فصلنامه انسان و محیط زیست، شماره ۲۲، پاییز ۹۱

برخی از روش‌های افزایش کارآیی گیاه‌پالایی فلزات سنگین

محمدرضا نادری*[۱]

munajafabad@yahoo.com

عبدالرزاق دانش‌شهرکی[۲]

رضوان نادری[۳]

چکیده

شکی نیست که در نتیجه‌ی افزایش روزافزون جمعیت کره‌ی زمین بایستی در آینده شاهد بغرنج‌تر شدن معضل آلودگی خاک، آب و هوا توسط انواع مختلف آلاینده‌های محیط زیستی باشیم. از این رو، توجه به فناوری‌های نوینِ مورد استفاده جهت پالایش مکان‌های آلوده، ضروری به نظر می‌رسد. گیاه‌پالایی یکی از این فناوری‌ها است که دارای سرعت تأثیر نسبتاً پایین و کارآیی اندک می‌باشد. در مقاله‌ی حاضر به بررسی برخی از روش‌های زیستی، شیمیایی، فیزیکی، فیزیکوشیمیایی و ژنتیکی مورد استفاده جهت افزایش کارآیی فرآیند گیاه‌پالایی خاک‌های آلوده به فلزات سنگین خواهیم پرداخت. این روش‌ها شامل کاهش pH، افزایش پتانسیل اکسایش-کاهش (Eh)، استفاده از عوامل کلات‌کننده و ریزجاندارانی نظیر قارچ‌های آربسکولار مایکوریزا (AMF) و ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) می‌باشند. شناسایی این روش‌های نوین سبب اجرای تکنیک‌های چندرهیافتی به منظور سرعت بخشیدن به فرآیند زدایش آلاینده‌های فلزی و در نتیجه، افزایش کارآیی گیاه‌پالایی خاک‌های آلوده به فلزات سنگین شده است. در این میان، کاربرد ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه یکی از سودمندترین و در عین حال، کم‌خطرترین تکنیک‌ها برای محیط زیست می‌باشد، که به تازگی جهت بهبود کارآیی فرآیند پالایش فلزات سنگین توسط گیاهان مد نظر قرار گرفته است.

کلمات کلیدی: گیاه‌پالایی، فلز سنگین، ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه.

۱- دانشجوی دکتری اکولوژی گیاهان زراعی، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد *(مسئول مکاتبات)

۲- استادیار گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد.

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و تکنولوژی بذر، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند.

مقدمه

صنعتی شدن کشورها و افزایش جمعیت جهان طی قرن بیستم منجر به آلودگی خاک، آب و هوا توسط آلاینده‌های خطرناکی نظیر فلزات سنگین و متعاقباً بروز آثار مخرب زیانبار برای سلامتی انسان‌ها و ثبات اکوسیستم‌های طبیعی و زراعی گردیده است. این فلزات بر خلاف آلاینده‌های آلی، توسط عوامل زیستی قابل تجزیه نمی‌باشند و به همین علت، برای مدت طولانی در محیط باقی می‌مانند. تعاریف متعددی برای واژه‌ی "فلز سنگین" ارایه گردیده است، اما این واژه عمدتاً در زمینه‌ی آلودگی محیط زیست مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این راستا، شاو و همکاران (۲۰۰۴) چهار معیار را برای تمایز فلزات سنگین بر شمردند: ۱- نسبتاً در پوسته‌ی زمین فراوان هستند؛ ۲- استخراج و کاربرد آن‌ها صرفه‌ی اقتصادی دارد؛ ۳- دارای تماس مستقیم با افراد جامعه می‌باشند و ۴- برای انسان‌ها سمی هستند. در تعریفی دیگر، واژه‌ی فلزات سنگین اشاره به فلزها و شبه فلزهایی دارد که وزن مخصوص (چگالی) آن‌ها بیش از ۴ یا ۵ گرم بر سانتی‌متر مکعب می‌باشد (۲). اغلب فلزات سنگین در زمره‌ی عناصر سمی و سهل الوصول قرار دارند و غلظت آن‌ها در خاک از ۱ تا ۱۰۰۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم متغیر است (۲).

به طورکلی ۴ روش اصلی برای اصلاح و پالایش خاک‌های آلوده وجود دارد (۳)، که این روش‌ها عبارتند از:

۱- اصلاح فیزیکی: شامل واجذبی حرارتی[۱]، کوره‌ی سیمانی[۲]، مکش هوایی و سوزاندن[۳]

۲- اصلاح شیمیایی: شامل کپسوله کردن[۴]، عصاره‌گیری با حلال[۵]، خنثی‌سازی[۶]، اکسایش-کاهش[۷] و رسوب‌گذاری[۸]

۳- زیست‌پالایی: شامل کشت و زرع[۹]، تقلیل طبیعی[۱۰]، تخلیه‌ی زیستی[۱۱]، تقویت زیست‌توده[۱۲] و راکتور زیستی[۱۳]

۴- گیاه‌پالایی: که به صورت استفاده از گیاهان (شامل درختان و علف‌ها) به منظور زدودن، بی اثر کردن و یا ترسیب آلاینده‌های خطرناکِ تجمع یافته در خاک، آب و هوا تعریف می‌شود (۴).

واژه‌ی phytoremediation (گیاه‌پالایی)، مرکب از کلمه‌ی یونانی "phyto" به معنای گیاه و پسوند لاتین "remedium" به معنای اصلاح یا ترمیم می‌باشد. جمع‌آوری آلاینده‌ها از محیط و تبدیل آن‌ها به فرم‌هایی که به آسانی قابل عصاره‌گیری هستند (بافت‌های گیاهی)، دلیل اصلی استفاده از این فناوری است. اساساً فرآیند گیاه پالایی آلاینده‌های محیط زیستی، در چهار گروه اصلی طبقه‌بندی می‌شود (۵)، که عبارتند از: الف- استخراج‌گیاهی[۱۴]: شامل استفاده از گیاهان به منظور برداشت آلاینده‌ها از خاک و سپس انتقال آن‌ها به بافت‌های هوایی گیاه می‌باشد. در میان تکنیک‌های مختلف گیاه‌پالایی، این تکنیک مناسب ترین روش جهت پالایش خاک‌های آلوده محسوب می‌شود. ب- تثبیت‌گیاهی[۱۵]: در برگیرنده‌ی غیرمتحرک کردن یا کاهش قابلیت جذب آلاینده‌های خاک به وسیله‌ی ریشه‌ی گیاهان یا باکتری‌ها و قارچ‌های همزیست با آن‌ها می‌باشد. پ- تبخیرگیاهی[۱۶]: مستلزم استفاده از گیاهان به منظور تبخیر نمودن آلاینده‌های خاک به درون اتمسفر است. ت- تصفیه‌ی‌گیاهی[۱۷]: شامل جذب آلاینده‌های موجود در فاضلاب‌ها و پساب‌ها توسط ریشه‌ی گیاهان می‌باشد (۲).

