

تأثیر باکتری سودوموناس بر فراهمی زیستی فلزات سنگین کادمیوم و سرب در خاک‌هایی با بافت متفاوت

عطیه قره‌داغی شیره‌جینی^۱

علی خانمیرزایی^{۲*}

Alikhanmirzai@yahoo.com

شکوفه رضائی^۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۸/۱۰

تاریخ دریافت: ۹۸/۱۱/۲۷

چکیده

زمینه و هدف: بررسی تغییر رفتار فلزات سنگین در خاک به عنوان یکی از چالش‌های زیست محیطی، موضوع بحث برانگیزی می‌باشد که توجه محققین زیادی را به خود جلب کرده است. تحقیق حاضر به منظور بررسی تغییر شکل‌های شیمیایی عناصر سنگین کادمیوم و سرب تحت تأثیر دو گونه باکتری حل‌کننده فسفات *Pseudomonas koreensis* P56 و *Pseudomonas sp.* P169 انجام پذیرفت. روش بررسی: دو خاک با درصد رس متفاوت انتخاب و همزمان با فسفر (منبع نمک پتاسیم‌دی‌هیدروژن فسفات)، کادمیوم و سرب (منبع نمک نیترات کادمیوم و سرب) جهت تشکیل کانی‌های فسفره این فلزات و آلوده‌سازی مصنوعی خاک، تیمار گردیدند. پس از گذشت دو ماه، خاک‌ها با دو گونه‌ی سودوموناس (با جمعیت 10^8 باکتری در هر میلی‌لیتر) تلقیح یافتند. پس از گذشت ۵، ۲۵، ۶۰ و ۹۰ روز از تلقیح، شکل‌های شیمیایی کادمیوم و سرب، با روش عصاره‌گیری متوالی و دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد. یافته‌ها: نتایج نشان داد استفاده از باکتری باعث تغییر شکل‌های شیمیایی کادمیوم و سرب شد. باکتری کادمیوم محلول و تبادل را نسبت به شاهد به طور معنی‌دار کاهش و جزء همراه با مواد آلی را به طور معنی‌دار افزایش داد. همچنین کاربرد باکتری، سرب کربناتی را به طور معنی‌دار افزایش و سرب همراه با اکسیدهای آهن و منگنز و همراه با مواد آلی را به طور معنی‌دار کاهش داد. به عبارت دیگر استفاده از باکتری باعث کاهش ترکیبات کادمیوم با حلالیت بیشتر و افزایش ترکیبات سرب با حلالیت بیشتر شد. بحث و نتیجه‌گیری: واکنش کادمیوم و سرب نسبت به باکتری‌های حل‌کننده فسفر در دو خاک متفاوت بود. رفتار فلزات سنگین تحت تأثیر باکتری حل‌کننده فسفر بسته نوع فلز و خصوصیات خاک متفاوت است. باکتری‌های مورد استفاده در این تحقیق باعث تثبیت کادمیوم و تحرک مجدد سرب شدند.

واژه‌های کلیدی: سرب، سودوموناس، عصاره‌گیری متوالی، کادمیوم.

۱- دانش‌آموخته گروه خاکشناسی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران.

۲- گروه خاکشناسی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران. * (مسوول مکاتبات)

۳- گروه خاکشناسی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران.

Cadmium and Lead Bioavailability Affected by *Pseudomonas* in Different Textured Soils

Atiyeh Gharedaghi Shirejini¹

Ali Khanmirzaei^{2 *}

Alikhanmirzai@yahoo.com

Shekoofeh Rezaei³

Admission Date: November 1, 2021

Date Received: November 16, 2020

Abstract

Background and Objective: The behavior of heavy metals in the soil as one of the environmental challenges has attracted the attention of many researchers. The present study was conducted to evaluate the phosphorus solubilizing bacteria on remobilization of cadmium (Cd) and lead (Pb) in two calcareous soils.

Material and Methodology: Phosphorus, cadmium and lead in the forms of KH_2PO_4 , $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ and $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ simultaneously were introduced to the soils to promote the formation of phosphate minerals of added metals in two selected soils. After two months the soils were inoculated with two *Pseudomonas* species and incubated for 3 months. Sequential extraction scheme were applied to determine the chemical forms of Cd and Pb 5, 25, 60 and 90 days after incubation.

Findings: The results showed that application of phosphorus solubilizing bacteria changed chemical forms of Cd and Pb. Inoculation with *Pseudomonas* decreased the soluble and exchangeable cadmium while increased organic matter-bound Cd concentration. Inoculation by *Pseudomonas* increased carbonate-bound Pb and decreased Fe-Mn oxide and organic matter bound Pb. In the other hand, phosphate solubilizing bacteria (*Pseudomonas*) decreased mobility and bio-availability of cadmium and immobilization of lead.

Discussion and Conclusion: In fact, the behavior of heavy metals in the presence of phosphorus solubilizing bacteria was different and depends on the type of metal and soil properties. In present study, bacteria cause immobilization of cadmium and remobilization of lead.

Keywords: Cadmium, Lead, *Pseudomonas*, Sequential extraction.

1- Department of Soil Science, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.

2- Department of Soil Science, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran. *(Corresponding Author)

3- Department of Soil Science, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.

