

تأثیر اسید هیومیک بر کارایی گیاه پالایی سرب در خاک‌های آلوده توسط گیاه افسنتین (*Artemisia absantium*)

میرحسین رسولی صدقیانی*، حسن کریمی، ساناز اشرفی سعیدلو و حبیب خداوردیلو^۱

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۲/۸؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۲/۹)

چکیده

با توجه به اثرات نامطلوب سرب بر ویژگی‌های خاک و سلامت انسان، بررسی روش‌های اصلاح و پاک‌سازی این آلاینده ضروری به نظر می‌رسد. به منظور ارزیابی تأثیر اسید هیومیک در اصلاح خاک‌های آلوده به سرب، در حضور گیاه افسنتین، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار انجام گرفت. فاکتورهای آزمایش شامل غلظت‌های مختلف سرب (منبع نمک نترات سرب به شکل جامد) (۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) و سطوح متفاوت اسید هیومیک (۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) بودند. در پایان دوره رشد برخی از خصوصیات خاک و گیاه اندازه‌گیری شدند. بر اساس نتایج به دست آمده، با افزایش غلظت سرب در خاک، مقدار تنفس پایه خاک، کربن زیست‌توده میکروبی خاک، وزن خشک ریشه و شاخسار، محتوای نسبی آب برگ و غلظت آهن و روی در شاخسار کاهش یافت. به طوری که میانگین تنفس پایه خاک و کربن زیست‌توده میکروبی خاک در تیمار Pb_{100} به ترتیب ۶۰ و ۵۱/۱ درصد نسبت به تیمار Pb_0 کمتر بود. مقدار تجمع سرب در ریشه و شاخسار به دنبال افزایش غلظت این عنصر در خاک به طور معنی‌دار افزایش یافت. به گونه‌ای که بیشترین غلظت سرب شاخسار (۳۷/۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و ریشه (۳۸/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در تیمار Pb_{100} مشاهده شد. همچنین نتایج حاکی از تأثیر مثبت اسید هیومیک بر غلظت آهن، روی و سرب شاخسار بود، به نحوی که غلظت این عناصر در HA_{20} به ترتیب ۱/۲۵، ۱/۶۴ و ۱/۶۶ برابر در مقایسه با HA_0 افزایش نشان دادند. مقدار پرولین برگ بر اثر افزایش غلظت سرب در خاک به طور معنی‌دار افزایش یافت، لیکن کاربرد ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اسید هیومیک، منجر به کاهش ۵۴/۵ درصدی مقدار پرولین نسبت به تیمار شاهد شد. به طور کلی تأثیر اسید هیومیک بر افزایش جذب سرب توسط گیاه و بهبود خواص بیولوژیک خاک و افزایش فراهمی و حلالیت سرب، نشان‌دهنده توانایی بالای آن در ارتقای کارایی پالایش سبز است. همچنین با توجه به نتایج به دست آمده در این مطالعه، افسنتین، گیاهی غیرانباشتگر بوده لذا نمی‌توان از این گیاه برای اهداف گیاه‌پالایی استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: آلودگی خاک، سرب، استخراج سبز، اسید هیومیک، تجمع زیستی

۱. گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

*: مسئول مکاتبات: پست الکترونیکی: m.rsadaghiani@urmia.ac.ir

مقدمه

رشد بی‌رویه فعالیت‌های صنعتی و تخلیه مواد زائد جامد و فاضلاب‌های شهری و صنعتی، بهره‌برداری غیراصولی از منابع طبیعی، استفاده از علف‌کش‌ها و سموم و نیز مصرف سوخت‌های فسیلی منجر به تخریب و آلودگی محیط‌زیست و افزایش غلظت آلاینده‌ها در خاک و سایر منابع پذیرنده محیط‌زیست شده است (۴۲). در سال‌های اخیر فلزات سنگین به‌عنوان مهم‌ترین آلاینده‌های خاک مورد توجه قرار گرفته‌اند (۴۰ و ۷۲). فلزات سنگین برخلاف آلاینده‌های آلی، از نظر بیولوژیکی قابل تجزیه نبوده و نیمه‌عمر طولانی دارند و می‌توانند در طولانی‌مدت، تأثیرات نامطلوبی بر اکوسیستم خاک و فرایندهای بیولوژیک آن بگذارند (۷۰). این نوع آلاینده‌های صنعتی و انسان ساخت توسط ریشه گیاهان و محصولات کشاورزی جذب شده و علاوه بر ایجاد سمیت برای گیاهان و ریزجانداران خاک، وارد زنجیره غذایی انسان و حیوان می‌شوند. همچنین این عناصر ضمن عبور از خلل و فرج لایه‌های مختلف خاک وارد سفره‌های آب زیرزمینی شده و منجر به آلودگی منابع آب و تخریب اکوسیستم می‌شوند (۵۶). غلظت محلول خاک و در نتیجه زیست‌فراهمی و سمیت فلزات اغلب توسط هم‌دماهای جذب- واجذب آنها روی سطح کلونیدهای خاک کنترل می‌شود. تجزیه و تحلیل داده‌های ظرفیت نگهداری فلزات و شدتی که فلز در خاک نگه داشته شده است، ارائه می‌دهد. به‌دلیل پیچیدگی فرایندهای نگهداشت فلزات در خاک، تلفیق هم‌دماهای جذب با روش‌های عصاره‌گیری متوالی می‌تواند اطلاعاتی سودمند در اختیار نهد (۷۳).

در بین فلزات سنگین، سرب از اهمیت و درجه آلایندگی بالایی برخوردار است و آلودگی محصولات کشاورزی رشد یافته در خاک‌های آلوده به این عنصر می‌تواند سلامتی انسان را در معرض خطر قرار دهد (۵، ۴۰، ۷۲ و ۸۰). سرب از جمله فلزات سنگین و سمی محسوب می‌شود که دارای کارکرد زیستی مشخصی نیست و قادر است در گیاهان و سایر موجودات زنده ایجاد مسمومیت کند. این فلز به‌دلیل پراکنش

گسترده در مناطق شهری و صنعتی و خطر بالقوه آن برای محیط زیست و سلامت انسان‌ها و حیوانات، منشأ نگرانی‌های متعددی شده است (۷۲ و ۸۰). سرب نه تنها ریزجانداران خاک را تحت تأثیر قرار داده و سبب از دست رفتن حاصلخیزی خاک می‌شود، بلکه باعث بروز تغییر در شاخص‌های فیزیولوژیکی رشد گیاهان و در نهایت کاهش عملکرد آنها نیز می‌شود (۴۹). یکی از دلایل سمیت سرب در گیاهان تولید گونه‌های فعال اکسیژن و ایجاد تنش اکسیداتیو در سلول است. این گونه‌های فعال اکسیژن سبب تخریب آمینواسیدها، پروتئین‌ها، نوکلئیک اسیدها و تحریک پراکسیداسیون لیپیدهای غشا می‌شوند (۷۲). جذب سطحی سرب در خاک بیشتر تحت تأثیر ویژگی‌هایی نظیر فراوانی رس، مواد آلی، pH، یون‌های آهن، آلومینیوم و کلسیم بوده و عمدتاً به‌صورت Pb^{2+} جذب سطوح رس، مواد آلی و اکسیدهای آهن و آلومینیوم می‌شود (۴۳).

با گسترش آلودگی فلزات سنگین، پژوهش‌ها در زمینه روش‌های اصلاح و پاکسازی خاک‌های آلوده به آنها نیز توسعه یافته است (۳، ۴۰، ۵۹ و ۶۸). آلودگی فلزات سنگین به‌ویژه سرب، در خاک‌های همدان (۳۷)، زنجان (۲۱، ۵۷ و ۶۴)، تهران (۲۶)، ساری (۵۲) و اطراف دریای خزر (۶۵) نیز مشاهده شده و مورد بررسی قرار گرفته است. با توجه به اینکه در میان جانداران عالی، تنها گیاهان مکانیسم‌ها و استراتژی‌های مؤثری را به‌منظور حفظ بقای خود در مکان‌های آلوده توسعه داده‌اند و قادرند با شیوه‌های مختلف از جمله دفع کردن، سم‌زدایی و انباشت کردن یون‌های فلزی در سلول‌ها یا اجزای سلولی تخصصی شده خود (نظیر واکوئل‌ها و دیواره‌های سلولی)، حضور فلزات سمی را تحمل کنند. لذا امکان بهره‌برداری از توانایی عظیم گونه‌های گیاهی خاص در علم گیاه‌پالایی به‌منظور زدایش فلزات سمی از مکان‌های آلوده وجود دارد (۳۰). پالایش سبز یا گیاه‌پالایی نوعی فناوری بیولوژیک است که در آن از گیاهان سبز به‌منظور جاذب آلاینده‌های مختلف خاک، آب و رسوبات استفاده می‌شود. پالایش سبز روی ترکیبات متنوع

بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که تجمع آلاینده‌ها در اندام‌های هوایی این گیاه بیشتر است و دلیل این امر را جذب ذرات آلاینده از هوا اعلام کردند. فیشر و همکاران (۲۷) نیز غلظت و مقدار جذب سرب، کادمیم و جیوه را در گیاهان مختلف (دم اسب *horsetail Equisetum arvense*)، گزنه (*nettle Urtica dioica*)، گل راعی (*St. John's wort Hypericum perforatum*)، افسنتین (*wormwood Artemisia absinthium*)، بوم‌سازدان (*yarrow Achillea millefolium*)، سپیدار (*cottonwood*)، علف طلائی (*Solidage virgaurea*)، ارزیابی کرده و گزارش کردند که بالاترین غلظت سرب، کادمیم و جیوه به ترتیب مربوط به گزنه، بومسازدان و دم اسب بود.