این فناوری طبیعی و دوستدار محیط زیست، از لحاظ اقتصادی مقرون به صرفه، از لحاظ زیبایی خوشایند، مطلوب برای موجودات زنده‌ی خاک، افزایش‌دهنده‌ی تنوع زیستی و منشأ یافته از انرژی نور خورشید است و از همه مهم تر آنکه فناوری گیاه‌پالایی قادر به حفظ حاصلخیزی خاک حتی پس از زدودن فلزات سنگین می‌باشد (۶). به هر حال، این

1- Thermal desorption
2- Cement kiln
3- Air stripping and incineration
4- Encapsulation
5- Solvent extraction
6- Neutralization
7- Oxidation-reduction
8- Precipitation
9- Land farming
10- Natural attenuation
11- Biopiling
12- Bioaugmentation
13- Bioreactor
14- Phytoextraction
15- Phytostabilization
16- Phytovolatilization
17- Phytofiltration

فناوریِ نسبتاً جدید دارای یکسری کاستی‌ها نیز هست که کاربرد آن را با محدودیت مواجه می‌سازد. از جمله‌ی این کاستی‌ها می‌توان به نیاز بدیهی گیاهان به عناصر غذایی و شرایط اقلیمی خاص و همچنین، خصوصیات خاکی مناسب جهت حفظ رشد گیاه در سطح طبیعی اشاره نمود. به عنوان مثال، *Thlaspi praecox* که بیش‌اندوز کادمیم، روی و سرب است، یک گیاه چندساله‌ی بومی اسلوونی می‌باشد و ریشه‌های آن قادر به حفظ بقای خود در طی سرمای زمستان هستند، اما نسبت به درجه حرارت‌های بالا، بسیار حساس می‌باشند. علاوه بر این، یکی از مهم ترین معایب تکنیک استخراج‌گیاهی، مدت زمان طولانی مورد نیاز آن است که استفاده از این روش جهت پالایش خاک‌های آلوده را با چالش جدی مواجه می‌سازد. به عنوان مثال، مشخص شده است که برای مقرون‌به‌صرفه بودن فرآیند استخراج‌گیاهی آلاینده‌های فلزی، گیاهان مورد استفاده بایستی بتوانند حداقل ۱٪ از کل فلز موجود در خاک را در زیست‌توده‌ی اندام هوایی خود انباشت نمایند (۲).

نئوگشوآندتنر و همکاران (۲۰۰۸) برآورد کردند که چنانچه فرآیند استخراج‌گیاهی کادمیم و سرب از خاک‌های آلوده با حداکثر ظرفیت خود صورت پذیرد، آنگاه به منظور کاهش غلظت این آلاینده‌ها به مقادیر آستانه‌ای تعیین شده در استاندارد کشور جمهوری چک (۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک برای کادمیم و ۲۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک برای سرب)، به ترتیب ۲۶۰ و ۳۰۰ فصل زراعی مورد نیاز می‌باشد. مسلماً نیاز داشتن به تعداد فصول زراعی زیاد، استخراج‌گیاهی فلزات سنگین را به فرآیندی وقت‌گیر و پرهزینه مُبدل می‌سازد. سایر معایب تکنیک استخراج‌گیاهی شامل تحمل محدود گیاه (خصوصاً در مواجهه با غلظت‌های بالای آلاینده‌ها)، کارآیی کمتر آن در مقایسه با تکنیک‌های پالایش غیرزیستی و محدودیت‌های ناشی از گسترش آلودگی به لایه‌های عمیق‌تر خاک می‌باشند (۸). مدیریت و دفع بقایای گیاهی غنی از عناصر آلاینده نیز یکی دیگر از معضلات اصلی تکنیک استخراج‌گیاهی محسوب می‌شود. در این راستا از روش‌هایی نظیر دفن کردن، کمپوست کردن و یا سوزاندن به منظور از بین بردن بقایای گیاهی آلوده استفاده می‌شود، اما این روش‌ها می‌توانند سبب انتقال آلاینده‌ها به سایر اجزای اکوسیستم گردند (به عنوان مثال دفن کردن بقایای گیاهی آلوده، خطر آلودگی آب‌های زیرزمینی را افزایش می‌دهد) (۲).

به طورکلی، از دو روش به منظور خارج نمودن فلزات از خاک‌های آلوده توسط گیاهان استفاده می‌شود. روش اول شامل استفاده از گیاهان بیش‌اندوز[1]، که دارای قابلیت جذب و تجمع مقادیر بسیار زیاد آلاینده‌های فلزی هستند، می‌باشد. تعداد گونه‌های گیاهی که از توانایی تجمع غلظت‌های بالای فلزات و تولید زیست‌توده‌ی زیاد برخوردار هستند نسبتاً اندک است، چراکه اغلب گونه‌های بیش‌اندوز دارای زیست‌توده‌ی هوایی ناچیز، رشد کند و دوره‌ی بلوغ طولانی می‌باشند. از این رو، طی سال‌های اخیر عمدتاً از گیاهان متحملِ به فلز نظیر ذرت، برنج، آفتابگردان و خردل (۹)، که از توانایی جذب و تجمع مقادیر نسبتاً بیشتری از آلاینده‌های فلزی در مقایسه با سایر گیاهان (به استثنای گیاهان بیش‌اندوز) و همچنین زیست توده‌ی بالا برخوردار هستند، استفاده می‌شود (روش دوم). این گیاهان عمدتاً به همراه روش‌های ارتقادهنده‌ای نظیر عوامل کلات‌کننده، که سبب افزایش غلظت آلاینده‌های فلزی در بافت‌های گیاهی می‌شوند، مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱۰).

بر اساس میزان جذب فلزات سنگین توسط گیاهان می‌توان این فلزات را در سه گروه، به صورت بخش قابل‌جذب، شامل کاتیون‌های آزاد و یون‌های کلات شده، بخش قابل‌تبادل، شامل فلزات چسبیده به ماده‌ی آلی، کربنات‌ها و اکسیدهای آهن-منگنز و در نهایت بخش غیرقابل جذب، طبقه‌بندی نمود (۸). بخش اعظم فلزات موجود در خاک به وسیله‌ی کربنات‌ها، مواد آلی، اکسیدهای آهن-منگنز و کانی‌های معدنی اولیه یا ثانویه جذب و غیرمتحرک می‌گردند (۱۱). قابلیت جذب اندک آلاینده‌های فلزی توسط ریشه‌ی گیاه، عامل محدودکننده‌ی استفاده از گیاهان بیش‌اندوز و گیاهان غیربیش‌اندوز متحملِ به فلز در فرآیند استخراج‌گیاهی است (۹). به علاوه، بسیاری از گونه‌های بیش‌اندوز دارای رشد آهسته‌ای هستند، زیست‌توده‌ی اندکی تولید می‌کنند و قادر به رشد کردن در تمام انواع خاک‌ها و اقلیم‌ها نیز نمی‌باشند. علاوه بر سمیت ناشی از فلزات سنگین،

1- Hyperaccumulator

عوامل دیگری از جمله شرایط خشکی، ساختمان نامناسب خاک، آبیاری اندک و کمبود عناصر غذایی نیز موجب محدودیت رشد گیاهان در خاک‌های آلوده می‌گردند (۱۲). در مجموع، این عوامل موجب کاهش جذب فلزات توسط گیاه، کاهش رشد و زیست‌توده تولیدی آن و در نهایت افزایش زمان مورد نیاز برای پاکسازی منطقه‌ی آلوده خواهند شد. از این رو، در ادامه به برخی از روش‌های افزایش کارآیی گیاه‌پالایی مناطق آلوده به فلزات سنگین اشاره خواهیم نمود.

