مقایسه تأثیر استفاده از بیوچار، chelating agent ها و ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) در بهبود کارایی زیست پالایی گیاهی برای خاک‌های آلوده به فلزات سنگین

سیده ستاره علمدار

دانشجوی کارشناسی ارشد محیط‌زیست دانشگاه تهران

چکیده

آلودگی خاک بوسیله فلزات سنگین از مشکلات و نگرانی‌هایی است که به دلیل فعالیت‌های معدن کاری، پساب و فاضلاب نیروگاه‌ها و صنایع مختلف، پساب‌های کشاورزی که حاوی آفت کش‌ها و کودهای شیمیایی هستند و دفع نامناسب مواد زائد خطرناک بوجود می‌آید. زیست‌پالایی گیاهی از جمله روش‌های پالایش و پاکسازی خاک است که به عنوان روشی دوستدار طبیعت و به صرفه اقتصادی برای حذف یا کاهش آلاینده‌های موجود در خاک به خصوص برای کشورهای در حال پیشرفت مانند ایران می‌تواند کاربرد فراوانی داشته باشد. برای بهبود کارآیی زیست پالایی گیاهی می‌توان این روش را با روش‌های پالایش دیگر تلفیق کرد. در این مقاله بهبود کارآیی زیست پالایی گیاهی در به کار بردن آن به همراه ۳ روش دیگر شامل بیوچار، ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) و استفاده از Chelating agent[1] ها را مورد بررسی قرارمی‌دهیم. نتایج نهایی نشان دادند که میزان تأثیر مواد شیمیایی زیست تخریب‌پذیر بر روی جذب فلزات سنگین به صورت چشم‌گیرانه‌ای بیشتر از دو روش دیگر بود و بعد از آن تأثیر بیوچار بر روی کارآمدی زیست پالایی گیاهی بیشتر از استفاده از ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه می‌باشد. chelating agent ها می‌توانند آثار مخربی بر روی مقدار زیست توده گیاه بگذارند در صورتی که دو روش دیگر به طور مؤثری در حفظ و افزایش زیست توده عمل می‌کنند.

کلمات کلیدی: آلودگی خاک، فلزات سنگین، زیست پالایی گیاهی، بیوچار، ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه، chelating agent

مقدمه

با توجه به پیشرفت‌های صنعتی و افزایش جمعیت در سرتاسر جهان آلودگی خاک‌ها توسط فلزات سنگین به یکی از معضلات بزرگ زیست‌محیطی تبدیل شده است. فلزات سنگین با توجه به اینکه قابلیت زیست تخریب پذیری ندارند برای مدت زمان طولانی می‌توانند در محیط باقی بمانند (Karami and Zulkifli,2010). فلزات سمی از راه‌های طبیعی و انسانی می‌توانند وارد اکوسیستم شوند. متداول‌ترین منابع طبیعی فلزات سنگین نشت مواد معدنی، فرسایش و فوران‌های آتش فشانی است و از موارد انسانی می‌توان به حفاری مواد معدنی، کودها و آفت‌کش‌ها و تلنبارکردن پسماندهای معدنی اشاره کرد (Wuana and Okieimen, 2011).

به طور کلی اکثر فلزات سنگین براساس خصوصیات و غلظتشان سمی به شمار می‌روند. تجمع فلزات سمی در زمین‌های کشاورزی و پیکره‌های آب منجر به تهدید جدی برای موجودات زنده به دلیل تجمع زیستی فلزات در زنجیره غذایی می‌شود (Fageria et al., 2009). به طور کلی سه دسته اصلی برای پالایش و اصلاح خاک وجود دارد (Ward and Singh,2004) که به صورت زیر دسته بندی می‌شوند:

[1] مواد شیمیایی زیست تخریب پذیر

روش‌های اصلاح فیزیکی: مثل روش دفع حرارتی، سلب هوا و سوزاندن
روش‌های اصلاح شیمیایی: مثل استخراج حلال، خنثی‌سازی، کاهش اکسیداسیون، استفاده از مواد شیمیایی زیست تخریب پذیر
روش‌های بیولوژیکی : کشاورزی در زمین (land farming) و بیوچار (biochar)
روش زیست پالایی گیاهی جزو روش‌های بیولوژیکی محسوب می‌شود و حتی با وجود گستردگی که دارد آن را به عنوان دسته چهارم روش‌های اصلاح خاک به حساب می‌آورند.
زیست پالایی گیاهی یک روش پالایش خاک است که بوسیله گیاهان و میکروارگانیسم‌های موجود در خاک اقدام به حذف یا کاهش آلاینده‌های خاک می‌کند (Prasad and Freitas, 2003).
زیست پالایی گیاهی به چهار زیر گروه اصلی تقسیم می‌شود (Karami and Zulkifli, 2010) که عبارتند از :
زیست استخراج گیاهی: استفاده از گیاهان برای حذف فلزات از خاک و انتقال آن‌ها به قسمت‌های هوایی گیاه (Patra et al., 2019).
زیست تثبیت گیاهی : اساساً مکانیسمی در گیاهان است که بوسیله ریشه گیاهان و باکتری‌های وابسته به آن‌ها باعث بی‌تحرکی و کاهش در دسترس بودن آلاینده‌های درون خاک می‌شود (Ali et al., 2013).
بی‌ثباتی زیستی: گیاهان باعث بی‌ثبات شدن آلودگی‌های خاک و کاهش پایداری آن‌ها شده و می‌توانند باعث بخار شدن آلاینده‌ها به سمت اتمسفر شوند (Ali et al., 2013).
ریزوفیلتراسیون: شامل جذب آلاینده‌ها از پساب‌ها و جریانات آبی حاصل از پسماندها بوسیله ریشه گیاهان می‌باشد (Zhang et al., 2010).
زیست پالایی گیاهی یک روش طبیعی، مقرون به صرفه، زیبا از نظر زیبا شناختی، دوستدار ارگانیسم خاک که انرژی مورد نیاز خود را از خاک می‌گیرد (Chaney et al., 2005) و از همه مهم‌تر حتی بعد از حذف آلاینده‌ها از خاک حاصلخیزی خاک را حفظ می‌کند (Kirkham et al., 2006).

