. قارچ میکوریز گونه *Glomus intraradices* از شرکت زیست فناوری توران شاهرود تهیه گردید. لازم به ذکر است که هر گرم اینوکولوم این قارچ حاوی ۵۰ اسپور بوده است. اینوکولوم به صورت ترکیب با خاک در هنگام کاشت ۵ سانتی متر زیر محل

(در حدود ۳۰٪ کمتر از گیاهان غیر میکوریزی) صورت گرفت. تحقیق دیگر توسط ژونرولیوال (۲۴) انجام گرفت، که نشان داد گیاهان شبدر و ذرت تلقیح یافته با میکوریز نسبت به گیاهان غیر میکوریزی در ریشه و اندام هوایی دارای غلظت سرب بیشتری بودند. چن و همکاران (۱۳) مشاهده نمودند که همزیستی میکوریزی، تجمع سرب در بخش هوایی و ریشه گیاهان را به طور معنی داری تشدید کرد.

این پژوهش به منظور بررسی تأثیر کاربرد توام کودهای فسفری و همزیستی قارچ میکوریز با گیاه آفتابگردان بر قابلیت دسترسی سرب در خاک آلوده انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش گلدانی در سال ۱۳۹۲ به صورت فاکتوریل و در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهرود به اجرا درآمد. فاکتور اول این پژوهش، میکوریز (مصرف و عدم مصرف) و فاکتور دوم

جدول ۴. جدول تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه برای تیمارهای مورد بررسی

سرب اندام هوایی گیاه	سرب تبادلی خاک	میزان جذب فسفر توسط گیاه	فسفر قابل دسترس خاک	وزن خشک اندام هوایی	EC	کلونیزاسیون	df	صفت تیمار
۵/۵۸۵*	۰/۰۰ ns	۷/۳۰۶۵*	۰/۶۷۳۲ ns	۵/۲۳۹۳*	۳۰/۰۴۵۹**	۴۵/۲۱۵۱**	۱	میکوریز
۳/۹۵۵*	۵/۶۱۰**	۳/۹۶۰*	۳/۹۹۹۹*	۱۳/۸۴۵۸**	۶/۹۴۵۲**	۱/۶۵ ns	۴	کود فسفوری
۱/۲۲۴ ns	۵/۰۸۷**	۲/۱۸۵۱ ns	۱/۷۸۷۵ ns	۲/۲۴۷۹ ns	۲/۸۳۱۰ ns	۱/۰۱۵۰ ns	۴	میکوریز × کود فسفوری
۳۸/۱۹۳	۰/۷۴۳	۰/۰۰۴	۲۰/۹۳۲	۰/۱۷۷	۰/۰۲۲	۲۸/۱۶۲	۱۸	خطا
۱۸/۵۰	۱۷/۵۹	۹/۱۷	۱۶/۴۶	۲/۶۶	۹/۰۱	۸/۰۵		ضریب تغییرات (درصد)

ns و * و **: به ترتیب غیرمعنی دار، معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

درصد معنی دار شده است. تلقیح میکوریز منجر به افزایش درصد کلونیزاسیون ریشه به میزان ۲۲٪ شد (جدول ۵). قارچ‌های میکوریز قادراند در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین به صورت هم‌زیست با ریشه گیاه زندگی کنند (۳۵). ویسهنورن (۴۸) در پژوهش خود بیان کرد که در خاک حاوی عناصر سنگین هیچ‌گونه اثر منفی در تعداد اسپورها و کلونی‌زایی میکوریز در گیاه ذرت دیده نشد. با توجه به نتایج به دست آمده کاربرد میکوریز منجر به افزایش درصد کلونیزاسیون شد.

جدول تجزیه واریانس نشان می‌دهد EC خاک ریزوسفر در اثر کاربرد قارچ میکوریز و کودهای فسفوری در سطح احتمال ۱ درصد ($P \leq 0.01$) معنی دار شده است (جدول ۴). نتایج مقایسات میانگین (جدول ۵) نشان می‌دهد قارچ میکوریز سبب افزایش معنی دار EC خاک نسبت به عدم کاربرد آن شده است. به نظر می‌رسد قارچ میکوریز با تأثیر بر حلالیت عناصر خاک و کاهش pH خاک ریزوسفر سبب افزایش EC شده است.

همچنین افزایش کودهای فسفوری به خاک سبب تغییرات معنی داری در EC خاک نسبت به شاهد شد. به این ترتیب

هر بذر قرار داده شد سپس روی آن را با کمی خاک پوشانده و در آخر بذر آفتابگردان اواخر شهریور کاشته شد. بعد از ۲ ماه دوره رشد، قسمت‌های مختلف گیاه به صورت جداگانه درون آون با دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شدند. پس از خشک شدن نمونه‌ها، وزن خشک ساقه، برگ و ریشه توسط ترازوهای با دقت ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری و ثبت شدند. تعیین درصد کلونیزاسیون میکوریز به روش جیووانتی و موسه آ (۱۹) انجام پذیرفت. میزان فسفر گیاه به روش رنگ‌سنجی وانادات-مولیبدات (۲۰)، فسفر محلول به روش رنگ‌سنجی با کلرید قلع (۴۱) و فسفر قابل دسترس خاک به روش اولسن (۳۷) سنجیده شد. همچنین میزان سرب گیاه و سرب تبادلی خاک (۴۵) با استفاده از دستگاه جذب اتمی Perkin Elmer مدل ۱۰۰ Analyst A اندازه‌گیری شد.