واحدهای اساسی ساختاری اسید هیومیک، حلقه‌های آروماتیک و زنجیرهای آلکیل هستند که دارای طیف گسترده‌ای از گروه‌های عاملی (OH، COOH، NH₂ و غیره) هستند. این گروه‌ها می‌توانند با اتصال به فلزات، ظرفیت جذب بالایی از آنها را برای اسید هیومیک فراهم کرده و شکل‌های قابل دسترس فلزات برای گیاهان را افزایش دهند (۳۴). بنابراین و همکاران (۱۵) گزارش کردند که استفاده از مقدار کمی اسید هیومیک (۱/۰ گرم در کیلوگرم)، افزایش مقدار جذب فلزات سنگین (به‌ویژه مس و سرب) توسط ریشه و انتقال آنها به ساقه را در پی دارد. این امر مؤید توانایی بالقوه اسید هیومیک برای استفاده در گیاه‌پالایی سرب و مس است. همچنین آنها اظهار کردند که استفاده از این مقدار اسید هیومیک بدون توجه به روش کاربرد، تأثیر مثبتی بر وزن خشک ساقه دارد. در مطالعه‌ای که توسط اوانگلو و همکاران (۲۳) انجام شد، مشاهده شد که مصرف ۲۰ گرم در کیلوگرم اسید هیومیک مقدار جذب کادمیم توسط تنباکو را تا ۶۵ درصد افزایش داد. به‌طورکلی استفاده از مواد هیومیکی برای اصلاح خاک‌های آلوده، منجر به افزایش قابلیت دسترسی فلزات برای گیاهان می‌شود. تشکیل کمپلکس‌های فلز-اسید هیومیک در خاک‌های آلوده، از یک سو از تثبیت فلزات توسط ذرات رس و تبدیل آنها به اشکال نامحلول ممانعت می‌کند و از سوی دیگر با افزایش حلالیت

آلاینده‌ها عمل کرده و دارای سهولت انجام و تداوم کار است. گیاهان مورد استفاده در پالایش سبز می‌بایستی علاوه بر داشتن سرعت رشد و زیست‌توده بالا، دارای ریشه‌های عمیق بوده و توانایی بالایی برای جذب فلز داشته باشند (۶۹). به‌طورکلی، دو گروه از گونه‌های گیاهی به‌منظور استخراج گیاهی فلزات سنگین مورد استفاده قرار می‌گیرند، ویژگی‌های این گیاهان عبارتند از: گروه اول که گونه‌های بیش‌اندوز هستند، قادر به انباشت و تحمل مقادیر بسیار بالای آلاینده‌های فلزی هستند و گروه دوم شامل گونه‌های گیاهی با توانایی تولید زیست‌توده بالا نظیر ذرت، تنباکو و آفتابگردان است که ظرفیت خود را در جذب و انباشت فلزات سنگین بواسطه تولید زیست‌توده بالا جبران می‌کنند (۷۶). استخراج سبز به دو روش استخراج سبز طبیعی و استخراج سبز ترغیبی انجام می‌شود. در استخراج سبز طبیعی، گیاه خود به تنهایی پتانسیل بالایی برای جذب آلاینده و انتقال آن به شاخسار دارد درحالی‌که در استخراج سبز ترغیبی، از ترکیبات کمپلکس‌کننده برای افزایش مقدار جذب فلزات توسط گیاه استفاده می‌شود. فلزاتی نظیر سرب به‌دلیل حلالیت و فراهمی اندک در خاک، قابلیت جذب چندانی توسط گیاه ندارد. لذا به‌منظور افزایش حلالیت این نوع عناصر، از ترکیباتی نظیر کلات‌کننده‌ها استفاده می‌شود. کلات‌ها از طریق افزایش فراهمی فلزات، منجر به تجمع مقادیر بالایی از آنها در گیاهان می‌شوند. به عبارت دیگر استفاده از کلات‌ها در بسیاری موارد باعث تبدیل یک گیاه غیر بیش‌اندوز به گیاه بیش‌اندوز یا فلزاندوز می‌شود. بنابراین استفاده از عوامل کمپلکس‌کننده فلزات از جمله اسید هیومیک، یکی از مناسب‌ترین روش‌ها در افزایش فراهمی فلزات و ارتقای کارایی استخراج سبز محسوب می‌شود (۲۴). میورا و همکاران (۵۵) در مطالعه‌ای گیاه افسنتین را که جزء گیاهان دارویی بوده و قابلیت رشد خودبه‌خودی در مناطق آلوده را دارد، در خاک‌های آلوده به سرب، کادمیم و مس کشت کرده و غلظت این عناصر را در ریشه و شاخسار

جدول ۱. مشخصات رده‌بندی خاک مورد مطالعه

رده	زیرگروه	خانواده	سری
Inceptisols	Typic Halaquepts	Fine, mixed, mesic	اردوشاهی

جدول ۲. برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه

۳۲۳	شن (g kg^{-1})
۴۰۳	سیلت (g kg^{-1})
۲۷۴	رس (g kg^{-1})
لوم	کلاس بافتی خاک
۲/۶۹	مواد آلی (%)
۲۲/۱	CEC (cmolc kg^{-1})
۲/۵	EC_e (dS m^{-1})
۳	ESP (%)
۳۰/۵	CCE (%)
۸/۱	pH
۲۱/۴۲	سرب کل (mg kg^{-1})
۱/۴۷	کادمیم کل (mg kg^{-1})
۲۹۵۰۵	آهن کل (mg kg^{-1})
۶۲	روی کل (mg kg^{-1})
۱۴/۱۱	مس کل (mg kg^{-1})

CEC= ظرفیت تبادل کاتیونی، EC_e = هدایت الکتریکی، ESP= درصد

سدیم تبادلی، CCE= کربنات کلسیم معادل و pH= اسیدیته خاک

استان آذربایجان غربی بود که آلوده شد. رده‌بندی این خاک تا سطح خانواده و برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن به ترتیب در جدول‌های ۱ و ۲ ارائه شده است. با توجه به نتایج به دست آمده، خاک مورد مطالعه غیرشور و غیرسدیمی است و pH در محدوده خاک‌های آهکی و بافت متوسط دارد. غلظت عناصر سنگین در آن نیز کمتر از حدود مجاز گزارش شده در منابع است (۸۰) لذا جزو خاک‌های غیرآلوده به فلزات سنگین محسوب می‌شود (۱۹).

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی دو عاملی، در سه تکرار اجرا شد. فاکتور اول شامل غلظت‌های مختلف سرب (نمک نیترات سرب) (صفر، ۲۵۰،

فلزات سنگین، قابلیت دسترسی آنها برای گیاهان و احتمال آبتشویی را افزایش می‌دهد (۲۴).

با توجه به وجود اراضی آلوده به فلزات سنگین به ویژه سرب در کشور (۵)، بررسی روش‌های اصلاح و پاکسازی این آلاینده‌ها ضروری به نظر می‌رسد. در این راستا این پژوهش با هدف بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف اسید هیومیک، به عنوان اصلاح‌کننده آلی بر پالایش آلودگی سربی خاک توسط گیاه افسنتین اجرا شد.

مواد و روش‌ها

خاک مورد استفاده در این پژوهش از سری خاک‌های غیرزراعی

بذرهای افسنتین با محلول‌های هیپوکلریت سدیم ۵ درصد و اتانول ۱۰ درصد ضد عفونی شده و پس از شست‌وشو با آب مقطر، هشت بذر با فواصل منظم در گلدان‌های مورد نظر کشت شد. پس از جوانه‌زدن بذرهای، بوته‌های سالم‌تر و قوی‌تر (تعداد سه بوته) نگهداری شدند. در پایان ماه پنجم رشد، شاخسارهای گیاهان بریده شدند، ریشه‌های گیاهان نیز به آرامی از خاک گلدان‌ها جدا شدند و پس از شست‌وشو با آب مقطر داخل پاکت‌های کاغذی منتقل شده و به مدت ۷۲ ساعت در آون و در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. نمونه‌ها پس از آون خشک شدن، با استفاده از آسیاب برقی با محافظه تمام استیل آسیاب شدند. نمونه‌های آسیاب شده تا زمان عصاره‌گیری در ظروف پلاستیکی (که قبلاً با اسید رقیق شسته شده بودند) نگهداری شدند. خاک‌های نمونه‌برداری شده نیز به آزمایشگاه منتقل و در دمای چهار درجه سانتی‌گراد در یخچال نگهداری شدند. در پایان آزمایش، به منظور ارزیابی تأثیر آلودگی سرب و سطوح مختلف اسید هیومیک بر رشد و شاخص‌های فیزیولوژیکی گیاه افسنتین و خواص بیولوژیکی خاک، پارامترهای مختلفی از جمله تنفس میکروبی پایه خاک به‌روش آندرسون (۹) و کربن زیست‌توده میکروبی به‌روش تدخین-استخراج (۳۸)، مقدار سرب قابل دسترس خاک (۳۲)، محتوای نسبی آب برگ (۸۱)، پرولین (۱۶)، مقدار کل آهن، روی و سرب در شاخسار و ریشه گیاه اندازه‌گیری شدند (۳۲). مطالعات جذب و واجذب نیز به‌روش ادھیکاری و سینک انجام گرفت (۶). ضریب تجمع زیستی (BCF)، فاکتور انتقال گیاهی (TF) سرب در ریشه و شاخسار گیاه و ضریب متابولیسی نیز با استفاده از روابط زیر تعیین شدند (۳، ۳۳ و ۷۸).

$$BCF = \frac{C_P}{C_S} \quad (1)$$

که در آن BCF، ضریب تجمع زیستی برای پالایش سطوح مختلف آلودگی سربی، C_P غلظت سرب در گیاه (ریشه و شاخسار) و C_S غلظت سرب در خاک (غلظت اولیه سرب در خاک ۲۱/۴۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) است. هرچه این ضریب بیشتر از یک باشد، به معنای تجمع بیشتر سرب خاک توسط گیاه است.

۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) و فاکتور دوم شامل غلظت‌های متفاوت اسید هیومیک (نمک اسید هیومیک) (صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) بود. نمونه خاک مورد مطالعه پس از هوا خشک شدن به دو بخش تقسیم شد. یک بخش برای انجام آزمایشات فیزیکی و شیمیایی از الک دو میلی‌متری عبور داده شد. بخش دیگر نیز به‌منظور حفظ شرایط طبیعی خاک و مقدار خاکدانه‌های مؤثر، از الک پنج میلی‌متری عبور و با غلظت‌های مختلف سرب آلوده شد. خواص مختلف خاک شامل بافت به‌روش هیدرومتری (۳۱)، ماده آلی با روش والکی- بلاک (۶۰)، ظرفیت تبادل کاتیونی به‌روش استات سدیم نرمال (۶۰)، کربنات کلسیم معادل به‌روش تیتراسیون (۶۰)، هدایت الکتریکی و pH در عصاره گل اشباع (۵۴)، مقادیر کل عناصر به‌روش آجایی و کامسون (۷) اندازه‌گیری شدند. اعمال تیمارهای آلودگی سرب با توجه به حدود غلظت مجاز آن در خاک و شدت آلودگی سربی خاک‌ها در کشور انتخاب شد (۴). به‌گونه‌ای که دامنه‌ای از غلظت صفر آن فلز تا چندین برابر غلظت مجاز را بپوشاند. بنابراین، غلظت‌های سرب صفر، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک انتخاب شدند. برای آلوده کردن خاک، ابتدا مقدار لازم نیترات سرب $Pb(NO_3)_2$ برای آلوده کردن جرم مشخصی از خاک محاسبه شد. سپس، جرم محاسبه شده نمک (به شکل جامد) به یک کیلوگرم از خاک افزوده شد و کاملاً با آن مخلوط شد تا پیش‌ماده‌ای همگن به‌دست آید. در ادامه، خاک‌های آلوده با غلظت‌های یاد شده در سه تکرار برای هر غلظت، در گلدان‌هایی با ظرفیت تقریبی ۳/۵ کیلوگرم و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر (عمق ریشه‌دوانی گیاه) ریخته شد. برای اعمال تیمارهای اسید هیومیک نیز، ابتدا مقدار غلظت اسید هیومیک (آزمایشگاهی) برای سه کیلوگرم خاک در سه غلظت صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک محاسبه شد و در آب آبیاری حل شد و به مدت دو هفته به گلدان‌ها اضافه شد، به‌گونه‌ای که مانع آبشویی اسید هیومیک در گلدان‌ها شود. پس از رساندن رطوبت گلدان‌ها به ظرفیت مزرعه و اعمال تیمارها،

جدول ۳. مقادیر سرب جذب، واجذب و نامتحرک شده در خاک مورد مطالعه

SI	IP	C _{des}	C _s	C _e	C _i
(%)	(%)	(mg kg ⁻¹)	(mg kg ⁻¹)	(mg kg ⁻¹)	(mg kg ⁻¹)
۹۶/۲	۹۲/۴	۱۸/۳	۲۴۰	۱/۰	۲۵
۹۷/۴	۹۲/۲	۳۷/۹	۴۸۷	۱/۳	۵۰
۹۷/۲	۹۵/۱	۴۷/۹	۹۷۲	۲/۸	۱۰۰
۹۷/۱					

C_i و C_e: به ترتیب غلظت اولیه و تعادلی سرب در محلول خاک، C_s و C_{des}: به ترتیب سرب جذب و واجذب شده توسط خاک، IP: درصد سرب نامتحرک شده توسط خاک و SI: نمایه شدت جذب (عدد تیره، مقدار کلی نمایه SI است).

