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

مهدیه آموزگار[1*]، علی عباسپور[1]، شاهین شاهسونی[1]، حمیدرضا اصغری[2] و مهدیه پارسائیان[2]

(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 اصلاح کننده‌های فسفره کاهش یابد. همچنین همزیستی ریشه این گیاهان با قارچ میکوریز می‌تواند مقاومت گیاه را در مقابل عناصر سنگین افزایش دهد. بدین‌منظور پژوهشی به‌صورت گلدانی در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی دردانشگاه شاهرود انجا مپذیرفت. تیمارها شامل قارچ میکوریز با دو سطح تلقیح وعدم تلقیح وتیمار دوم کودهای فسفری شامل تیمارهای بدون کود، اسیدهیومیک، دی آمونیوم فسفات، پودر استخوان وکاربردتوام 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 دسترس 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 دی‌آمونیوم فسفات و میکوریز با کاهش قابل توجه ۴۸/۲۵ درصدی، بیشترین تأثیر را برکاهش سرب تبادلی خاک دارا بود. گیاهان میکوریزی از غلظت سرب کمتری در اندام هوایی خود به‌میزان ۱۴/۷۸ درصد برخودار بودند و همچنین کاربرد کودهای فسفری سبب کاهش معنی‌دار سرب اندام هوایی گیاه شد.

کلمات کلیدی: اسید هیومیک، پودر استخوان، دی‌آمونیوم 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 این‌حال، 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 (۸و ۴۰). اثرات سوء سرب در انسان‌ها به‌خوبی شناخته شده است. به‌طور کلی در اطفال، سبب بروز مشکلاتی از قبیل کاهش بهره هوشی، 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 اصلاح کننده‌ها، می‌توان به ترکیبات فسفردار اشاره نمود (۴و 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،۳۳و ۳۹)، همچنین جذب سرب توسط گیاه را کاهش می‌دهد (۱۵، ۲۲و 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 می باشد(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 به‌این 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 این‌صورت 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 می باشند (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 اندام های 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	میلی‌گرم بر کیلوگرم
سرب کل	۱۲۳۴	میلی‌گرم بر کیلوگرم

جدول ۲. مشخصات اسید هیومیک مورد استفاده

نوع	مواد آلی	اسید هیومیک	اسید فولویک	pH	EC
جامد	٪۹۲/۸	٪۷۵	٪۵	۶	۲۴۰µS/cm

جدول ۳. خصوصیات پودر استخوان مورد استفاده

پارامتر	pH	EC (۱:۲) ($dS\ m^{-1}$)	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

(در حدود ۳۰٪ کمتر از گیاهان غیرمیکوریزی) صورت گرفت. تحقیقدیگرتوسط 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 وهمکاران (۱۳) مشاهده نمودند که همزیستی میکوریزی، تجمع سرب در بخش هوایی و ریشه گیاهان را به‌طور معنی‌داری تشدید کرد.

این پژوهش به‌منظور 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 درسال ۱۳۹۲ به‌صورت 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 عدم‌مصرف) و فاکتور دوم کودهای فسفره (شاهد، اسیدهیومیک، کود شیمیایی دی‌آمونیوم فسفات، پودر استخوان، پودر استخوان + اسیدهیومیک) 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 به‌مقدار ۲۵ کیلوگرم در هکتار (خصوصیات اسید هیومیک مورد استفاده در جدول ۲ آورده شده است)، پودر استخوان تهیه شده از کشتارگاه صنعتی دام مشهد به‌مقدار ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار (با خصوصیات آورده شده در جدول ۳و دی‌آمونیوم فسفات به‌مقدار ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار محاسبه و قبل از کشت با خاک گلدان‌ها مخلوط شدند. قارچ میکوریز گونه *Glomus intraradices* از شرکتزیست فناور توران شاهرود تهیه گردید. لازم به‌ذکر است که هر گرم اینوکلوم این قارچ حاوی ۵۰ اسپور بوده است. اینوکلوم به‌صورت ترکیب با خاک در هنگام کاشت ۵ سانتی‌متر زیر محل

جدول ۴. جدول تجزیه واریانس صفاتموردمطالعهبرایتیمارهایموردبررسی

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

ns و * و **: به‌ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار درسطح احتمال ۵ و۱ درصد

هر بذر قرار داده شد سپس روی آن را با کمی خاک پوشانده و در آخر بذر آفتابگردان اواخر شهریورکاشته شد.