۱- کاربرد عوامل کلات‌ساز[1] و اسیدی‌کننده

یکی از استراتژی‌های مفروض جهت دستیابی به کارآیی بالاتر در زدودن آلاینده‌های فلزی از خاک، شامل افزایش غلظت فلزات سنگین محلول از طریق کاربرد عوامل کلات‌ساز مصنوعی نظیر EDTA است. موثر بودن فرآیند جذب فلزات سنگین از خاک توسط گیاهان، وابسته به میزان دسترسی گیاه به فلز مورد نظر می‌باشد (۱۳). اگر دسترسی به فلز برای جذب کافی توسط گیاه، در حد قابل‌قبولی نباشد، ممکن است که عوامل کلات‌ساز جهت آزاد و متحرک کردن فلزات به خاک اضافه شوند (۱۴). مشخص شده است که چندین عامل کلات‌ساز نظیر EDTA، EGTA، EDDHA، EDDS و NTA استخراج‌گیاهی فلزات موجود در خاک آلوده را از طریق متحرک کردن فلزات و متعاقباً افزایش تجمع آن‌ها در بافت‌های گیاهی بهبود می‌بخشند (۱۵). این عوامل کلات‌ساز میل ترکیبی زیادی با کاتیون‌های فلزی مختلف داشته و به آسانی به صورت یک کمپلکس کلات-فلز از ریشه‌های گیاه به سمت اندام هوایی آن جابه‌جا می‌گردند. لذا عوامل کلات‌ساز به طور همزمان جذب و جابه‌جایی فلزات سنگین را افزایش می‌دهند و از طرف دیگر، به واسطه‌ی تشکیل کمپلکس با یون‌های فلزی قادر به کاهش سمیت کاتیون‌های فلزی آزاد در اندام‌های فتوسنتزی گیاه نیز می‌باشند (۱۶). کاربرد این عوامل کلات‌ساز موجب افزایش جذب فلزات توسط گیاهان غیر بیش‌اندوز با زیست‌توده‌ی بالا نظیر خردل، آفتابگردان، ذرت و تنباکو می‌شود (۱۷). با این وجود، بسیاری از عوامل کلات‌ساز مصنوعی دارای قیمت بالایی هستند و تهدیدی برای کیفیت خاک محسوب می‌شوند و می‌توانند منابع آب زیرزمینی را آلوده نمایند (۱۸).

استفاده از عوامل کلات‌ساز غیرقابل‌تجزیه نظیر EDTA موجب آبشویی فلزات به درون آب‌های زیرزمینی شده و در نتیجه بقایای آن‌ها منبع آلودگی جدیدی را ایجاد خواهند نمود (۸). به علاوه، برخی از کلات‌های مصنوعی برای گیاهان سمی هستند و از طرف دیگر، افزایش انحلال‌پذیری فلزات توسط این کلات‌ها امکان بروز مسمومیت در گیاهان غیربیش‌اندوز را نیز فراهم می‌آورد (۱۹). ممکن است که کاربرد هدفمند (مانند تزریق در ناحیه‌ی ریشه) مقادیر اندک عوامل کلات‌ساز تجزیه‌پذیر نظیر NTA یا EDDS موجب کاهش خطر ورود فلزات به آب‌های زیرزمینی تا سطوح قابل‌قبول شود (۸۳). EDDS، فرم قابل تجزیه‌ی EDTA است که ظرف مدت ۲۰ روز ۹۰٪ آن در خاک تجزیه شده و بنابراین جایگزین مناسبی برای EDTA می‌باشد (۱۶). با این وجود، کایسر و همکاران (۲۰۰۰) با کاربرد همزمان عامل کلات‌ساز NTA و گوگرد عنصری برای مدت یکسال در یک مزرعه کشاورزی آلوده به فلزات سنگین، دریافتند که حتی با وجود افزایش مصنوعی حلالیت آلاینده‌های فلزی همچنان سرعت استخراج‌گیاهی این فلزات از خاک بسیار کمتر از حد قابل‌قبول جهت استفاده‌ی عملی از آن می‌باشد، مگر آنکه منطقه‌ی آلوده به زراعت محصولی درآمدزا با قدرت استخراج فلزات سنگین از خاک اختصاص یابد، که در این صورت فرآیند زدودن آلاینده‌ها توسط گیاهان به عملیاتی کاملاً سودمند تبدیل خواهد شد. تلفیق گیاه‌پالایی و زراعت تحت عنوان مدیریت‌گیاهی[2] نامیده می‌شود. گیاهان زراعی بالقوه‌ای که امکان استفاده‌ی تلفیقی آن‌ها در فن‌آوری گیاه‌پالایی وجود دارد، شامل محصولات غیرخوراکی نظیر گیاهان زیست سوخت[3] (مانند آفتابگردان)، گیاهان فیبری، چوبی و یا بسته به میزان آلودگی، گیاهان علوفه‌ای می‌باشند (۲۱).

1- Chelating agents

2- Phytomanagement

3- Biofuel

از طریق کاهش pH خاک به واسطه افزودن سولفوریک اسید یا کودهای آلی نیز می‌توان قابلیت جذب فلزات توسط گیاهان را افزایش داد. کاهش pH خاک موجب افزایش انحلال‌پذیری کاتیون‌های فلزی و متعاقباً افزایش جذب آن‌ها توسط گیاهان خواهد شد (۲۲).