مقدمه

از نگاهی دیگر هزینه بالای تولید کودهای شیمیایی و اثرات نامناسب زیست محیطی، باعث افزایش استفاده کودهای زیستی از جمله حل‌کننده‌های فسفات شده است. باکتری‌های حل‌کننده فسفات از طریق فعالیت آنزیم فسفاتاز و تولید اسیدهای آلی باعث تسهیل انحلال فسفر از ترکیبات فسفره می‌شوند (۱۷). تأثیر این باکتری‌ها بر حلالیت فسفر می‌تواند در جهت افزایش رهاسازی سرب و کادمیوم همراه با کانی‌های فسفره و یا تشکیل کانی‌های فسفره جدید با سرب و کادمیوم محلول خاک، باعث تغییر در شکل‌های شیمیایی این فلزات در خاک گردد. اطلاعات اندکی در خصوص تأثیر استفاده از کودهای بیولوژیک بر رفتار کانی‌های فسفره و تغییر شکل‌های شیمیایی فلزات سنگین سرب و کادمیوم در خاک‌های آهکی ایران وجود دارد. بدین ترتیب پژوهشی به منظور بررسی اثر دو گونه‌ی مختلف باکتری حل‌کننده فسفات سودوموناس (*Pseudomonas koreensis* P56 و *Pseudomonas sp.* P 169) بر تغییر شکل‌های شیمیایی سرب و کادمیوم افزوده شده به خاک از طریق عصاره‌گیری تک‌مرحله‌ای و متوالی خاک انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

پس از انتخاب دو خاک با بافت‌های لوم شنی و لوم رسی، سایر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی مانند ماده آلی به روش اکسیداسیون تر (۱۸)، ظرفیت زراعی، فسفر قابل عصاره‌گیری به روش اولسن (۱۹)، ظرفیت تبادل کاتیونی (۲۰)، کربنات کلسیم معادل (۲۱)، کربنات کلسیم فعال (۲۲)، pH با دستگاه pH متر (مدل Metrohm- 827) و قابلیت هدایت الکتریکی به وسیله‌ی دستگاه هدایت‌سنج (مدل Hanna- HI 9033) اندازه‌گیری گردید. کادمیوم و سرب کل با استفاده از اسید نیتریک ۴ مولار عصاره‌گیری و بوسیله دستگاه جذب اتمی مدل PG990 اندازه‌گیری شد. فسفر به میزان ۲۵۰۰ میلی‌گرم خاک از منبع نمک پتاسیم‌دی‌هیدروژن‌فسفات (KH_2PO_4)، کادمیوم با غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک از نمک نترات کادمیوم ($CdN_2O_6 \cdot 4H_2O$) و سرب با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم

آلودگی خاک به وسیله‌ی فلزات سنگین یکی از چالش‌های زیست‌محیطی عصر حاضر است. در میان فلزات سنگین، کادمیوم (Cd) و سرب (Pb) از خطرناک‌ترین آلاینده‌ها در خاک بوده و عناصری غیرضروری برای فعالیت‌های متابولیکی و بیولوژیکی در گیاهان و حیوانات می‌باشند (۱) که تجمع آن‌ها در خاک می‌تواند سلامت انسان و محیط زیست را تهدید و صدمات جبران‌ناپذیری را ایجاد نمایند (۲ و ۳). در ابتدای ورود به خاک، این فلزات تحرک و فراهمی زیستی بالایی داشته و با گذشت زمان از طریق واکنش‌هایی چون جذب سطحی، رسوب و نفوذ به شبکه‌های کریستالی اجزاء خاک به شکل‌های شیمیایی مختلفی از جمله محلول و تبادل، کربناتی، همراه با مواد آلی، همراه با اکسیدهای آهن و آلومینیوم تغییر شکل می‌دهند (۴). به‌طور کلی شکل‌های محلول در آب و تبادل فلزات سنگین، دارای تحرک، فراهمی زیستی و سمیت بیشتری نسبت به شکل‌هایی چون رسوب یافته با کربنات‌ها و فسفات‌ها یا کمپلکس شده با مواد آلی، اکسیدهای آهن، منگنز و رس‌ها هستند که این شکل‌ها می‌توانند بسته به ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک به صورت فعال یا غیرفعال باشند (۵). با توجه به اینکه کاهش غلظت فلزات سنگین در خاک به سختی امکان‌پذیر است، کاهش اثرات سوء آن‌ها می‌تواند از اقدامات مدیریتی مناسب باشد (۷ و ۸). تثبیت این فلزات و کاهش تحرک آن‌ها با استفاده از ترکیبات شیمیایی مانند اکسیدهای منگنز (۹)، انواع زئولیت (۱۰)، لجن فاضلاب (۱۱)، ترکیبات مختلف فسفر (۱۲) و مواد آلی (۱۳) از طریق مکانیسم‌های متفاوت بررسی شده است. بررسی ولی‌پور و همکاران (۱۴) در چند خاک انتخابی ایران نشان داد که ترکیبات فسفره در تثبیت فلزات سنگین به‌خصوص سرب تأثیر قابل توجهی دارند. دلیل احتمالی این موضوع را می‌توان تشکیل کانی بسیار پایدار پیرومورفایت در اثر واکنش فسفر با سرب و روی عنوان نمود (۱۵ و ۱۶). دیگر نتایج نشان می‌دهد که همه‌ی منابع فسفر در تغییر شکل سرب، روی و کادمیوم از جزء غیرباقیمانده به اجزاء باقیمانده مؤثر هستند (۱۲).

۲۵، ۶۰ و ۹۰ روز از زمان خوابانیدن، به منظور استخراج اجزاء شیمیایی کادمیوم و سرب، عصاره‌گیری متوالی (۲۳) صورت گرفت (جدول ۱). به منظور بررسی فراهمی زیستی فلزات افزوده شده به خاک‌ها در طول خوابانیدن، عصاره‌گیری تک‌مرحله‌ای محلول‌های DTPA ۰/۰۰۵ مولار و $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ۰/۱ مولار انجام شد (۵). مقادیر کادمیوم و سرب کلیه نمونه‌ها با دستگاه جذب اتمی (مدل PG-990) مشخص شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS و رسم نمودارها با استفاده از Excel انجام شد.