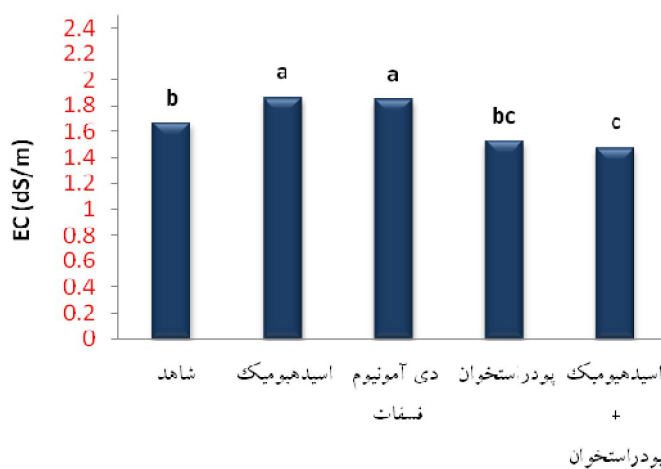
نتایج و بحث

نتایج آنالیز داده (جدول ۴) نشان داد درصد کلونیزاسیون ریشه گیاه آفتابگردان در نتیجه کاربرد میکوریز در سطح احتمال یک

جدول ۵. مقایسه میانگین اثرات اصلی میکوریز

میکوریز	کلونیزاسیون ریشه (%)	EC (dS m ⁻¹)	وزن خشک اندام هوایی (g)	توسط اندام هوایی گیاه (mg/pot)	جذب فسفر غلظت سرب اندام هوایی (μg/Kg)
عدم تلقیح	۵۹/۳۹ ^b	۱/۵۱۳ ^b	۱۵/۶۵۹ ^b	۰/۶۶۴ ^b	۳۶/۰۶ ^a
تلقیح	۷۲/۴۲ ^a	۱/۸۱۳ ^a	۱۶/۰۱۱ ^a	۰/۷۲۷ ^a	۳۰/۷۳ ^b

وجود حروف غیرمشترک نشان دهنده معنی داری در سطح ۵ درصد می باشد

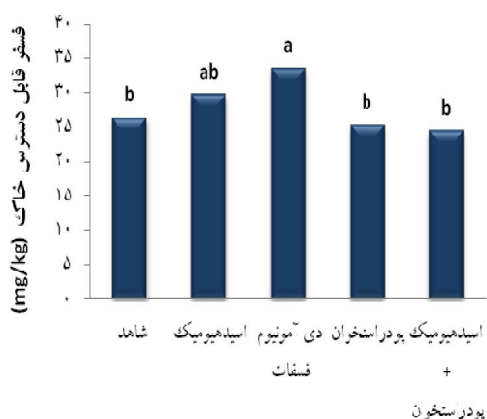


شکل ۱. اثر اصلی کودهای فسفری بر EC خاک

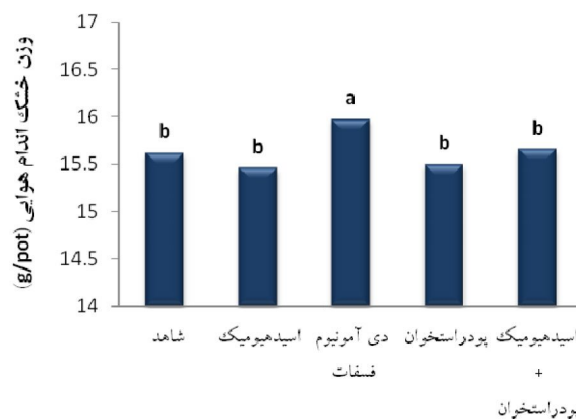
کشت شده در خاک آلوده به سرب نسبت به عدم کاربرد این قارچ، مثبت و سبب افزایش وزن خشک شد (جدول ۵). تجمع بیش از اندازه فلزات سنگین برای اکثر گیاهان موجب سمیت می شود و زمانی که عناصر سنگین در سطوح بالا در محیط کشت وجود داشته باشند به مقدار زیادی توسط ریشه گیاهان کشت شده در این خاکها، جذب شده و در نهایت به اندامهای هوایی منتقل و انباشته می شوند که این امر موجب صدمات شدید متابولسمی و کاهش رشد می شود (۲۱). ریشه های قارچ میکوریز، می توانند فلزات سنگین را در و نخود نگهدارند و باعث کاهش حرکت آنها به داخل گیاه میزبان و مسمومیت کمتر آن شده و بنابراین به تحمل تنش کمک می کنند (۱۸ و ۲۳). کاربرد این قارچ می تواند در خاکهای آلوده به فلزات سنگین

که اسید هیومیک و دی آمونیوم فسفات EC خاک را نسبت به شاهد افزایش دادند درحالی که کاربرد توأم پودراستخوان و اسید هیومیک EC خاک را نسبت به شاهد کاهش معنی دار داده است (شکل ۱). عباسپور و گلچین (۴) در پژوهش خود بیان کردند با کاربرد کود دی آمونیوم فسفات EC خاک افزایش معنی داری پیدا کرد. زیرا در طی اکسیداسیون آمونیوم H⁺ آزاد شده که سبب افزایش هدایت الکتریکی خاک می گردد.

