

تأثیر باکتری حل کننده فسفات/نتروباکتر بر تغییر شکل های شیمیایی کادمیم و سرب در دو خاک با بافت متفاوت

سحر شریفی^۱

شکوفه رضائی*

Rezaee_sh@yahoo.com

علی خانمیرزایی فرد^۳

تاریخ پذیرش: ۹۶/۸/۱۷

تاریخ دریافت: ۹۶/۳/۳

چکیده

زمینه و هدف: یکی از روش های ارزیابی زیست‌فراهمی آلاینده های فلزی در خاک، آگاهی از توزیع شکل های شیمیایی این فلزات است. تحقیق حاضر به منظور بررسی تغییر شکل های شیمیایی کادمیم و سرب تحت تأثیر باکتری حل کننده ی فسفات انجام پذیرفت.

روش بررسی: دو خاک با درصد رس متفاوت انتخاب و تیمار فسفر از منبع نمک KH_2PO_4 و سرب از منبع نمک $Pb(NO_3)_2$ جهت تشکیل کانی های فسفره و آلوده سازی خاک ها اعمال گردید. بعد از ۲ ماه، خاک ها با دو گونه ی انتروباکتر تلقیح و پس از گذشت ۵، ۲۵، ۶۰ و ۹۰ روز، شکل های شیمیایی کادمیم و سرب به روش متوالی و قابل استخراج با DTPA استخراج و اندازه گیری شد.

یافته ها: نتایج نشان داد باکتری حل کننده فسفر میزان کادمیم و سرب قابل استخراج با DTPA را کاهش داد. در خاک های تلقیح یافته با باکتری، کادمیم محلول و تبدالی به طور معنی دار کاهش و شکل همراه با مواد آلی و اکسیدهای آهن و منگنز افزایش یافت، همچنین سرب محلولی و تبدالی و کربناتی افزایش و سرب همراه با اکسید آهن و منگنز و مواد آلی کاهش یافت. بیشترین غلظت کادمیم و سرب، به ترتیب به شکل های کربناتی و اکسیدهای آهن و منگنز و کمترین غلظت به شکل های محلول و تبدالی اختصاص داشت.

بحث و نتیجه گیری: شکل های شیمیایی کادمیم و سرب تحت تأثیر باکتری حل کننده فسفر قرار گرفت اما رفتار کادمیم و سرب در این مورد متفاوت و عکس هم بود. می توان نتیجه گرفت تغییر شکل فلزات توسط باکتری ها به نوع فلز و خصوصیات خاک بستگی دارد.

واژه های کلیدی: باکتری حل کننده فسفر، سرب، کادمیم، عصاره گیری متوالی.

۱- دانش آموخته گروه خاکشناسی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران

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

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

Effects of Phosphorus Solubilizing Bacteria on Chemical forms of Lead and cadmium in Two Different Textural Soils

Sahar Sharifi¹

Shokoofeh Rezaei² *

Rezaee_sh@yahoo.com

Ali Khanmirzaei Fard³

Admission Date: November 8, 2017

Date Received: May 24, 2017

Abstract

Background and Objective: One of the promising tools for evaluating heavy metals bioavailability in the environment is the knowledge of their partitioning among the various soil constituents. The present study was conducted in order to investigate the changes of chemical forms of cadmium (Cd) and lead (Pb) under the influence of phosphorus solubilizing bacteria in the soil .

Material and Methodology: Phosphorus (KH_2PO_4), $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ and $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ simultaneously were introduced into the soil to promote the contamination and formation of phosphate minerals of added metals in two selected soils. After two months the soils were inoculated with two *Enterobacter* species and incubated for 3 months. A single (DTPA) and 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 revealed that DTPA extractable Cd and Pb were decreased in the presence of the phosphorus solubilizing bacteria. Soluble+ exchangeable Cd fraction was decreased whereas, the fractions associated with organic matter and oxides were increased in inoculated soils during the incubation time. In the other hand Soluble+ exchangeable and carbonate fractions of Pb were increased and organic matter and oxides associated Pb fractions were decreased in the presence of phosphorus solubilizing bacteria. Carbonate and oxides associated are the abundant Cd and Pb fractions in studied soil.

Discussion and Conclusion: Although the Cd and Pb chemical fractions were affected in the presence of phosphorus solubilizing bacteria, but two metals contradictory were differ in behavior in the studied soils. Indeed, the destination of added metals in the soil in the presence of microbes may be different.

Key words: Cadmium, Lead, Phosphorus Solubilizing Bacteria, Sequential extraction.

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

2- Assistant Professor, Department of Soil Science, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.

*(Corresponding Author)

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

مقدمه

فلزات سنگین از مهم‌ترین آلاینده‌های خاک می‌باشند. آلودگی فلزات سنگین نه تنها به طور مستقیم بر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک، کاهش فعالیت بیولوژیکی و کاهش دست‌یابی زیستی مواد مغذی خاک تأثیر می‌گذارند (۱)، بلکه خطر جدی برای سلامتی انسان و امنیت غذایی به حساب می‌آیند. در خاک، فلزات به شکل‌های محلول و تبادل، پیوند شده با کربنات، متصل به مواد آلی، پیوند شده با اکسیدهای آهن و منگنز و باقی‌مانده وجود دارند (۲). عصاره‌گیری دنباله‌ای (۳) یکی از روش‌های رایج و مهم برای آگاهی از توزیع شکل‌های شیمیایی فلزات و ارزیابی تحرک و زیست‌فراهمی آن‌ها می‌باشد. آلاینده‌ها باید دارای زیست‌فراهمی (قابلیت جذب سریع توسط ریشه‌ها) باشند تا توسط گیاه جذب شوند. شکل محلول و تبدلی فلزات قابل تحرک و برای گیاه قابل دسترس می‌باشد در صورتی که شکل باقی‌مانده بسیار غیرفعال است. سایر اشکال بسته به شرایط خاک می‌توانند فعال و قابل استفاده برای گیاه باشند (۴، ۵، ۶). فراهمی و توزیع فلزات سنگین در خاک به نوع فلز، نوع خاک، اسیدیته، ظرفیت تبادل کاتیونی، فراوانی نسبی و نوع کانی‌های رسی، فراوانی مواد آلی، اکسیدهای آهن و منگنز و آلومینیوم، پتانسیل اکسایش-کاهش و تراوشات ریشه‌ای در ریزوسفر، بستگی دارد (۷). در بین فلزات سنگین کادمیم به دلیل سهولت جذب توسط گیاهان و ورود به چرخه غذایی (۸)، و سرب به دلیل عدم تجزیه و اثرات شدید بر بدن (۱۰)، حتی در غلظت‌های کم سمی بوده و خطرات جدی به همراه دارند. حذف این فلزات غیرممکن بوده ولی می‌توان با اعمال راهکارهایی غلظت این فلزات را کاهش داد. یکی از روش‌های مقرون به صرفه برای پیشگیری از انتشار فلزات سنگین در خاک، تثبیت و جامدسازی آن‌هاست. طی این فرایند، فلزات سنگین در خاک‌های آلوده با اصلاح‌کننده‌هایی همچون ترکیبات فسفاتی، مواد آلی و زیولیت واکنش داده و با تشکیل موادی کم‌محلول یا نامحلول در محیط، به صورتی پایدار باقی می‌مانند (۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۴). نتایج تحقیق ولی‌پور و همکاران (۱۵) نشان داد با اضافه کردن تریپل‌سوپرفسفات، قابلیت

دسترسی سرب و مس به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش و قابلیت دسترسی نیکل افزایش یافت. سوپر فسفات تریپل باعث انتقال فلزات سنگین مخصوصاً سرب از بخش تبدلی و کربناتی به بخش‌های باقی‌مانده و پیوند یافته با مواد آلی و سولفیدها شد. زیولیت نیز سرب و روی را از بخش کربناتی به بخش باقی‌مانده منتقل کرد اما اثر فسفر بر تثبیت فلزات بیش‌تر بود (۱۶).