خاک از نمک نیترات سرب ($\text{N}_2\text{O}_6\text{Pb}$)، استفاده گردید. به منظور تعادل این عناصر با فسفر و تشکیل کانی‌های فسفره‌ی این عناصر، نمونه‌های خاک با حفظ رطوبت در وضعیت ظرفیت زراعی در دمای 25°C نگهداری شدند. پس از دو ماه، ۶ نمونه‌ی صد گرمی از هر خاک توزین گردید و سپس به هر نمونه با رعایت سه تکرار، ۱۰ میلی‌لیتر از باکتری‌های حل‌کننده فسفات *Pseudomonas sp.* P169 و *Pseudomonas koreensis* P56 با جمعیت 10^8 باکتری در هر میلی‌لیتر) اضافه و به انکوباتور منتقل گردید. پس از گذشت زمان‌های ۵،

جدول ۱- عصاره‌گیری متوالی به روش تسیر و همکاران (۱۹۷۹)

Table 1. Sequential extraction (Tessier et al., 1979)

مرحله	جزء عصاره‌گیری شده	عصاره‌گیر	pH	روش
۱	محلول و تبادل	10 ml 1 M NH_4OAc	۸/۲	۲ ساعت تکان دادن در 25°C سپس سانتریفیوژ
۲	همراه با کربنات‌ها	10 ml 1 M NaOAc	۵	۵ ساعت تکان دادن در 25°C سپس سانتریفیوژ
۳	همراه با اکسیدهای آهن و منگنز	04 M.20 ml 0 in 25% v/v $\text{NH}_2\text{OH.HCL}$ HOAc	۲	۶ ساعت تکان دادن در 96°C سپس سانتریفیوژ
۴	همراه با مواد آلی	02 M HNO_3 / 5 ml .ml 0 3 H_2O_2 30% m/v + 3 ml H_2O_2 30% + 5 ml NH_4OAc 3/2 M in 20% (v/v) HNO_3	۲	۲ ساعت تکان دادن در 85°C ۳ ساعت تکان دادن در 85°C ۳۰ دقیقه تکان دادن در 25°C سپس سانتریفیوژ

نتایج و بحث

نتایج برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مورد مطالعه در جدول ۲ آورده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود دو خاک از لحاظ درصد رس و شن تفاوت قابل ملاحظه‌ای دارند.

جدول ۲- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مورد مطالعه

Table 2. Physical and chemical properties of the studied soils

لومرسی	لومشنی	خصوصیات
۴۴	۱۶	رس (%)
۱۸	۱۰	سیلت (%)
۳۸	۷۴	شن (%)
۰/۷	۱	کربن آلی (%)
۱۳/۷۵	۱۱/۲۵	کربنات کلسیم معادل (%)
۴/۶۴	۲/۷۲	کربنات کلسیم فعال (%)
۹/۲۵	۱۵/۴۷	ظرفیت تبادل کاتیونی (Cmol+kg ⁻¹)
۷/۲۶	۷/۵	اسیدیته pH
۰/۹۳۲	۱/۱۲	هدایت الکتریکی EC
۵/۹۶	۳	فسفر قابل جذب (mgkg ⁻¹)
<۱	<۱	کادمیوم کل (mgkg ⁻¹)
۱۱	۱۳	سرب کل (mgkg ⁻¹)

درصد اثر معنی‌دار داشت. سرب قابل استخراج با DTPA تحت تأثیر نوع خاک قرار گرفت ولی استفاده از باکتری روی این بخش سرب اثر معنی‌دار نداشت.

جدول ۳ نتایج تجزیه واریانس کادمیوم و سرب قابل استخراج با DTPA و Ca(NO₃)₂ را نشان می‌دهد. نوع خاک و باکتری روی مقدار کادمیوم قابل استخراج با DTPA در سطح یک

جدول ۳- تجزیه واریانس کادمیوم و سرب قابل استخراج با DTPA و Ca(NO₃)₂Table 3. Analysis of variance of extractable Cadmium and Lead by DTPA and Ca(NO₃)₂

میانگین مربعات				درجه آزادی	منبع تغییر
عصاره‌گیر		عصاره‌گیر DTPA			
سرب (Pb)	کادمیوم (Cd)	سرب (Pb)	کادمیوم (Cd)		
n.s. ۳/۷۲	n.s. ۰/۰۳	۴۸۸/۵۲**	۲/۴۶**	۵	مدل
n.s. ۰/۳۱	n.s. ۰/۱۰	۲۳۴۱/۱۰**	۱۱/۲۵**	۱	خاک
n.s. ۱/۳۴	n.s. ۰/۰۱	n.s. ۱۲/۶۷	۰/۴۳**	۲	باکتری
n.s. ۷/۸۰	n.s. ۰/۰۱	n.s. ۳۸/۰۷	ns. ۰/۰۹	۲	خاک × باکتری
۳/۳۵	۰/۰۲	۳۱/۹۶	۰/۰۲	۱۲	خطا
۱۶/۵۲	۰/۱۷	۲۹۱۲/۳۲	۱۴/۴۸	۲۲	جمع

DTPA به میزان رس خاک بستگی دارد (۱۴). مقدار کادمیوم و سرب قابل استخراج با DTPA در میان خاک‌های مختلف متفاوت بود (۲۴). کادمیوم قابل استخراج در خاک‌ها با

با افزایش مقدار رس خاک، میزان کادمیوم و سرب قابل استخراج با DTPA به طور معنی‌دار افزایش یافت (جدول ۴). ولی پور و همکاران (۲۰۱۶) عنوان کردند کادمیوم قابل استخراج با