بعد از ۲ ماه دوره رشد، قسمت‌های مختلف گیاه به‌صورت جداگانه درون آون با دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت قرار داده شدند. پس از خشک‌شدن 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 به‌روش جیووانتی و موسه آ (۱۹) انجام پذیرفت. میزان فسفر گیاه به‌روش رنگ‌سنجی وانادات- مولیبدات (۲۰، ۲۶)، فسفر محلول به‌روش رنگ‌سنجی با کلرید قلع (۴۱) و فسفر قابل دسترس خاک به‌روش اولسن(۳۷) سنجیده شد. همچنین میزان سرب گیاه و سرب تبادلی خاک (۴۵) با استفاده از دستگاه جذب اتمی Perkin Elmer مدل AAnalyst ۱۰۰ 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 درصد معنی‌دار شده است. تلقیح میکوریز منجر به افزایش درصد کلونیزاسیون ریشه به‌میزان ۲۲٪ شد (جدول ۵). قارچ‌های میکوریز قادرند در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین به‌صورت هم‌زیست با ریشه گیاه زندگی کنند (۳۵). ویسنهورن (۴۸) در پژوهش خودبیان کرد که در خاک حاوی عناصر سنگین هیچ‌گونه اثر منفی در تعداداسپورهاو کلونی‌زایی میکوریز درگیاه ذرت دیده نشد. با توجه به‌نتایج به‌دست آمده کاربرد میکوریز منجربه افزایش درصد کلونیزاسیون شد.

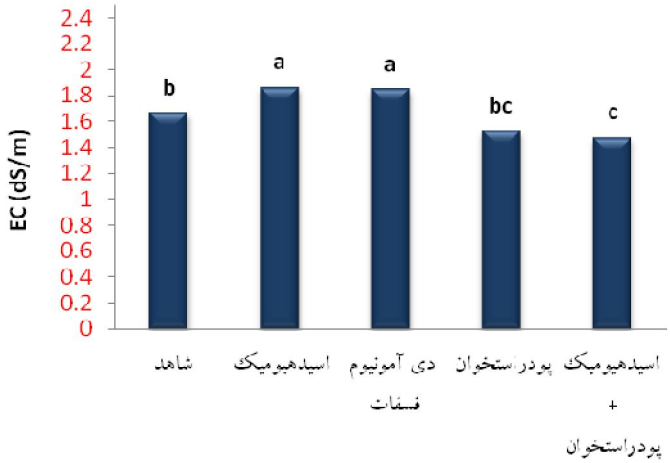
جدول تجزیه واریانس نشان می‌دهد EC خاک ریزوسفر در اثر کاربرد قارچ میکوریز و کودهای فسفری در سطح احتمال ۱ درصد ($P\leq$۰/۱) معنی‌دار شده است (جدول ۴). نتایج مقایسات میانگین (جدول ۵) نشان می‌دهد قارچ میکوریز سبب افزایش معنی‌دار EC خاک نسبت به عدم کاربرد آن شده است. به‌نظر می‌رسد قارچ میکوریز با تأثیر بر حلالیت عناصر خاک و کاهشpH خاک ریزوسفر سبب افزایش EC شده است.

همچنین افزایش کودهای فسفری به خاک سبب تغییراتمعنی‌داری در EC خاک نسبت به شاهد شد. به‌این‌ترتیب

جدول ۵. مقایسه میانگین اثرات اصلی میکوریز

میکوریز	کلونیزاسیون ریشه (٪)	EC ($dS\ m^{-1}$)	وزن خشک اندام هوایی (g)	جذب فسفر توسط اندام هوایی گیاه (mg/pot)	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}

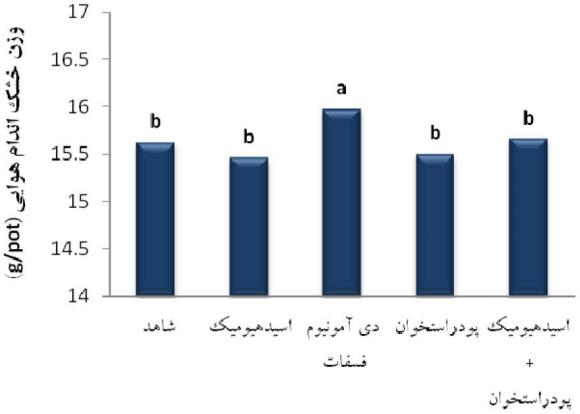
وجود حروف غیرمشترک نشان دهنده معنی‌داری در سطح ۵ درصد می‌باشد