از طرفی مشکلات زیست محیطی و اقتصادی ناشی از مصرف بی‌رویه کودهای شیمیایی فسفوری، تأمین غذای کافی با کیفیت مناسب، تخلیه منابع غیرتجدیدشونده مانند سنگ‌های فسفاته، کاهش نفوذپذیری خاک، کاهش رشد ریشه و در نهایت پایین آمدن مقاومت گیاهان به آفات و بیماری‌ها (۱۷، ۱۸، ۱۹، ۲۰)، تجدید نظر در روش‌های افزایش تولید محصولات زراعی و استفاده از کودهای زیستی فسفاته را افزایش داده است. باکتری‌های حل‌کننده فسفات یکی از انواع کودهای زیستی هستند که با ترشح اسیدهای آلی و عوامل کمپلکس‌کننده و واکنش‌های آنزیمی (فسفاتازها) می‌توانند حلالیت ترکیبات فسفره‌ی رسوب کرده در خاک را افزایش داده و بخشی از فسفر مورد نیاز گیاه را تأمین نمایند (۲۱، ۲۲، ۲۳). این باکتری‌ها ممکن است به واسطه انحلال ترکیبات فسفره، باعث تغییر شکل‌های شیمیایی فلزات سنگین شوند. بنابراین تحقیقی به منظور بررسی تغییر شکل‌های شیمیایی سرب و کادمیم تحت تأثیر باکتری‌های/انتروباکتر (حل‌کننده فسفات) صورت پذیرفت.

روش بررسی

پس از انتخاب دو خاک با بافت متفاوت، سایر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی مانند ماده آلی به روش اکسیداسیون تر (۲۴)، ظرفیت زراعی، فسفر قابل جذب (۲۵)، کادمیم و سرب کل (۲۶) با دستگاه جذب اتمی (مدل PG-990)، ظرفیت تبادل کاتیونی (CEC) (۲۷)، کربنات کلسیم معادل (۲۸)، کربنات کلسیم فعال (۲۹)، pH به کمک دستگاه pH متر (مدل Metrohm- 827) و EC قابلیت هدایت الکتریکی به وسیله‌ی دستگاه هدایت‌سنج (مدل Hanna- HI 9033)

Enterobacter و *Enterobacter Hormaechei* IP))
 Xianfan gensis I₂ - 4 با جمعیت ۱۰^۸ باکتری در هر میلی‌لیتر (اضافه و به انکوباتور منتقل شد. پس از گذشت زمان‌های ۵، ۲۵، ۶۰ و ۹۰ روز از زمان خوابانیدن، به منظور استخراج اجزاء شیمیایی کادمیم و سرب، عصاره‌گیری متوالی (۳) صورت گرفت (جدول ۱). عصاره‌گیری تک‌مرحله‌ای نیز با محلول‌های DTPA ۰/۰۰۵ مولار (۲۶) و Ca(NO₃)₂ ۰/۱ مولار انجام شد. مقادیر کادمیم و سرب کلیه نمونه‌ها با دستگاه جذب اتمی شعله (مدل PG-990) قرائت گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS و رسم نمودارها با استفاده از Excel انجام شد.

اندازه‌گیری گردید. به منظور اعمال تیمار فسفر (۲۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) از منبع نمک پتاسیم دی‌هیدروژن فسفات (KH₂PO₄)، کادمیم (با غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) از نمک نترات کادمیم (CdN₂O₆.4H₂O) و سرب (با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) از نمک نترات سرب (pb(NO₃)₂)، استفاده گردید. به منظور تعادل این عناصر با فسفر و تشکیل کانی‌های فسفوری این عناصر، نمونه‌های خاک با حفظ رطوبت در وضعیت ظرفیت زراعی در دمای ۲۵°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

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

Table1. Sequential extraction (Tessier et al., 1979)

مرحله	pH	عصاره‌گیر	شکل عصاره‌گیری شده	مرحله
۲ ساعت تکان دادن در ۲۵°C سپس سانتریفیوژ	۸/۲	10 ml 1 M NH ₄ OAc	محلول و تبادل	۱
۵ ساعت تکان دادن در ۲۵°C سپس سانتریفیوژ	۵	10 ml 1 M NaOAc	همراه با کربنات‌ها	۲
۶ ساعت تکان دادن در ۹۶°C سپس سانتریفیوژ	۲	20 ml 0.04 M in 25% v/v HOAc NH ₂ OH.HCL	همراه با اکسیدهای آهن و منگنز	۳
۲ ساعت تکان دادن در ۸۵°C ۳ ساعت تکان دادن در ۸۵°C ۳۰ دقیقه تکان دادن در دمای ۲۵°C سپس سانتریفیوژ	۲	3 ml 0.02 M HNO ₃ / 5 ml H ₂ O ₂ 30% m/v + 3 ml H ₂ O ₂ 30% + 5 ml NH ₄ OAc 3.2 M in 20% (v/v) HNO ₃	همراه با مواد آلی	۴

یافته‌ها

جدول ۲ خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مورد مطالعه را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود دو خاک از لحاظ درصد رس تفاوت قابل ملاحظه‌ای با هم دارند.

جدول ۲- برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مورد مطالعه

Table 2. Some physical and chemical properties of studied soils

بافت	رس	سیلت	شن (درصد)	کربن آلی	کربنات کلسیم معادل	کربنات کلسیم فعال	CEC (Cmol+Kg ⁻¹)	pH	EC (dSm ⁻¹)	فسفر قابل جذب	کادمیم کل	سرب کل
											(میلی گرم بر کیلوگرم)	(میلی گرم بر کیلوگرم)
لوم شنی	۱۶	۱۰	۷۴	۱	۱۱/۲۵	۲/۷۲	۱۵/۴۷	۷/۵	۱/۱۲	۳	<۱	۱۳
لوم رسی	۴۴	۱۸	۳۸	۰/۷	۱۳/۷۵	۴/۶۲	۹/۲۵	۷/۲۶	۰/۹۳۲	۵/۹۶	<۱	۱۱

تأثیر دو گونه باکتری بر کادمیم و سرب قابل عصاره‌گیری

با DTPA و $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ و شکل‌های شیمیایی فلزات