خاک مورد مطالعه نشان می‌دهد. داده‌های جذب سرب با معادله خطی لانگ‌مویر به خوبی برازش یافتند، به طوری که ضریب تبیین (R²) هم‌دمای جذب سطحی برای خاک، ۰/۹۸ بود. بر اساس طبقه‌بندی هینز (۳۶)، هم‌دمای جذب سرب در خاک از نوع کلاس C بود، یعنی خاک مورد مطالعه در محدوده غلظت‌های اعمال شده، تمایل ثابت و بالایی نسبت به جذب سرب داشت.

مقایسه مقدار سرب جذب شده و نامتحرک نشان داد که تقریباً کل سرب جذب شده توسط خاک، نامتحرک شده است. به عبارت دیگر خاک مورد مطالعه تمایل چشمگیری به جذب سرب داشته و بخش قابل توجهی از سرب موجود در محلول اولیه را جذب (SI ≈ ۹۷٪) و نامتحرک (مقدار IP بالای ۹۲٪) کرده است. رسوب فلز در خاک‌ها می‌تواند در شرایط قلیایی، وجود مقادیر نسبتاً بالای فلز، حلالیت پایین فلز و یا در مواردی که شمار مکان‌های برون جذبی ویژه بالا باشد، به وجود آید. در خاک مورد مطالعه، حضور کربنات‌ها منجر به افزایش pH خاک شده و از این طریق احتمال رسوب سرب به شکل کربناتی را افزایش داده است (۱۸). البته شعاع یونی زیاد و شعاع هیدراته کم سرب نیز در جذب برگشت‌ناپذیر آن مؤثر است (۵۸). سایپوز و همکاران (۷۳) با استفاده از اشعه X در خاک‌های آهکی، شواهدی از رسوب سرب به شکل کربنات سرب را مشاهده کردند و احتمال دادند عامل اصلی نامتحرک‌سازی بالای سرب در خاک‌های آهکی، فرایند رسوب سرب به شکل کربنات سرب باشد. فونتز و همکاران (۲۸)

$$TF = \frac{C_p^{shoot}}{C_p^{root}} \quad (2)$$

که در آن C_p^{shoot} و C_p^{root} به ترتیب غلظت سرب در شاخسار و ریشه گیاه و TF فاکتور انتقال سرب از ریشه به شاخسار است.

$$qCO_2 = \frac{BR}{MBC} \quad (3)$$

که در آن qCO₂ ضریب متابولیسمی (mg CO₂-C. mg⁻¹.C_{mic}.day⁻¹)، BR تنفس میکروبی پایه (mg CO₂-C. g⁻¹. day⁻¹) و MBC کربن زیست‌توده میکروبی (mg CO₂-C.kg⁻¹) است.

مقادیر شاخص‌های شدت جذب (SI) و درصد سرب نامتحرک شده توسط خاک (PI) توسط روابط (۴) و (۵) محاسبه شدند (۷۳).

$$SI = \frac{\sum_{i=1}^n (c_i - c_i^0)}{\sum_{i=1}^n c_i} \times 100 \quad (4)$$

که در آن C_i و C_e به ترتیب غلظت اولیه و تعادلی سرب در محلول خاک هستند.

$$IP = \frac{(C_s - C_{des})}{C_s} \times 100 \quad (5)$$

که در آن C_s و C_{des} به ترتیب سرب جذب و واجذب شده توسط خاک هستند. تجزیه و تحلیل آماری شامل تجزیه واریانس داده‌ها و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام گرفت.

نتایج و بحث

جذب و واجذب سرب در خاک

جدول ۳ مقادیر سرب جذب، واجذب و نامتحرک شده را برای

جدول ۴. غلظت سرب زیست‌فراهم در خاک تحت کشت گیاه افستین در سطوح مختلف

مقادیر سرب افزوده شده (mg kg ⁻¹)	سرب زیست‌فراهم (mg kg ⁻¹)		
	HA (۰ mg kg ⁻¹)	HA (۱۰۰ mg kg ⁻¹)	HA (۲۰۰ mg kg ⁻¹)
۰	۱/۰۱C,d	۱/۶۳B,d	۱/۸۸A,d
۲۵۰	۲/۹۹B,c	۴/۸۷A,c	۵/۱۵A,c
۵۰۰	۵/۱۰B,b	۸/۶۷A,b	۸/۸۰A,b
۱۰۰۰	۹/۱۴C,a	۱۰/۰B,a	۱۱/۵A,a

حروف بالانویس بزرگ و کوچک کنار هر عدد به ترتیب نشان‌دهنده اختلاف آماری ($P \leq 0/05$)

در هر ردیف و هر ستون هستند.

میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری ($P \leq 0/05$) ندارند.

در پیوند با DTPA معمولاً بالاتر از ثابت پایداری همان فلزات با مواد هومیکی خاک است (۷۴). محلول DTPA که به منظور برآورد غلظت فلزات قابل دسترس گیاه استفاده می‌شود، کسری از فلزاتی را که توسط مواد آلی نگه‌داری می‌شوند، استخراج می‌کند (۶۶). اوانگلو و همکاران (۲۳) در تحقیقات خود نشان دادند که افزایش مقدار فلز قابل استخراج با DTPA در اثر افزودن اسید هیومیک را می‌توان به دلیل ایجاد کمپلکس‌های موقت فلز با اسید هیومیک و جلوگیری از تثبیت آنها به وسیله رس خاک و عدم تبدیل به فرم‌های نامحلول دانست. به عبارت دیگر افزایش میزان سرب زیست‌فراهم، به دلیل نقش مهم اسید هیومیک در کلات کردن فلزات سنگین و افزایش حلالیت آنها در خاک اتفاق می‌افتد (۴۴). هلمیم و همکاران (۳۴) گزارش کردند که مواد هومیکی که به‌طور مصنوعی به خاک افزوده می‌شوند، در نگه‌داری فلزات به شکل قابل دسترس گیاهان مؤثر هستند، به طوری که افزودن ۲۰ گرم اسید هیومیک به هر کیلوگرم خاک، منجر به افزایش مقادیر روی و سرب قابل عصاره‌گیری با DTPA می‌شود.

تأثیر آلودگی سرب بر خواص بیولوژیکی خاک

شدت تنفس میکروبی

از نظر مقدار تنفس پایه خاک بین سطوح مختلف سرب و اسید

نیز رفتاری مشابه از جذب سرب در خاک‌های آهکی مشاهده کردند. نتایج این محققان نشان داد که حضور کربنات‌ها در خاک، مکان‌های جذبی جدیدی را به وجود می‌آورد و از این طریق مقدار رسوب فلز را افزایش می‌دهد.

تأثیر اسید هیومیک بر زیست‌فراهمی سرب در خاک

مقایسه میانگین اثرات سطوح سرب و اسید هیومیک بر مقدار سرب قابل دسترس خاک نشان داد که در هر سطح از اسید هیومیک، با افزایش غلظت سرب کل در خاک، غلظت سرب زیست‌فراهم افزایش یافت. به طوری که میانگین سرب زیست‌فراهم در تمام سطوح اسید هیومیک، در تیمارهای Pb_{250} ، Pb_{500} و Pb_{1000} در مقایسه با تیمار Pb_0 به ترتیب ۸۵/۳، ۸۰/۱ و ۶۵/۳ درصد بالاتر بود (جدول ۴). تأثیر سطوح مختلف اسید هیومیک بر مقدار سرب خاک نیز معنی‌دار بود ($P \leq 0/05$) به گونه‌ای که با افزایش مقدار اسید هیومیک در هر سطح سرب، مقدار سرب زیست‌فراهم خاک به‌طور معنی‌دار افزایش یافت. مقدار سرب زیست‌فراهم در تیمار HA_{200} در مقایسه با تیمارهای HA_0 و HA_{100} به ترتیب ۱/۴۹ و ۱/۰۵ برابر بیشتر بود. مقدار حلالیت و فراهمی فلزات به نوع و غلظت فلز و همچنین نوع و غلظت کلات‌های موجود در خاک بستگی دارد. ثابت پایداری کاتیون‌های فلزی دو ظرفیتی

جدول ۵. مقادیر تنفس میکروبی پایه در خاک تحت کشت گیاه افستتین در سطوح مختلف سرب و

تیمارهای HA_۰، HA_{۱۰۰} و HA_{۲۰۰}

تنفس میکروبی (mg CO ₂ -C g ⁻¹ day ⁻¹)			کل سرب افزوده شده به خاک (mg kg ⁻¹)
HA (۲۰۰ mg kg ⁻¹)	HA (۱۰۰ mg kg ⁻¹)	HA (۰ mg kg ⁻¹)	
۰/۴۵ ^{A,a}	۰/۴۱ ^{AB,a}	۰/۳۸ ^{B,a}	۰
۰/۳۴ ^{A,b}	۰/۳۳ ^{A,b}	۰/۳۱ ^{A,b}	۲۵۰
۰/۳۰ ^{A,b}	۰/۲۸ ^{A,c}	۰/۲۵ ^{B,b}	۵۰۰
۰/۱۹ ^{A,c}	۰/۱۸ ^{AB,d}	۰/۱۴ ^{B,c}	۱۰۰۰

حروف بالانویس بزرگ و کوچک کنار هر عدد به ترتیب نشان دهنده اختلاف آماری (P≤۰/۰۵)

در هر ردیف و هر ستون هستند.

میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری (P≤۰/۰۵) ندارند.

جمعیت باکتریایی خاک می‌شود. به علاوه سرب فعالیت ریزجانداران خاک را مختل کرده و به طور مستقیم آنها را از بین می‌برد. تشکیل کمپلکس با سوبسترای مورد نیاز آنزیم‌ها نیز از جمله تأثیرات غیرمستقیم فلزات سنگین است که کاهش تنفس پایه خاک را در پی دارد (۴۵). کاهش فراوانی باکتری‌ها و به دنبال آن کاهش مقدار تنفس پایه در اثر آلودگی سربی خاک را می‌توان به تخریب DNA و RNA، مهار سنتز پروتئین، جلوگیری از فرایندهای آنزیمی و مهار تقسیم سلولی و فعالیت‌های متابولیکی باکتری‌ها نسبت داد (۴۸). لازم به ذکر است که کاهش جمعیت باکتریایی در اثر آلاینده‌های ناشی از حضور فلزات سنگین دائمی نیست. با گذشت زمان باکتری‌ها فلزات را در فضاهای درون و برون سلولی تجمع داده و به این ترتیب با تنش فلزات سنگین سازگاری می‌یابند (۱۱). دالمن و هانسترا (۲۲) گزارش کردند باکتری‌هایی که با شرایط آلودگی سربی مواجه می‌شوند، پس از گذشت دو سال، می‌توانند حتی غلظت‌های بیش از ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب در خاک را تحمل کنند.