با وجود مزایای گفته شده این روش محتاج مواد معدنی خاص و شرایط آب و هوایی ویژه است، همچنین این روش به زمان زیادی احتیاج دارد، استحکام گیاهان محدود است و کارایی کمتری نسبت به دیگر روش‌های بیولوژیکی دارد. از دیگر معایب این روش محدودیت در پالایش آلاینده‌هایی است که تا لایه‌های عمیق خاک پیش رفته باشند؛ و در نهایت پیچیدگی‌های دفع موادزائدآلوده‌می‌باشد(HarterandNaidu.,2001).
برای بهبود زیست پالایی گیاهی سه ویژگی مهم مد نظر است که عبارتند از:
افزایش دسترسی زیستی در فلزات سنگین: می‌توان فلزات سنگین را بر اساس جذب شدن توسط گیاهان به سه دسته قابل دسترس، قابل تبادل و غیر قابل دسترس تقسیم کرد (Wei et al., 2008).راه‌های مختلفی برای افزایش دسترسی زیستی در فلزات سنگین مثل کاهش یا افزایش pH خاک، خنثی‌سازی خاک و همچنین استفاده از کودها و مواد شیمیایی زیست تخریب پذیر وجود دارد. افزایش رشد گیاه (افزایش زیست توده گیاهان): از آنجا که زیست توده نقش بسیار مهمی در حذف فلزات سنگین دارد، افزایش آن باعث بهبود کارایی زیست پالایی گیاهی خواهد شد. روش‌های فیزیکی مثل تنظیم نور و دما، روش‌های شیمیایی مثل استفاده از کودها و روش‌های فیزیکو شیمیایی مثل تنظیم pH خاک می‌توانند در افزایش مقدار زیست توده گیاه مؤثر باشند (Wei et al., 2008).
کاهش طول دوره زیست پالایی گیاهی: از آنجا که یکی از معایب روش زیست پالایی گیاهی مدت زمان طولانی است که این روش برای پالایش احتیاج دارد اگر بتوانیم طول دوره را کوتاه‌تر کنیم به بهبود کارایی زیست پالایی گیاهی می‌افزاییم. از راه‌های کوتاه کردن دوره اصلاح می‌توان به برطرف کردن خواسته‌های گیاه مورد استفاده مثل تنظیم دما، نور و CO_2 اشاره کرد. همچنین یکی از دیگر از تکنیک‌هایی که می‌توان از آن بهره گرفت انتقال نهال به مزرعه و زمین‌های آلوده به جای کاشت دانه گیاه است.که البته میزان مؤثر بودن این تکنیک هنوز به طور

کامل مشخص نیست (Wei et al., 2008).
در این مقاله در نظر داریم سه روش اصلاح را که به صورت تلفیقی با روش زیست پالایی گیاهی برای حذف و یا کاهش فلزات سنگین از خاک به کار برده شده‌اند را با هم مقایسه کنیم. برای مقایسه میزان تأثیر هر روش بر روی زیست پالایی گیاهی دو پارامتر زیست توده و جذب فلزات سنگین در گیاه را در این سه روش با هم مقایسه می‌کنیم.

۱. تأثیر بیوچار در بهبود کارایی زیست پالایی گیاه برای اصلاح خاک آلوده به فلزات سنگین با استفاده از گیاه آفتابگردان

بیوچار ماده‌ای شبیه ذغال است که با سوزاندن مواد آلی حاصل از پسماندهای کشاورزی یا جنگل (پسماندهایی که حاوی زیست توده باشند) در یک فرایند کنترل شده به نام تجزیه در اثر حرارت تولید می‌شود. اگر چه بیوچار حاوی مقادیر زیادی مواد مغذی مورد نیاز گیاه است (Ren et al., 2019).
در آزمایش اول بیوچار تهیه شده از گیاه لیچی که درختی با میوه‌های استوایی است در غلظت‌های ۰، ۲/۵، ۵ و ۱۰ درصد به خاک آلوده به سرب، کادمیوم، آرسنیک و روی که از زمین‌های اطراف معدنی درشهر شوای کوشان استان هونان چین تهیه شده است اضافه می‌شود (Liu et al., 2020). در این آزمایش برای زیست پالایی گیاهی از گیاه آفتابگردان به دلیل سطح برگ‌های بزرگ و ریشه‌های توسعه یافته آن و همچنین زیست توده بالا و سازگاری زیادی که با محیط دارد استفاده شده است (Guo et al., 2007).