۲- اعمال جریان الکتریکی در خاک

استراتژی مفروض دیگر جهت بهبود کارآیی گیاه‌پالایی فلزات سنگین شامل اعمال درجای یک میدان الکتریکی در خاک به منظور افزایش قابلیت جذب عناصر غذایی و آلاینده‌های فلزی توسط گیاهان می‌باشد (۲۳). به واسطه کاربرد یک جریان الکتریکی مستقیم (DC)، مولکول آب در آند (قطب منفی) اکسید شده و با تولید یون‌های هیدروژن موجب کاهش pH خاک و در نتیجه افزایش انحلال‌پذیری آلاینده‌های فلزی می‌شود. در کاتد (قطب مثبت)، مولکول آب احیا شده و با تولید یون‌های هیدروکسیل موجب افزایش pH خاک می‌گردد (۲۴). از طرف دیگر، جریان الکتریکی مستقیم اعمال شده در خاک موجب حرکت آب روزنه‌ای[1] از یک الکترود به الکترود دیگر طی فرآیندی تحت عنوان الکترواسمز[2] می‌شود. جهت الکترواسمز وابسته به بار الکتریکی سطح ذرات خاک و pH خاک است. معمولاً تحت شرایط کاربرد جریان الکتریکی مستقیم در خاک، جهت حرکت آب از آند به سمت کاتد می‌باشد (۲۴).

امکان استفاده از فن‌آوری گیاه‌پالایی به همراه میدان الکتریکی (۲۵) وجود دارد و یا حتی می‌توان پس از اعمال تیمار الکتروکینتیک اقدام به کاربرد این فن‌آوری نمـود (۲۶). بر اساس نتایج مطالعات پیشین، اگرچه تحت شرایط کاربرد گیاه‌پالایی در ترکیب با جریان الکتریکی مستقیم، تحرک آلاینده‌های فلزی و جابه‌جایی آن‌ها افزایش می‌یابد، با این وجود کاهش pH ناشی از اعمال جریان الکتریکی پارامتر نامطلوبی است که موجب محدودیت رشد گیاه می‌شود (۲۷). به عنوان نمونه، تحت شرایط کاربرد جریان الکتریکی مستقیم در خاک، رشد بوته‌های سیب‌زمینی کاهش یافت (۲۵). از این رو، همچنان نیاز به تنظیم و اصلاح جنبه‌های بیشماری از روش ترکیبی گیاه‌پالایی-جریان الکتریکی می‌باشد. با تغییر در قطبیت جریان مستقیم، از یک طرف می‌توان مانع از تغییر pH خاک از آند به سمت کاتد شد و از طرف دیگر می‌توان همگنی خاک را نیز بهبود بخشید (۲۳). به‌واسطه‌ی کاربرد جریان الکتریکی متناوب (AC)، تولید بیوماس بوته‌های سیب‌زمینیِ در حال رشد بر سطح خاک آلوده به کادمیم، روی و سرب افزایش یافت و از طرف دیگر، تحت شرایط کاربرد جریان متناوب، هیچ گونه خصوصیت خاکی نامطلوبی مشاهده نگردید (۲۵).

۳- استفاده از مواد تنظیم کننده‌ی رشد گیاه[3]

روش دیگر جهت افزایش کارآیی استخراج گیاهی فلزات، شامل استفاده از مواد تنظیم‌کننده‌ی رشد گیاه (PGRs) جهت خنثی نمودن اثرات منفی تنش فلزی در گیاهان و افزایش زیس‌توده‌ی اندام هوایی آن‌ها می‌باشد (۲۸). سیتوکنین‌ها (CKs) (نظیر کینتین، N_6-بنزیل‌آدنین و زئاتین) گروهی از مواد تنظیم‌کننده‌ی رشد گیاه هستند که در فرآیندهای تقسیم سلولی و تمایز سلولی نقش عمده‌ای را بر عهده دارند. این مواد موجب تحریک ساقه‌دهی، تشکیل جوانه، رشد جوانه‌های جانبی و سنتز کلروفیل می‌شوند. از طرف دیگر، این ترکیبات قادر به تأخیر انداختن در پیری برگ‌ها، افزایش مقاومت گیاه نسبت به تنش‌های شوری، دماهای پایین و خشکی نیز می‌باشند و موجب القای باز شدن روزنه‌ها در بعضی گونه‌ها می‌شوند (۲۹). نیروی محرکه‌ی فرآیند تعرق در گیاهان، ترکیبی از عوامل غیرزیستی (شامل اقلیم، آب قابل دسترس خاک، عمق آب زیرزمینی و غیره) و زیستی (شامل سطح برگ، کارکرد روزنه‌ها، اندازه و توزیع ریشه، سنتز هورمون و غیره) می‌باشد (۳۰). از طرف دیگر سرعت تعرق نیز به طور مستقیم وابسته به باز یا بسته بودن روزنه‌ها است و این فرآیند (تعرق) موجب حرکت آب از ریشه‌ها به اندام هوایی گیاه به علت اتلاف آب به شکل بخار از طریق روزنه‌ها می‌شود. هنگامی که روزنه‌ها

1- Pore water
2- Electroosmosis
3- Plant growth regulators

کاملاً باز هستند، سرعت تعرق به میزان ۲۰ تا ۴۰٪ افزایش می‌یابد (۳۰).

تنظیم شیمیایی وضعیت روزنه‌های گیاه، یکی از استراتژی‌های مفروض به منظور افزایش جذب آب و آلاینده‌ها است، چراکه آب جذب شده در ریشه‌ها به واسطه‌ی خاصیت اسمزی، هر گونه عنصر غذایی حل شده و یا آلاینده‌های محلول را با خود از طریق آوند چوبی به سمت اندام هوایی گیاه انتقال می‌دهد. بنابراین از تعرق به عنوان فرآیندی کلیدی جهت اجرای موفقیت‌آمیز گیاه‌پالایی فلزات آلوده‌کننده‌ی خاک و آب یاد شده است، چرا که به منظور کنترل یا جذب آلاینده‌ها می‌بایست پوشش گیاهی به اندازه‌ی کافی تعرق انجام دهد (۳۱). اسپری کردن سیتوکنین‌ها بر سطح خارجی گیاه می‌تواند موجب افزایش سرعت تعرق پوشش گیاهی و متعاقباً افزایش جذب فلزات موجود در محلول خاک توسط گیاه شود (۳۲).

فونتس و همکاران (۲۰۰۰) به واسطه‌ی تیمار بوته‌های ذرت از طریق پاشش ایندول‌بوتریتیک اسید (IBA) و یا نفتیل‌استیک اسید (NAA) متوجه‌ی افزایشی معادل ۴۱/۲٪ در جذب سرب با استفاده از IBA و ۱۲۷/۴ درصد با استفاده از NAA گردیدند. با این وجود، دستیابی به چنین نتیجه‌ای با مرگ و میر بالای بوته‌های ذرت (بیش از ۴۵ درصد بوته‌های تیمار شده)، مصرف مقادیر بسیار زیاد مواد تنظیم‌کننده‌ی رشد گیاه (NAA با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اسپری شد) و کاهش در زیست‌توده‌ی کل گیاه، همراه بود. لیفادزی و همکاران (۲۰۰۶) از ایندول‌استیک اسید (IAA) به منظور افزایش رشد ریشه بوته‌های آفتابگردان استفاده نموده و مشاهده کردند که تجمع کادمیم و سرب در برگ‌ها افزایش یافت. از آنجایی که هورمون‌های گیاهی (خصوصاً سیتوکنین‌ها) قادرند نقش مهمی در فرآیندهای مرتبط با تنش فلزی ایفا نمایند، لذا امکان اینکه کاهش سمیت فلزات در گیاهان مورد استفاده برای گیاه‌پالایی، ناشی از تأثیر کاربرد پاششی آن‌ها بر مقدار بیوماس، سرعت تعرق و میزان جذب فلزات باشد، وجود دارد. از طرف دیگر، اثر قطعی سیتوکنین‌ها بر باز شدن روزنه‌ها می‌تواند موجب افزایش تعرق و متعاقباً افزایش جذب آلاینده‌های فلزی توسط گیاه شود (۳۴).