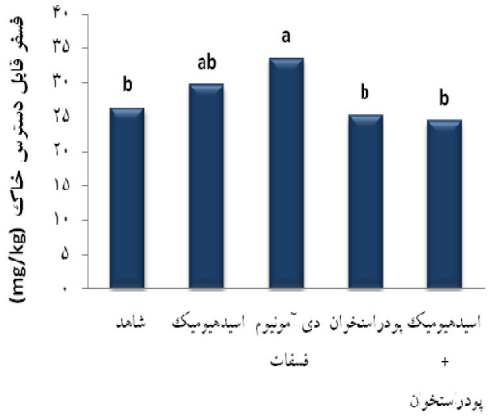
شکل ۱. اثر اصلی کودهای فسفری بر EC خاک

که اسید هیومیک و دی‌آمونیوم فسفات EC خاک را نسبت به شاهد افزایش دادند درحالی که کاربرد توأم پودر استخوان و اسید هیومیک EC خاک را نسبت به شاهد کاهش معنی‌دار داده است (شکل ۱). عباسپور و گلچین (۴) در پژوهش خود بیان کردند با کاربرد کود دی‌آمونیوم فسفات EC خاک افزایش معنی‌داری پیدا کرد. زیرا در طی اکسیداسیون آمونیوم H^{+} آزاد شده که سبب افزایش هدایت الکتریکی خاک می‌گردد.

وزن خشک اندام هوایی گیاه آفتابگردان در اثر کاربرد قارچ میکوریز در سطح احتمال ۵ درصد ($P\leq$۰/۰۵) و کاربرد تیمار کود فسفری در سطح احتمال ۱ درصد ($P\leq$۰/۰۱) معنی‌دار شد (جدول ۴). تأثیر قارچ میکوریز بر وزن خشک اندام هوایی گیاه 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 می‌شود و زمانی‌که عناصر سنگین در سطوح بالا در محیط کشت وجود داشته باشند به‌مقدار زیادی توسط ریشه گیاهان کشت شده در این خاک‌ها، جذب شده و در نهایت به اندام‌های هوایی منتقل و انباشته می‌شوند که این امر موجب صدمات شدید متابولیسمی و کاهش رشد می‌شود (۲۱). ریشه‌های قارچ میکوریز، می‌توانند فلزات سنگین را در و نخود نگهدارند و باعث کاهش حرکت آنها به داخل گیاه میزبان ومسمومیت کمتر آن شده و بنابراین به تحمل تنش کمک می‌کنند (۱۸و ۲۳). کاربرد این قارچ می‌تواند در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین



شکل۲. تأثیر کاربرد کود فسفری بر وزن خشک اندام هوایی گیاه آفتابگردان



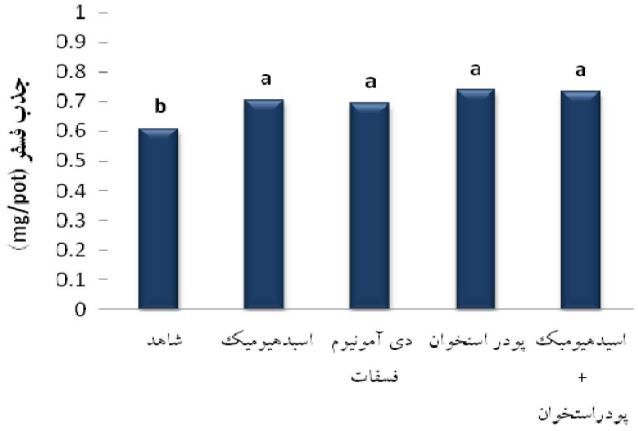
شکل۳. تأثیرکاربرد کودهای فسفره بر میزان فسفر قابل دسترس خاک

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

مقایسات میانگین تیمارها (شکل ۲) نشان می‌دهد تنها کود دی‌آمونیوم 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 دی‌آمونیوم 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 افزایشوزن زیست توده گیاه گندم با تأمین فسفر مورد نیاز گیاه به‌وسیله کود پایه را می‌توان در تثبیت عنصر سربه‌وسیله 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$۰/۰۵). کود دی‌آمونیوم فسفات و اسید هیومیک توانستند فسفر قابل دسترس خاک را نسبت به شاهد افزایش دهند ولی تنها اثر افزایشی کود دی‌آمونیوم فسفات بر 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$۰/۰۵) 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 به‌طورفیزیکی 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