۲.بهبود رشد گیاه با آغشتن خاک‌های آلوده به فلزات سنگین به ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه(PGPR)

ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه به آن دسته از باکتری‌های خاک گفته می‌شود که روی بذر ریشه گیاهان تلقیح شده و رشد گیاهان را تقویت می‌کند. این ریزوباکتری‌ها با بسیاری از گیاهان روابط همزیستی ایجاد می‌کنند و اگرچه انگل‌های ریزوباکتری هم در خاک وجود دارد ولی این اصطلاح معمولاً به باکتری‌هایی گفته می‌شود که روابط مفیدی را برای هر دو طرف ایجاد می‌کنند. ریزوباکتری محرک رشد گیاه در ابتدا در کشاورزی و جنگلداری برای افزایش عملکرد گیاه، رشد گیاه و مقاومت گیاهان در برابر بیماری‌ها و به ویژه برای غلبه بر تنش‌هایی که در شرایط سیل، دمای بالا و شرایط اسیدی در گیاه بوجود می‌آمد استفاده می‌شدند. این گروه از میکروب‌ها بر اساس نوع ارتباطشان با گیاه به دو دسته اصلی تقسیم می شوند. ePGPR که میکروب‌هایی هستند که بیرون از سلول گیاه زندگی می‌کنند و iPGPR که در داخل سلول‌های گیاه قرار دارند و با تولید برآمدگی‌ها و گره‌هایی در گیاه با آن همزیستی می‌کنند. (Reed and Glick, 2005).
ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه به دو صورت مستقیم و غیر مستقیم رشد گیاه را تقویت می‌کنند. مکانیسم‌های مستقیم شامل کاهش سطح اتیلن از طرق سنتز آمینوسیلوپروپان و کربوکسیلات، تأمین فسفر قابل دسترس برای گیاه، تثبیت نیتروژن اتمسفر برای استفاده گیاهان و تولید هورمون‌های گیاهی مثل آکسین‌ها است (Glick et al., 1995).
برای مکانیسم‌های غیر مستقیم هم می‌توان به افزایش مقاومت گیاهان نسبت به بیماری‌ها اشاره کرد (Guo et al., 2004).
مهم‌ترین عامل محدودکننده ریزوباکتری‌ها تحمل آن‌ها در برابر غلظت فلزات سنگین است. بر اساس مقدار و نوع ترکیبات آلی که از ریشه گیاهان تراوش می‌کند و همچنین مقدار و نوع فلزات سنگین جمعیت ریزوباکتری‌های بین گیاهان می‌توانند در بین گونه‌های مشابه در خاک‌های آلوده یا حتی در مراحل مختلف رشد گیاه متفاوت باشد (Wu et al., 2006).
در آزمایش دوم تأثیرات ریزوباکتری‌ها بر روی جذب فلزات سنگین روی و کادمیوم با استفاده از گیاه آفتابگردان مورد بررسی قرار می‌گیرد (Marques et al., 2013). باکتری‌های انتخاب شده به صورت ذاتی در سایت آلوده بوده‌اند و جداسازی باکتری‌ها از رسوبات جمع آوری شده از سایت انجام شده است. خاک استفاده شده در این آزمایش از عمق

۲۰ سانتی متری خاک‌های کشاورزی شمال کشور پرتغال برداشت شده است و غلظت فلزات سنگین برای کادمیوم (۰، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ mg/kg) و برای روی (۰، ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ mg/kg) می‌باشد. ریزو باکتری‌های استفاده شده Ralstonia eutropha (B1) و Chrysiobacterium humi (B2) بودند که این ریزوباکتری‌ها توان تحمل Cd و Zn را تا ۵۰۰ میلی گرم بر لیتر در کشت مایع از خود نشان دادند (Pires,2010).

۳.استفاده از مواد شیمیایی زیست تخریب‌پذیر (chelating agent) برای بهبود زیست پالایی گیاهی در حذف آلاینده‌های فلزی از خاک

Chelating agent ها ترکیبات شیمیایی هستند که اساس کار آن‌ها اتصال به یون‌های فلزی است و برای حذف فلزات سمی از محیط‌های آلوده‌ای مثل خاک استفاده می‌شوند. مواد شیمیایی زیست تخریب‌پذیر با منشأ طبیعی شامل آمینو اسید، استیک اسید، سیتریک اسید و آسکوربیک اسید هستند. در روش‌های پالایش خاک ضروری است که از مواد زیست تخریب‌پذیر استفاده کنیم چرا که ماده‌ای مانند EDDT یا اتیلت مدین ترا استیک اسید با وجود تأثیر بسیار بالایی که بر روی جذب فلزات سنگین توسط گیاهان می‌گذارد به دلیل اینکه زیست تخریب‌پذیر نبوده و می‌تواند باعث شست و شوی فلزات سنگین به لایه‌های زیرین خاک و حتی آب‌های زیرزمینی شود، استفاده آن توصیه نمی‌شود (Wang et al., 2018).

به طور کلی استفاده از مواد شیمیایی زیست تخریب‌پذیر می‌تواند باعث کاهش زیست توده در گیاهان و همچنین افزایش سطح H_2O_2 و مالون دی آلدئید (MDA) در برگ گیاهان می‌شود که این دو پارامتر شاخص‌هایی برای میزان اکسیداسیون در گیاه می‌باشند. در این آزمایش از سه ترکیب شیمیایی شامل سیتریک اسید (CA)، اکسالیک اسید (OA) و اتیلن دی آمین (EDDS) برای بهبود کارایی زیست پالایی گیاهی استفاده می‌شود. هر سه ماده شیمیایی جزو مواد شیمیایی زیست تخریب‌پذیر هستند.

مواد و روش‌ها

۱.آزمایش اول

نحوه تهیه بیوچار در این آزمایش به این صورت بوده که شاخه‌های گیاه لیچی با آب دیونیزه شسته شده و در دمای ۸۰ درجه به مدت ۱۲ ساعت خشک می‌شود، پس از اینکه شاخه‌ها را به قطعات کوچک‌تری تقسیم می‌کنیم در دمای ۵۰۰ درجه و به مدت ۶ ساعت شاخه‌ها در کوره قرار می‌دهیم. بعد از خنک شدن محصول آن را از الک با قطر ۰/۲۸ عبور داده و آن را برای رسیدن به pH خنثی با آب دیونیزه شست و شو می‌دهیم (Liu et al., 2020).