۴- بهبود رشد گیاه

از آن جایی که زیست‌توده گیاهی و به‌خصوص زیست‌توده اندام هوایی گیاه نقش بسیار مهمی را در مقدار کل فلز زدوده شده از خاک توسط گیاه بر عهده دارد، لذا هر گونه روش فیزیکی نظیر تنظیم درجه‌ی حرارت و نور، شیمیایی نظیر کاربرد کودهای شیمیایی و یا فیزیکوشیمیایی نظیر تنظیم pH خاک که موجب افزایش رشد و متعاقباً زیست‌توده گیاه شود، خواهد توانست کارآیی گیاه‌پالایی را نیز بهبود بخشد. کاربرد مقادیر مناسب کودهای حاوی عناصر اصلی (نیتروژن، فسفر و پتاسیم) و انجام آبیاری با دور مناسب نیز می‌تواند اثرات سودمندی بر کارآیی گیاه‌پالایی داشته باشد (۸). به عنوان مثال، باروتیا و همکاران (۲۰۰۹) مشاهده کردند که با کاربرد کودهای شیمیایی در یک خاک آلوده به سرب، کادمیم و روی، مقدار میانگین زیست‌توده گیاه و تحمل آن‌ها نسبت به این فلزات، با افزایش مواجه گردید.

۵- کاهش زمان گیاه‌پالایی

روش پیشنهادی دیگر به منظور بهبود کارآیی گیاه‌پالایی شامل سرعت بخشیدن به رشد گیاه از طریق تأمین نیازهای آن به عواملی نظیر نور، درجه حرارت و CO_2 است، که این روش در نهایت موجب کاهش زمان گیاه‌پالایی خواهد شد (۳۶). از طریق انتقال گیاهچه‌ها (نشاءکاری) به زمین اصلی نیز می‌توان زمان مورد نیاز برای گیاه‌پالایی خاک آلوده به فلزات را کاهش داد، چراکه در مرحله‌ی گل‌دهی، تجمع فلز در اندام هوایی گیاه بالا است (۸)، به هر حال، این روش نیز دارای یکسری محدودیت‌های اجرایی است، از جمله کاشت گیاهچه‌ها در یک منطقه‌ی آلوده‌ی وسیع، عملی بسیار مشکل و در بعضی موارد غیرممکن می‌باشد (۳۶).

۶- افزایش پتانسیل رداکس خاک (Eh)

روش دیگر بهبود کارآیی استخراج‌گیاهی آلاینده‌های فلزی شامل افزایش پتانسیل اکسایش-کاهش (پتانسیل رداکس) خاک است که موجب افزایش قابلیت جذب فلزات موجود در محلول خاک می‌شود (۳۷). تنظیم پتانسیل رداکس

معمولاً با استفاده از تکنیک‌های زراعی نظیر خشک کردن با آفتاب، متعادل نمودن ماده‌ی آلی و یا ترتیب آبیاری صورت می‌پذیرد، با این وجود، به طور کلی تنظیم پتانسیل رداکس خاک عملی پیچیده است (۸).

۷- کاربرد کودهای آلی

افزودن کودهای آلی به خاک موجب کاهش قابل توجه تحرک فلزات نادر شده اما به دلیل افزایش زیست‌توده‌ی گیاه، منجر به بیشتر شدن تجمع فلزات در اندام هوایی گیاه می‌گردد (۳۸). کاربرد کمپوست و ورمی‌کمپوست در خاک‌های آلوده، موجب بهبود حاصلخیزی و صفات فیزیکی خاک شده و فرآیند گیاه‌پالایی فلزات سنگین را تسهیل می‌کند (۳۹). افزودن این مواد به خاک، کیفیت و تولید بیوماس گیاهان در حال رشد را افزایش می‌دهد و در نتیجه منجر به جذب مقادیر بیشتری از فلزات توسط گیاهان و افزایش تحمل آن‌ها نسبت به سمیت فلزی می‌شود (۴۰).

۸- روش‌های زیستی

در این روش به منظور بهبود کارآیی گیاه‌پالایی از ریزجانداران ریزوسفری شامل ریزوباکتری‌های آزادزی و یا همزیست و قارچ‌های مایکوریزا استفاده می‌شود. علاوه بر این، یکی از روش‌های ممکن به منظور کاهش اثرات زیانبار فلزات سنگین جذب شده از محیط بر گیاهان، استفاده از ریزوباکتری‌های ارتقادهنده‌ی رشد گیاه (PGPR)[1] یا قارچ‌های مایکوریزا است (۴۱).

۹-۱- قارچ‌های مایکوریزا

از بین ریزجانداران خاک تنها قارچ‌های مایکوریزا منجر به ایجاد یک ارتباط مستقیم بین خاک و ریشه گیاه می‌شوند و به دلیل افزایش قابلیت دسترسی و تحمل فلزات سنگین در گیاهان، از اهمیت فراوانی در گیاه‌پالایی برخوردار می‌باشند. این قارچ‌های همزیست، جذب آب و عناصر غذایی را افزایش می‌دهند، از اثرات سوء تنش‌های محیطی و زراعی بر گیاه می‌کاهند و باعث بهبود مقاومت گیاه نسبت به بیماری‌ها و سلامتی آن می‌شوند (۴۲). این واقعیت که فلزات سنگین موجب کاهش قابلیت جذب عناصر غذایی مورد نیاز برای رشد و نمو طبیعی گیاهان می‌شوند، بیانگر اهمیت قارچ‌های مایکوریزا در برگرداندن شرایط خاک‌های آلوده، به حالت طبیعیِ قابل بهره‌برداری است (۴۲). نقش اصلی قارچ‌های مایکوریزا بهبود جذب فسفر و عناصر معدنی توسط گیاهان و افزایش تعداد و طول انشعابات ریشه می‌باشد (۴۳). سویا یکی از گیاهانی است که دارای رابطه‌ی همزیستی با قارچ‌های مایکوریزا می‌باشد و این همزیستی موجب افزایش رشد آن در خاک‌های آلوده به فلز می‌گردد (۴۳). قارچ‌های مایکوریزا بر عناصر غذایی که از تحرک کمی در خاک برخوردار هستند و دارای غلظت‌های بسیار اندکی در محلول خاک می‌باشند، تأثیر می‌گذارند (۴۴). این قارچ‌ها باعث افزایش جذب فلزاتی نظیر مس، روی، نیکل، کادمیم و سرب توسط گیاهان می‌شوند. بیش از ۸۰٪ از گونه‌های گیاهی خشکی‌زی دارای رابطه‌ی همزیستی با قارچ‌های مایکوریزا هستند (۴۴). مهم ترین جنس قارچ‌های مایکوریزا، *Glomus* است که با ریشه‌ی چندین گیاه زراعی از جمله آفتابگردان رابطه‌ی همزیستی برقرار می‌نماید (۴۴).