کربن زیست‌توده میکروبی

نتایج مقایسه میانگین اثر سطوح سرب و اسید هومیک بر مقدار کربن زیست‌توده میکروبی خاک در جدول ۶ ارائه شده است. با افزایش غلظت سرب، کربن زیست‌توده میکروبی در سطوح مختلف اسید هومیک به طور معنی‌داری کاهش یافت. مقدار

هومیک اختلاف آماری معنی‌داری وجود داشت (P≤۰/۰۵) (جدول ۵). افزایش غلظت سرب منجر به کاهش معنی‌دار تنفس پایه شد. میانگین تنفس پایه در تمام سطوح اسید هومیک، در تیمارهای Pb_{۲۵۰}، Pb_{۵۰۰} و Pb_{۱۰۰۰} به ترتیب ۲۱/۹۵، ۳۴/۱۴ و ۶۰ درصد نسبت به تیمار Pb_۰ کاهش یافت. در شرایط استفاده از ۲۰۰ میلی‌گرم اسید هومیک (HA_{۲۰۰}) نیز مقدار تنفس پایه در تیمارهای Pb_{۲۵۰}، Pb_{۵۰۰} و Pb_{۱۰۰۰} در مقایسه با شرایط عدم استفاده از آن (HA_۰) به ترتیب ۱/۱۸، ۱/۱، ۱/۲ و ۱/۳۵ برابر بیشتر بود (جدول ۵). بنابراین می‌توان گفت کاربرد اسید هومیک از طریق تشکیل کمپلکس با سرب و افزایش فراهمی آن منجر به افزایش مقدار جذب این عنصر توسط گیاه می‌شود، به دنبال کاهش سمیت ناشی از حضور سرب زیست فراهم در خاک و تضعیف تنش ایجاد شده، فعالیت و جمعیت میکروبی افزایش یافته و تنفس میکروبی روند افزایشی می‌یابد. به عبارت دیگر کاربرد مقادیر بالای اسید هومیک، تنش ناشی از حضور سرب را بیشتر کاهش داده و تنفس میکروبی کاهش یافته در حضور سرب را افزایش می‌دهد (۲۳).

کاهش تنفس میکروبی پایه‌ی خاک بر اثر سمیت سرب توسط محققان مختلف گزارش شده است (۲۹ و ۷۷). آنانوو و ناواچکو (۱۱) نیز کاهش چشمگیر تعداد و تنوع باکتری‌های خاک را بر اثر آلودگی سرب گزارش کرده‌اند. افزایش غلظت سرب از طریق کاهش رشد و زیست‌توده گیاهان مقدار ترشحات ریشه‌ای را در خاک کاهش می‌دهد و این امر منجر به کاهش

جدول ۶. مقادیر کربن زیست‌توده میکروبی در خاک تحت کشت گیاه افسنتین در

سطوح مختلف سرب در خاک در تیمارهای HA، HA_{۱۰۰} و HA_{۲۰۰}

کربن زیست‌توده میکروبی (mg CO _۲ -C kg ^{-۱})*			کل سرب افزوده شده به خاک (mg kg ^{-۱})
HA (۲۰۰ mg kg ^{-۱})	HA (۱۰۰ mg kg ^{-۱})	HA (۰ mg kg ^{-۱})	
۳۵۱۰۰ ^a	۳۳۳۰۰ ^{B,a}	۳۱۹۰۰ ^{C,a}	۰
۲۷۸۰۰ ^{A,b}	۲۴۸۰۰ ^{A,b}	۲۲۹۰۰ ^{B,b}	۲۵۰
۱۸۰۰۰ ^{A,c}	۱۷۳۰۰ ^{A,c}	۱۵۷۰۰ ^{B,c}	۵۰۰
۱۷۸۰۰ ^{A,c}	۱۶۸۰۰ ^{B,c}	۱۴۴۰۰ ^{C,c}	۱۰۰۰

حروف بالانویس بزرگ و کوچک کنار هر عدد به ترتیب نشان‌دهنده اختلاف آماری ($P \leq 0.05$) در هر ردیف و هر ستون هستند. میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری ($P \leq 0.05$) ندارند.

میکروب‌ها ایجاد شد، لذا خواص بیولوژیک خاک بهبود یافته و کربن زیست‌توده میکروبی افزایش می‌یابد (۲۳).

ضریب متابولیکی

نتایج مقایسه میانگین اثر سطوح سرب بر مقدار ضریب متابولیکی، حاکی از آن است که مقدار این شاخص با افزایش سطوح سرب تا غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم سرب در کیلوگرم خاک افزایش و در تیمار Pb_{۱۰۰۰} کاهش یافت (جدول ۷). ضریب متابولیکی شاخص اکوفیزیولوژیک است که براساس تئوری اکولوژیکی ادوم (Odum) توسعه یافته است و مقدار تنفس خاک (کربن تجزیه شده برای تولید انرژی) به ازای هر واحد زیست‌توده میکروبی (کربن مصرف شده برای رشد و تشکیل سلول‌های جدید) در واحد زمان را نشان می‌دهد. qCO₂ برای مطالعه تأثیر تنش ناشی از آلودگی‌های مختلف بر نیاز انرژی ریزجانداران خاک ارائه شده است (۱۰). هر چند برخی از محققین معتقدند، علیرغم اینکه qCO₂ به‌عنوان یکی از شاخص‌های ارزیابی کیفیت خاک‌های آلوده مبتلا به تنش به حساب می‌آید، لیکن نمی‌توان به‌طور قطع از این شاخص برای بیان تأثیر سوء تنش‌ها استفاده کرد. این شاخص در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین، به‌دلیل تغییر فعالیت متابولیکی و بازده مصرف کربن توسط میکروب‌ها، تغییر می‌کند (۱۳). بدین‌صورت که میکروب‌های خاک در شرایط تنش، به ازای هر

MBC در تیمار Pb_{۱۰۰۰} و در سطوح HA، HA_{۱۰۰} و HA_{۲۰۰} اسید هومیک، در مقایسه با Pb به ترتیب ۵۴/۸۵، ۴۹/۵۴ و ۴۹/۲۸ درصد کمتر بود ($P \leq 0.05$). کربن زیست‌توده میکروبی بخشی از کربن آلی خاک است که در بدن میکروب‌های زنده متمرکز شده و ۱ تا ۳ درصد از کربن آلی کل خاک را شامل می‌شود (۳۸). این پارامتر یکی از شاخص‌های میکروبی حساس به تنش فلزات سنگین است (۴۶). در شرایط وجود تنش، میکروارگانیزم‌های خاک نیاز به انرژی بیشتری برای تحمل شرایط نامطلوب ایجاد شده، دارند لذا درصد قابل توجهی از کربن سوستر را به‌جای رشدونمو، صرف حفظ بقا و تولید انرژی (در تنفس) می‌کنند (۶۲). بنابراین آلودگی سرب هم از طریق کاهش جمعیت میکروبی فعال (که حساسیت بیشتری نسبت به غلظت‌های بالای سرب دارند) و هم از طریق افزایش انرژی مورد نیاز برای بقا، منجر به کاهش MBC می‌شود (۱۰ و ۶۳). در تمام غلظت‌های سرب، افزایش میزان اسید هومیک میزان کربن زیست‌توده میکروبی را به‌طور معنی‌دار افزایش داد. به‌طوری‌که مقدار MBC در غلظت‌های ۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب در تیمار HA_{۲۰۰} نسبت به HA به ترتیب ۹/۱۱، ۱۷/۶۲، ۱۲/۷۷ و ۱۹/۱۰ درصد افزایش یافت. کاربرد اسید هومیک از طریق تشکیل کمپلکس با سرب و افزایش فراهمی آن منجر به افزایش مقدار جذب این عنصر توسط گیاه می‌شود، به‌دنبال کاهش سمیت ناشی از حضور سرب زیست‌فراهم در خاک و تضعیف تنش ایجاد شده، شرایط برای رشد و فعالیت

جدول ۷. مقادیر شاخص ضریب متابولیسم در خاک تحت کشت گیاه افستین در سطوح

مختلف سرب در خاک در تیمارهای HA_۰، HA_{۱۰۰} و HA_{۲۰۰}

qCO ₂ (mg CO ₂ -C. mg ⁻¹ . Cmic. day ⁻¹)			کل سرب افزوده شده به خاک (mg kg ⁻¹)
HA (۲۰۰ mg kg ⁻¹)	HA (۱۰۰ mg kg ⁻¹)	HA (۰ mg kg ⁻¹)	
۰/۰۱۲۸ ^{A,b}	۰/۰۱۲۲ ^{A,b}	۰/۰۱۲ ^{A,bc}	۰
۰/۰۱۲۲ ^{A,bc}	۰/۰۱۳۴ ^{A,ab}	۰/۰۱۳۵ ^{A,b}	۲۵۰
۰/۰۱۶۸ ^{A,a}	۰/۰۱۶۳ ^{A,a}	۰/۰۱۶ ^{A,a}	۵۰۰
۰/۰۱۰۵ ^{A,c}	۰/۰۱۰۹ ^{A,b}	۰/۰۰۹۹ ^{A,c}	۱۰۰۰

حروف بالانویس بزرگ و کوچک کنار هر عدد به ترتیب نشان دهنده اختلاف آماری (P≤۰/۰۵) در هر ردیف و هر ستون هستند.

میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری (P≤۰/۰۵) ندارند.

جدول ۸. مقدار پرولین و محتوای نسبی آب برگ (RWC) گیاه افستین در تیمارهای HA_۰،

و HA_{۱۰۰} در سطوح مختلف سرب در خاک

RWC (%)			پرولین (mg g ⁻¹ DW)			کل سرب افزوده شده به خاک (mg kg ⁻¹)
HA (۲۰۰ mg kg ⁻¹)	HA (۱۰۰ mg kg ⁻¹)	HA (۰ mg kg ⁻¹)	HA (۲۰۰ mg kg ⁻¹)	HA (۱۰۰ mg kg ⁻¹)	HA (۰ mg kg ⁻¹)	
۴۹/۷ ^{A,a}	۴۵/۴ ^{AB,a}	۴۳/۷ ^{B,a}	۰/۴ ^{B,b}	۰/۷۲ ^{AB,b}	۰/۹۶ ^{A,b}	۰
۴۱/۵ ^{A,bc}	۴۰/۱ ^{A,ab}	۴۰/۰ ^{A,ab}	۰/۵۳ ^{B,b}	۰/۹۳ ^{A,b}	۱/۴۱ ^{A,b}	۲۵۰
۴۳/۶ ^{A,ab}	۳۶/۵ ^{B,b}	۳۳/۱ ^{BC,c}	۱/۱۵ ^{C,a}	۱/۷۳ ^{B,a}	۲/۴۷ ^{A,a}	۵۰۰
۴۰/۵ ^{A,bc}	۳۸/۱ ^{A,b}	۳۷/۳ ^{A,bc}	۱/۳۸ ^{C,a}	۱/۸۲ ^{B,a}	۲/۸۵ ^{A,a}	۱۰۰۰

حروف بالانویس بزرگ و کوچک کنار هر عدد به ترتیب نشان دهنده اختلاف آماری (P≤۰/۰۵) در هر ردیف و هر ستون هستند. میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری (P≤۰/۰۵) ندارند.