نوع خاک (درصد رس)، بر روی مقدار کادمیم و سرب قابل استخراج با DTPA و سرب قابل استخراج با $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ اثر معنی‌دار داشت به طوری که با افزایش میزان رس، مقدار کادمیم قابل استخراج با DTPA، سرب قابل استخراج با DTPA و $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ به ترتیب ۶۵، ۵۰ و ۱۵ درصد افزایش یافت و بیش‌ترین مقدار کادمیم و سرب قابل استخراج با دو عصاره‌گیر در خاک لوم‌رسی مشاهده شد. استفاده از باکتری میزان کادمیم و سرب قابل استخراج با DTPA را کاهش داد ولی بر روی میزان کادمیم و سرب قابل استخراج با $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ اثر معنی‌دار نداشت. کاهش ۱۱ و ۱۴ درصدی کادمیم قابل استخراج با DTPA با کاربرد انتروباکتر ۱) *Enterobacter*

hormaechei و انتروباکتر ۲) *Enterobacter xiangfan* *gensis* مشاهده شد اما تفاوت معنی‌داری بین مقدار کادمیم استخراجی در دو خاک تلقیح یافته با انتروباکتر ۱ و انتروباکتر ۲ مشاهده نگردید. تلقیح با باکتری انتروباکتر ۱ و ۲ میانگین غلظت سرب استخراج شده به وسیله DTPA را به ترتیب به میزان ۲۳ و ۲۵ درصد نسبت به خاک شاهد کاهش داد اما بین میزان سرب دو خاک تلقیح یافته با انتروباکتر تفاوت معنی‌دار وجود نداشت (جدول ۳). به طور کلی اعداد جدول نشان‌گر این موضوع می‌باشند که در هر دو نوع خاک عصاره‌گیر DTPA قدرت آزادسازی بیش‌تری نسبت به عصاره‌گیر $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ داشته است و میزان کادمیم و سرب قابل استخراج با این عصاره‌گیر تحت تأثیر باکتری‌های حل‌کننده فسفات قرار گرفت.

جدول ۳- تأثیر دو گونه باکتری حل کننده فسفات بر کادمیم و سرب قابل عصاره گیری با DTPA و $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$

Table3. Effect of two species of phosphate solubilizing bacteria on cadmium and lead extractable by DTPA and

$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$

میانگین	باکتری		شاهد	خاک
	انتروباکتر ۱	انتروباکتر ۲		
	کادمیم (DTPA)			
۰/۹۳ B	۰/۹۱ (۰/۱۶)	۰/۸۶ (۰/۰۷)	۱/۰۳ (۰/۰۷)	لوم شنی
۲/۶۷ A	۲/۴۸ (۰/۲۱)	۲/۶۲ (۰/۱۳)	۲/۸۹ (۰/۳۵)	لوم رسی
	۱/۶۹ B	۱/۷۴ AB	۱/۹۶ A	میانگین
	کادمیم $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$			
۰/۷۶ A	۰/۷۶ (۰/۰۸)	۰/۸۰ (۰/۰۹)	۰/۷۲ (۰/۰۴)	لوم شنی
۰/۸۲ A	۰/۸۳ (۰/۰۳)	۰/۷۹ (۰/۰۳)	۰/۸۴ (۰/۰۳)	لوم رسی
	۰/۷۹ A	۰/۸۰ A	۰/۷۸ A	میانگین
	سرب (DTPA)			
۱۸/۰۹ A	۱۶/۰۲ (۳/۲۳)	۱۴/۶۶ (۱/۴۷)	۲۳/۵۸ (۱/۵۲)	لوم شنی
۳۶/۱۳ B	۳۲/۵۳ (۱/۷۴)	۳۴/۹۰ (۱/۰۵)	۴۰/۹۶ (۹/۷۹)	لوم رسی
	۲۴/۲۷ B	۲۴/۷۸ B	۳۲/۲۷ A	میانگین
	سرب $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$			
۶/۵۰ A	۶/۰۵ (۰/۱۰)	۷/۲۰ (۱/۲۶)	۶/۲۵ (۱/۶۲)	لوم شنی
۷/۶۸ B	۶/۵۶ (۱/۱۳)	۸/۰۳ (۰/۰۲)	۸/۴۳ (۰/۵۰)	لوم رسی
	۶/۳۱ B	۷/۶۱ A	۷/۳۴ AB	میانگین

جدول ۴- شکل‌های شیمیایی کادمیم در خاک شاهد و تیمار شده با دو گونه باکتری حل‌کننده فسفات

(میلی‌گرم بر کیلوگرم)

Table 4. Fractionation of Cd in control soils and soils treated by two species of phosphate solubilizing bacteria

میانگین	باکتری		شاهد	خاک
	انتروباکتر ۲	انتروباکتر ۱		
شکل محلول و تبادل				
۱ B	۱/۰۵ (۰/۰۶۵)	۰/۸۶ (۰/۰۴۵)	۱/۰۹ (۰/۰۳۶)	لوم‌شنی
۱/۴ A	۱/۲۴ (۰/۱۱)	۱/۴۲ (۰/۱۴۴)	۱/۵۵ (۰/۰۲۵)	لوم‌رسی
	۱/۱۴ B	۱/۱۴ B	۱/۳۲ A	میانگین
شکل کربناتی				
۵/۸۵ B	۶/۰۲ (۰/۱۱)	۶/۲۹ (۰/۲۶)	۵/۲۵ (۰/۰۷۲)	لوم‌شنی
۶/۱۹ A	۵/۸۲ (۰/۳۰)	۶/۱۹ (۰/۵۰)	۶/۵۶ (۰/۴۲)	لوم‌رسی
	۵/۹۲ A	۶/۲۴ A	۵/۹۰ A	میانگین
شکل همراه با اکسیدهای آهن و منگنز				
۳/۴۶ A	۳/۳۹ (۰/۱۴)	۳/۱۴ (۰/۱۰)	۳/۸۷ (۰/۳۳)	لوم‌شنی
۳/۰۲ B	۳/۴۲ (۰/۰۸)	۳/۲۷ (۰/۰۷)	۲/۳۷ (۰/۲۷)	لوم‌رسی
	۳/۴۰ A	۳/۲۰ AB	۳/۱۲ B	میانگین
شکل همراه با مواد آلی				
۱/۱۲ A	۱/۱۹ (۰)	۱/۱۷ (۰/۰۳)	۱/۰۱ (۰/۰۴)	لوم‌شنی
۱/۰۳ B	۱/۲۲ (۰/۰۶)	۱/۱۲ (۰/۰۴)	۰/۷۶ (۰/۰۵)	لوم‌رسی
	۱/۲۰ A	۱/۱۵ A	۰/۸۸ B	میانگین

افزایش شکل‌هایی با حلالیت کمتر (شکل همراه با اکسیدهای آهن و منگنز و مواد آلی) شد.