۹-۲- باکتری‌های محرک رشد گیاه

ناحیه ریزوسفر محیط زیست بسیار کوچک و پویایی را برای ریزجانداران خاک فراهم می‌آورد و در آن محیط ریزجانداران مرتبط با ریشه‌ی گیاه، اجتماعی منحصر به فرد را که دارای پتانسیل قابل ملاحظه‌ای برای سم‌زدایی از ترکیبات زاید سمی نظیر فلزات سنگین می‌باشد، تشکیل می‌دهند (۴۵). ریزجانداران خاک از طریق مکانیسم‌هایی مانند تبدیل فلزات به فرم‌های با سمیت کمتر، غیرمتحرک کردن فلزات بر سطح سلول یا در داخل پلی‌مرهای درون سلولی و رسوب یا متیل‌گذاری زیستی ترکیبات فلزی، قادر به مقاومت در برابر سمیت ناشی از عناصر سنگین می‌باشند (۴۵). برخی از باکتری‌های ریزوسفری (PGPR) دارای توانایی فوق‌العاده‌ای جهت بهبود رشد گیاه میزبان از طریق مکانیسم‌های مختلفی نظیر تثبیت نیتروژن اتمسفری، استفاده

1- Plant Growth Promoting Rhizobacteria

از ۱-آمینوسیکلوپروپان-۱-کربوکسیلیک اسید (ACC) به عنوان منبع نیتروژن، تولید سیدرفورها و یا ترشح مواد تنظیم‌کننده رشد گیاه (هورمون‌ها)، می‌باشند (۴۵). ریزو باکتری‌های محرک رشد گیاه را می‌توان بر اساس نوع رابطه‌ی آن‌ها با گیاه به دو گروه اصلی تقسیم نمود، شامل ریزوباکتری‌های آزادزی که خارج از سلول‌های گیاه زندگی می‌کنند و ریزوباکتری‌های همزیست که داخل سلول‌های گیاهی زندگی می‌کنند و تولید گره می‌نمایند (۴۶).

این باکتری‌ها قادر به ارتقای رشد گیاهان با استفاده از مکانیسم‌های مستقیم و غیرمستقیم می‌باشند. مکانیسم‌های مستقیم، شامل کاهش مقدار تولید اتیلن به واسطه‌ی سنتز آنزیم ACC-دی‌آمیناز در گیاهان، فراهمی فسفر قابل جذب برای گیاه و تثبیت نیتروژن اتمسفری، جداسازی و مهیا نمودن عناصر نادر مانند آهن با استفاده از سیدرفورها و تولید هورمون‌های گیاهی نظیر جیبرلین‌ها، سیتوکنین‌ها و اکسین‌ها، می‌باشند (۴۵). اثر غیرمستقیم باکتری‌های محرک رشد گیاه، از طریق افزایش تحمل گیاه نسبت به بیماری‌ها صورت می‌پذیرد (۴۷).

به علاوه، بسیاری از ریزجانداران خاک قادر به حل کردن فرم‌های غیرقابل‌جذب کانی‌های معدنی فلزدار از طریق ترشح اسیدهای آلی هستند (۴۸). بسیاری از باکتری‌های خاک نسبت به فلزات مقاوم بوده و از طریق تولید عوامل کلات‌ساز، اسیدی کردن pH ناحیه‌ی ریشه، انحلال فسفات و تغییر پتانسیل رداکس، نقش مهمی را به منظور متحرک ساختن آلاینده‌های فلزی در خاک بر عهده دارند (۴۹). این باکتری‌ها به دلیل برخورداری از اندازه‌ی کوچک، دارای فعالیت و نسبت سطح به حجم زیادی می‌باشند و بنابراین سطح تماس وسیعی را مهیا نموده و امکان استفاده از آن‌ها به عنوان کلات‌های میکروبی جهت افزایش کارآیی فن‌آوری گیاه‌پالایی وجود دارد (۵۰). نتایج مطالعات پیشین حاکی از آن است که تلقیح خاک توسط باکتری‌های مقاوم به فلزات سنگین، می‌تواند منجر به افزایش جذب این فلزات به وسیله‌ی گیاهان، در خاک‌های آلوده شود (۵۱). بنابراین، بهبود روابط متقابل میان گیاهان و میکروب‌های ریزوسفری سودمند می‌تواند موجب افزایش تولید بیوماس و تحمل گیاهان نسبت به فلزات سنگین شده و در نتیجه به عنوان یکی از مهم ترین اجزای فن‌آوری گیاه‌پالایی به حساب می‌آید (۴۵).

۹- استفاده از روش‌های مهندسی ژنتیک

اگرچه چندین گونه‌ی بیش‌اندوز طبیعی شناسایی شده است، اما گیاهان مطلوب برای تکنولوژی سبز گیاه‌پالایی باید دارای صفات متعددی نظیر ریشه‌های عمیق، رشد سریع و زیست‌توده‌ی بالا باشند. برداشت این گیاهان می‌بایست به راحتی صورت پذیرد و باید از توانایی تحمل و ذخیره‌ی طیف وسیعی از فلزات سنگین در بخش‌های هوایی خود برخوردار باشند. تاکنون هیچ گیاهی که دارای تمام صفات فوق باشد، شناسایی نشده است. توسعه‌ی گیاهان تراریخته‌ای که دارای صفات مورد نیاز برای گیاه‌پالایی فلزات سنگین هستند، به عنوان یکی از گزینه‌های پیشِ رو جهت افزایش کارآیی این فن‌آوری مطرح است. بیان زیاد و انتقال دادن ژن‌های مسئول جذب و انباشت مقادیر بالای فلزات به گیاهانی که دارای این صفت نیستند، می‌تواند یک روش احتمالی و قابل قبول به منظور بهبود فرآیند جذب فلز، انباشت، تحمل و سم‌زدایی آن باشد. بنابراین عمدتاً به واسطه‌ی افزایش قابلیت تحمل و یا تجمع فلزات سنگین در گیاهان تراریخته می‌توان کارآیی گیاه‌پالایی آلاینده‌های فلزی را بهبود بخشید. با این وجود، از آنجایی که استفاده از گیاهان تراریخته در بسیاری از کشورها با محدودیت‌هایی روبه‌رو است، لذا نمی‌توان این روش را به عنوان یک گزینه‌ی ممکن برای افزایش کارآیی گیاه‌پالایی فلزات سنگین در آینده نزدیک به شمار آورد (۵۲).