وزن خشک اندام هوایی گیاه آفتابگردان در اثر کاربرد قارچ میکوریز در سطح احتمال ۵ درصد (P ≤ ۰/۰۵) و کاربرد تیمار کود فسفری در سطح احتمال ۱ درصد (P ≤ ۰/۰۱) معنی دار شد (جدول ۴). تأثیر قارچ میکوریز بر وزن خشک اندام هوایی گیاه



شکل ۳. تأثیر کاربرد کودهای فسفره بر میزان فسفر قابل دسترس خاک



شکل ۲. تأثیر کاربرد کود فسفری بر وزن خشک اندام هوایی گیاه آفتابگردان

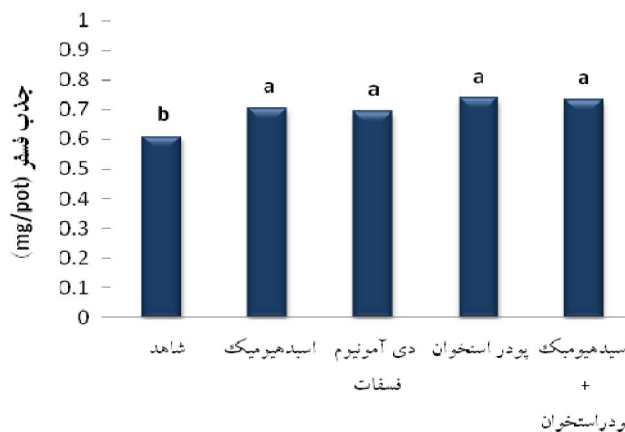
فسفر قابل دسترس خاک معنی‌دار بود و اثر افزایشی اسید هیومیک نسبت به شاهد معنی‌دار نشده است (شکل ۳). در پژوهشی بیان شد افزایش فسفر به خاک با کاربرد کودهای شیمیایی فسفری، فسفر قابل دسترس خاک را به‌طور معنی‌داری افزایش می‌دهد (۲).

آنالیز واریانس داده‌ها نشان می‌دهد تأثیر کاربرد قارچ میکوریز و کودهای فسفری بر میزان جذب فسفر توسط اندام هوایی گیاه آفتابگردان معنی‌دار ($P \leq 0.05$) شده‌اند (جدول ۴). مقایسه میانگین‌ها نشان می‌دهد تلقیح میکوریز به ریشه گیاه آفتابگردان در خاک آلوده به سرب سبب افزایش معنی‌دار در جذب فسفر توسط گیاه شده است (جدول ۵). تلقیح ریشه گیاهان با میکوریز از طریق افزایش سطح جذب و با افزایش ناحیه تخلیه فسفر به وسیله هیف‌های خارجی، این عنصر را در اختیار گیاه قرار می‌دهد (۳۸ و ۴۲). کاپور و همکاران (۲۵) در تحقیق خود بیان کردند که میانگین غلظت فسفر در تلقیح رازیانه با دو گونه VAM نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری بیشتر است. همچنین آنها بیان کردند که همزیستی میکوریز از طریق بهبود گسترش هیف‌های قارچ در منافذ خاک به‌طور فیزیکی موجب افزایش جذب فسفر در پیکره رویشی رازیانه شده و در پی آن با افزایش وزن خشک گیاه سبب بهبود غلظت فسفر در دانه رازیانه شده است. دسوزا و همکاران (۱۶) در پژوهش خود به‌منظور بررسی نقش همزیستی قارچ میکوریز بر

منجر به افزایش مقاومت و افزایش رشد و در نتیجه افزایش وزن اندام هوایی گیاه میزبان شود.

مقایسات میانگین تیمارها (شکل ۲) نشان می‌دهد تنها کود دی‌آمونیم فسفات توانست وزن خشک گیاه را افزایش معنی‌دار نسبت به شاهد دهد و اثر مابقی کودها معنی‌دار نبود. طبیعی است که افزودن کودهای فسفره سبب رشد بهتر گیاه شده و دی‌آمونیم فسفات نسبت به سایر کودها به‌دلیل حلالیت بیشتر فسفر موجود در آن توانسته است که وزن خشک گیاه را افزایش دهد. محمدی ثانی (۳) در پژوهش خود بر گیاه گندم در خاک آلوده به سرب بیان کرد دلیل افزایش وزن زیست توده گیاه گندم با تأمین فسفر مورد نیاز گیاه به‌وسیله کود پایه را می‌توان در تثبیت عنصر سرب به‌وسیله فسفر در خاک آلوده و تشکیل کانی‌های کم‌محلول فسفره سرب‌دار نظیر پیرومورفایت دانست. به‌نظر می‌رسد که تشکیل کانی‌های کم‌محلول فسفر با سرب سبب کاهش قابلیت دسترسی سرب برای گیاه شده و از سمیت آن برای گیاه کاسته می‌شود (۵۱ و ۵۲).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۴) حاکی از آن است تأثیر کاربرد کودهای فسفره، بر فسفر قابل دسترس خاک معنی‌دار بود ($P \leq 0.05$). کود دی‌آمونیم فسفات و اسید هیومیک توانستند فسفر قابل دسترس خاک را نسبت به شاهد افزایش دهند ولی تنها اثر افزایشی کود دی‌آمونیم فسفات بر