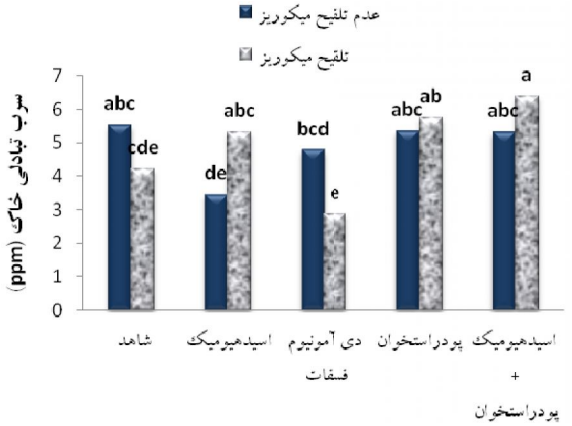


شکل ۴. کاربرد کودهای فسفری بر جذب فسفر توسط اندام هوایی گیاه آفتابگردان

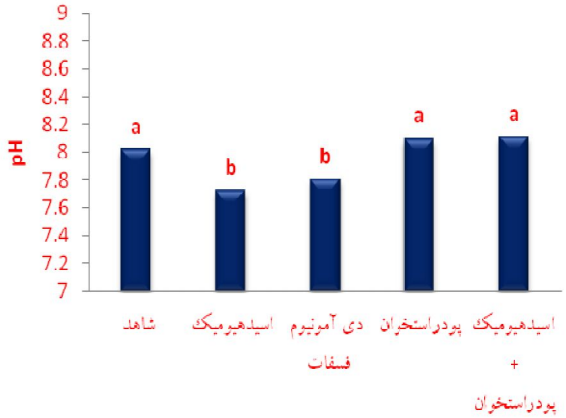
گونه گیاهی *Calopogonium mucunoides* و در خاک‌های آلوده به سرب،مشاهده کردند که گیاهان هم‌زیست با قارچ‌های میکوریز در تمام سطوح آلاینده حاوی غلظت بیشتری از فسفر در پیکره خود، نسبت به گیاهان شاهد (غیرهمزیست) در همان سطوح سرب بودند.

نتایج مقایسات میانگین نشان داد کاربرد کودهای فسفری اثر مثبت و معنی‌داری بر جذب فسفر اندام هوایی گیاه آفتابگردان داشته‌اند وکاربرد تمامی این کودها توانسته میزان جذب فسفر را توسط اندام هوایی گیاه را نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار دهد (شکل۴). 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 درغلظت‌های۵ تا ۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدهیومیک سبب افزایش معنی‌داری در جذب فسفر شد که البته میزان جذب فسفر در۵۰۰ میلی گرم در لیتر کاهش یافت. وانگ وهمکاران (۴۷) درآزمایشی مزرعه‌ای، اسید هیومیک ر ابه‌همراه 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 فسفری و اثرات متقابل میکوریز و کودهای فسفری بر سرب تبادلی خاک معنی‌دار ($P\leq ۰/۰۱$) هستند (جدول ۴) و اثر میکوریز به‌تنهایی معنی‌دار نبوده است. کاربرد توام قارچ میکوریز و کود دی‌آمونیوم فسفات در خاک موجب کاهش معنی‌دار سرب تبادلی خاک به‌میزان ۴۸/۲۵ درصد نسبت به شاهد شده است (شکل ۵). فسفر موجود در کود دی‌آمونیوم فسفات با سرب خاک واکنش داده و قابلیت دسترسی آن را کاهش می‌دهد.کاهش pH در اثر کاربرد دی آمونیم فسفات (شکل ۶) سرعت این واکنش را تسریع می‌نماید به‌طوری که با کاهش pH حلالیت فسفر و سرب افزایش یافته، درنتیجه واکنش سرب با فسفر بهتر انجام می‌گیرد. لذا با وجود کاهش pH، بایستی حلالیت سرب افزایش یابد ولی به‌دلیل 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 به‌حدود ۵ شرایط بهتری برای تشکیل پیرومورفایت فراهم می‌کند (۱۱ و ۳۴). لذا ترکیبات فسفری اسیدزا نظیر دی آمونیم 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 دی هیدروژن کلسیم ($CaH_۴PO_۴$) می‌دانستند. به‌هر حال به‌نظر می‌رسد که تیمارهای با فسفر زیاد تأثیر بهتری بر کاهش سرب قابل دسترس داشته