پس از خرد کردن و مخلوط کردن سطح خاک تا عمق ۱۵ سانتی متری در ۱۲ قسمت کاشت گیاه آفتابگردان را انجام داده و از بیوچار در غلظت‌های ۰ ، ۲.۵، ۵ و ۱۰ درصد کل وزن بیوچار تولیدی به خاک اضافه می‌کنیم (Liu et al., 2020).

سطح دانه‌های آفتابگردان با Naocl استریل شده و با آب مقطر شست و شو داده می‌شود و برای جوانه زدن در دستگاه در دمای ۲۵ درجه قرار می‌گیرد. هیچ کودی در هنگام کشت آفتابگردان به خاک اضافه نمی‌شود و ۵ تا ۶ ماه بعد از اضافه شدن بیوچار به خاک گیاهان و خاک ریزوسفر برداشت می‌شود. در نهایت با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری و طیف سنجی انتشار اتمی پلاسما غلظت فلزات را مشخص می‌کنیم (Fan et al., 2016).

۲.آزمایش دوم

خاک برداشت شده از زمین‌های کشاورزی را به اندازه‌هایی کوچک‌تر از ۲ میلی متر آسیاب کرده و در دو مرتبه و هر بار به مدت ۷۰ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه قرار می‌دهیم و سپس آن را برای ۴ روز در اجاق با دمای ۴۰ درجه سانتیگراد می‌گذاریم. برای آلوده کردن خاک به فلزات سنگین ترکیبات $cdcl_2$ و $zncl_2$ به خاک اضافه شد. خاک‌های تیمار شده با افزودن آب

دیونیزه به آن به مدت یک هفته خیس نگه داشته می‌شود تا خاک به ۶۰ درصد ظرفیت نگهداری آب خود برسد. سپس خاک را برای دو هفته در گلخانه نگه می‌دارند. دانه‌های تخم آفتابگردان با NaocI استریل شده و سپس با آب یونیزه شسته می‌شوند و در هر گلدان حاوی ۳۰۰ گرم خاک ۱۰ دانه آفتابگردان کاشت شد. هر گلدان بوسیله ۱۰ میلی لیتر محلول حاوی هر باکتری آغشته شد. ۱۰ میلی لیتر ماده مغذی استریل شده (TSB) به نمونه B0 که نمونه کنترلی فاقد ریزوباکتری بود اضافه شد و در نهایت مقدار زیست توده و تجمع فلزات سنگین در گیاه آفتابگردان اندازه گیری شد (Marques et al., 2013).

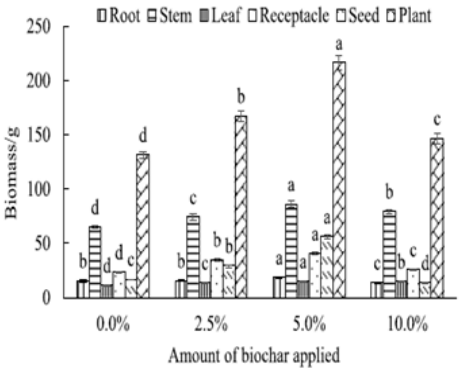
۳.آزمایش سوم

نمونه خاک از عمق صفر تا ۲۵ سانتی متری یک سری ایستگاه‌های کشاورزی آزمایشگاهی متعلق به دانشگاه علم و صنعت در جنوب غربی چین استان هونان برداشت شده است و در ادامه به فلزات سنگین اورانیوم و کادمیوم آلوده می‌شود. نمونه خاک ابتدا هوادهی شده، خرد می‌شود و سنگ‌ها و علف‌های هرزش جدا می‌شوند. کادمیوم و اورانیوم هر کدام به مقدار ۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم به نمونه خاک اضافه می‌شود. گلدان‌های پلاستیکی به قطر ۲۰ و ارتفاع ۱۵ سانتی متر را از ۳ کیلوگرم خاک پر می‌کنیم. زیر هر گلدان باید سینی قرار داده شود تا از نشست Cd و U جلوگیری شود. کودهای حاوی فسفات، نیتروژن و پتاسیم را به خاک اضافه کرده و نمونه خاک برای ۴ هفته به همین حالت باقی می‌ماند. بعد از گذشت این زمان ۲ دانه تخم آفتابگردان در هر گلدان کاشته می‌شود و خاک به طور منظم آبیاری می‌شود تا رطوبت خاک به حدود ۶۰ درصد کل ظرفیت نگهداری آب توسط خاک حفظ شود. بعد از گذشت ۲ ماه از کاشت دانه‌ها اقدام به اضافه کردن CA، OA و EDDS در غلظت‌های (۰، ۲/۵، ۵ و ۷،۵ mmol/kg) می‌شود. این مواد شیمیایی طی دوره‌های سه روزه به گیاه اضافه می‌شوند و بعد از گذشت یک هفته از آخرین دوره گیاه برداشت می‌شود و میزان جذب فلزات سنگین در ریشه و ساقه آفتابگردان و همینطور مقدار زیست توده گیاه اندازه گیری می‌شود.