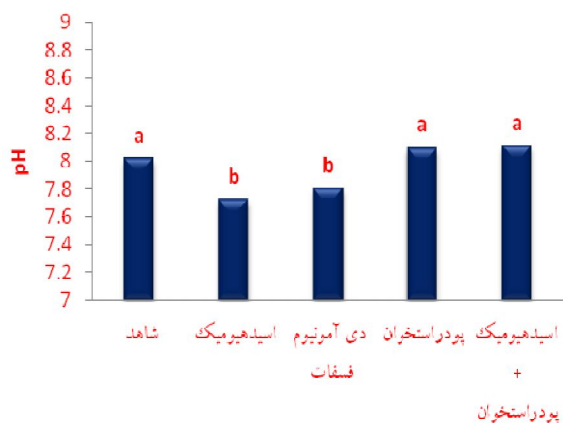
شکل ۴. کاربرد کودهای فسفوری بر جذب فسفر توسط اندام هوایی گیاه آفتابگردان

گونه گیاهی *Calopogonium mucunoides* و در خاک‌های آلوده به سرب، مشاهده کردند که گیاهان همزیست با قارچ‌های میکوریز در تمام سطوح آلاینده حاوی غلظت بیشتری از فسفر در پیکره خود، نسبت به گیاهان شاهد (غیرهمزیست) در همان سطوح سرب بودند.

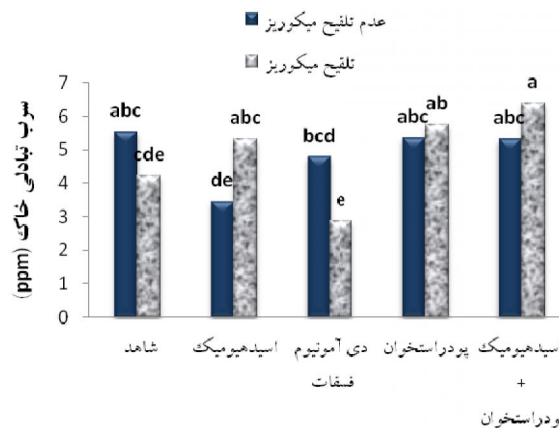
نتایج مقایسات میانگین نشان داد کاربرد کودهای فسفوری اثر مثبت و معنی داری بر جذب فسفر اندام هوایی گیاه آفتابگردان داشته‌اند و کاربرد تمامی این کودها توانسته میزان جذب فسفر را توسط اندام هوایی گیاه را نسبت به شاهد افزایش معنی دار دهد (شکل ۴). واگانوه‌مکاران (۴۶) در پژوهش خود بیان کردند میزان جذب فسفر را به عنوان یک عنصر مؤثر در توسعه سیستم ریشه در سلول‌های ریشه گندم زمستانه در حضور اسید هیومیک بررسی کردند و دریافتند که در غلظت‌های ۵ تا ۵۰ میلی گرم در لیتر اسیدهیومیک سبب افزایش معنی داری در جذب فسفر شد که البته میزان جذب فسفر در ۵۰ میلی گرم در لیتر کاهش یافت. وانگ و همکاران (۴۷) در آزمایشی مزرعه‌ای، اسید هیومیک را به همراه کود فسفر به خاک اضافه کردند و مشاهده نمودند که میزان جذب فسفر، ۲۵٪ نسبت به عدم حضور اسیدهیومیک افزایش یافت.

نتایج آنالیز داده‌ها نشان می‌دهد اثر اصلی تیمار کودهای فسفوری و اثرات متقابل میکوریز و کودهای فسفوری بر سرب تبادلی خاک معنی دار ($P \leq 0.01$) هستند (جدول ۴) و اثر

میکوریز به تنهایی معنی دار نبوده است. کاربرد توام قارچ میکوریز و کود دی‌آمونیم فسفات در خاک موجب کاهش معنی دار سرب تبادلی خاک به میزان ۴۸/۲۵ درصد نسبت به شاهد شده است (شکل ۵). فسفر موجود در کود دی‌آمونیم فسفات با سرب خاک واکنش داده و قابلیت دسترسی آن را کاهش می‌دهد. کاهش pH در اثر کاربرد دی‌آمونیم فسفات (شکل ۶) سرعت این واکنش را تسریع می‌نماید به طوری که با کاهش pH حلالیت فسفر و سرب افزایش یافته، در نتیجه واکنش سرب با فسفر بهتر انجام می‌گیرد. لذا با وجود کاهش pH، بایستی حلالیت سرب افزایش یابد ولی به دلیل تشکیل کانی‌های پایدار نظیر پیرومورفایت قابلیت دسترسی سرب کاهش می‌یابد. مطالعات مختلف نشان داده است که عامل محدود کننده در غیرمتحرک کردن سرب توسط ترکیبات فسفاتی، غلظت سرب محلول می‌باشد و کاهش دادن pH خاک به حدود ۵ شرایط بهتری برای تشکیل پیرومورفایت فراهم می‌کند (۱۱ و ۳۴). لذا ترکیبات فسفوری اسیدزا نظیر دی‌آمونیم فسفات و اسیدفسفریک نسبت به سنگ فسفات تأثیر بهتری بر کاهش قابلیت دسترسی سرب خاک دارد. چن و همکاران (۱۱) تأثیر اسید فسفریک را در کاهش سرب قابل دسترس، بسیار مؤثرتر از سنگ فسفات و حتی فسفات دی‌هیدروژن کلسیم (CaH_2PO_4) می‌دانستند. به هر حال به نظر می‌رسد که تیمارهای با فسفر زیاد تأثیر بهتری بر کاهش سرب قابل دسترس داشته