زیادی شکل‌های شیمیایی کادمیوم در خاک را تغییر می‌دهند (۲۷). عصاره‌گیر DTPA قدرت آزادسازی بیشتری نسبت به عصاره‌گیر $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ داشته و مقادیر کادمیوم و سرب استخراج شده توسط این عصاره‌گیر بیشتر بوده است. مقدار عناصر سنگین استخراج شده توسط عصاره‌گیر DTPA به طور قابل ملاحظه‌ای بیشتر از روش عصاره‌گیری با $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ بوده است. در میان عصاره‌گیرهای تک مرحله‌ای، عصاره‌گیر DTPA تمایل به ایجاد یک رابطه‌ی بهتر جهت زیست‌فراهمی فلزات در خاک‌هایی با سطح کربناتی بالا دارد (۲۸) اما عصاره‌گیر $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ به دلیل قدرت یونی پایین‌تر (مشابه محلول خاک)، به طور عمده بخش محلول عنصر را استخراج می‌کند (۲۹). اپل و ما (۲۰۰۲) گزارش کردند سرب در مقایسه با کادمیوم برای جذب شدن در مکان‌های جذبی خاک تمایل بیشتری نشان می‌دهد. همچنین سرب در مقایسه با کادمیوم توانایی بیشتری در مشارکت در واکنش‌های سطحی داشته به همین دلیل زیست‌فراهمی و تحرک آن کمتر می‌باشد (۳۰). زیست‌فراهمی کادمیوم و سرب اضافه شده به خاک‌های مورد پژوهش بستگی به مکانیسم جذب فلز در این خاک‌ها دارد. هرچه برهمکنش بین سرب و یا کادمیوم با سطح خاک بیشتر باشد، احتمال آلودگی محیط زیست کمتر خواهد بود (۳۱).

خصوصیات خاک از قبیل pH، ماده آلی، قابلیت هدایت الکتریکی، رس، سیلت، شن و کلر همبستگی دارد (۴). یکی از عوامل مؤثر جهت تغییر اشکال شیمیایی روی در ریزوسفر گیاه، تفاوت در نوع خاک می‌باشد (۲۵). استفاده از باکتری میزان کادمیوم قابل استخراج توسط DTPA را به طور معنی‌دار کاهش داد (جدول ۴). انحلال فسفر نامحلول توسط باکتری و تشکیل کمپلکس فسفات - کادمیوم، باعث کاهش مقدار کادمیوم قابل استخراج با DTPA شده است. چن و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند کاهش کادمیوم محلول با کاربرد ترکیبات فسفات، به دلیل مکانیسم‌های جذب سطحی از قبیل تشکیل و رسوب کمپلکس‌های فسفات-کادمیوم می‌باشد (۱۲). نتایج تحقیقات نشان داد کادمیوم قابل استخراج با DTPA به طور معنی‌دار با اضافه نمودن کود تریپل سوپرفسفات کاهش یافت (۱۴). گاوو و همکاران (۲۰۱۹) با بررسی تاثیر باکتری‌های حل‌کننده فسفات بر تحرک مجدد کادمیوم محبوس شده در ساختار زغال سنگ هوازده دریافتند که باکتری‌های باسیلوس استفاده شده نتوانستند تغییری در فراهمی زیستی کادمیوم این ترکیبات ایجاد نمایند (۲۶). از طرفی یانگ و همکاران (۲۰۱۸) گزارش نمودند که باکتری‌های حل‌کننده فسفات باسیلوس (*Bacillus cereus*) و سودوموناس (*Pseudomonas fluorescens*) با حل نمودن فسفات کادمیوم از طریق ترشح گلوکونیک اسید به مقدار

جدول ۴- تأثیر دو گونه باکتری سودوموناس بر کادمیوم و سرب قابل عصاره‌گیری با DTPA و $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$

Table 4- Effect of two species of *Pseudomonas* on extractable Cadmium and Lead by DTPA and $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$

میانگین	باکتری		شاهد (بدون باکتری)	خاک
	گونه‌ی P56	گونه‌ی P169		
	کادمیوم Cd (DTPA)			
۰/۸۶ B	۰/۸۱ (۰/۰۳)	۰/۷۵ (۰/۱۱)	۱/۰۳ (۰/۰۷)	لوم‌شنی
۲/۴۴ A	۲/۲۴ (۰/۰۳)	۲/۲۰ (۰/۱۱)	۲/۸۹ (۰/۰۵)	لوم‌رسی
	۱/۵۲ B	۱/۴۷ B	۱/۹۶ A	میانگین
	کادمیوم Cd $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$			
۰/۷۱ A	۰/۷۸ (۰/۰۷)	۰/۶۳ (۰/۳۵)	۰/۷۲ (۰/۰۵)	لوم‌شنی
۰/۸۶ A	۰/۹۸ (۰/۱۵)	۰/۸۶ (۰/۰۳)	۰/۸۴ (۰/۰۳)	لوم‌رسی
	۰/۸۳ A	۰/۷۴ A	۰/۷۸ A	میانگین

سرب Pb (DTPA)				
لوم‌شنی	۲۳/۵۸ (۱/۵۳)	۱۷/۷۵ (۳/۸۱)	۱۷/۵۸ (۲/۲۱)	۱۹/۶۴ B
لوم‌رسی	۴۰/۹۶ (۹/۷۹)	۴۵/۰۸ (۱/۲۹)	۴۱/۲۹ (۸/۵۱)	۴۲/۴۴ A
میانگین	۳۲/۲۷ A	۳۱/۴۱ A	۲۹/۴۴ A	
سرب Ca(NO ₃) ₂ Pb				
لوم‌شنی	۶/۲۵ (۱/۶۲)	۹/۴۵ (۰/۹۰)	۸/۲۰ (۱/۷۲)	۷/۹۷ A
لوم‌رسی	۸/۴۳ (۰/۵۰)	۷/۱۱ (۲/۲۵)	۷/۵۷ (۲/۸۹)	۷/۷۰ A
میانگین	۷/۳۴ A	۸/۲۸ A	۷/۸۸ A	