نتایج و بحث روی نتایج

۱.آزمایش اول

طبق شکل ۱ تأثیر بیوچار بر روی تغییرات زیست توده گیاه به این صورت است که در غلظت ۵ درصد بیوچار به طور قابل ملاحظه‌ای با افزایش زیست توده در گیاه آفتابگردان روبه‌رو هستیم. در مقایسه با گروه کنترل، زیست توده گیاه آفتابگردان در ریشه‌ها، ساقه‌ها، برگ‌ها، ظرف‌ها و دانه‌ها در غلظت‌های مختلف بیوچار به ترتیب ۶۴/۷، ۲۰/۴، ۳۲/۸، ۳۶/۵، ۷۵/۱ و ۲۳۰ درصد افزایش یافت. با این حال، در غلظت ۱۰ درصد بیوچار، افزایش میزان زیست توده گیاه سرکوب شد. تحت این غلظت میزان زیست توده ریشه، ساقه، برگ، ظرف و دانه به ترتیب با ۲۶/۱، ۷/۷۹، ۱/۹۵، ۳۶/۵ و ۷۶/۱ درصد نسبت به غلظت بیوچار ۵ درصد کاهش یافت. زیست توده ریشه و دانه به ترتیب ۱۱/۱ و ۲۱/۱ درصد در مقایسه با نمونه شاهد کاهش یافت (Liu et al., 2020).



شکل ۱. میزان تأثیر غلظت‌های مختلف اعمال شده بر زیست توده اجزای مختلف گیاه آفتابگردانی که در خاک آلوده به فلزات سنگین کشت شده است.

با توجه به تصویر شماره ۲ تجمع سرب و کادمیوم و آرسنیک در گیاه آفتابگردان با استفاده از بیوچار به میزان قابل توجهی افزایش یافت، اما مقدار کل روی کاهش یافت در مقایسه با نمونه کنترلی، مقدار کل سرب ، Cd و As در گیاهان آفتابگردان به ترتیب ۲۲،۹–۵۸،۹٪ ، ۱۵،۸–۴۲،۳٪ و ۶۷،۹–۱۱۰٪ افزایش یافته و مقدار کل

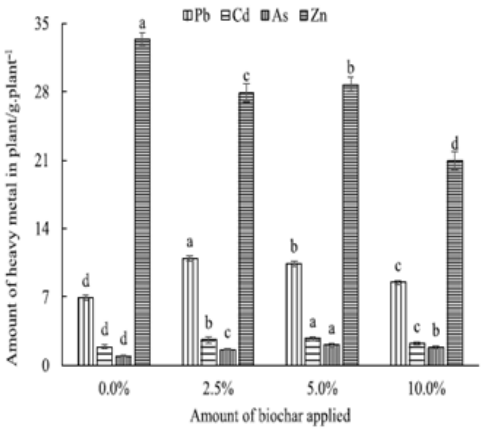
Zn ۱۳٫۸–۳۷٫۲٪ کاهش یافته است. استفاده از ۵ درصد بیوچار در خاک تجمع Cd و As را در گیاه آفتابگردان به حداکثر رساند که به ترتیب ۴۲٫۳ و ۱۱۰٪ بیشتر از نمونه کنترلی بود (Liu et al., 2020).

۲. آزمایش دوم

زیست توده شاخه‌های آفتابگردان با افزایش غلظت روی به طرز قابل توجهی کاهش می‌یابد. تلقیح باکتری‌ها تأثیر معنی‌داری در تولید زیست توده شاخه برای گیاهان رشد یافته در همان سطح فلز نداشت. تلقیح با ریزوباکتری B2 به طور قابل توجهی تجمع روی در شاخه‌های گیاه آفتابگردان را کاهش داد اما تأثیری بر تجمع کادمیوم نداشت. برای همه غلظت‌های خاک آزمایش شده به طور کلی، ریزوباکتری B1 هیچ تأثیر قابل توجهی بر روی سطح فلزات در شاخه گیاه نداشت. تلقیح باکتری‌ها نیز در تولید زیست توده ریشه تأثیر معنی‌داری داشتند، گرچه ایجاد روند واضح امکان پذیر نبود به نظر می‌رسد که در غلظت‌های کم فلز، زیست توده ریشه‌ها در مقایسه با گیاهان غیر تلقیح شده در حضور باکتری کاهش می‌یابد.

۳.آزمایش سوم

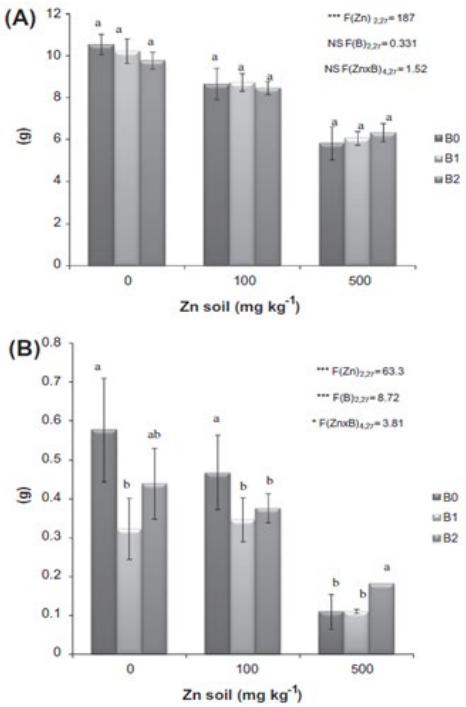
طبق شکل ۴ غلظت های EDDS زیست توده ساقه را از ۳۰٫۳۱ به ۳٫۲۸ درصد و زیست توده



شکل ۲. تأثیر غلظت‌های متفاوت بیچار بر جذب فلزات سنگین سرب، کادمیوم، آرسنیک و روی در گیاه آفتابگردان امکان پذیر نبود به نظر می‌رسد که در غلظت‌های کم فلز، زیست توده ریشه‌ها در مقایسه با گیاهان غیر تلقیح شده در حضور باکتری کاهش می‌یابد.