شکل ۶. تأثیر کاربرد کودهای فسفوری بر pH خاک



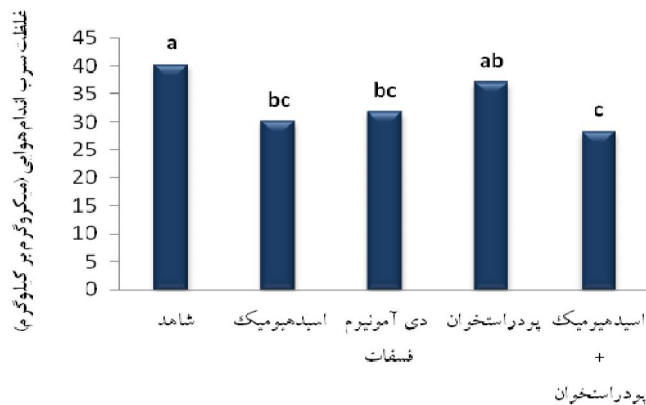
شکل ۵. اثر متقابل میکوریزا و کودهای فسفوره بر میزان سرب تبادلی خاک

نداشته است (شکل ۶). علی‌رغم عدم تأثیر پودر استخوان بر کاهش قابلیت دسترسی سرب در این تحقیق، اسندون و همکاران (۴۴) در یک مطالعه ستونی کاهش حلالیت و قابلیت دسترسی سرب خاک را در اثر کاربرد ضایعات استخوان مشاهده نمودند. آنها همچنین دریافتند که کاهش سرب موجود در زه‌آب خروجی با کاهش فسفر و افزایش کلسیم زه‌آب همراه بوده است و افزودن اسید به ستون‌ها سبب کاهش شدیدتر سرب خروجی شد.

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان می‌دهد که اثر اصلی تیمارهای قارچ میکوریز و کودهای فسفوری بر غلظت سرب اندام هوایی گیاه آفتابگردان معنی‌دار ($P \leq 0.05$) است (جدول ۴). مقایسات میانگین نشان می‌دهد گیاهان تلقیح یافته با قارچ میکوریز از غلظت سرب کمتری در اندام هوایی خود نسبت به گیاهان شاهد برخوردار هستند (جدول ۵). تلقیح ریشه گیاه آفتابگردان با قارچ میکوریز سبب کاهش غلظت سرب به میزان ۱۴/۷۸٪ در اندام هوایی شده است. در پژوهشی به‌منظور مطالعه اثر همزیستی قارچ میکوریز با گیاه *Calopogonium mucunoides* در محیط کشت آلوده به سرب انجام گرفت و بیان شد قارچ میکوریز با افزایش آلودگی خاک تا سطح ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک، سبب افزایش غلظت و محتوای این عنصر سنگین در اندام‌های هوایی و ریشه گیاه شد ولی در سطوح بالاتر این آلاینده از میزان آن در گیاه کاسته شد (۱۶).

باشد. عباسپور و گلچین (۴) از دی‌آمونیم فسفات، زئولیت و ورمی‌کمپوست جهت کاهش قابلیت دسترسی سرب در یک خاک آلوده استفاده نمودند که دی‌آمونیم فسفات بیشترین تأثیر را به‌همراه داشت. کاربرد ترکیبات مختلف فسفردار باعث تغییر وضعیت سرباز بخش‌های قابل استفاده تبادلی و پیوند با کربنات، اکسیده‌ای آهن و منگنز و یا پیوند با مواد آلی به بخش‌های با بیشترین قدرت اتصال مانند بخش سولفید و تشکیل پیرومورفایت می‌شود (۱۲).

کاربرد اسیدهیومیک در عدم حضور میکوریز نیز توانست سرب تبادلی خاک را ۳۷/۶۲ درصد نسبت به شاهد کاهش دهد (شکل ۵). ترکیبات فسفردار می‌توانند به‌عنوان اصلاح‌کننده در خاک‌های آلوده به عناصر سنگین به‌کار روند، زیرا باعث غیرمتحرک نمودن سرب و کاهش سمیت آن می‌شوند (۴ و ۲۹). از طرفی در تیمارهای مربوط به تلقیح میکوریز، کاربرد پودر استخوان و کاربرد توأم پودر استخوان و اسید هیومیک در خاک، سرب تبادلی خاک را نسبت به شاهد افزایش دادند (شکل ۵). پودر استخوان pH اسیدی دارد (جدول ۳) و کاربرد آن در خاک می‌تواند pH را کاهش دهد که این امر منجر به افزایش حلالیت سرب خاک می‌شود و به‌دلیل این‌که فسفر قابل دسترس در پودر استخوان کم می‌باشد (جدول ۳) فسفر آن تأثیر کمتری بر کاهش سرب تبادلی داشته است. باید یادآور شد که تیمار پودر استخوان تأثیر معنی‌داری بر pH خاک



شکل ۷. تأثیر کاربرد کودهای فسفره بر غلظت سرب اندام هوایی گیاه آفتابگردان

به سرب منجر به کمترین میزان جذب و کمترین میزان غلظت در اندام هوایی هوایی گیاه آفتابگردان نسبت به شاهد شده است (شکل ۷). بران و همکاران (۹ و ۱۰) بیان کردند که کاربرد توام اصلاح کننده‌های فسفوری در کاهش سرب گیاه و دسترسی سرب خاک می‌تواند مؤثرتر باشد.