جدول (۵) میانگین غلظت سرب در شکل‌های مختلف شیمیایی را در خاک شاهد و تلقیح یافته با دو گونه باکتری نشان می‌دهد. در خاک شاهد (بدون باکتری) سرب محلول و تبادل کم‌ترین و شکل همراه با اکسیدهای آهن و منگنز بیش‌ترین شکل سرب را به خود اختصاص داده‌اند و توزیع شکل‌های سرب به صورت همراه با اکسیدهای آهن و منگنز کربناتی < شکل همراه با مواد آلی < محلول و تبدالی تخمین زده شد. اگرچه در خاک‌های تلقیح یافته با باکتری نیز همین توزیع مشاهده شده ولی شکل محلول و تبدالی و کربناتی افزایش و شکل همراه با مواد آلی و اکسیدهای آهن و منگنز به طور معنی‌دار کاهش یافت به عبارت دیگر استفاده از باکتری‌های حل‌کننده فسفر

همان‌طور که در جدول ۴ مشاهده می‌شود در خاک شاهد (بدون باکتری) شکل همراه با مواد آلی کم‌ترین و شکل کربناتی بیش‌ترین شکل کادمیم را به خود اختصاص داده‌اند و توزیع شکل‌های کادمیم به صورت کربناتی < همراه با اکسیدهای آهن و منگنز < محلول و تبدالی < شکل همراه با مواد آلی تخمین زده شد در صورتی که در خاک‌های تلقیح یافته با باکتری کادمیم شکل محلول و تبدالی به طور معنی‌دار کاهش و شکل همراه با مواد آلی و اکسیدهای آهن و منگنز افزایش یافت و توزیع شکل‌های کادمیم به صورت کربناتی < همراه با اکسیدهای آهن و منگنز < شکل همراه با مواد آلی < محلول و تبدالی تخمین زده شد. با توجه به این‌که شکل‌های موجود در جدول ۱ به ترتیب با کاهش حلالیت همراه هستند، استفاده از باکتری‌های حل‌کننده فسفر باعث کاهش شکل‌هایی با حلالیت بالا (محلول و تبدالی) و

باعث افزایش شکل‌های سرب با حلالیت بالا و کاهش شکل‌های سرب با حلالیت پایین شد.

جدول ۵- شکل‌های شیمیایی سرب در خاک شاهد و تیمار شده با دو گونه باکتری حل‌کننده فسفات (میلی‌گرم بر کیلوگرم)

Table5. Fractionation of Pb in control soils and soils treated by two species of phosphate solubilizing bacteria

میانگین	باکتری		شاهد	خاک
	انتروباکتر ۲	انتروباکتر ۱		
	شکل محلول و تبادل			
۹/۵۰ A	(۲/۰۷) ۷/۹۳	(۱/۰۴) ۸/۸۱	(۰) ۱۱/۷۸	لوم‌شنی
۶/۵۸ B	(۱/۳۷) ۸/۶۹	(۱/۵۴) ۹/۷۱	(۰) ۱/۳۵	لوم‌رسی
	۸/۳۱ A	۹/۲۶ A	۶/۵۶ B	میانگین
	شکل کربناتی			
۱۰۷/۲۷ B	(۶/۵۰) ۱۱۹/۳۵	(۵/۸۳) ۱۲۴/۹۸	(۱۵/۶) ۷۷/۴۹	لوم‌شنی
۱۵۸/۷۰ A	(۱۱/۶) ۱۵۲/۸۱	(۷/۵۲) ۱۵۰/۸۴	(۰/۴۸) ۱۷۲/۴	لوم‌رسی
	۱۳۶/۰۸ AB	۱۳۷/۹۱ A	۱۲۴/۹۷ B	میانگین
	شکل همراه با اکسیدهای آهن و منگنز			
۲۲۷/۸۸ A	(۱۰/۷) ۲۰۴/۱۵	(۹/۸) ۱۷۵/۵۷	(۶۹/۹) ۳۰۳/۹	لوم‌شنی
۲۵۹/۱۹ A	(۹/۵) ۱۸۱/۵	(۱۱/۶) ۱۷۶/۰۷	(۶۶/۷۲) ۴۲۰	لوم‌رسی
	۱۹۲/۸۳ B	۱۷۵/۸۳ B	۳۶۱/۹۵ A	میانگین
	شکل همراه با مواد آلی			
۳۷/۵۲ B	(۰/۷۸) ۳۲/۴	(۳/۱۴) ۳۳/۹۱	(۰/۴۳) ۴۶/۲۵	لوم‌شنی
۴۱/۶۴ A	(۲/۳) ۳۳/۱۴	(۱/۲۴) ۲۹/۰۲	(۳/۹) ۶۲/۷۵	لوم‌رسی
	۳۲/۷۷ B	۳۱/۴۷ B	۵۴/۵۰ A	میانگین

افزایش شکل‌هایی با حلالیت کمتر (شکل همراه با اکسیدهای آهن و منگنز و مواد آلی) شد.

جدول (۵) میانگین غلظت سرب در شکل‌های مختلف شیمیایی را در خاک شاهد و تلقیح یافته با دو گونه باکتری نشان می‌دهد. در خاک شاهد (بدون باکتری) سرب محلول و تبادل کم‌ترین و شکل همراه با اکسیدهای آهن و منگنز بیش‌ترین شکل سرب را به خود اختصاص داده‌اند و توزیع شکل‌های سرب به صورت همراه با اکسیدهای آهن و منگنز < کربناتی > شکل همراه با مواد آلی < محلول و تبادل > تخمین زده شد. اگرچه در خاک‌های تلقیح یافته با باکتری نیز همین توزیع مشاهده شده ولی شکل محلول و تبادل و کربناتی افزایش و شکل همراه با مواد آلی و اکسیدهای آهن و منگنز به طور معنی‌دار کاهش یافت ب‌عبارت دیگر استفاده از باکتری‌های حل‌کننده فسفر

همان‌طور که در جدول ۴ مشاهده می‌شود در خاک شاهد (بدون باکتری) شکل همراه با مواد آلی کم‌ترین و شکل کربناتی بیش‌ترین شکل کادمیم را به خود اختصاص داده‌اند و توزیع شکل‌های کادمیم به صورت کربناتی < همراه با اکسیدهای آهن و منگنز > محلول و تبادل < شکل همراه با مواد آلی > تخمین زده شد در صورتی که در خاک‌های تلقیح یافته با باکتری کادمیم شکل محلول و تبادل به طور معنی‌دار کاهش و شکل همراه با مواد آلی و اکسیدهای آهن و منگنز افزایش یافت و توزیع شکل‌های کادمیم به صورت کربناتی < همراه با اکسیدهای آهن و منگنز > شکل همراه با مواد آلی < محلول و تبادل > تخمین زده شد. با توجه به این‌که شکل‌های موجود در جدول ۱ به ترتیب با کاهش حلالیت همراه هستند، استفاده از باکتری‌های حل‌کننده فسفر باعث کاهش شکل‌هایی با حلالیت بالا (محلول و تبادل) و

باعث افزایش شکل‌های سرب با حلالیت بالا و کاهش شکل‌های سرب با حلالیت پایین شد.