۳/۴۵ برابر بیشتر بود. البته استفاده از اسید هومیک باعث کاهش میزان پرولین برگ در هر سطح سرب شد. در تیمارهای Pb_۰، Pb_{۲۵۰}، Pb_{۵۰۰} و Pb_{۱۰۰۰} مقدار پرولین برگ‌ها در HA_{۲۰۰} نسبت به HA_۰ به ترتیب ۵۸، ۶۲، ۵۳ و ۵۱ درصد کاهش نشان داد (جدول ۸). در شرایط تنش فلزات سنگین مقدار آمینواسیدهای گیاه به‌ویژه پرولین تغییر می‌کند (۸۳). پرولین در تعدیل تنش‌های محیطی، از جمله تنش فلزات سنگین نقش مهمی را ایفا کرده و در سلول‌های تحت تنش، احتمالاً نقش آنتی‌اکسیدانی دارد (۸۳). راهکار بیشتر گیاهان در واکنش به تنش فلزات سنگین، افزایش تولید سوپراکسید دیسموتازها است به طوری که از طریق پراکسیداسیون لیپیدها، خطر گونه‌های فعال

واحد سوبسترای اضافه شده کربن کمتری را صرف تشکیل زیست‌توده جدید کرده و بخش قابل توجهی را برای تأمین انرژی لازم برای بقا، صرف تنفس می‌کنند لذا این امر منجر به افزایش مقدار qCO₂ در خاک می‌شود (۴۵).

تغییرات شاخص‌های گیاهی

پرولین و محتوای نسبی آب برگ

با افزایش غلظت سرب در خاک مقدار پرولین برگ به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (P≤۰/۰۵). میزان پرولین برگ در غلظت‌های ۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم اسید هیومیک بر کیلوگرم خاک در تیمار Pb_{۱۰۰۰} نسبت به Pb_۰ به ترتیب ۲/۹۶، ۲/۵۲ و

جدول ۹. غلظت سرب شاخسار و ریشه گیاه افسنتین در تیمارهای HA_۰، HA_{۱۰۰} و HA_{۲۰۰} در سطوح مختلف سرب در خاک

غلظت سرب در ریشه (mg kg ⁻¹)			غلظت سرب شاخسار (mg kg ⁻¹)			کل سرب افزوده شده به خاک (mg kg ⁻¹)
HA (۲۰۰ mg kg ⁻¹)	HA (۱۰۰ mg kg ⁻¹)	HA (۰ mg kg ⁻¹)	HA (۲۰۰ mg kg ⁻¹)	HA (۱۰۰ mg kg ⁻¹)	HA (۰ mg kg ⁻¹)	
۷/۶۷ ^{A,d}	۳/۷۲ ^{B,d}	۲/۴۱ ^{C,d}	۲/۷۵ ^{A,d}	۲/۶۱ ^{A,d}	۲/۴۵ ^{A,d}	۰
۱۶/۳ ^{A,c}	۱۲/۸ ^{B,c}	۸/۶۲ ^{C,c}	۱۷/۱ ^{A,c}	۱۶/۱ ^{A,c}	۷/۸۱ ^{B,c}	۲۵۰
۲۸/۳ ^{A,b}	۲۳/۳ ^{B,b}	۱۹/۱ ^{BC,b}	۲۵/۴ ^{A,b}	۲۳/۶ ^{A,b}	۱۸/۴ ^{B,b}	۵۰۰
۴۲/۹ ^{A,a}	۳۸/۲ ^{AB,a}	۳۳/۳ ^{B,a}	۴۵/۲ ^{A,a}	۴۰/۷ ^{B,a}	۲۵/۵ ^{C,a}	۱۰۰۰

حروف بالانویس بزرگ و کوچک کنار هر عدد به ترتیب نشان‌دهنده اختلاف آماری ($P \leq 0/05$) در هر ردیف و هر ستون هستند.

میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری ($P \leq 0/05$) ندارند.

۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اسید هیومیک و در تیمار Pb_{۱۰۰۰} مقدار سرب موجود در شاخسار در مقایسه با تیمار Pb_۰ به ترتیب ۱۰/۳۹، ۱۵/۵۸ و ۱۶/۴۲ برابر افزایش یافت. همچنین اعمال سطوح مختلف اسید هیومیک، افزایش معنی‌دار غلظت سرب در شاخسار را در پی داشت. مقدار سرب شاخسار، در سطوح مختلف سرب به صورت $HA_{۲۰۰} < HA_{۱۰۰} < HA_{۰}$ بود (جدول ۹). مقدار تأثیرگذاری گیاه‌پالایی در رفع آلودگی ناشی از فلزات سنگین، به قابلیت دسترسی عناصر برای گیاهان بستگی دارد. استفاده از ترکیبات آلی کمپلکس‌کننده، نظیر اسید هیومیک از جمله راهکارهای افزایش زیست‌فراهمی فلزات سنگین است. اسید هیومیک به واسطه دارا بودن گروه‌های عاملی مختلف (COOH، -OH، -NH₂ و غیره)، می‌تواند با فلزات سنگین کمپلکس تشکیل داده و آنها را به فرم‌های قابل دسترس ریشه گیاهان تبدیل کند و بدین طریق انتقال سرب از خاک به اندام‌های هوایی را افزایش دهد (۱۵، ۲۴ و ۳۴).

غلظت سرب در ریشه

جدول ۹ نتایج مقایسه میانگین اثر سطوح سرب و اسید هیومیک را بر مقدار غلظت سرب در ریشه گیاه افسنتین نشان می‌دهد. غلظت سرب در ریشه در اثر افزایش غلظت سرب خاک به طور معنی‌داری افزایش یافت ($P \leq 0/05$). بیشترین مقدار سرب ریشه مربوط به تیمارهای Pb_{۱۰۰۰} و HA_{۲۰۰} بود. طبق تعاریف موجود، گیاه بیش‌انباشت بایستی حداقل ۱۰۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (۰/۰۱ درصد وزن خشک) سرب، نیکل و کروم، ۱۰۰۰

اکسیژن را کاهش داده و موجب کاهش آسیب به غشا می‌شوند (۷۱). افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و تحریک تولید پرولین از گلوتامیک اسید و افزایش مقدار آن در گیاه در خاک‌های آلوده به سرب توسط پژوهشگران مختلفی گزارش شده است (۷۱ و ۸۳). اوایس (۲۵) نیز بیان کرد که در خاک‌های آلوده به سرب مقدار پرولین در گیاهان مرتعی افزایش یافت، به عبارت دیگر گیاهان در مقابله با تنش ناشی از حضور مقادیر غیرمجاز سرب، پرولین سنتز می‌کنند.

افزایش غلظت سرب در تمام سطوح اسید هیومیک، کاهش معنی‌دار محتوای نسبی آب برگ را در پی داشت. البته کاهش RWC در سطوح بالای اسید هیومیک قابل ملاحظه نبود (جدول ۸). به طوری‌که در غلظت‌های ۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سرب، مقدار RWC گیاه در تیمار HA_{۲۰۰} در مقایسه با HA_۰ به ترتیب ۱۳، ۳۱، ۳ و ۸ درصد بیشتر بود. سرب در گیاه می‌تواند با کاهش اندازه و تعداد سلول‌های نگهبان روزنه (۱۷)، کاهش انتقال آب به برگ‌ها و کاهش سطح برگ، آسیب دیواره سلولی و در نتیجه اختلال در سرعت تعرق برگ و بروز تغییرات فراساختاری در اندامک‌های سلول‌های گیاه، RWC برگ را کاهش دهد (۲۰).

مقدار جذب سرب توسط شاخسار

از نظر مقدار سرب موجود در شاخسار بین سطوح مختلف سرب و اسید هیومیک اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده شد ($P \leq 0/05$). افزایش غلظت سرب در خاک منجر به افزایش مقدار سرب شاخسار شد. به طوری‌که در غلظت‌های ۰، ۱۰۰ و

جدول ۱۰. غلظت آهن و روی در شاخسار گیاه افستین در تیمارهای HA_۰، HA_{۱۰۰} و HA_{۲۰۰} در سطوح مختلف سرب در خاک

غلظت روی شاخسار (mg kg ⁻¹)			غلظت آهن شاخسار (mg kg ⁻¹)			کل سرب افزوده شده به خاک (mg kg ⁻¹)
HA (۲۰۰ mg kg ⁻¹)	HA (۱۰۰ mg kg ⁻¹)	HA (۰ mg kg ⁻¹)	HA (۲۰۰ mg kg ⁻¹)	HA (۱۰۰ mg kg ⁻¹)	HA (۰ mg kg ⁻¹)	
۷۴/۰A,a	۴۶/۱B,a	۳۴/۹C,a	۱۱۰A,a	۹۸/۴B,a	۸۷/۵C,a	۰
۴۳/۱A,b	۳۴/۹B,b	۲۹/۰C,b	۷۸/۸A,ab	۸۱/۸A,ab	۶۸/۵B,b	۲۵۰
۲۸/۱A,c	۲۶/۸A,c	۲۰/۹B,c	۷۵/۷A,ab	۶۶/۱AB,bc	۶۰/۲B,b	۵۰۰
۱۷/۱A,d	۱۴/۷A,d	۱۰/۴B,d	۵۸/۷A,b	۴۶/۹AB,c	۴۰/۸B,c	۱۰۰۰

حروف بالانویس بزرگ و کوچک کنار هر عدد به ترتیب نشان‌دهنده اختلاف آماری ($P \leq 0/05$) در هر ردیف و هر ستون هستند. میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری ($P \leq 0/05$) ندارند.