نتیجه‌گیری

در بین کاربرد تیمارهای کودی مختلف در این پژوهش کود دی‌آمونیم فسفات سبب افزایش معنی‌دار وزن خشک اندام هوایی، فسفر قابل دسترس خاک در گیاه آفتابگردان شده است. کاربرد کودهای حاوی فسفر از طریق تشکیل کانی‌های کم‌محلول، سرب تبدیلی را در خاک کاهش داده و در نتیجه جذب این عنصر سنگین در ریشه و اندام هوایی گیاه کاهش یافته است.

همزیستی میکوریز با ریشه گیاهان در خاک‌های آلوده به سرب، سبب افزایش مقاومت این گیاهان به تنش عناصر سنگین و افزایش رشد در مقایسه با سایر گیاهان کشت شده در این خاک‌ها شد. نتایج نشان داده که تیمار دی‌آمونیم فسفات در شرایط تلقیح قارچ میکوریز نسبت به سایر تیمارها تأثیر بهتری بر کاهش جذب سرب توسط گیاه داشت. در کل بایستی متذکر شد اگرچه استفاده از کودهای حاوی فسفر سبب کاهش جذب سرب توسط گیاه آفتابگردان می‌گردد اما کاربرد بیش از حد این

همچنین برخی از پژوهشگران گزارش کرده‌اند قارچ میکوریز سبب کاهش جذب فلزات سنگین از جمله سرب می‌شود (۴۳ و ۵۰).

در بین کودهای فسفوری، اسید هیومیک، دی‌آمونیم فسفات و کاربرد توأم اسید هیومیک و پودر استخوان بیشترین کاهش معنی‌دار در غلظت سرب اندام هوایی گیاه نشان دادند (شکل ۷). ژو و همکاران (۴۹) اثر چندین اصلاح کننده‌های فسفوری را در خاک آلوده به سرب با اسیدیته قلیایی مورد مطالعه قرار دادند و بیان کردند که جذب سرب توسط گیاه در نتیجه کاهش دسترسی سرب در خاک با استفاده از اصلاح کننده‌های فسفوره کاهش یافت. چن و همکاران (۱۲) کارایی اصلاح کننده‌های مختلف فسفوری (هیدروکسی آپاتیت طبیعی، سنگ فسفات، سوپر فسفات تریپل و دی‌آمونیم فسفات) را در خاک آلوده به سرب مورد ارزیابی قرار دادند. آنها نتیجه گرفتند فراهمی سرب خاک و جذب سرب توسط گیاه با کاربرد اصلاح کننده‌های فسفوری در خاک آلوده کاهش می‌یابد. در یک مطالعه بین‌المللی در آزمایشگاه توانایی‌های اصلاح کننده‌های مختلف فسفوری (سنگ فسفات، اسید فسفریک و سوپرفسفات تریپل) تحت آزمایش قرار گرفت و مشخص شد اضافه کردن سوپر فسفات تریپل یا اسید فسفریک مؤثرترین نتیجه را در افزایش رشد گیاه، کاهش غلظت عنصر سنگین در بافت گیاه و کاهش محلولیت و فراهمی سرب در خاک، دربر داشته است (۱۰). کاربرد توأم اسید هیومیک و پودر استخوان در خاک آلوده

کودها علاوه بر آلودگی خاک‌ها و آب‌های سطحی و زیرزمینی سوء داشته باشد. ممکن است بر جذب عناصر کم مصرف نظیر مس و آهن تأثیر