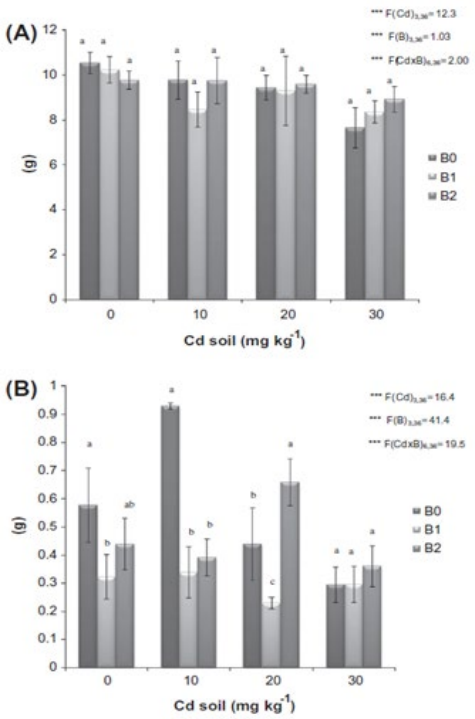
ریشه را از ۲۳٫۷۸ به ۰٫۷۳ درصد در مقایسه با نمونه کنترلی (CK) کاهش دادند. این نتایج نشان می دهد که گیاه آزمایش شده در غلظت های CA و OA حساسیت کمتری نسبت به غلظت های EDDS دارد. کمترین مقدار کلروفیل کل در برگ های آفتابگردان در افزودن ۵/۵ میلی مول در کیلوگرم EDDS مشاهده شد که با مقدار زیست توده گیاه نیز مطابقت داشت.

طبق تصویر شماره ۵ افزودن مواد شیمیایی باعث اختلاف معنی‌داری در غلظت U شاخه‌ها و ریشه‌های گیاه آفتابگردان شد. در این مطالعه، استفاده از CA و EDDS باعث افزایش قابل توجهی در غلظت‌های اورانیوم و کادمیوم در شاخه و ریشه شد. بیشترین غلظت اورانیوم در شاخه گیاه (۱٫۳ میلی گرم در کیلوگرم) و ریشه



شکل ۳. تأثیر ریزوباکتری‌های B1 و B0 (B2 نمونه کنترلی) بر روی زیست توده موجود در ساقه و ریشه گیاه آفتابگردان در غلظت‌های مختلف Zn

(۸۴/۴۴ میلی گرم در کیلوگرم) در ۵٫۰ و ۷٫۵ میلی مول در کیلوگرم غلظت CA مشاهده شد.



شکل ٤. تأثیر ریزوباکتری‌های B1 و B0 (B2 نمونه کنترلی) بر روی زیست توده موجود در ساقه و زیشه گیاه آفتابگردان در غلظت‌های مختلف Cd

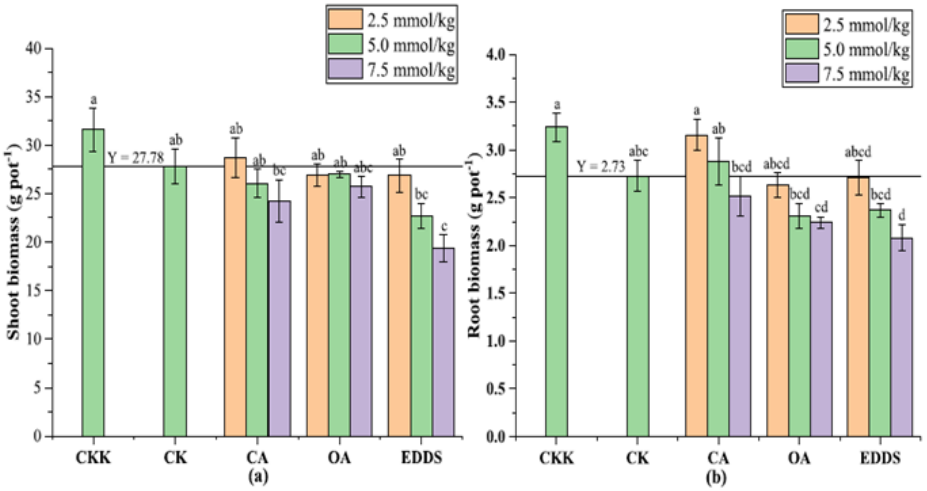
مطابق تصویر ۶ غلظت‌های CA و EDDS همچنین افزایش قابل توجهی در جذب کادمیوم در گیاه آفتابگردان در مقایسه با نمونه شاهد نشان دادند غلظت کادمیوم از ۱۹/۰۲٪ به ۲۹۰/۳۵ برای شاخه‌ها و ۸۸.۵–۱۲.۶۶ برای ریشه‌ها به دلیل افزودن عوامل شیمیایی تغییر یافت. حداکثر غلظت کادمیوم ۷۰/۳۸ میلی گرم در کیلوگرم برای شاخه و ۱۰۸/۲۷ میلی گرم در کیلوگرم برای ریشه به دنبال ۵.۰ میلی مول در کیلوگرم افزودن EDDS بود که به طور قابل توجهی بیشتر از غلظت در نمونه کنترلی بیشتر بود (Li et al., 2020).