می‌دهند. با افزایش میزان سرب در خاک مقدار آهن و روی در شاخسار کاهش یافت (در هر ستون). لیکن کاربرد اسید هومیک منجر به افزایش غلظت این عناصر در شاخسار گیاهان شد (در هر ردیف). به طوری که غلظت آهن و روی در سطوح مختلف سرب به صورت $HA_{۲۰۰} < HA_{۱۰۰} < HA_{۰}$ بود. کاهش غلظت آهن و روی با افزایش غلظت سرب، نشان‌دهنده وجود اثرات آنتاگونیستی این عناصر و سرب در جذب و انتقال توسط گیاهان است که توسط برخی پژوهشگران نیز گزارش شده است (۷۲). اسید هومیک با تشکیل کمپلکس‌های فلز-اسید هومیک در خاک‌های آلوده، از یک سو از تثبیت فلزات توسط ذرات رس و تبدیل آنها به اشکال نامحلول ممانعت می‌کند و از سوی دیگر با افزایش حلالیت فلزات سنگین، قابلیت دسترسی آنها را برای گیاهان افزایش می‌دهد. لذا با افزایش زیست‌فراهمی سرب در خاک، آهن، روی و سرب در یک محیط رقابتی قرار می‌گیرند. افزایش میزان سرب در خاک همراه با اعمال اسید هومیک، مقدار جذب سرب را توسط گیاه در مقایسه با آهن و روی بیشتر تشدید می‌کند. همچنین با توجه به اینکه سرب از طریق کانال‌های کلسیمی قابلیت انتقال دارد، لذا جذب مقادیر بیشتر این عنصر در مقایسه با آهن و روی طبیعی است (۲۳ و ۷۲).

میلی‌گرم بر کیلوگرم کبالت و مس، و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیم جذب کند (۷۹). علیرغم اینکه نمی‌توان گیاه افستین را بیش‌انباشت دانست ولی مشاهده می‌شود افزودن مواد هیومیکی منجر به افزایش جذب سرب شده است. مواد هیومیکی با رفع سمیت سرب، افزایش حاصلخیزی و بهبود خواص فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک مقدار جذب عناصر پرمصرف و کم‌مصرف را افزایش داده و شرایط رشد و تکامل گیاه را در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین فراهم می‌کند (۲). هینس (۳۶) گزارش کردند که استفاده از اسید هومیک می‌تواند در شرایط وجود هم‌زمان فلزات سنگین و هیدروکربن‌های نفتی در خاک، باعث رشد گیاه شود. والدريجی و همکاران (۷۵) نیز مشاهده کردند در شرایط وجود غلظت‌های بالای سرب و بر در خاک چنانچه ۴۵ یا ۹۰ کیلوگرم در هکتار اسید هومیک به خاک اضافه شود، غلظت سرب و بر در ساقه و ریشه افزایش می‌یابد. آنها احتمال دادند این امر ناشی از افزایش نفوذپذیری غشا سلول‌های ریشه و انتقال راحت‌تر فلزات در نتیجه مصرف اسید هومیک باشد. با توجه به داده‌های جدول ۹ ماکزیمم مقدار جذب سرب در شاخساره نیز مربوط به تیمارهای $Pb1000$ و $HA200$ بود.

غلظت آهن و روی در شاخسار

ضریب تغلیظ زیستی شاخسار و ریشه (BCF) مقادیر ضریب تغلیظ زیستی شاخسار با افزایش غلظت سرب

جدول ۱۰ نتایج مقایسه میانگین اثر سطوح سرب و اسید هومیک بر مقادیر غلظت آهن و روی در شاخسار گیاه افستین را نشان

جدول ۱۱. مقادیر ضریب تغلیظ زیستی شاخسار و ریشه افستین در تیمارهای HA_۰، HA_{۱۰۰} و HA_{۲۰۰} در سطوح مختلف سرب در خاک

ریشه BCF			شاخسار BCF			کل سرب افزوده شده به خاک (mg kg ⁻¹)
HA (۲۰۰ mg kg ⁻¹)	HA (۱۰۰ mg kg ⁻¹)	HA (۰ mg kg ⁻¹)	HA (۲۰۰ mg kg ⁻¹)	HA (۱۰۰ mg kg ⁻¹)	HA (۰ mg kg ⁻¹)	
۰/۳۵ ^{A,a}	۰/۱۷ ^{B,a}	۰/۱۱ ^{C,a}	۰/۱۲۶ ^{A,a}	۰/۱۲۳ ^{A,a}	۰/۱۱۶ ^{A,a}	۰
۰/۰۵۹ ^{A,b}	۰/۰۴۷ ^{B,b}	۰/۰۳۱ ^{C,c}	۰/۰۶ ^{A,b}	۰/۰۶ ^{A,b}	۰/۰۳ ^{B,bc}	۲۵۰
۰/۰۵۴ ^{A,b}	۰/۰۴۴ ^{B,b}	۰/۰۳۶ ^{C,b}	۰/۰۵۵ ^{A,b}	۰/۰۴۶ ^{A,c}	۰/۰۳۶ ^{B,b}	۵۰۰
۰/۰۴۱ ^{A,bc}	۰/۰۳۷ ^{A,bc}	۰/۰۳۲ ^{C,c}	۰/۰۴ ^{A,b}	۰/۰۴ ^{A,c}	۰/۰۲۳ ^{B,c}	۱۰۰۰

حروف بالانویس بزرگ و کوچک کنار هر عدد به ترتیب نشان‌دهنده اختلاف آماری ($P \leq 0.05$) در هر ردیف و هر ستون هستند. میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری ($P \leq 0.05$) ندارند. #: غلظت اولیه سرب در خاک (۲۱/۴۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در محاسبه BCF در نظر گرفته شده است.

جدول ۱۲. فاکتور انتقال گیاهی افستین در تیمارهای شاهد، HA_{۱۰۰} و HA_{۲۰۰}

در سطوح مختلف سرب در خاک

فاکتور انتقال گیاهی (TF)			کل سرب افزوده شده به خاک (mg kg ⁻¹)
HA (۲۰۰ mg kg ⁻¹)	HA (۱۰۰ mg kg ⁻¹)	HA (۰ mg kg ⁻¹)	
۰/۳۵ ^{C,c}	۰/۷۳ ^{B,b}	۱/۰۱ ^{A,a}	۰
۱/۰۶ ^{AB,a}	۱/۲۷ ^{A,a}	۰/۹۱ ^{B,a}	۲۵۰
۰/۸۹ ^{B,b}	۱/۰۲ ^{A,ab}	۰/۹۶ ^{AB,a}	۵۰۰
۱/۱۲ ^{A,a}	۱/۰۶ ^{A,ab}	۰/۷۷ ^{B,b}	۱۰۰۰

حروف بالانویس بزرگ و کوچک کنار هر عدد به ترتیب نشان‌دهنده اختلاف آماری ($P \leq 0.05$) در هر ردیف و هر ستون هستند.

میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری ($P \leq 0.05$) ندارند.

ناشی از خصوصیات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی گیاهان، غلظت فلز و یا شرایط کشت باشد.

تأثیر غلظت‌های مختلف سرب و اسید هیومیک بر مقدار ضریب تغلیظ زیستی ریشه معنی‌دار بود ($P \leq 0.05$). بالاترین مقدار BCF ریشه در هر سطح سرب مربوط به تیمار HA_{۲۰۰} بود. به طوری که در غلظت‌های ۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب، مقدار BCF در تیمار HA_{۲۰۰} به ترتیب ۳/۴۵ و ۸/۵۳ برابر نسبت به تیمار HA_۰ بیشتر بود.

فاکتور انتقال گیاهی (TF)

جدول ۱۲ نتایج مقایسه میانگین اثر سطوح سرب و اسید هیومیک بر مقدار فاکتور انتقال از ریشه به شاخسار گیاه افستین را نشان می‌دهد. تغییرات مقدار فاکتور انتقال گیاهی با افزایش غلظت

در خاک کاهش یافت. اما استفاده از اسید هیومیک در تمامی سطوح سرب، سبب افزایش BCF گیاه افستین، نسبت به تیمار شاهد شد. BCF شاخسار گیاه افستین در غلظت‌های ۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام سرب در تیمار HA_{۲۰۰} به ترتیب ۸، ۱۰۰، ۳۸ و ۷۳ درصد در مقایسه با HA_۰ افزایش یافت. ترتیب مقادیر ضریب تغلیظ زیستی شاخسار در سطوح اسید هیومیک به صورت HA_{۲۰۰} < HA_{۱۰۰} < HA_۰ بود (جدول ۱۱). گیاه مناسب برای انباشتن فلزات باید ضریب تغلیظ زیستی بیشتر از یک داشته باشد و این بدان معناست که غلظت فلز در گیاه بایستی بیشتر از غلظت آن در خاک باشد (۸۲). مطابق با نتایج مارکویل و همکاران (۵۱) و نایو و همکاران (۶۱)، میزان ضریب تغلیظ زیستی برای سرب و کادمیوم در گیاهان آفتابگردان، کرچک، خردل و یونجه کمتر از یک است که با نتایج تحقیق حاضر همسو است. این امر ممکن است

در مقابل گیاهان غیرانباشتگر مقدار فاکتور تغلیظ زیستی کمتر از یک دارند (۱۴). با توجه به نتایج به دست آمده در این مطالعه و پایین بودن ضریب تغلیظ زیستی بخش‌های مختلف گیاه (ریشه و شاخسار) و فاکتور انتقال در سطوح مختلف سرب، می‌توان گفت گیاه افسستین به‌عنوان گیاه غیرانباشتگر شناخته می‌شود. لذا نمی‌توان از این گیاه برای اهداف گیاه‌پالایی استفاده کرد.

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد افزایش غلظت سرب اثرات نامطلوبی بر خواص بیولوژیک خاک داشت و منجر به کاهش محتوای نسبی آب بافت گیاهی، غلظت آهن و روی در شاخسار و فاکتور انتقال شد. استفاده از اسید هیومیک به‌عنوان اصلاح‌کننده آلی در خاک، احتمالاً از طریق تشکیل کمپلکس سرب-اسید هیومیک و افزایش فراهمی و حلالیت سرب، جذب و اندوزش سرب در ریشه و شاخسار گیاه را افزایش داد و اثرات سمی سرب بر این ویژگی‌ها را کاهش داد و به این ترتیب کارایی گیاه را در پالایش سبز سرب از خاک به‌گونه‌ای چشمگیر بهبود بخشید. از نظر مقدار سرب در ریشه و شاخسار اختلاف آماری معنی‌داری وجود نداشت و فاکتور انتقال و ضریب تغلیظ زیستی که ویژگی‌های ضروری برای گیاهان بیش‌اندوز محسوب می‌شوند، کمتر از یک بودند، بنابراین افسستین گیاهی غیرانباشتگر است، لیکن اسید هیومیک در کاهش آلودگی سرب و افزایش قابلیت دسترسی سرب برای گیاه افسستین مؤثر بود.