منابع مورد استفاده

۱. سلیمان‌زاده، ح.، د. حبیبی، م. اردکانی، ف. پاک نژاد و ف. رجالی. ۱۳۸۸. کارآیی میکوریز در سطوح مختلف فسفر و تأثیر آن بر عملکرد افتابگردان، یازدهمین کنگره علوم خاک ایران. ۲۱ تا ۲۳ تیرماه ۱۳۸۸.
۲. قول لرعطا، م. ۱۳۸۴. اثر تلقیح میکوریزایی بر عملکرد شبدر برسیم و جذب عناصر غذایی در سطوح مختلف شوری و فسفر خاک، پایان‌نامه ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد.
۳. محمدی ثانی، م.، ع. آرستارایی، ا. فتوت، ا. لکزیان و م. طاهری. ۱۳۸۹. غیر پویا سازی سرب و روی در ضایعات معدن به وسیله زئولیت و سوپر فسفات تریپل و تأثیر آن بر رشد گندم. نشریه پژوهش‌های زراعی ایران. جلد ۸، شماره ۶، ص ۹۶۴-۹۵۶.
4. Abbaspour, A. and A. Golchin. 2010. Immobilization of heavy metals in a contaminated soil in Iran using di-ammonium phosphate, vermicompost and zeolite. J. Environ. Earth. Sci. 63:935-943.
5. Andrade, S. A. L., C. A. Abreu, M. F. Abreu and A. P. D. Silveria. 2004. Influence of lead addition on arbuscularmycorrhiza and rhizobium symbiosis under soybean plants. J. Soil. Ecology 26: 123-131.
6. Barker, A. J. M. 1987. Metal tolerance. New phytologist. 106: 93-11.
7. Biro, I. and T. Takacs. 2007. Effects of *Glomusmosse* strains of different origin on plant macro and micronutrient uptake in Cd polluted and unpolluted soils. Acta Agronomica Hungarica 55(2):1-10.
8. Brooks, R. 1998. Plants that hyper accumulate heavy metals. CAB International, New York. 320 p.
9. Brown, S., R. Chaney, J. Hallfrisch, J. Ryan and W. Berti. 2004. In situ soil treatments to reduce the phyto and bioavailability of lead, zinc and cadmium. J. Environ. Qual. 33:522-531.
10. Brown, S., B. Christensen, E. Lombi, M. McLaughlin, S. McGrath, J. Copier and J. Vangrosveld. 2005. An inter-laboratory study to test the ability of amendments to reduce the availability of Cd, Pb and Zn. J. Environ. Pollut. 138: 34-45.
11. Chen, M., L. Q. Ma, S. P. Singh, R. X. Cao and R. Melamed. 2003. Field demonstration of in situ immobilization of soil Pb using P amendments. Adv. Environ. Res. 8:93-102.
12. Chen, S., M. Xu., Y. Ma and J. Yang. 2007. Evaluation of different phosphate amendments on availability of metals in contaminated soil. J. Ecotoxicol. Environ. Saf. 67:278-285.
13. Chen, X., C. Wu, J. Tang and S. Hu. 2005. Arbuscular mycorrhizae enhance metal lead uptake and growth of host plants under a sandculture experiment. J. Chemosphere 60: 665-671.
14. Chrysochoou, M., D. Dermatas and D. Grubb. 2007. Phosphate application to firing range soils for Pb immobilization: the unclear role of phosphate. J. Hazard. Mater. 144:1-14.
15. Cotter-Howells, J. and S. Caporn. 1996. Remediation of contaminated land by formation of heavy metal phosphates. J. Geochem. 11: 335-342.
16. De Souza, L. A., S. A. L. de Andrade, S. C. R. de Souza and M. A. Schiavinato. 2012. Arbuscular mycorrhiza confers Pb tolerance in *Calopogonium mucunoides*. J. Acta Physiologiae Plantarum 34(2): 523-531.
17. Dudka, S. and D. C. Adriano. 1997. Environmental impacts of metal ore mining and processing: A review. J. Environ. Qual. 26: 590-602.
18. Entry, J. A., K. Cromack, S. G. Stanford and M. A. Castellano. 1987. The effect of pH and aluminium concentration on ectomycorrhizal formation of *Abiesbalsamea*. Can. J. For. Res. 17: 865-871.
19. Giovannetti, M. and B. Mosse. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. J. New Phytol. 84: 489-500.
20. Hanson, W. C. 1950. The photometric determination of phosphorus in fertilizers using the phosphovanadomolybdate complex. J. Sci. Food Agric. 1: 172-173.
21. He, Z. L. and X. E. Yang. 2007. Role of soil rhizobacteria in phytoremediation of heavy metal contaminated soils. J. Zhejiang Univ. SCI. B. 8(3): 192-207.
22. Hettiarachchi, G., G. Pierzynski and M. Ransom. 2001. In situ stabilization of soil lead using phosphorus. J. Environ Qual 30:1214-1221.
23. Jones, M. D. and T. C. Hutchinson. 1988. Nickel toxicity in mycorrhizal birch seedlings infected with *Lactariusrufus* or *Scleroderma flavidum*. II. Uptake of nickel, calcium, magnesium, phosphorus and iron. J. New.