جدول ۵- شکل‌های شیمیایی سرب در خاک شاهد و تیمار شده با دو گونه باکتری حل‌کننده فسفات (میلی‌گرم بر کیلوگرم)

Table 5. Fractionation of Pb in control soils and soils treated by two species of phosphate solubilizing bacteria

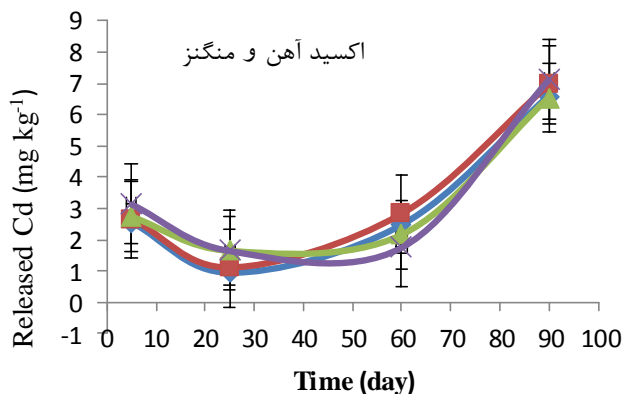
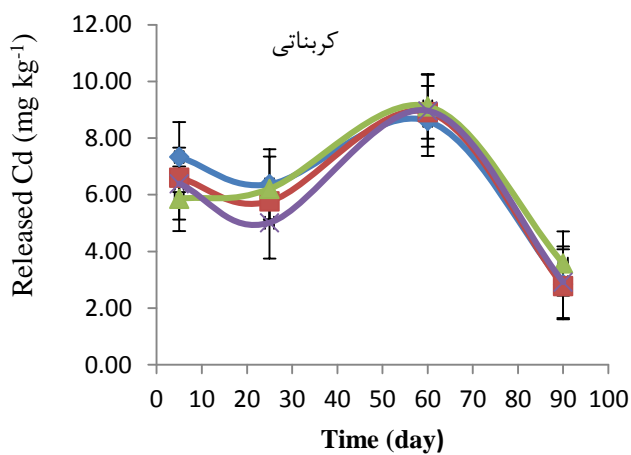
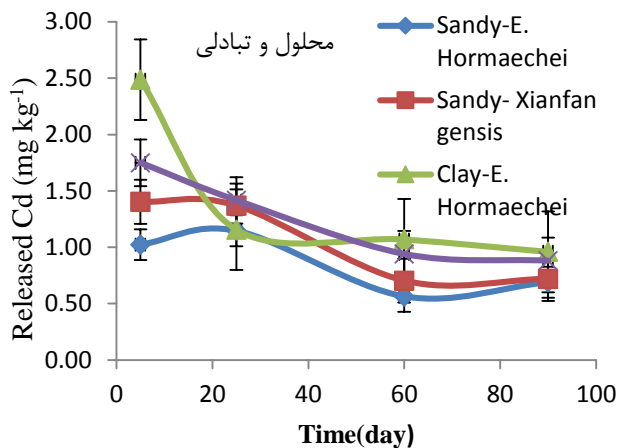
میانگین	باکتری		شاهد	خاک
	انتروباکتر ۲	انتروباکتر ۱		
	شکل محلول و تبادل			
۹/۵۰ A	(۲/۰۷) ۷/۹۳	(۱/۰۴) ۸/۸۱	(۰) ۱۱/۷۸	لوم‌شنی
۶/۵۸ B	(۱/۳۷) ۸/۶۹	(۱/۵۴) ۹/۷۱	(۰) ۱/۳۵	لوم‌رسی
	۸/۳۱ A	۹/۲۶ A	۶/۵۶ B	میانگین
	شکل کربناتی			
۱۰۷/۲۷ B	(۶/۵۰) ۱۱۹/۳۵	(۵/۸۳) ۱۲۴/۹۸	(۱۵/۶) ۷۷/۴۹	لوم‌شنی
۱۵۸/۷۰ A	(۱۱/۶) ۱۵۲/۸۱	(۷/۵۲) ۱۵۰/۸۴	(۰/۴۸) ۱۷۲/۴	لوم‌رسی
	۱۳۶/۰۸ AB	۱۳۷/۹۱ A	۱۲۴/۹۷ B	میانگین
	شکل همراه با اکسیدهای آهن و منگنز			
۲۲۷/۸۸ A	(۱۰/۷) ۲۰۴/۱۵	(۹/۸) ۱۷۵/۵۷	(۶۹/۹) ۳۰۳/۹	لوم‌شنی
۲۵۹/۱۹ A	(۹/۵) ۱۸۱/۵	(۱۱/۶) ۱۷۶/۰۷	(۶۶/۷۲) ۴۲۰	لوم‌رسی
	۱۹۲/۸۳ B	۱۷۵/۸۳ B	۳۶۱/۹۵ A	میانگین
	شکل همراه با مواد آلی			
۳۷/۵۲ B	(۰/۷۸) ۳۲/۴	(۳/۱۴) ۳۳/۹۱	(۰/۴۳) ۴۶/۲۵	لوم‌شنی
۴۱/۶۴ A	(۲/۳) ۳۳/۱۴	(۱/۲۴) ۲۹/۰۲	(۳/۹) ۶۲/۷۵	لوم‌رسی
	۳۲/۷۷ B	۳۱/۴۷ B	۵۴/۵۰ A	میانگین

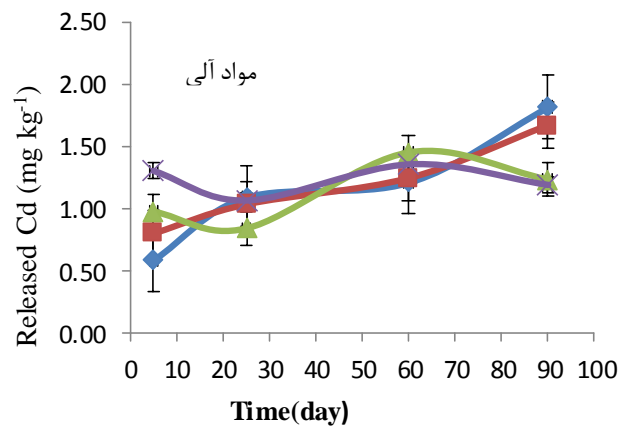
مربوط به دوره‌ی ۹۰ روز در خاک لوم‌شنی آغشته به *E. Xianfangensis* (۲/۷۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بود. کادمیم همراه با اکسیدهای آهن و منگنز در همه خاک‌ها در دوره زمانی ۵ تا ۲۵ روز روند کاهشی داشت و سپس روند افزایشی مشاهده شد. کادمیم همراه با مواد آلی در خاک لوم‌شنی با گذشت زمان افزایش یافت. بیش‌ترین غلظت کادمیم همراه با مواد آلی مربوط به دوره ۹۰ روز و کم‌ترین آن مربوط به دوره ۵ روز بود ولی در خاک‌های لوم‌رسی در دوره زمانی ۵ تا ۲۵ روز کاهش یافت و سپس در دوره زمانی ۲۵ تا ۶۰ روز افزایش داشته است و پس از آن در دوره زمانی ۶۰ تا ۹۰ روز مجدداً روند کاهشی مشاهده شد. به طور کلی نتایج حاکی از آن است که با گذشت زمان در نهایت کادمیم تبادلی و محلول و کربناتی کاهش و کادمیم همراه با اکسید آهن و منگنز و مواد آلی