گونه p169 و p56 افزایش پیدا کرد. باکتریهای حل‌کننده فسفر از طریق تولید اسیدهای آلی، کاهش pH و سایر مکانیسم‌ها باعث انحلال ترکیبات نامحلول یا کم‌محلول فسفر می‌شود این فسفر با کادمیوم محلول و تبادلی تشکیل کمپلکس داده و در نتیجه از میزان کادمیوم این جزء کاسته می‌شود. تبدیل شکل‌های متحرک کادمیوم به شکل‌هایی با تحرک کمتر در اثر کاربرد کودهای فسفره توسط محققین دیگر گزارش شده است (۳۲). فلزات موجود در جزء محلول و تبادلی در سه ساعت اول افزایش یافته و با گذشت زمان به آهستگی به جزءهای دیگر تبدیل می‌گردند (۳۳). تثبیت فلزات با دیفیوژن آهسته فلزات به داخل اکسیدهای آهن (۳۴)، هیدروکسیدهای آلومینیوم و منگنز (۳۵)، کانی‌های رس (۳۶) و یا رسوب در کربنات‌ها (۳۷) اتفاق می‌افتد. در خاک‌های آهکی، کربنات‌ها عامل اصلی در کاهش قابلیت استفاده فلزات سنگین از جمله کادمیوم با زمان می‌باشد (۳۸) و تنها بخش کوچکی از کادمیوم خاک به بخش محلول و تبادلی تعلق دارد (۳۹).

جدول (۵) شکل‌های مختلف شیمیایی کادمیوم را نشان می‌دهد. در خاک شاهد توزیع شکل‌های شیمیایی کادمیوم به صورت جزء کربناتی < جزء همراه با اکسیدهای آهن و منگنز < جزء محلول و تبادلی < جزء همراه با مواد آلی است در صورتیکه در خاک‌های تلقیح شده با باکتری بیش‌ترین غلظت کادمیوم، به جزء کربناتی اختصاص داشت و پس از آن جزء همراه با اکسیدهای آهن و منگنز، مواد آلی و محلول + تبادلی قرار داشت. با افزایش درصد رس مقدار کادمیوم محلول + تبادلی و همراه با کربنات‌ها افزایش و کادمیوم همراه با اکسیدهای آهن و منگنز و مواد آلی کاهش یافت. باکتری میزان کادمیوم محلول و تبادلی را به طور معنی‌دار کاهش و جزء همراه با مواد آلی را به طور معنی‌دار افزایش داد. مقدار کادمیوم محلول و تبادلی از ۱/۳۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم در خاک شاهد به ۱/۰۵ و ۱/۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در خاک آغشته با گونه p169 و p56 کاهش یافت در حالیکه کادمیوم همراه با مواد آلی از ۰/۸۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم در خاک شاهد به ۱/۱۱ و ۱/۱۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم در خاک آغشته با

جدول ۵- شکل‌های شیمیایی کادمیوم در خاک شاهد و تیمار شده با دو گونه باکتری *Sodomonas* (میلی گرم بر کیلوگرم)

Table 5. Fractionation of Cd in control soils and soils treated by two species of *Pseudomonas*

میانگین	باکتری		شاهد (بدون باکتری)	خاک
	گونه‌ی P56	گونه‌ی P169		
	جزء محلول و تبادلی			
۰/۹۱ B	۰/۸۲ (۰/۰۲)	۰/۸۱ (۰/۰۱)	۱/۰۹ (۰/۰۳)	لوم‌شنی
۱/۴۱ A	۱/۳۹ (۰/۰۴)	۱/۲۸ (۰/۰۸)	۱/۵۵ (۰/۰۲)	لوم‌رسی
	۱/۱۰ B	۱/۰۵ C	۱/۳۲ A	میانگین
	جزء کربناتی			
۵/۵۴ B	۵/۷۳ (۰/۴۸)	۵/۶۴ (۰/۵۲)	۵/۲۵ (۰/۰۷)	لوم‌شنی
۶/۵۴ A	۶/۴۶ (۰/۶۸)	۶/۵۹ (۰/۶۲)	۶/۵۶ (۰/۴۳)	لوم‌رسی
	۶/۰۹ A	۶/۱۱ A	۵/۹۱ A	میانگین
	جزء همراه با اکسیدهای آهن و منگنز			
۳/۹۳ A	۳/۱۴ (۰/۰۸)	۳/۱۶ (۰/۰۰)	۳/۸۷ (۰/۳۴)	لوم‌شنی
۲/۷۵ B	۳/۱۴ (۰/۰۸)	۲/۷۵ (۰/۱۱)	۲/۳۷ (۰/۲۸)	لوم‌رسی
	۳/۱۴ A	۲/۹۵ A	۳/۱۲ A	میانگین
	جزء همراه با مواد آلی			
۱/۱۳ A	۱/۳۱ (۰/۰۸)	۱/۱۷ (۰/۰۵)	۱/۰۱ (۰/۰۵)	لوم‌شنی
۰/۹۷ B	۱/۱۱ (۰/۰۱)	۱/۰۵ (۰/۰۱)	۰/۷۶ (۰/۰۶)	لوم‌رسی
	۱/۱۶ A	۱/۱۱ A	۰/۸۹ B	میانگین