- Phytol. 108: 461-470.
24. Joner, E. J. and C. Leyval. 2001. Time-course of heavy metal uptake in maize and clover as affected by root density and different mycorrhizal inoculation regimes. *J. Biol. Fert. Soils* 33: 351-357.
 25. Kapoor, R., B. Giri and K. G. Mukerji. 2004. Improved growth and essential oil yield and quality in *Foeniculum vulgare* Mill. on mycorrhizal inoculation supplement with P fertilizer. *J. Bioresource Technol.* 93:307-311.
 26. Kiston, R. E. and M. G. Mellon. 1944. Colorimetric determination of phosphorus as molybdivanadophosphoric acid. *Ind. Eng. Chem. analyr. Edn.* 16:379-383.
 27. Kumar, P. N., V. Dushenkov, H. Motto and I. Raskin. 1995. Phytoextraction: the use of plants to remove heavy metals from soils. *J. Env. Sci. Tech.* 29(5):1232-1238.
 28. Laperche, V., T. Logan, P. Gaddam and S. Traina. 1997. Effect of apatite amendments on plant uptake of lead from contaminated soil. *J. Environ. Sci. Technol.* 31:2745-2753.
 29. Ma, L. Q. and G. N. Rao. 1997. Chemical fractionation of cadmium, copper, nickel, and zinc in contaminated soils. *J. Environ. Qual.* 26:259-264.
 30. Ma, Q. Y., T. J. Logan and S. J. Traina. 1995. Lead immobilization from aqueous solutions and contaminated soils using phosphate rocks. *J. Environ. Sci. Technol.* 29:1118-1126.
 31. Ma, Q. Y., T. J. Logan., S. J. Traina. and J. Ryan. 1994a. Effects of NO_3^- , Cl^- , F^- , SO_4^{2-} and CO_3^{2-} on Pb^{2+} immobilization by hydroxyapatite. *J. Environ. Sci. Technol.* 28:408-418.
 32. Ma, Q. Y., S. J. Traina and T. J. Logan. 1993. In situ lead immobilization by apatite. *J. Environ. Sci. Technol.* 27:1803-1810.
 33. Ma, Q. Y., S. J. Traina, T. J. Logan and J. Ryan. 1994b. Effects of aqueous Al, Cd, Cu, Fe (II), Ni and Zn on Pb immobilization by hydroxyapatite. *J. Environ. Sci. Technol.* 28: 1219-1228.
 34. Mahar, A., P. Wang, R. Li. and Z. Zhang. 2015. Immobilization of Lead and Cadmium in Contaminated Soil Using Amendments: A Review *Pedosphere* 25(4): 555-568.
 35. Marques, A. P., R. S. Oliveira, K. A. Samardjieva, J. Pissarra, A. O. Rangel and P. M. Castro. 2007. *Solanum nigrum* grown in contaminated soil: Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on zinc accumulation and histolocalisation. *J. Environ. Pollut.* 145(3): 691-699.
 36. McGowen, S. L., N. T. Basta and G. O. Brown. 2001. Use of diammonium phosphate to reduce heavy metals solubility and transport in smelter-contaminated soil. *J. Environ. Qual.* 30: 493-500.
 37. Olsen, S. R., C. V. Cole, F. S. Watanabe and L. A. Dean. 1954. Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. USDA Circular, U. S. Government Printing Office. Washington D. C. 939.
 38. Peterse, R. L. and H. B. Massicotte. 2004. Exploring structural definitions of mycorrhizas, with emphasis on nutrient-exchange interfaces. *Can. J. Bot.* 82 (8): 1074-1088.
 39. Ryan, K., P. Zhang, D. Hesterberg, J. Chou and D. Sayers. 2001. Formation of chloropyromorphite in a lead-contaminated soil amended with hydroxyapatite. *J. Environ. Sci. Technol.* 35: 3798-3803.
 40. Salt, D. E., R. D. Smith and I. Raskin. 1998. Phytoremediation. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49: 643-668.
 41. Sauve, S. C., E. Martinez, M. Mc Bride and W. Hendershot. 2000. Adsorption of free lead by pedogenic oxides, ferrihydrite and leaf compost. *J. Soil Sci. Soc.* 64:595-599.
 42. Shenoy, V. V. and G. M. Kalagudi. 2005. Enhancing plant phosphorus use efficiency for sustainable cropping. *J. Biotechnol. Adv.* 23:501-513.
 43. Shetty, K. G., B. A. D. Hetrick, D. A. H. Figge and A. P. Schwab. 1994. Effects of mycorrhizae and other soil microbes on revegetation of heavy metal contaminated mine spoil. *J. Environ. Pollut.* 86: 181-188.
 44. Sneddon, I. R., M. Orueetxebarria, M.E. Hodson, P.F. Schofield and E. Valsami-Jones. 2006. Use of bone meal amendments to immobilise Pb, Zn and Cd in soil: A leaching column study. *J. Environ. Pollut.* 144: 816-825.
 45. Tessier, A., P. Campbell. and M. Bisson. 1979. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *J. Anal. Chem.* 51(7): 844-851.
 46. Vaughan, D. and R. E. Malcolm. 1979. Effect of soil organic matter on peroxidase activity of wheat roots. *J. Soil. Biol. Biochem.* 11:57-63.
 47. Wang, X. J., Z. Q. Wang and S. G. Li. 1995. The effect of humic acids on the availability of phosphorus fertilizers in alkaline soils. *Soil Use Manage.* 11:99-102.
 48. Weissenhorn, L., C. Leyval and J. Berthelin. 1995b. Bioavailability of heavy metals and abundance of arbuscular mycorrhiza in soil polluted by atmospheric deposition from a smelter. *J. Biol. Fert. Soils.* 19: 22-28.
 49. Zhu, W., S. Chen and J. Yang. 2004. Effects of soil amendments on lead uptake by two vegetable crops from a lead-contaminated soil from Anhui. China. *J. Environ Int.* 30:351-356.
 50. Zhu, Y.G., P. Christie and A. S. Laidlaw. 2001. Uptake of Zn by arbuscular mycorrhizal white clover from Zn-contaminated soil. *J. Chemosphere* 42: 193-199.

51. Zhu, Y., S. Chen and J. Yang. 2003. Effect of soil amendment on lead uptake by two vegetable crops from a lead contaminated soil from Anhui, China. *J. Environ Int.* 30: 351-356.
52. Zorpas, A. A., T. Constantinides, A. G. Vlyssides, I. Haralambous and M. Loizidou. 2000. Heavy metal uptake by natural zeolite and metals partitioning in sewage sludge compost. *J. Biores. Technol.* 72:113-119.