شکل ۱ روند تغییرات کادمیم (mg kg^{-1}) شکل‌های مختلف را در دوره‌های ۵، ۲۵، ۶۰ و ۹۰ روز نشان می‌دهد. غلظت کادمیم محلول و تبادل در خاک لوم‌رسی تلقیح‌یافته با باکتری‌ها با گذشت زمان کاهش یافته است به طوری که بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار کادمیم به ترتیب مربوط به زمان ۵ و ۹۰ روز بوده است. در خاک لوم‌شنی نیز تقریباً همین روند مشاهده می‌شود با این تفاوت که در زمان ۲۵ افزایش ناچیز نسبت به زمان ۵ روز مشاهده شده است. کادمیم شکل کربناتی در دوره زمانی ۵ تا ۲۵ تغییرات جزئی داشته است و پس از آن در دوره زمانی ۲۵ تا ۶۰ با افزایش شدید مواجه بوده و در بازه زمانی ۶۰ تا ۹۰ روز شدیداً کاهش یافته است. بیش‌ترین کادمیم کربناتی مربوط به دوره ۶۰ روز در خاک لوم‌رسی آغشته به *E. Hormaechei* (۹/۱۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و کم‌ترین آن

اکسیدهای آهن و منگنز، مواد آلی و در نهایت محلولی-تبادلی بود.

افزایش یافت. بیشترین مقدار کادمیم، به شکل دوم یعنی شکل همراه با کربنات‌ها اختصاص داشت. پس از آن تخمین بیشترین غلظت کادمیم به ترتیب مربوط به شکل همراه با



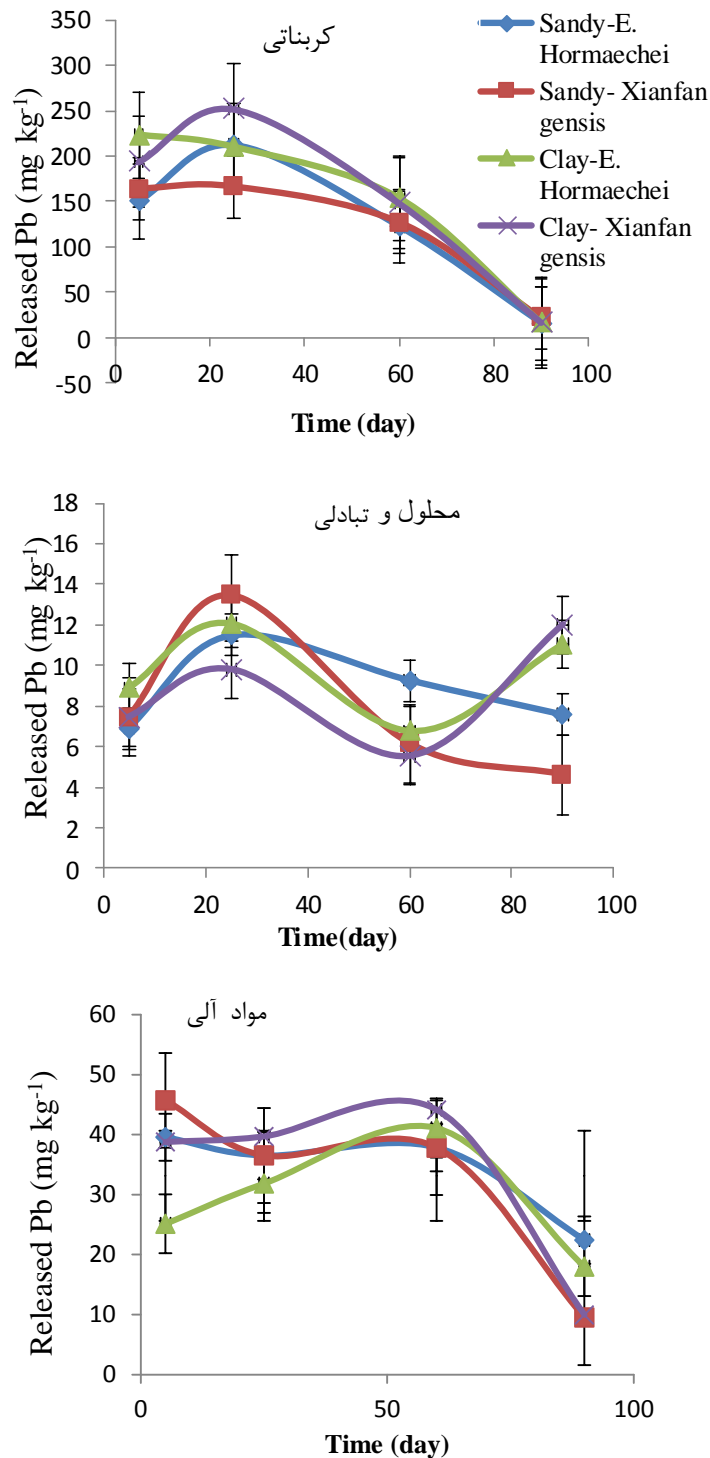


شکل ۱- تغییر شکل‌های مختلف شیمیایی کادمیم در زمانهای مختلف خوابانیدن تحت تأثیر دو گونه باکتری حل‌کننده فسفات

Figure 1. Changes of cadmium fractions in treated soils by two species of phosphate solubilizing bacteria at different time

همراه با اکسیدهای آهن و منگنز در دوره زمانی ۵ تا ۲۵ روز در همه خاک‌ها روند کاهشی داشت و در دوره زمانی ۲۵ تا ۹۰ روز مقدار کمی افزایش یافت. سرب همراه با مواد آلی در خاک لوم‌شنی در دوره زمانی ۵ تا ۲۵ روز کاهش یافت ولی در خاک لوم‌رسی روند افزایشی مشاهده شد. در زمان ۲۵ تا ۶۰ روز، هر چهار خاک روند افزایشی کمی داشتند و پس از آن در دوره ۶۰ تا ۹۰ روز، روند کاهشی شدید را نشان دادند. بیش‌ترین و کم‌ترین غلظت سرب همراه با مواد آلی به ترتیب مربوط به دوره ۵ روز (۴۵/۷۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و ۹۰ روز (۹/۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در خاک لوم‌شنی آغشته به *E. Xianfangensis* بود. به‌طور کلی نتایج نشان داد که با گذشت زمان در نهایت سرب کربناتی و همراه با مواد آلی شدیداً کاهش و سرب محلول و تبادل‌ی و همراه با اکسید آهن و منگنز در خاک لوم‌رسی افزایش و در خاک لوم‌شنی کاهش یافت. بیش‌ترین مقدار سرب به شکل کربناتی اختصاص داشت. پس از آن به ترتیب شکل همراه با اکسیدهای آهن و منگنز، مواد آلی و در نهایت بخش محلولی - تبادل‌ی قرار داشت.