جدول (۶) شکل‌های مختلف شیمیایی سرب را نشان می‌دهد. در همه خاک‌ها بیش‌ترین مقدار سرب به جزء همراه با اکسیدهای آهن و منگنز اختصاص داشت و پس از آن جزء همراه با کربنات‌ها، مواد آلی و در نهایت بخش محلول + تبادلی قرار داشت ولی استفاده از باکتری، سرب کربناتی را به طور معنی‌دار افزایش و سرب همراه با اکسیدهای آهن و منگنز و مواد آلی را به طور معنی‌داری کاهش داد. بعبارت دیگر باکتری باعث افزایش ترکیبات سرب با حلالیت بیش‌تر (کربناتی) و کاهش شکل‌هایی با حلالیت کم‌تر (جزء همراه با اکسیدهای آهن و مواد آلی) شده است. برخی مطالعات عدم تحرک سرب به وسیله‌ی ترکیبات فسفره را ناشی از تشکیل کانی پیرومورفایت گزارش کرده‌اند (۱۲ و ۴۰). احتمالاً باکتری باعث حلالیت فسفر و در نتیجه شکستن کمپلکس فسفر- سرب از ترکیبات پیرومورفایت و شبه پیرومورفایت شده است. سرب آزاد شده به دلیل کربناتی بودن خاک‌ها وارد بخش کربناته شده است. محققان عنوان کردند که فلزات سنگین متصل به بخش کربناته شدیداً به تغییرات pH حساس هستند و تغییرات pH ناشی از باکتری‌های حل‌کننده‌ی فسفات، بر بخش کربناته مؤثر است (۴۱). بیش‌ترین مقدار سرب به وسیله‌ی مواد آلی و اکسیدهای آهن و منگنز جذب شده است (۴۲). براساس نتایج لی و تورنتون (۱۹۹۴) بخش قابل توجهی از سرب افزوده شده به خاک همراه با کربنات‌ها است و بخش اندکی از کل سرب افزوده شده به خاک آهکی در بخش محلول - تبادلی باقی می‌ماند (۴۳) زیرا به دلیل جذب شدیدتر، زمان تعادل مورد نیاز برای ایجاد پدیده‌ی جذب در این خاک‌ها پایین می‌باشد (۴۴ و ۴۵). جلیلی و خانلری (۲۰۰۸) گزارش کردند شکل شیمیایی غالب برای سرب،

پیرومورفایت شده است. سرب آزاد شده به دلیل کربناتی بودن خاک‌ها وارد بخش کربناته شده است. محققان عنوان کردند که فلزات سنگین متصل به بخش کربناته شدیداً به تغییرات pH حساس هستند و تغییرات pH ناشی از باکتری‌های حل‌کننده‌ی فسفات، بر بخش کربناته مؤثر است (۴۱). بیش‌ترین مقدار سرب به وسیله‌ی مواد آلی و اکسیدهای آهن و منگنز جذب شده است (۴۲). براساس نتایج لی و تورنتون (۱۹۹۴) بخش قابل توجهی از سرب افزوده شده به خاک همراه با کربنات‌ها است و بخش اندکی از کل سرب افزوده شده به خاک آهکی در بخش محلول - تبادلی باقی می‌ماند (۴۳) زیرا به دلیل جذب شدیدتر، زمان تعادل مورد نیاز برای ایجاد پدیده‌ی جذب در این خاک‌ها پایین می‌باشد (۴۴ و ۴۵). جلیلی و خانلری (۲۰۰۸) گزارش کردند شکل شیمیایی غالب برای سرب،

با افزایش ترکیبات فسفره، مقدار سرب غیرمتحرک افزایش می‌یابد در حالی که تثبیت سرب در حضور باکتری نسبت به محیط‌های تلقیح نیافته، کمتر بود (۴۶).

اکسیدهای آهن و منگنز بوده و با گذشت زمان سرب کربناتی افزایش پیدا می‌کند علت این افزایش، ازدیاد سطح کربنات کلسیم در خاک می‌باشد (۴). پارک و همکاران (۲۰۱۱) دریافتند

جدول ۶- شکل‌های شیمیایی سرب در خاک شاهد و تیمار شده با دو گونه باکتری *سودوموناس* (میلی گرم بر کیلوگرم)

Table 6. Fractionation of Pb in control soils and soils treated by two species of *Pseudomonas*

میانگین	باکتری		شاهد (بدون باکتری)	خاک
	گونه‌ی P56	گونه‌ی P169		
	جزء محلول و تبادل			
۸/۶۶ A	۸/۰۵ (۱/۳۶)	۶/۰۱ (۱/۷۷)	۱۱/۹۳ (۰/۱۶)	لوم‌شنی
۷/۵۰ A	۵/۷۲ (۱/۲۷)	۱۱/۳۶ (۲/۴۴)	۵/۴۳ (۰/۲۳)	لوم‌رسی
	۶/۸۸ A	۸/۶۸ A	۸/۶۸ A	میانگین
	جزء کربناتی			
۱۱۲/۰۷ B	۱۲۸/۷۵ (۷/۹۸)	۱۳۲/۲۷ (۲۹/۰۷)	۷۵/۱۹ (۱۵/۱۳)	لوم‌شنی
۱۶۶/۳۹ A	۱۶۱/۱۹ (۶/۶۲)	۱۶۷/۵۸ (۲/۹۹)	۱۷۰/۳۹ (۳/۱۱)	لوم‌رسی
	۱۴۴/۹۷ A	۱۴۹/۹۳ A	۱۲۲/۷۹ B	میانگین
	جزء همراه با اکسیدهای آهن و منگنز			
۲۴۷/۴۰ A	۲۰۴/۱۶ (۱۷/۵۴)	۲۲۰/۸۰ (۵/۷۳)	۳۱۷/۲۳ (۴۷/۸۰)	لوم‌شنی
۲۷۰/۸۸ A	۱۹۹/۶۰ (۱۸/۹۸)	۱۹۱/۷۶ (۱۲/۹۵)	۴۲۱/۲۷ (۶۶/۴۰)	لوم‌رسی
	۲۰۱/۸۸ B	۲۰۶/۲۸ B	۳۶۹/۲۵ A	میانگین
	جزء همراه با مواد آلی			
۴۲/۵۰ A	۳۷/۲۰ (۳/۰۵)	۴۴/۱۹ (۱/۷۶)	۴۶/۰۸ (۰/۳۸)	لوم‌شنی
۴۲/۸۰ A	۳۷/۶۰ (۲/۶۷)	۲۸/۰۵ (۳/۹۳)	۶۲/۷۵ (۳/۹۴)	لوم‌رسی
	۳۷/۴۰ B	۳۶/۱۲ B	۵۴/۴۲ A	میانگین

References

- Sheng, X.F., He, L., Wang, Q., Ye, H. and Jiang, C. 2008a. Effects of inoculation of biosurfactant-producing *Bacillus sp.* J119 on plant growth and Cadmium uptake in a Cadmium-amended soil. *Journal of Hazard Mater*, Vol. 155, pp. 17-22.
- Dell Amico, E., Cavalca, L. and Andreoni, V. 2005. Analysis of rhizobacteria communities in *perennial Graminaceae* from polluted water meadow soil. *FEMS Microbiology Ecology*, Vol. 52, pp. 153-162.