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



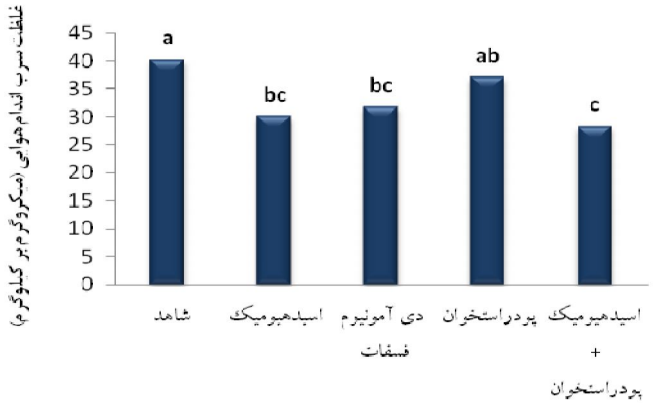
شکل ۶. تأثیر کاربرد کودهای فسفری بر pH خاک

باشد. عباسپور وگلچین (۴) از دی‌آمونیوم فسفات، زئولیت و ورمی کمپوست جهت کاهش قابلیت دسترسی سرب در یک خاک آلوده استفاده نمودند که دی‌آمونیوم فسفات بیشترین تأثیر را به‌همراه داشت. کاربردترکیبات مختلف فسفردار باعث تغییر و ضعیت سرباز بخش‌های قابل استفاده تبادلی و پیوند با کربنات، اکسیده ای آهن و منگنز و یا پیوند با مواد آلی به بخش های 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 اصلاح کننده در خاک‌های آلوده به عناصر سنگین به‌کار روند، زیرا باعث غیرمتحرک نمودن سرب و کاهش سمیت آن می‌شوند (۴و 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 منجربه 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 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 فسفری بر غلظت سرب اندام هوایی گیاه آفتابگردان معنی‌دار ($P\leq$۰/۰۵) 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 به‌میزان 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).



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

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

در بین کودهای فسفری، اسید هیومیک، دی‌آمونیوم فسفات و کاربرد توأم اسید هیومیک و پودر استخوان بیشترین کاهش معنی‌دار در غلظت سرب اندام هوایی گیاه نشان دادند (شکل۷). ژو و همکاران (۴۹) اثر چندین اصلاح کننده‌های فسفری را در خاک آلوده به سرب با اسیدیته قلیایی مورد مطالعه قرار دادند و بیان کردند که جذب سرب توسط گیاه در نتیجهٔ کاهش دسترسی سرب در خاک با استفاده از اصلاح کننده‌های فسفره کاهش یافت. چن و همکاران (۱۲) کارایی اصلاح کننده‌های مختلف فسفری (هیدروکسی آپاتیت طبیعی، سنگ فسفات، سوپر فسفات تریپل و دی‌آمونیوم 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 فسفری در خاک آلوده کاهش می‌یابد. در یک مطالعه بین المللی در آزمایشگاه توانایی‌های اصلاح کننده‌های مختلف فسفری (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 به سرب منجربه 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 فسفری در کاهش سرب گیاه و دسترسی سرب خاک می‌تواند مؤثرتر باشد.

نتیجه‌گیری

در بین کاربرد تیمارهای کودی مختلف در این پژوهش کود دی‌آمونیوم فسفات سبب افزایش معنی‌دار وزن خشک اندام هوایی، فسفر قابل دسترس خاک در گیاه آفتابگردان شده است. کاربرد کودهای حاوی فسفراز طریق تشکیل کانی‌های کم‌محلول، سرب تبادلی 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 دی‌آمونیوم 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

کودها علاوه‌بر 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 وسوپر فسفات تریپل و تأثیر آن بر رشد گندم. نشریه پژوهش‌های زراعی ایران. جلد ۸، شماره ۶، ص۹۶۴-۹۵۶.

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 phytologyst. 106: 93-11.
7. Biro, I. and T. Takacs. 2007. Effects of *Glomusmosseas*trains 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 phosphovanado-molybdate 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 Lactuarisrufus 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 vulgar* Mill.onmycorrhizal 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. Chern. 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 zink 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 arbuscularmycorrhizal 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. Peterso, 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. PlantPhysiol. 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 immobilisePb, 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 ertilizers 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 arbuscularmycorrhiza in soil polluted by atmospheric deposition from a smelter. J. Biol. Fertil. 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 bynatural zeolite and metals partitioning in sewage sludge compost. J. Biores. Technol. 72:113-119.