شکل ۲ روند تغییرات سرب (mg kg^{-1}) شکل‌های مختلف را در دوره‌های زمانی ۵، ۲۵، ۶۰ و ۹۰ روز نشان می‌دهد. سرب محلول و تبادل‌ی در خاک‌های لوم‌شنی در زمان ۵ تا ۲۵ روز افزایش یافت و پس از آن روند کاهشی داشت اما در خاک لوم‌رسی در زمان ۲۵ تا ۶۰ روز افزایش، ۶۰ روز کاهش و پس از آن افزایش داشت. بیش‌ترین و کم‌ترین سرب محلول و تبادل‌ی به ترتیب مربوط به دوره ۲۵ روز (۱۳/۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و ۹۰ روز (۴/۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در خاک لوم‌شنی آغشته به *E. Xianfangensis* مشاهده شد. سرب کربناتی در دوره زمانی ۵ تا ۲۵ روز در خاک لوم‌شنی دارای باکتری *E. Hormaeche* و خاک لوم‌رسی آغشته به *E. Xianfangensis* افزایش ناچیزی داشت و پس از آن با گذشت زمان کاهش یافت در صورتی‌که در دو خاک دیگر با گذشت زمان سرب کربناتی کاهش یافت. بیش‌ترین سرب کربناتی مربوط به دوره ۲۵ روز در خاک لوم‌رسی آغشته به *E. Xianfangensis* (۲۵۲/۰۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و کم‌ترین آن مربوط به دوره ۹۰ روز در خاک لوم‌شنی آغشته به *E. Hormaechei* (۱۵/۴۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بود. سرب



شکل ۲- تغییر شکل‌های مختلف شیمیایی سرب در زمانهای مختلف خوابانیدن تحت تاثیر دوگونه باکتری حل‌کننده فسفات

Figure 2. Changes of lead fractions in treated soils by two species of phosphate solubilizing bacteria at different time

بحث و نتیجه‌گیری

همانطور که ذکر شد با افزایش مقدار رس خاک، مقدار کادمیم قابل استخراج با DTPA و سرب قابل استخراج با DTPA و

قابل استخراج در خاک‌های مختلف به خصوصیات خاک از قبیل $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ افزایش یافت. نتایج تحقیقات نشان داد که کادمیم

در بخش تبادلی و اکسید آهن-منگنز (شکل شیمیایی غالب) می‌باشد و بعد از گذشت ۳ روز تا ۴ هفته، فلزات در بخش تبادلی کاهش و در دیگر بخش‌ها افزایش یا مقدار ثابتی دارند. همچنین با گذشت زمان سرب کربناتی افزایش می‌یابد که علت این افزایش زیاد بودن سطح کربنات کلسیم در خاک می‌باشد (۳۰). نتایج تحقیقات نشان داده است اضافه کردن ترکیبات فسفره به خاک‌های آلوده به فلزات سنگین باعث ایجاد رسوب فسفر- فلز شده است. در این میان رسوب فسفر- سرب و تشکیل کانی‌های پیرومورفایت و شبه پیرومورفایت به دلیل ثابت حلالیت پایین‌تر سریعتر تشکیل می‌شود و در نتیجه حلالیت سرب کاهش می‌یابد. باکتری‌های حل‌کننده فسفر با ترشح اسیدهای آلی، کاهش pH و ... باعث حلالیت فسفر از ترکیبات کم‌محلول و نامحلول فوق‌الذکر شده و سرب به صورت محلول آزاد می‌گردد. در صورتی که کادمیم روند متفاوتی را دنبال می‌کرد و بیشتر در دو شکل همراه با مواد آلی و اکسیدهای آهن و منگنز تجمع یافت. به‌طور کلی تأثیر باکتری‌های حل‌کننده فسفر بر روی تحرک یا عدم تحرک فلزات سنگین بسته به نوع فلز سنگین و خصوصیات خاک متفاوت است. استفاده از باکتری باعث کاهش شکل‌هایی با حلالیت بالای کادمیم (محلول و تبادلی) و در نتیجه کاهش تحرک کادمیم و در عوض افزایش حلالیت و تحرک سرب (شکل‌های محلول و تبادلی و کربناتی) شد.

References

1. Javan Siamardi, S., Rezaei Kahkha, M. R., Safaei Moghaddam, A., Noori, R., 2014. Survey of heavy metals concentration (Fe, Ni, Cu, Zn, Pb) in farmland soils of Sistan central part. *Journal of Environmental Health Engineering*, Vol. 2(1), pp. 46-53. (In Persian)
2. Li, Z., Shuman, L.M., 1996. Redistribution of forms of zinc, cadmium, and nickel in soils treated with EDTA. *Journal of Science and*

pH، ماده آلی، قابلیت هدایت الکتریکی، رس، سیلت، شن و کلر بستگی دارد (۳۰). ولی‌پور و همکاران (۱۵) گزارش کردند که استفاده از تریپل سوپرفسفات در خاک‌هایی با خصوصیات متفاوت، مقدار کادمیم و سرب قابل استخراج با DTPA را به‌طور معنی‌دار کاهش داد. همچنین استفاده از باکتری باعث تغییر شکل‌های شیمیایی کادمیم و سرب شد. در مورد کادمیم، شکل محلول و تبادلی کاهش و شکل همراه با مواد آلی و اکسیدهای آهن و منگنز افزایش یافت. احتمالاً با گذشت زمان این عناصر سنگین به فرم‌های غیرمحلول رسوب کرده و یا در ساختار کانی‌ها و ترکیبات آلی پایدار، به دام افتاده‌اند (۳۱). لو و همکاران (۳۲) دریافتند که با گذشت زمان، درصد فلزات در بخش‌های آلی و اکسیدهای آهن افزایش می‌یابد. جلالی و خانلری (۳۰) نیز عنوان کردند با گذشت زمان انکوباسیون، کادمیم آلی افزایش یافت. احتمالاً دلیل این امر، تمایل فلزات به ماده آلی و پیوند قوی این فلزات با گروه‌های عامل دارای الکترون در ماده آلی می‌باشد (۳۳). تحقیق فلامکی و همکاران (۱۱) نشان داد دی کلسیم فسفات (DCP) باعث تثبیت کادمیم و مس در خاک و جلوگیری از ورود این دو فلز از خاک‌های سبک بافت به منابع آب زیرزمینی شد. در مورد سرب، شکل محلول و تبادلی و کربناتی افزایش و شکل همراه با مواد آلی و اکسیدهای آهن و منگنز به‌طور معنی‌دار کاهش یافت. احتمالاً با گذشت زمان باکتری‌ها باعث حلالیت ترکیبات فسفر کم محلول یا نامحلول می‌شوند و می‌توانند فلزاتی را که از قبل با این ترکیبات پیوند یافته‌اند به فرم پویا درآورده و در نتیجه قابلیت دسترسی آن‌ها را افزایش دهد. مطالعات نشان داده است که باکتری *Bacillus megaterium* در حلالیت ترکیبات فسفره‌ی غیرآلی نامحلول مانند تری کلسیم فسفات (TCP)، دی کلسیم فسفات، هیدروکسی آپاتیت و یا سنگ فسفات (PR) توانایی و نقش مثبت دارند (۳۴). Lasat (۳۵) گزارش داد باکتری سودوموناس، تحرک یون‌های سرب را سبب شده است و ریزسازواره‌های خاک با ترشح ترکیبات آلی، زیست‌فراهمی و سهولت جذب فلزات را توسط ریشه افزایش می‌دهند. در خاک‌های آهکی پس از ۳ ساعت انکوباسیون، بیش‌تر سرب