نتیجه‌گیری کلی

استفاده از باکتری‌های حل‌کننده فسفر باعث تغییر شکل‌های شیمیایی کادمیوم و سرب شد. واکنش کادمیوم و سرب نسبت به باکتری‌های حل‌کننده فسفر در دو خاک متفاوت بود. باکتری کادمیوم محلول و تبادل را کاهش و کادمیم همراه با مواد آلی را افزایش داد در صورتیکه در مورد سرب جزء کربناتی افزایش و جزء همراه با اکسیدهای آهن و منگنز و مواد آلی کاهش یافت. عبارت دیگر باکتری‌های مورد استفاده در این تحقیق باعث تثبیت کادمیوم و تحرک مجدد سرب شدند.

10. Mahabadi, A.A., Hajabbasi, M.A., Khademi, H. and Kazemian, H. 2007. Soil cadmium stabilization using an Iranian natural zeolite. *Geoderma*, Vol. 137, pp. 388–398.
11. Farfel, M. R., Orlova, A.O., Chaney, R. L., Lees, P. S. J., Rohde, C. and Ashley, J. 2005. Biosolids compost amendment for reducing soil lead hazards: A pilot study of Orgro amendment and grass seeding in urban yards. *Science of the Total Environment*, Vol. 340, pp. 81–95.
12. Chen, S., Xu, M., Ma, Y. and Yang, J. 2007. Evaluation of different phosphate amendments on availability of metals in contaminated soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Vol. 67, pp. 276-285.
13. Khadivi boroujerdi, E., Nourbakhsh, F., Afyuni, M. and Shariatmadari, H. 2007. Chemical forms of Pb, Ni and Cd in Calcareous soil treated with sewage sludge. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*, Vol. 1, pp. 40-53.
14. Valipour, M., Shahbazi, K. and Khanmirzaei, A. 2016. Chemical Immobilization of Lead, Cadmium, Copper and Nickel in contaminated soils by Phosphate Amendments. *Journal of Clean-Soil, Air, Water*, Vol. 44(5), pp. 572-578.
15. Ma, L.Q. and Rao, G.N. 1997. Effects of phosphate rock on sequential chemical extraction of Lead in contaminated soil. *Journal of Environmental Quality*, Vol. 26, pp. 788-794.
16. Bolan, N.D., Adriano, D.C. and Naidu, R. 2003. Role of phosphorus in (im)mobilization and bioavailability of heavy metals in the soil-plant system. *Reviews of Environmental*
3. Ernst, W.H.O., and Nelissen, H.J.M. 2000. Life-cycle phases of a zinc- and cadmium- resistant ecotype of *Silene vulgaris* in risk assessment of polymetallic mine soils. *Environmental Pollution*, Vol. 107, pp. 329-338.
4. Jalili, M. and Khanlari, Z.V. 2008. Cadmium availability in calcareous soils of agricultural lands in Hamadan, Western Iran. *Soil and Sediment Contamination*, Vol. 17(3), pp. 256-268.
5. Lindsay, W. L. and Norvell, W.A. 1978. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese, and copper. *Soil Science Society of America Journal*, Vol. 42, pp. 421-428.
6. Alloway, B.J. 2004. Zinc in soils and crop nutrition. International zinc association, Brussels, 130p. Available at www.zinc-crops.org.
7. Jiang, C.Y., Sheng, X.F., Qian, M. and Wang, Q.Y. 2008. Isolation and characterization of a heavy metal resistant *Burkholderia sp.* From heavy metal-contaminated paddy field soil and its potential in promoting plant growth and heavy metal accumulation in metal polluted soil. *Chemosphere*, Vol. 72, pp. 157-164.
8. Ma, Y., Rajkumar, M. and Freitas, H. 2009a. Isolation and characterization of Ni mobilizing PGPB from serpentine soils and their potential in promoting plant growth and Ni accumulation by *Brassica spp.* *Chemosphere*, Vol. 75, pp. 719-725.
9. Hettiarachchi, G. M., Pierzynski, G. M. and Ransom, M. D. 2000. In situ stabilization of soil lead using phosphorus and manganese oxide. *Environmental Science and Technology*, Vol. 34, pp. 4614–4619.