نتیجه‌گیری

افزایش آلودگی محیط زیست به وسیله‌ی فلزات سنگین، بسیاری از محققین را بر آن داشته که نسبت به توسعه‌ی فناوری‌های پالایشی سریع‌الاثر، مقرون‌به‌صرفه و کارآمد اقدام نمایند. بدون شک گیاه‌پالایی یکی از تکنیک‌های دوستدار محیط زیست است، اما فرآیند زدایش آلاینده‌های فلزی با استفاده از این فناوری نسبت به سایر روش‌های موجود

جهت پالایش خاک‌های آلوده، نسبتاً آهسته بوده و از کارآیی کمتری نیز برخوردار می‌باشد. از این رو، استفاده از یکسری تکنیک‌های پالایشی دیگر، که به صورت موازی یا سری با فناوری گیاه‌پالایی سبب افزایش کارآیی فرآیند اصلاح و ترمیم خاک آلوده به فلز می‌شوند، توصیه شده است.

منابع

1- Shaw, B.P., Sahu, S.K., Mishra, R.K., 2004. Heavy metal induced oxidative damage in terrestrial plants. In: Prasad, M.N.V. (Ed), Heavy Metal Stress in Plants: From Biomolecules to Ecosystems, pp. 84-126.

2- Karami, A., Shamsuddin, Z.H., 2010. Phytoremediation of heavy metals with several efficiency enhancer methods. African Journal of Biotechnology, vol. 9, pp. 3689-3698.

3- Ward, O.P., Singh, A., 2004. Soil bioremediation and phytoremediation-An overview. In: Singh, A., Ward, O.P. (Eds), Applied bioremediation and phytoremediation. Springer, Berlin, vol. 1, pp. 1-11.

4- Prasad, M.N.V., Freitas, H., 2003. Metal hyperaccumulation in plants – Biodiversity prospecting for phytoremediation technology. Electronic Journal of Biotechnology, vol. 6, pp. 275–321.

5- Khan, A.G., 2005. Role of soil microbes in the rhizospheres of plants growing on trace metal contaminated soils in phytoremediation. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology. vol. 18, pp. 355-364.

6- Kirkham, M.B., 2006. Cadmium in plants on polluted soils: Effects of soil factors, hyperaccumulation, and amendments. Geoderma. Vol. 137, pp. 19-32.

7- Neugschwandtner, R.W., Tlustos, P., Komárek, M., Száková, J., 2008. Phytoextraction of Pb and Cd from a contaminated agricultural soil using different EDTA application regimes: Laboratory versus field scale measures of efficiency. Geoderma, vol. 144, pp. 446-454.

8- Wei, S.H., Teixeira Da Silva, J.A., Zhou, Q.X., 2008. Agro-improving method of phytoextracting heavy metal contaminated soil. Journal of Hazard Materials, vol. 150, pp. 662-668.

9- Peer, W., Baxter, I., Richards, E., Freeman, J., Murphy, A., 2005. Phytoremediation and hyperaccumulator plants. In: Tamas, M., Martinoia, E. (Eds), Molecular Biology of Metal Homeostasis and Detoxification. Springer, Berlin, Topics in Current Genetics, vol. 14, pp. 299-340.

10- Do Nascimento, C.W.A., Xing, B., 2006. Phytoextraction: A review on enhanced metal availability and plant accumulation. Canadian Journal of Agricultural Science. Vol. 63, pp. 299-311.

11- Garbisu, C., Alkorta, I., 2001. Phytoextraction: a cost-effective plantbased technology for the removal of metals from the environment. Bioresource Technology, vol. 77, pp. 229–236.

12- Belimov, A.A., Safronova, V.I., Mimura, T., 2002. Response of spring rape to inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase depends on nutrient status of the plant. Canadian Journal of Microbiology, vol. 48, pp. 189–199.

13- Li, Y.M., Chaney, R.L., Angle, J.S., Baker, A.J.M., 2000. Phytoremediation of heavy metal contaminated soils. In: Wise, D.L., et al. (Eds.), Bioremediation of contaminated soils. Marcel Dekker, New York.

14- Lasat, M.M., 2002. Phytoextraction of toxic metals – A review of biological mechanisms. Journal of Environmental Quality, vol. 31, pp. 109–120.
15- Van der Lelie, D., Schwitzgue, J.P., Glass, D.J., Vangronsveld, J., Baker, A., 2001. Assessing phytoremediation's progress in the United States and Europe. Environmental Science and Technology, vol. 35, pp. 447–452.
16- Tandy, S., Schulin, R., Nowack, B., 2006. The influence of EDDS on the uptake of heavy metals in hydroponically grown sunflowers. Chemosphere, vol. 62, pp. 1454–1463.
17- Di Gregorio, S., Barbafieri, M., Lampis, S., Sanangelantoni, A.M., Tassi, E., Vallini, G., 2006. Combined application of Triton X-100 and Sinorhizobium sp. P002 inoculum for the improvement of lead phytoextraction by *Brassica juncea* in EDTA amended soil. Chemosphere, vol. 63, pp. 293–299.
18- Kos, B., Lestan, D., 2003. Induced phytoextraction/soil washing of lead using biodegradable chelate and permeable barries. Environmental Science and Technology, vol. 37, pp. 624–629.
19- McGrath, S.P., Zhao, F.J., 2003. Phytoextraction of metals and metalloids from contaminated soils. Current Opinion in Biotechnology, vol. 14, pp. 277–282.
20- Kayser, A., Wenger, K., Keller, A., Attinger, W., Felix, H.R., Gupta, S.K., Schulin, R., 2000. Enhancement of phytoextraction of Zn, Cd, and Cu from calcareous soil: the use of NTA and sulfur amendments. Environmental Science and Technology, vol. 34, pp. 1778–1783.
21- Robinson, B.H., Green, S.R., Chancerel, B., Mills, T.M., Clothier, B.E., 2007. Poplar for the phytomanagement of boron contaminated sites. Environmental Pollution, vol. 150, pp. 225–233.
22- Roy, S., Singh, S.B., 2006. Effect of soil type, soil pH, and microbial activity on persistence of clodinafop herbicide. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, vol. 77, pp. 260-266.
23- Luo, Q., Wang, H., Zhang, X., Qian, Y., 2004. Movement and transformation of nitrate in soil by non-uniform electrokinetics. Environmental Science, vol. 25, pp. 98–103.
24- Delgado, A., Gonzalez-Caballero, F., Hunter, R., Koopal, L., Lyklema, J., 2007. Measurement and interpretation of electrokinetic phenomena. Journal of Colloid and Interface Science, vol. 309, pp. 194–224.
25- Bi, R., Aboughalma, H., Schlaak, M., 2007. In: 6th. Proceeding in Symposium on Electrokinetic Remediation. 12th–15th June 2007, Vigo, Spain.
26- Lobo Bedmar, M.C., Perez-Sanz, A., Martinez-Inigo, M.J., Plaza Benito, A., 2009. Influence of coupled electrokinetic–phytoremediation on soil remediation. In: Reddy, K., Cameselle, C. (Eds), Electrochemical Remediation Technologies for Polluted Soils, Sediments and Groundwater. John Wiley & Sons Inc., Hoboken, New Jersey.
27- O'Conner, S., Lepp, W., Edwards, R., Sunderland, G., 2003. The combined use of electrokinetic remediation and phytoremediation to decontaminate metalpolluted soils: a laboratory-scale feasibility study. Environmental Monitoring and Assessment, vol. 84, pp. 141–158.
28- Ouzounidou, G., Ilias, I., 2005. Hormone-induced protection of sunflower photosynthetic apparatus against copper toxicity. Biologia plantarum, vol. 49, pp. 223–228.