نتیجه‌گیری

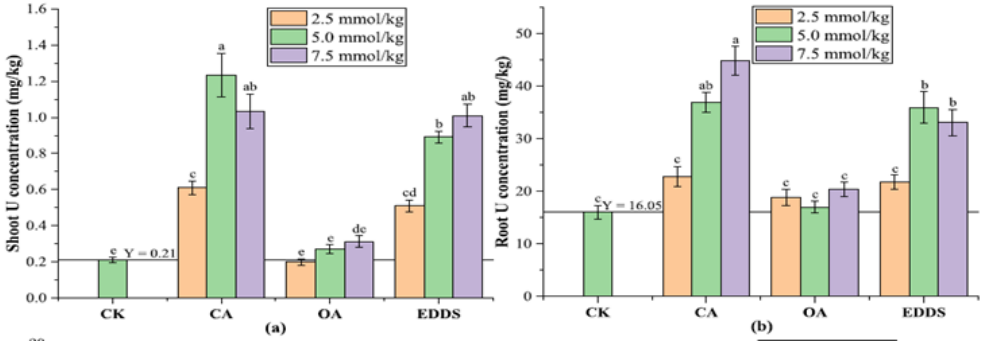
طبق تصویر شماره ۷ با مقایسه هر ۳ روش در اصلاح زیست پالایی گیاهی می‌توان فهمید که بیشترین تأثیر بر روی جذب فلزات سنگین در گیاه آفتابگردان مربوط به روش سوم یعنی استفاده از chelating agenent ها است و بعد از آن بیوچار و در آخر ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه می‌توانند بر میزان جذب فلزات سنگین تأثیر بگذارند. نکته حائز اهمیت در مقایسه این سه روش تأثیری است که هر کدام از روش‌ها بر روی میزان زیست توده گیاه می‌گذارند. با توجه به نمودارها و نتایج به دست آمده اضافه کردن مواد شیمیایی زیست تخریب‌پذیر به گیاه می‌تواند تأثیر مخربی بر روی میزان زیست توده گیاهان بگذارد. اما بیوچار تا حدود

جدول ۲. میزان تجمع فلزات سنگین روی و کادمیوم در ریشه و ساقه گیاه آفتابگردان تحت تلقیح ریزوباکتری‌های B1 و B2 و حالت بدون باکتری (B0)

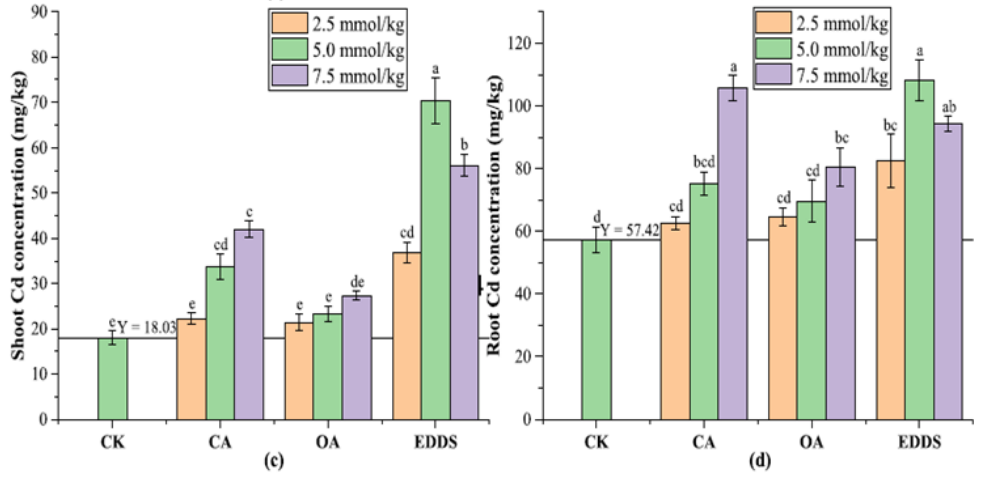
Treatment	Zn (mg kg^{-1})					
	Roots			Shoots		
	0	100	500	0	100	500
No bacteria	141 ± 21^{a}	213 ± 30^{a}	443 ± 80^{a}	132 ± 40^{a}	198 ± 17^{a}	468 ± 33^{a}
B1	90 ± 35^{b}	161 ± 35^{b}	430 ± 43^{a}	160 ± 11^{a}	195 ± 17^{a}	326 ± 39^{b}
B2	51 ± 22^{b}	134 ± 12^{b}	312 ± 20^{b}	45 ± 37^{b}	174 ± 2^{b}	374 ± 31^{b}
	$^{**}(F_{2,9} = 11.4)$	$^{*}(F_{2,9} = 8.34)$	$^{*}(F_{2,9} = 7.22)$	$^{**}(F_{2,9} = 14.2)$	$^{*}(F_{2,9} = 1.36)$	$^{***}(F_{2,9} = 17.6)$
	$^{***}F(HM)_{2,27} = 201$			$^{***}F(HM)_{2,27} = 272$		
	$^{***}F(B)_{2,27} = 21.0$			$^{***}F(B)_{2,27} = 15.8$		
	NS $F(HMxB)_{4,27} = 1.68$			$^{***}F(HMxB)_{4,27} = 12.0$		
	Cd (mg kg^{-1})					
	10	20	30	10	20	30
No bacteria	261 ± 54^{ab}	529 ± 20^{ab}	667 ± 57^{a}	196 ± 11^{a}	273 ± 7^{a}	310 ± 17^{a}
B1	324 ± 70^{a}	653 ± 90^{a}	683 ± 1^{a}	195 ± 8^{a}	272 ± 13^{a}	302 ± 12^{a}
B2	196 ± 25^{b}	385 ± 90^{b}	554 ± 42^{b}	193 ± 15^{a}	266 ± 19^{a}	305 ± 14^{a}
	$^{*}F_{2,9} = 5.80$)	$^{**}(F_{2,9} = 13.1)$	$^{**}(F_{2,9} = 11.6)$	NS ($F_{2,9} = 0.101$)	NS ($F_{2,9} = 0.310$)	NS ($F_{2,9} = 0.368$)
	$^{***}F(HM)_{2,27} = 30.3$			$^{***}F(HM)_{2,27} = 6.94$		
	$^{***}F(B)_{2,27} = 40.0$			NS $F(B)_{2,27} = 1.90$		
	$^{***}F(HMxB)_{4,27} = 35.7$			NS $F(HMxB)_{4,27} = 1.58$		