25. Tao, S., Chen, Y.J., Xu, F.L., Cao, J. and Li, B.G. 2003. Changes of copper speciation in Maize rhizosphere soil. *Environmental Pollution*, 122: 477-454.
26. Gao, Q., Li, Q., He, B., Yang., J., Wang, L., Wang, J., Jiang, J., et al. (2019). Phosphate-solubilizing bacteria will not significantly remobilize soil cadmium remediated by weathered coal. *Environmental Science and Pollution Research*, Vol. 26(28), pp. 29003-29011.
27. Yang, P., Zhou, X., Wang, L., Li, Q., Zhou, T., Chen, Y., Zhao, Z. and He B. (2018). Effect of phosphate-solubilizing bacteria on the mobility of insoluble cadmium and metabolic analysis. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, Vol. 15, pp. 1330-1342.
28. Khanmirzaei, A., Moezi, A., Bazargan, K., Richards, B.K. and Shahbazi, K. 2013. Single and sequential extraction of Cadmium in some highly calcareous soils. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, Vol. 13(1), pp. 153-164.
29. Hemmer, D. and Keller, C. 2002. Changes in the rhizosphere of metal accumulating plants evidenced by chemical extractants. *Journal of Environmental Quality*, Vol. 31, pp. 1561-1569.
30. Apple, C. and Ma, L. 2002. Concentration, pH and surface charge effects on cadmium and lead sorption in three tropical soils. *Journal of Environmental. Quality*, Vol. 31, pp. 581-589.
31. Mc Bride, M.B. 1994. *Environmental chemistry of soils*. Oxford University Press, New York. pp: 336-337.
32. Thawornchaisit, U. and Polprasert, C. 2009. Evaluation of phosphate fertilizers for the stabilization of Contamination and Toxicology, Vol. 177, pp. 1-44.
17. Chen, Y.P., Rekha, P.D., Arun, A.B., Shen, F.T., Lai, W. and Young, C.C. 2006. Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. *Applied Soil Ecology*, Vol. 34, pp. 33-41.
18. Nelson, D.W., Sommers, L.E. 1996. *Methods of soil analysis* (Eds.: D.L. Sparks.), SSSA, Madison, Wisconsin, pp.961-1010.
19. Olsen, S. R., Cole, C. V., Watanabe, F. S. and Dean, L. A. 1954. Estimation of Available Phosphorus in Soils by Extraction with Sodium Bicarbonate. U. S. Department of Agriculture Circular No. 939. Banderis, A. D., D. H. Barter and K. Anderson. Agricultural and Advisor.
20. Bower, C.A., Reitemeier, F.F. and Fireman, M. 1952. Exchangeable cation analysis of saline and alkali soils. *Soil Science*, Vol. 73, pp. 251-261.
21. Leoppert, R.H. and Suarez, D.L. 1996. Carbonate and gypsum. In *Methods of soil analysis*. (Eds). (Sparks, D.L., A.L. SSSA). p. 437-474. (Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin).
22. Aliehyayi, M. and Behbahanizadeh, A.A. 1993. Soil chemical analysis methods. *Soil and Water Researches Institute Review*, 892. (In Persian)
23. Tessier, A., Campbell, P.G.C. and Bisson, M. 1979. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate traces metals. *Analytical Chemistry*, Vol. 51, pp. 844-851.
24. Shaheen, S.M. 2009. Sorption and liability of cadmium and lead in different soils from Egypt and Greece. *Geoderma*, Vol. 153, pp. 61-68.

- phosphorus amendment and the pH of water used for watering on the mobility and phytoavailability of Cd, Pb, and Zn in highly contaminated kitchen garden soils. *Ecological Engineering*, Vol. 37(7), pp. 1081-1093.
41. Zheng, G.D., Chen, T.B., Gao, D. and Luo, W. 2004. Dynamic of lead speciation in sewage sludge composting. *Water Science and Technology*, Vol. 50 (9), pp. 75-82.
42. Chlopecka, A., Bacon, J.R., Wilson, M.J. and Kay, J. 1996. Forms of Cadmium, Lead and Zinc in contaminated soils from southwest Poland. *Journal of environmental quality*, Vol. 25, pp. 69-79.
43. Li, X. and Thornton, I. 2001. Chemical partitioning of trace and major elements in soils contaminated by mining and smelting activities. *Applied Geochemistry*, Vol. 16, pp. 1693-1706.
44. Maiz, I., Arambarri, I., Garcia, R. and Millan, E. 2000. Evaluation of heavy metal availability in polluted soils by two sequential extraction procedures using factor analysis. *Environmental Pollution*, 110: 3-9.
45. Businelli, D., Massaccesi, L. and Onofri, A. 2009. Evaluation of Pb and Ni mobility to ground water in calcareous urban soils of ancona, Italy. *Water, Air and Soil Pollution*, Vol. 201, pp. 185-193.
46. Park, J.H., Bolan, N., Megharaj, M. and Naidu, R. 2011. Concomitant rock phosphate dissolution and lead immobilization by phosphate solubilizing bacteria (*Enterobacter sp.*). *Journal of Environmental Management*, Vol. 92, pp. 1115-1120.
- cadmium in highly contaminated soils. *Journal of Hazard Mater*, Vol. 165, pp. 1109-1113.
33. Lu, A., Zhang, S. and Shan, X.Q. 2005. Time effect on the fractionation of heavy metals in soils. *Geoderma*, Vol. 125, pp. 225-234.
34. Brummer, G.W., Gerth, J. and Tiller, K.G. 1988. Reaction kinetics of the adsorption and desorption of nickel, zinc and cadmium by goethite. 1. Adsorption and diffusion of metals. *Journal Soil Science*, Vol. 39, pp. 37-52.
35. Trivedi, P. and Axe, L. 2000. Modeling Cd and Zn sorption to hydrous metal oxides. *Environmental Science Technology*, Vol. 34, pp. 2215-2223.
36. Ma, Y.B. and Uren, N.C. 1998. Transformation of heavy metals added to soil application of a new sequential extraction procedure. *Geoderma*, Vol. 84, pp. 157-168.
37. Nakhone, N.L. and Toung, S.D. 1993. The significance of (radio-) labile cadmium pools in soils. *Environmental Pollution*, Vol. 82, pp. 73-77.
38. Rajaie, M., Karimian, N., Maftoun, M., Yasrebi, J. and Assa, M.T. 2006. Chemical forms of cadmiums in two calcareous soil textural classes as affected by application of cadmium-enriched compost and incubation time. *Geoderma*, Vol. 136(3-4), pp. 533-541.
39. Renella, G., Adamo, P., Bianco, M.R., Landi, L., Violante, P. and Nannipieri, P. 2004. Availability and speciation of cadmium added to a calcareous soil under various managements. *European Journal of Soil Science*, Vol. 55, pp. 123-133.
40. Waterlot, C., Pruvot, C., Ciesielski, H. and Douay, F. 2010. Effects of