29- Dodd, I.C., 2003. Hormonal interactions and stomatal responses. Journal of Plant Growth Regulators, vol. 22, pp. 32–46.
30- Vose, J.M., Harvey, G.J., Elliott, K.J., Clinton, B.D., 2003. Measuring and modelling tree and stand level transpiration. In: McCutcheon, S.C., Schnoor, J.L. (Eds), Phytoremediation – Transformation and Control of Contaminants. Willey-Interscience Inc, New Jersey.
31- Rock, S.A., 2003. Vegetative covers for waste containment. In: Scheper, T. (Ed), Biotechnology, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, vol. 78, pp. 157–170.
32- Pospisilova, J., 2003. Participation of phytohormones in the stomatal regulation of gas exchange during water stress. Biologia plantarum, vol. 46, pp. 491–506.
33- Fuentes, H.D., Khoo, C.S., Pe, T., Muir, S., Khan, A.G., 2000. Phytoremediation of a contaminated mine site using plant growth regulators to increase heavy metal uptake. In: Proceedings of the 5th International Conference on Clean Technologies for the Mining Industry, Santiago, Chile, pp. 427–435.
34- Liphadzi, M.S., Kirkham, M.B., Paulsen, G.M., 2006. Auxin-enhanced root growth for phytoremediation of sewage-sludge amended soil. Environmental Technology, vol. 27, pp. 695–704.
35- Barrutia, O., Epelde, L., Garcia-Plazaola, J.I., Garbisu, C., Becerril, J.M., 2009. Phytoextraction potential of two *Rumex acetosa* L. accessions collected from metalliferous and non-metalliferous sites: Effect of fertilization. Chemosphere, vol. 74, pp. 259-264.
36- Wu, H., Tang, S., Zhang, X., Guo, J., Song, Z., Tian, S., Smith, D.L., 2009. Using elevated CO_2 to increase the biomass of a *Sorghum vulgare* x *Sorghum vulgare* var. sudanense hybrid and *Trifolium pratense* L. and to trigger hyperaccumulation of cesium. Journal of Hazard Materials, vol. 170, pp. 861-70.
37- Zhou, Q.X., Song, Y.F., 2004. Remediation of contaminated soils principles and methods. Beijing: Sciences Press, China.
38- Yang, B., Lan, C.Y., Shu, W.S., 2005. Growth and heavy metal accumulation of *Vetiveria zizanioides* grown on lead/zinc mine tailings. Acta Ecologica Sinica, vol. 25, pp. 45–50.
39- Zheljazkov, V.D., Warman, P.R., 2004. Application of high – Cu compost to Dill and Peppermint, Journal of Agricaltural Food Chemistry, vol. 52, pp. 2615-2622.
40- Tang, S., Xi, L., Zheng, J., Li, H., 2003. Response to elevated CO_2 of Indian Mustard and Sunflower growing on copper contaminated soil, Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, vol. 71, pp. 988-997.
41- Belimov, A.A., Hontzeas, N., Safronova, V.I., Demchinskaya, S.V., Piluzza, G., Bullitta, S., Glick, B.R., 2005. Cadmium-tolerant plant growth-promoting bacteria associated with the roots of Indian mustard (*Brassica juncea* L. Czern.). Soil Biology and Biochemistry, vol. 37, pp. 241–250.
42- Jeffries, P., Gianinazzi, S., Perotto, S., Turnau, K., Barea, J.M., 2003. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. Biology and Fertility of Soils, vol. 37, pp. 1–16.
43- Chen, B.D., Zhu, Y.G., Smith, F.A., 2006. Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation on uranium and arsenic accumulation by Chinese brake fern (*Pteris vittata* L.) from a uranium mining-impacted soil. Chemosphere, vol. 62, pp. 1464-73.
44- Sylvia, D.M., 2005. Mycorrhizal symbioses In: Sylvia, D.M., Fuhrmann,

J.J., Hartel, P.G., Zuberer, D.A. (Eds), Principles and Applications of Soil Microbiology. Pearson, Prentice Hall, New Jersey, pp. 263-282.

45- Glick, B.R., 2003. Phytoremediation: synergistic use of plants and bacteria to clean up the environment. Biotechnology Advances, vol. 21, pp. 383–393.

46- Gray, E.J., Smith, D.L., 2005. Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes. Soil Biology and Biochemistry, vol. 37, pp. 395-412.

47- Guo, J., Qi, H., Guo, Y., Ge, H., Gong, L., Zhang, L., 2004. Biocontrol of tomato wilt by plant growth-promoting rhizobacteria. Biol. Control, vol. 29, pp. 66-72.

48- Abou-Shanab, R.A., Angle, J.S., Delorme, T.A., Chaney, R.L., van Berkum, P., Moawad, H., Ghanem, K., Ghozlan, H.A., 2003. Rhizobacterial effects on nickel extraction from soil and uptake by *Alyssum murale*. New Phytologist, vol. 158, pp. 219–224.

49- Idris, R., Trifonova, R., Puschenreiter, M., Wenzel, W.W., Sessitsch, A., 2004. Bacterial communities associated with flowering plants of the Ni hyperaccumulator *Thaspi goesingense*, Applied and Environmental Microbiology, vol. 70, pp. 2667–2677.

50- Karenlampi, S., Schat, H., Vangronsveld, J., Verkleij, J.A.C., Van Der Lelie, D., Mergeay, M., 2000. Genetic engineering in the improvement of plants for phytoremediation of metal polluted soils. Environmental Pollution, vol. 107, pp. 225–31.

51- Whiting, S.N., De Souza, M.P., Terry, N., 2001. Rhizosphere bacteria mobilize Zn for hyperaccumulation by *Thlaspi caerulescens*. Environmental Science and Technology, vol. 15, pp. 3144–3150.

52- Clemens, S., Palmgren, M.G., Kramer, U., 2002. A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation. Trends in Plant Science, vol. **7**, pp. 309-314.