سرب و اسید هیومیک در خاک، روند منظمی نداشت. اما به‌طور کلی میانگین مقدار فاکتور انتقال در سطوح مختلف سرب و اسید هیومیک کمتر از یک بود. فاکتور انتقال گیاهی یک شاخص ساده برای ارزیابی کمی انتقال عناصر از خاک به گیاه و از جمله فاکتورهای مؤثر در شناسایی گیاهان مناسب برای استخراج گیاهی است که بیانگر نسبت غلظت عنصر فلزی در اندام‌هوایی گیاه به غلظت همان عنصر در ریشه است (۸). فاکتور انتقال گیاهی بیشتر از یک نشان‌دهنده انتقال آسان فلز از ریشه به اندام‌هوایی و در نتیجه انباشتگی فلزات سنگین در اندام‌هوایی گیاه است، درحالی‌که مقادیر کمتر از یک این فاکتور نشانه غیرانباشتگر بودن گیاهان است (۵۳). دلایل متفاوتی برای کاهش انتقال سرب از ریشه به شاخسار گزارش شده است که از آن جمله می‌توان به مواردی نظیر تجمع بیشتر سرب در ریشه و مقاومت گیاه در انتقال دادن این فلز از ریشه به شاخسار (۱)، جلوگیری از حرکت سرب به‌وسیله پکتین‌های دارای بار منفی واقع در دیواره سلولی (۱۲)، رسوب دادن سرب در فضاهای بین سلولی به‌صورت نمک‌های نامحلول سرب (۵۰)، تجمع دادن سرب در غشاهای پلاسمایی (۳۹)، تجزیه در واکنش ریزودرمی و غشاء سلولی (۴۱)، اشاره کرد. همچنین پورات و همکاران (۶۷) اظهار کردند که گیاهان می‌توانند از آندودرم ریشه به‌عنوان مانع فیزیکی در جلوگیری از انتقال سرب از ریشه به شاخسار استفاده نمایند و از طریق نوارهای کاسپاری موجود در آندودرم، مسیر حرکت سرب را مسدود کنند. گیاهان انباشتگر ضریب تغلیظ زیستی بزرگ‌تر از یک داشته و

منابع مورد استفاده

۱. تفویضی، م. ب. متشعزاده، و غ. ثواقبی. ۱۳۹۴. بررسی تأثیر سرب بر برخی ویژگی‌های رویشی هشت رقم ذرت در یک خاک آهکی، نشریه مدیریت خاک و تولید پایدار (۳): ۱۱۲-۹۷.
۲. چرم، م. و ا. علیزاده. ۱۳۸۸. بررسی اثرات کمپوست بقایای نیشکر و EDTA (اتیلن دی‌آمین تترا استیک اسید) در کشت کلزا جهت پالایش خاک‌های آلوده به کادمیوم، سرب و نیکل، مجله آب و خاک (علوم و صنایع غذایی) ۲۳(۲): ۲۹-۲۰.
۳. خداوردیلو، ح. و ر. حمزه‌نژاد تقلیدآباد. ۱۳۹۰. جذب و واجذب سرب و تاثیر تر-خشک‌شدن متناوب بر توزیع فلز در دو خاک با ویژگی‌های متفاوت، نشریه دانش آب و خاک ۲۱ (۱): ۱۶۳-۱۴۹.

۴. عباسپور، ع.، م. کلباسی، ش. حاج‌رسولی‌ها و ا. گلچین. ۱۳۸۴. بررسی آلودگی برخی خاک‌های کشاورزی ایران به کادمیم و سرب، نهمین کنگره علوم خاک ایران، تهران. ۵۴۳-۵۴۵.
۵. گلچین، ا. و س. شفیع. ۱۳۸۵. بررسی تاثیر کارخانه سرب و روی زنجان بر آلودگی خاک تا شعاع ۱۰ کیلومتری کارخانه، همایش خاک، محیط زیست و توسعه پایدار. کرج. ایران ۴۵۴-۴۵۲.
6. Adhikari, T. and M. V. Singh. 2003. Sorption characteristics of lead and cadmium in some soils of India. *Geoderma* 114: 81-92.
7. Ajayi, A. and O. F. Kamson. 1983. Determination of lead in roadside dust in Lagos City by atomic absorption spectrophotometry. *Environ. Int.* 9: 397-400.
8. Alloway, B. J. 1995. Heavy Metals in Soils, 2nd Edition. Blackie Academic and Professional, London, England.
9. Anderson, J. P. E. 1982. Soil respiration, PP: 831-871. A. L. and R. H. Mille (Eds.), *Methods of Soil Analysis. Part 2, Chemical and Micro Biological Properties*, American Society of Agronomy, Madison, WI.
10. Anderson, T. H. and K. H. Domsch. 1993. The metabolic quotient for CO₂. qCO₂ as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. *Soil Biology and Biochemistry* 25:393-395.
11. Anyanwu, C. U. and O. N. Nwachukwu. 2011. Heavy metal resistance in bacteria isolated from contaminated and uncontaminated soils. *International Journal of Research in Chemistry and Environment* 173-178.
12. Arias, J. A., J. R. Peralta-Videa, J. T. Ellzey, M. Ren, M. N. Viveros and J. L. Gardea-Torresdey. 2010. Effects of *Glomus deserticola* inoculation on Prosopis: enhancing chromium and lead uptake and translocation as confirmed by X-ray mapping, ICP-OES and TEM techniques. *Environmental and Experimental Botany* 68: 139-148.
13. Baath, E. 1989. Effects of heavy metals in soil on microbial processes and populations. *Water, Air and Soil Pollution* 47: 335-379.
14. Baker, A. J. M. 1981. Accumulators and excluder- strategies in the response of plants to heavy metals. *Journal of Plant Nutrition* 3: 643-654.
15. Bandieraa, M., G. Mosca and T. Vamerali. 2009. Humic acids affect root characteristics of fodder radish (*Raphanus sativus* L. var. *oleiformis* Pers.) in metal-polluted wastes. *Journal of Desalination* 246: 78-91.
16. Bates, L. S., R. P. Waldern and I. D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.
17. Bergmann, D. C. 2004. Integrating signals in stomatal development. *Current Opinion in Plant Biology* 7: 26-32.
18. Brookins, D. G. 1988. Eh-pH Diagrams for Geochemistry, Springer-Verlag, New York.
19. Cariny, T. 1995. The Reuse of Contaminated Land. John Wiley and Sons Ltd. Publisher. New Jersey.
20. Cenkei, S., I. H. Cioerci, M. Yildiz, C. Oezay, A. Bozdao and H. Terzi. 2010. Lead contamination reduces chlorophyll biosynthesis and genomic template stability in *Brassica rapa* L. *Environmental and Experimental Botany* 67: 467-473.
21. Chehregani, A., M. Noori and H. L. Yazdi. 2009. Phytoremediation of heavy-metal-polluted soils: screening for new accumulator plants in Angouran mine (Iran) and evaluation of removal ability. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72 (5): 1349-1353.
22. Doelman, P. and L. Haanstra. 1997. Effects of lead on the soil bacterial microflora. *Soil Biology and Biochemistry* 11: 487-91.
23. Evangelou, M., M. Ebel and A. Schaeffer. 2007. Chelate assisted phytoextraction of heavy metals from soil. Effect, mechanism, toxicity and fate of chelating agents. *Chemosphere* 68: 989-1003.
24. Evangelou, M. W. H., H. Daghan and A. Schaeffer. 2004. The influence of humic acids on the phytoextraction of cadmium from soil. *Journal of Chemosphere* 57: 207- 213.
25. Ewaise, E. A. 1997. Effects of cadmium, nickel and lead on growth, chlorophyll content and proteins of weed. *Biologica Plantarum* 39: 403-410.
26. Farsam, H. and N. Zand. 1991. A preliminary study of lead deposition on plant leaves in Tehran. *Iran Journal of Public Health* 20(1-4): 27-34.
27. Fischer, A., B. Brodziak-Dopierala, K. Loska and J. Stojko. 2017. The assessment of toxic metals in plants used in cosmetics and cosmetology. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 14(10): 1280.
28. Fontes, M. P. F., A. T. De Matos, L. M. Da Costa and J. C. L. Neves. 2000. Competitive adsorption of zinc, cadmium, copper, and lead in three highly weathered Brazilian soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 31: 2923-2958.
29. Gai, N., Y. Yang, T. Li, J. Yao, F. Wang and H. Chen. 2011. Effect of lead contamination on soil microbial activity measured by microcalorimetry. *Chinese Journal of Chemistry* 29: 1541-1547.
30. Gawronski, S. W. and H. Gawronska. 2007. Plant taxonomy for phytoremediation. PP: 79-88. In: N. Marmiroli et al. (Eds.), *Advanced Science and Technology for Biological Decontamination of Sites Affected by Chemical and Radiological Nuclear Agents*, Springer, US.
31. Gee, G. H. and J. W. Bauder. 1986. Particle size analysis. PP: 9: 383-411. In: A. Klute. (Eds.), *Methods of Soil Analysis. Physical Properties*. SSSA, Madison, WI.
32. Gupta, R. K. 2000. *Soil, Plant, Water and Fertilizer Analysis*. Agrobios, New Delhi, India.