- Environmental Quality, Vol. 26, pp. 966-974.
11. Falamaki, A., Tavallali, H., Eskandari, M., Moradi Estahbanati, M., 2013. Remediation of contaminated soils with cadmium and copper using dicalcium phosphate. *Journal of Water and Soil Resources Conservation*, Vol. 3(1), pp. 33-41. (In Persian)
 12. Abbott, D.E., Essington, M.E., Mullen, M.D., Ammons, J.T., 2001. Fly ash and lime-stabilized biosolid mixtures in mine spoil reclamation: simulated weathering. *Journal of Environmental Quality*, Vol. 30(2), pp. 608-616.
 13. Khadivi boroujerdi, E., Nourbakhsh, F., Afyuni, M., 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. Mahabadi, A.A., Hajabbasi, M.A., Khademi, H., Kazemian, H., 2007. Soil cadmium stabilization using an Iranian natural zeolite, *Geoderma*, Vol. 137, pp. 388-398.
 15. Valipour, M., Shahbazi, K., 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.
 16. Mohammadi Sani, M., Astarai, A., Fotovat, A., Lakziyan, A., Taheri, M., 2011. The effect of zeolite and TSP on speciation of Pb, Zn and Cd in mine waste. *Journal of Water and Soil*, Vol. 25(1), pp. 42-50. (In Persian)
 17. Patel, V.I., Saravaita, S.N., Arvadia, M.K., Chaudhari, J.H., Ahir, M.P., Bhalerao, R.E., 2010. Effects of conjunctive use of bio-organic and Total Environment, Vol. 191, pp. 95-107.
 3. Tessier, A., Campbell, P.G.C., Bisson, M., 1979. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Analytical Chemistry*, Vol. 51, pp. 844-851.
 4. Prusty, B.G., Sahu, K.C., Godgul, G., 1994. Metal contamination due to mining and milling activities at the Zawar zinc mine, Rajasthan, India. 1. Contamination of stream sediments. *Chemical Geology*, Vol. 112, pp. 275-291.
 5. Johnson, C.E., Petras, R.J., 1998. Distribution of zinc and lead fractions within a forest spodosol. *Soil Science Society America Journal*, Vol. 62, pp. 782-789.
 6. Lu, A., Zhang, S., Shan, X., 2005. Time effect on the fractionation of heavy metals. *Geoderma*, Vol. 125, pp. 225-234.
 7. Anderson, P.R., Christensen, T.H., 1988. Distribution coefficients of Cd, Co, Ni and Zn in soils. *Soil Science*, Vol. 39, pp. 15- 22.
 8. Kuo, S., Jellum, E.J., Baker, A.S., 1985. Effect of soil type and sludge application on zinc and cadmium availability to Swiss chard. *Soil Science*, Vol. 139, pp. 122-130.
 9. Antoniadis, N., Alloway, B.J., 2001. Availability of Cd, Ni, and Zn to ryegrass in sewage sludge treated soils at different temperatures. *Water Air and Soil Pollution*, Vol. 132, pp. 201-204.
 10. Sloan, J.J., Dowday, R.H., Dolan, M.S., Linden, D.R., 1997. Long-term effect of biosolids applications on heavy metal bioavailability in agricultural soils. *Journal of*

- of Agriculture and Biological Sciences, Vol. 1, pp. 48-58.
24. Nelson, D.W., Sommers, L.E. 1996. Methods of soil analysis (Eds.: D.L. Sparks, SSSA, Madison, Wisconsin, pp.961-1010.
 25. Olsen, S.R., Cole, C.V., Watanabe, F.S., 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.
 26. Lindsay, W.L., 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.
 27. Bower, C.A., Reitemeier, F.F., Fireman, M., 1952. Exchangeable cation analysis of saline and alkali soils. Soil Science, Vol. 73, pp. 251-261.
 28. Leoppert, R.H., 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).
 29. Aliehyayi, M. and Behbahanizadeh, A.A. 1993. Soil chemical analysis methods. Soil and Water Researches Institute Review, 892. (In Persian)
 30. Jalali, M., Khanlari, Z.V., 2008. Effect of going process on the fractionation of heavy metals in some calcareous soils of Iran. Geoderma, Vol 143, pp. 26-40.
 31. Ebrahimi, N., 2002. Effect of organic fertilizer on soil chemical properties and metal uptake by corn and wheat. M.Sc Thesis of soil science, inorganic fertilizers on growth, yield and economics of RabiFennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) under south Gujarat conditions. International Journal of Agricultural Sciences, Vol. 6 (1), pp. 178-181.
 18. Brandt, K. Plant health, soil fertility relationships and food quality. Proceeding of organic agriculture in Asia, 13-14 march- 2008 Seoul, Korea, 18-C.
 19. Naik, P.S., Chanemougasoundharam, A., Paul Khurana, S.M., Kalloo, G., 2003. Genetic manipulation of carotenoid pathway in higher plants. Current Sciences, Vol. 85(10), pp. 1423-1430.
 20. Eghball, B., 2002. Soil properties as influenced by phosphorus and nitrogen-base manure and compost application. Agronomy, Vol. 94, pp. 128-135.
 21. Duponnois, R., colombet, V., Hien, J., 2005. Thioulouse, Rhe mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and rock phosphate amendment influence plant growth and microbial activity in the rhizosphere of *Acacia holosericea*. Soil Biology and. Biochemistry, Vol. 37, pp. 1460-1468.
 22. Son, H., Park, M., Cha, M., Heo, M., 2006. Solubilization of insoluble inorganic phosphates by a novel salt – and pH-tolerant *Pantoea agglomerans* R-42 isolated from soybean rhizosphere, Bioresource. Technology, Vol. 97, pp. 204-210.
 23. Khan, A.A., Jilani, G., Akhtar, M.S., Naqvi, S.M.S. Rasheed, M., 2009. Phosphorus solubilizing bacteria: occurrence, mechanisms and their role in crop production. Research Journal

34. Chen, Y.P., Rekha, P.D., Arun, A.B., Shen, F.T., Lai, W., Young, C.C., 2006. Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. *Applied Soil Ecology*, Vol. 34, pp. 33-41.
35. Lasat, H.A., 2002. Phytoextraction of toxic metals: a review of biological mechanisms. *Journal of Environmental Quality*, Vol. 31 (1), pp.109-120.
- Agricultural faculty, Isfahan University and Technology.
32. Lu, A., Zhang, S., Shan, X.Q., 2005. Time effect on the fractionation of heavy metals in soils. *Geoderma*, Vol. 125, pp. 225-234.
33. Mbil, A., M.O., Thompson M.L., Mbagwu, U.S., Laird, D.A., 2001. Distribution and movement of sludge-drive trace metals in selected Nigerian soils. *Journal of Environmental Quality*, Vol. 30(5), pp. 74-1667.