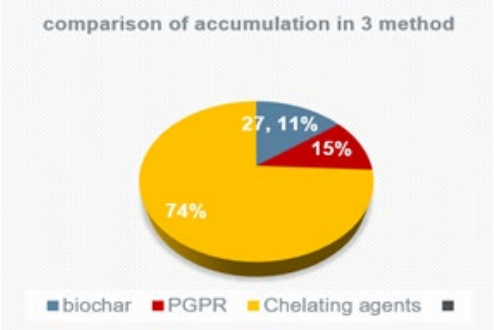
شکل ۵. میزان تأثیر غلظت‌های مختلف OA، CA و EDDS بر روی زیست توده موجود در ساقه و ریشه گیاه آفتابگردان



شکل ٦. میزان تجمع اورانیوم در شاخه و ریشه گیاه آفتابگردان در غلظت‌های مختلف OA، CA و EDDS



شکل ۷. میزان تجمع کادمیوم در ساقه و ریشه گیاه آفتابگردان در غلظت‌های مختلف OA، CA و EDDS



شکل ۸. میزان تأثیر روش‌های بیوچار، استفاده از chelating agent ها و ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه در میزان جذب فلزات سنگین در گیاه آفتابگردان

خوبی مقدار زیست توده گیاه را افزایش می‌دهد و از ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه می‌توان برای ثابت نگه داشتن میزان زیست توده در گیاه و جلوگیری از کاهش مقاومت گیاه استفاده کرد. یکی از راه‌هایی که می‌توان برای بهبود کارایی هر چه بیشتر زیست پالایی گیاهی از آن بهره برد تلفیق چندین روش و به کار بردن همزمان آن‌ها موازی با زیست پالایی گیاهی است. همانطور که گروهی از افراد در آزمایشی از ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه و مواد شیمیایی زیست تخریب‌پذیر به صورت همزمان برای بررسی میزان بهبود زیست پالایی گیاهی در گیاه آلفاآلفا در خاک‌های آلوده به Cu استفاده کردند و تأثیرات مثبتی بر روی افزایش میزان زیست توده و جذب فلز سنگین در گیاه آلفاآلفا مشاهده کردند (Wenliang et al., 2020) پس استفاده از روش‌های تلفیقی می‌تواند کارایی زیست پالایی گیاهی را افزایش دهد.

منابع

1. Ali, H., Khan, E., Sajad, M.A., 2013. Phytoremediation of heavy metals concepts and applications. Chemosphere 91, 869–881.

2. Ana,M., Helena.,M., Albina R.F., António,R., Paula.,C.,2013.Inoculating Helianthus annuus (sunflower) grown in zinc and cadmium contaminated soils with plant growth promoting bacteria – Effects on phytoremediation strategies.

3. Deepak,K., Chinmay,Pr., Hemanta,KP.,2020. Toxic metal decontamination by phytoremediation approach: Concept, challenges, opportunities and future perspectives

4. Fageria, N.K., Filho, M.P.B., Moreira, A., Guimaraes, C.M., 2009. Foliar fertilization of crop plants. J. Plant Nut. 32, 1044–1064.

5. Guo, J.M., Yang, J.M., Yang, J., Chen, T.B., Li, H.E., Xu, T.B., Zhou, X.Y., Yu, B., 2019b. Interaction of Cd and Zn affecting the root morphology and accumulation of heavy metals in Sedum aizoon. Environ. Sci. J. Integr. Environ. Res. 40, 470–479.

6. Ali,K., Shamsuddin, Z.H.,2010. Phytoremediation of heavy metals with several efficiency enhancer methods. Department of Land Management, Faculty of Agriculture, UPM, Serdang, Selangor, Malaysia

7. Liu,J., Huang ,W., Mo,A., Ni,J., Xie,H., Hu,J., Zhu,J., Peng,C.,2020. Effect of lychee biochar on the remediation of heavy metal-contaminated soil using sunflower: A field experiment

8. Li,C., Jin-yan,Y,. Dan,W., 2020. Phytoremediation of uranium and cadmium contaminated soils by sunflower (Helianthus annuus L.) enhanced with biodegradable chelating agents

9. Patra, D.K., Pradhan, C., Patra, H.K., 2019. Chromium bioaccumulation, oxidative stress metabolism and oil content in lemon grass Cymbopogon flexuosus (Nees ex Steud.) W. Watson grown in chromium rich over burden soil of Sukinda chromite mine, India. Chemosphere 218, 1082–1088.

10. PazeFerreiro, J., Lu, H., Fu, S., Méndez, A., Gasc, G., 2014. Use of phytoremediation and biochar to remediate heavy metal polluted soils: a review. Solid Earth 5, 65–75.

11. Wang, K., Liu, Y., Song, Z., Wang, D., Qiu, W., 2019b. Chelator complexes enhanced Amaranthus hypochondriacus L. phytoremediation efficiency in Cdcontaminated soils. Chemosphere 237, 124480.

12. Fageria, N.K., Filho, M.P.B., Moreira, A., Guimaraes, C.M., 2009. Foliar fertilization of crop plants. J. Plant Nut. 32, 1044–1064.

13. Wang.S, B.A.,2005). Using hyperaccumulator plants to phytoextract soil Ni and Cd. Z. Naturforsch [C]. 60: 190-198

14. Wuana, R.A., Okieimen, F.E., 2011. Heavy metals in contaminated soils: a review of sources, chemistry, risks and best available strategies for remediation. ISRN Ecol. 2011, 1–20.

15. Zhang, S., Chen, M., Li, T., Xu, X., Deng, L., 2010. A newly found cadmium accumulator— Malva sinensis Cavan. J. Hazard. Mater. 173, 705–709.