33. Gupta, S., S. Nayek, R. N. Saha and S. Satpati. 2008. Assessment of heavy metal accumulation in macrophyte, agricultural soil and crop plants adjacent to discharge zone of sponge iron factory. *Environmental Geology* 55: 731-739.
34. Halim, M., P. Conte and A. Piccolo. 2003. Potential availability of heavy metals to phytoextraction from contaminated soils by exogenous humic substances. *Chemosphere* 52: 265-275.
35. Hayes, M. H. B. and R. L. Malcolm. 2001. Consideration of compositions and aspects of structures of humic substances. PP. 33-39. *In: Humic substances and chemical contaminants*, C.E. Clapp, M.H.B. Hayes, N. Sensi, B.R. Bloom, and P.M. Jardine (Eds.), *In: Proceeding of the Workshop and Symposium Int. Humic Substances Soil. Science Society Of America. Inc., Madison, WI.*
36. Hinz, C. 2001. Description of sorption data with isotherm equations. *Geoderma* 99: 225-243.
37. Jalali, M. and Z. V. Khanlari. 2008. Environmental contamination of Zn, Cd, Ni, Cu and Pb from industrial areas in Hamadan Province, western Iran. *Environmental Geology* 55: 1537-1543.
38. Jenkinson, D. S. and J. N. Ladd. 1981. Microbial biomass in soil measurement and turnover, PP. 415-471. *In: Paul, E. A. and Ladd, J. N. (Eds.). Soil Biochemistry*, Marcel Dekker, Inc., NY.
39. Jiang, W. and D. Liu. 2010. Pb-induced cellular defense system in the root meristematic cells of *Allium sativum* L. *BMC Plant Biology* 10(1): 40.
40. Khan, S., Q. Cao, Y. M. Zheng, Y. Z. Huang and Y. G. Zhu. 2007. Health risks of heavy metals in contaminated soils and food crops irrigated with wastewater in Beijing, China. *Environmental Pollution* 152: 686-692.
41. Kopittke, P. M., C. J. Asher, R. A. Kopittke and N. W. Menzies. 2007. Toxic effects of Pb²⁺ on growth of cowpea (*Vigna unguiculata*). *Environmental Pollution* 150: 280-287.
42. Kumpiene, J., A. Lagerkvist and C. Maurice. 2008. Stabilization of As, Cr, Cu, Pb and Zn in soil using amendment-a review. *Waste Management* 28(1): 215- 25.
43. Lagashetty, A., H. Vijayanand, S. Basavaraja, N. N. Mallikarjuna and A. Venkataraman. 2010. Lead adsorption study on combustion derived γ -Fe₂O₃ surface. *Bulletin of Materials Science* 33: 1. 1-6.
44. Lagier, T., G. Feuillade and G. Matejka. 2000. Interactions between copper and organic macromolecules: determination of conditional complexation constants. *Journal of Agronomy* 20:537-546.
45. Landi, L., G. Renella, J. L. Moreno, L. Falchini and Nannipieri, P. 2000. Influence of cadmium on the metabolic quotient, l-D-glutamic acid respiration ratio and enzyme activity: microbial biomass ratio under laboratory conditions. *Biology and Fertility of Soils* 32: 8-16.
46. Liao, M. and X. M. Xie. 2007. Effect of heavy metals on substrate utilization pattern, biomass, and activity of microbial communities in a reclaimed mining wasteland of red soil area. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 66: 217-223.
47. Liu, J. G., K. Q. Li, J. K. Xu, Z. J. Zhang, T. B. Ma, X. L. Lu, J. H. Yang and Q. S. Zhu. 2003. Lead toxicity, uptake, and translocation in different rice cultivars. *Plant Science* 165: 793-802.
48. Maier, R. M., L. L. Papper and C. P. Gebra. 2000. *Environmental Microbiology*. Academic Press, US.
49. Majer, B. J., D. Tscherko and A. Paschke. 2002. Effects of heavy metal contamination of soils on micronucleus induction in *Tradescantia* and on microbial enzyme activities: a comparative investigation. *Mutation Research* 515: 111-124.
50. Małecka, A., A. Piechalak, I. Morkunas and B. Tomaszewska. 2008. Accumulation of lead in root cells of *Pisum sativum*. *Acta Physiologiae Plantarum* 30: 5. 629-637.
51. Marchiol, L., G. Fellet, D. Perosa and G. Zerbi. 2007. Removal of trace metals by *Sorghum bicolor* and *Helianthus annuus* in a site polluted by industrial wastes: a field experience. *Journal of Plant Physiology and Biochemistry* 45(5): 379-387.
52. Masoudi, S. N., M. Ghajar Sepanlou and M. A. Bahmanyar. 2012. Distribution of lead, cadmium, copper and zinc in roadside soil of Sari-Ghaemshahr road, Iran. *African Journal of Agricultural Research* 7(2): 198-204.
53. McGrath, S. P., F. J. Zhao and E. Lombi. 2001. Plant and rhizosphere processes involved in phytoremediation of metal-contaminated soils. *Journal of Advances in Agronomy* 75: 1-56.
54. McLean, E. O. 1982. Soil pH and lime requirement. PP. 199-224. *In: A. L. Page (Eds.), Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties*. Madison, Wisconsin, USA.
55. Mioara Săndulache, R., F. Maria-Ema, I. Irina, S. Ioana, K. Azlan, S. Marius and L. Iuliana. 2017. Heavy metals and Gamma radioactivity bioaccumulation *Artemisia absinthium* L. grown on a waste dump. *Environmental Engineering and Management Journal* 16: 859-867.
56. Misra, V. and P. K. Chaturvedi. 2007. Plant uptake/bioavailability of heavy metals from the contaminated soil after treatment with humus soil and hydroxyapatite. *Environmental Monitoring and Assessment* 133(1-3): 169-76.
57. Mohammadian, M., J. Nouri, N. Afshari, J. Nassiri and M. Nourani. 2008. Investigation of heavy metal concentrations in the water wells close to Zanjan zinc and lead smelting plant. *Iran Journal of Health Environment* 1: 51-56.
58. Moreno, A. M., J. R. Quintana, L. Perez and J. G. Parra. 2005. Factors influencing lead sorption-desorption at variable added metal concentrations in Rhodoxeralfs. *Chemosphere* 64: 758-763.
59. Muchuweti, M., J. W. Birkett, E. Chinyanga, R. Zvauya, M. D. Scrimshaw and J. N. Lester. 2006. Heavy metal content of vegetables irrigated with mixture of wastewater and sewage sludge in Zimbabwe: implications for human health. *Agriculture, Ecosystem and Environment* 112: 41-48.
60. Nelson, D. W. and L. E. Sommers. 1986. Total carbon, organic carbon and organic matter. PP. 539-579. *In: Page. A.*

- C. (Eds.), *Methods of Soil Analysis, Part 2*. American Society Agronomy. US.
61. Niu, Z., T. Sun, Y. Li and H. Wang. 2007. Evaluation of phytoextracting cadmium and lead by Sunflower, Ricinus, Alfalfa and Mustard in hydroponic culture. *Journal of Environmental Sciences* 19: 961-967.
 62. Odum, E. P. 1985. Trends expected in stressed ecosystems. *BioScience* 35: 419-422.
 63. Papa, S., G. Bartoli, A. Pellegrino and A. Fioretto. 2010. Microbial activities and trace element contents in an urban soil. *Environmental Monitoring and Assessment* 165: 193-203.
 64. Parizanganeh, A., P. Hajisoltani and A. Zamani. 2010. Assessment of heavy metal pollution in surficial soils surrounding Zinc Industrial Complex in Zanjan-Iran. *Procedia Environmental Sciences* 2: 162-166.
 65. Parizanganeh, A., V. C. Lakhan, H. Jalalian. 2007. A geochemical and statistical approach for assessing heavy metal pollution in sediments from the southern Caspian coast. *International Journal of Environmental Science and Technology* 4 (3): 351-358.
 66. Piccolo, A. and G. Celano. 1992. Distribution of heavy metals in profiles of a hydromorphic soil system. *Fresenius Environol Bulletin* 1:16-21.
 67. Pourrut, B., M. Shahid, C. Dumat, P. Winterton and E. Pinelli. 2011. Lead uptake, toxicity, and detoxification in plants, *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 213: 113-36.
 68. Rattan, R. K., S. P. Datta, P. K. Chhonkar, K. Suribabu and A. K. Singh. 2005. Long-term impact of irrigation with sewage effluents on heavy metal content in soils, crops and groundwater-a case study. Agriculture. *Ecosystem and Environment* 109: 310-322.
 69. Romkens, P., L. Bouwman, J. Japenga and C. Draaisma. 2002. Potentials and drawbacks of chelates enhanced phytoremediation of soils. *Environmental Pollution* 116: 109-121.
 70. Salt, D. E., M. Blaylock, P. B. A. N. Kumar, V. Dushenkov, B. D. Ensley, I. Chet and I. Raskin. 1995. Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. *Biotechnology* 13: 468-475.
 71. Schaller, H. 2003. The role of sterols in plant growth and development. *Progrss in Lipid Research* 42: 63-175.
 72. Sharma, P. and R. S. Dubey. 2005. Lead toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 17: 35-52.
 73. Sipos, P. 2009. Distribution and sorption of potentially toxic metals in four forest soils from Hungary, *Central European Journal of Geosciences* 1(2): 183 -192.
 74. Stevenson, F. J. and M. S. Ardakani. 1972. Organic matter reactions involving micronutrients in soils. PP. 79-115. In: Mortvedt J. J. (Eds), *Micronutrients in Agriculture*. American Society of Agronomy, Madison.
 75. Valdrighi, M. M., A. Pera, M. Agnolucci, S. Frassinetti, D. Lunardi and G. Vallini. 1996. Effects of compostderived humic acids on vegetable biomass production and microbial growth within a plant (Cichorium intybus) Soil system: A comparative study. *Journal of Agriculture Ecosystems and Environment* 58:133-144
 76. Vassilev, A., J. P. Schwitzguebel, T. Thewys, D. Van Der Lelie and J. Vangronsveld. 2004. The use of plants for remediation of metal-contaminated soils. *Scientific World Journal* 4: 9-34.
 77. Verma, R. K., D. V. Yadav, C. P. Singh, A. Suman and A. Gaur. 2010. Effect of heavy metals on soil respiration during decomposition of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) trash in different soils. *Plant Soil Environmental* 56: 76-81.
 78. Wardle, D. A. and A. Ghani. 1995. A critique of the microbial metabolic quotient (qCO_2) as a bioindicator of disturbance and ecosystem development. *Soil Biology and Biochemistry* 27: 1601-1610.
 79. Watanebe, M. E. 1997. Phytoremediation on the brink of commercialization. *Environmental Science and Technology* 31: 182-186.
 80. Wuana, R. A. and F. E. Okieimen. 2011. Heavy metals in contaminated soils: a review of sources, chemistry, risks and best available strategies for remediation. *International Scholarly Research Notices* doi: 10. 5462.
 81. Yano-melo, A. M., O. J. Sanggin and L. C. Maia. 2003. Tolerance of mycorrhized banana to saline stress. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 95: 343-348.
 82. Zayed, A., S. Gowthaman and N. Terry. 1998. Phytoaccumulation of toxic trace elements by wetland plants: I. Duckweed (*Lemna minor* L.). *Journal of Environment Quality* 27: 715-721.
 83. Zhang, H. H., M. Tang and C. Zheng. 2010. Effect of inoculation with AM fungi on lead uptake, translocation and stress alleviation of *Zea mays* L. seedlings planting in soil with increasing lead concentrations. *European Journal of Soil Biology* 46: 306-311.

The Effect of Humic Acid on the Phytoremediation Efficiency of Pb in the Contaminated Soils by Wormwood Plant (*Artemisia absantium*)

M. H. Rasouli-Sadaghiani*, H. Karimi, S. Ashrafi Saeidlou
and H. Khodaverdiloo¹

(Received: April 27-2016 ; Accepted: February 28-2018)

Abstract

Because of the undesirable effects of lead on soil properties and human health, evaluation of its remediation methods seems to be essential. In order to evaluate the effect of humic acid (HA) on the decontamination of lead (Pb) spiked-soils in the presence of wormwood plant (*Artemisia absantium*), an experiment was carried out in a completely randomized block design with three replications. Experiment factors including different concentrations of Pb ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ in the solid form) (0, 250, 500 and 1000 mg kg^{-1}) and levels of HA (0, 100 and 200 mg kg^{-1}) were considered. At the end of the growing period of plants, some soil and plant properties were measured. According to the results, BR, MBC, root and shoot dry weights, RWC and Fe and Zn concentrations in the shoot were decreased by increasing the soil Pb concentration. So, the mean values of BR and MBC in Pb_{1000} treatment was 60 and 51.1 percent lower than those of Pb_0 , respectively. Pb accumulation in the root and shoot was enhanced as a result of the increase in the soil Pb concentration. The maximum Pb concentration of shoot (37.10 mg kg^{-1}) and root (38.1 mg kg^{-1}) was seen in the Pb_{1000} treatment. Also, the results suggested that humic acid had a positive effect on the shoot of Fe, Zn and Pb concentrations. So, the concentration of these elements in HA_{200} treatment showed an increase 1.25, 1.64 and 1.66 times more than that of HA_0 , respectively. Leaf proline amount was increased significantly by elevating the soil Pb concentration; however, application of 200 mg kg^{-1} humic acid decreased leaf proline by 54.5 percent, as compared to the control (HA_0). Therefore, humic acid effect on increasing the plant Pb uptake, improving soil biological properties, and increasing availability and dissolution of Pb showed its ability in promoting the phytoremediation efficiency. According to the obtained results of this study, wormwood plant (*Artemisia absantium*) is a non-accumulator that could not be used for phytoremediation purposes.

Keywords: Soil contamination, Pb, Phytoextraction, Humic acid, Bio-accumulation

1. Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.

*: Corresponding Author, Email: m.sadaghiani@urmia.ac.ir