

## برهمکنش ریزاسازواره‌ها و کلات‌ها بر پالایش عناصر سنگین توسط گیاهان

حسن شهقلى<sup>۱\*</sup>، قاسم حسین طلائی<sup>۲</sup>، مجتبی خواجه<sup>۳</sup>

۱-دانشگاه آزاد اسلامی، واحد الیگودرز، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، الیگودرز، لرستان، ایران

۲-دانشگاه آزاد اسلامی، واحد خرم آباد، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، خرم آباد، لرستان، ایران

۳-دانشجوی کارشناسی ارشد زراعت دانشگاه زابل

h\_agroo2000@yahoo.com

### چکیده

امکان اصلاح خاک‌های آلوده به فلزات سنگین از طریق روش‌های شیمیایی، فیزیکی و زیستی وجود دارد. گیاه‌پالایی از جمله روش‌های زیستی اصلاح خاک‌های آلوده به فلزات سنگین است که در آن از روش‌های گیاهی خاصی به منظور جذب، انباست، زدودن و تثبیت آلینده‌های فلزی سمی استفاده می‌شود. کارآیی استخراج فلزات سنگین به وسیله‌ی گیاهان مورد استفاده در این تکنولوژی به فاکتورهایی نظیر میزان زیست توده تولیدی گیاه و قابلیت جذب زیستی عناصر فلزی وابسته است. برخی از میکروارگانیسم‌های موجود در ریزوسفر گیاهان مانند باکتری‌های ارتقادهندی رشد و قارچ‌های مایکوریزا از طریق سازوکارهایی نظیر تولید هورمون‌های گیاهی و فراهمی عناصر غذایی برای گیاهان تحت تنش موجب افزایش رشد و زیست توده تولیدی آنها و به دنبال آن افزایش کارآیی جذب و زدایش آلینده‌های فلزی موجود در خاک می‌شوند. از طرفی، بسیاری از باکتری‌های ریزوسفری نسبت به فلزات سنگین مقاوم بوده و از طریق تولید اسیدهای آلی قادر به انحلال فرم‌های غیرقابل جذب فلزات سنگین و در نتیجه افزایش جذب آنها توسط گیاهان مقاوم هستند. در این مقاله مروری بر نقش میکروارگانیسم‌های ریزوسفری و کلات‌ها در افزایش کارآیی گیاه‌پالایی فلزات سنگین خواهیم داشت.

**کلمات کلیدی:** زیست پالایی، میکوریزا، عناصر سنگین.

#### مقدمه ۴

تا انسان و دامهایی که از این گیاهان تغذیه می‌کنند نیز در معرض خطر آلوودگی به این فلز قرار بگیرند. اگرچه پاکسازی خاک از طریق روش‌های فیزیکی و شیمیایی امکان پذیر است ولی تمام این روش‌ها نیاز به کارشناس و ابزارآلات دارند، از سوی دیگر این روش‌ها می‌توانند سبب از بین رفتن ساختمان خاک و اختلال در فعالیت‌های بیولوژیکی خاک و آلوودگی بخش دیگری از محیط زیست شوند (۱۷). یکی از مهم‌ترین روش‌ها و فناوری‌هایی که طی دو دهه اخیر برای رفع مشکل آلوودگی خاک در کشورهای مختلف گسترش یافته است، گیاه‌پالایی (Phytoremediation) نامیده می‌شود که در آن از کشت گیاهان مناسب در جهت پاکسازی و جذب و خارج ساختن آلاینده‌ها از خاک استفاده می‌شود (۱۷).

برای افزایش میزان جذب این فلزات از خاک‌های آلووده از برخی پارامترهای زیستی و شیمیایی خاص که مقرر به صرفه نیز هستند می‌توان استفاده کرد. اجتماعات میکوریزی به طور معنی‌داری جذب آب و مواد غذایی و تبادل کردن در گیاه را افزایش می‌دهند (۴۷). این قارچ‌ها توانایی رشد در خاک‌های آلووده را به صورت همزیست با ریشه گیاه دارند (۳۶). از طرفی استفاده از این قارچ‌ها به منظور پالایش مناطق آلووده از نظر

خاک یکی از منابع مهم و ارزشمند در طبیعت است که بدون داشتن آن حیات و زندگی بر روی زمین امکان‌پذیر نخواهد بود. ۹۵ درصد غذای انسان از خاک تهیه می‌شود و خاک علاوه بر نقشی که در تداوم حیات به عهده دارد در پیدایش حیات و تکامل نیز مؤثر بوده است (۱). از دیدگاه جهانی پس از آب و هوا، پوسته خاک سومین جزء عمدۀ محیط زیست انسان تلقی می‌شود. هر گونه تغییر در ویژگی اجزای تشکیل دهنده خاک به طوری که استفاده از آن را ناممکن سازد، آلوودگی خاک نامیده می‌شود. آلوودگی خاک و آب به فلزات سنگین ضمن کاهش عملکرد و کیفیت محصولات کشاورزی، پایداری تولید کشاورزی و سلامت افراد جامعه را نیز به خطر می‌اندازد (۴۸).

از انقلاب صنعتی تا به حال، آلوودگی خاک به وسیله فلزات سنگین به طور شگفت‌انگیزی در حال پیشروی بوده است. حدود ۹۰ درصد انتشار فلزات سنگین از منابع مصنوعی و از سال ۱۹۰۰ میلادی اتفاق افتاده است (۲۵). در بین فلزات سنگین سرب یکی از خطرناک‌ترین آن‌ها است که به وسیله گیاهان جذب شده و گیاهان با جذب آن در معرض آلوودگی به این عنصر قرار می‌گیرند و علاوه بر آنکه آسیب‌هایی به خود گیاه وارد می‌شود، سبب شده

همزیستی این قارچ‌ها در سطح ۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم این آلاینده در کیلوگرم خاک، نسبت به سطح شاهد آلودگی کاسته شد.

چان و همکاران (۱۰) در پژوهشی که بر روی همزیستی قارچ‌های میکوریز با گیاه برنج (*Oryza sativa*) و در خاک‌های آلوده به آرسنیک انجام داده بودند، گزارش دادند که با افزایش سطح این آلاینده در خاک (۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) تفاوتی در میزان کلونیزاسیون گونه قارچی *Glomus geosporum* با ریشه گیاه مشاهده نشد، در صورتی که در گونه قارچی *Glomus mosseae* کمترین میزان کلونیزاسیون ریشه در بالاترین سطح آلودگی به دست آمد. در آزمایشی که گارچ و سینگلا (۲۰) به منظور بررسی نقش قارچ میکوریز گونه *Glomus mosseae* بر روی گونه گیاهی *Pisum sativum* و در محیط آلوده به آرسنیک انجام داده بودند، مشاهده کردند که همزمان با افزایش سطح آلودگی خاک به این فلز (۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک)، از میزان کلونیزاسیون این قارچ‌ها در گیاه کاسته شد.

### ۱-۱- فراهمی عناصر سنگین گیاه

دسوزا کاستا و همکاران (۱۵) پژوهشی بر روی پتانسیل گیاه‌پالایی کرچک (*Ricinus communis*) در محیط‌های آلوده به عناصر سرب و کادمیوم

حفظ محیط زیست نیز نوعی برتری محسوب می‌شود. حضور جوامع زیستی در محیط رایزوسفر خاک پروژه زیست پالایی را با تحریک رشد گیاه و یا تجزیه ریشه‌ای گیاهان تشdid می‌کند (۴۱). گیاه‌پالایی شیمیایی عبارت است از استفاده از ترکیبات شیمیایی نظیر کلات‌ها و اسیدها برای بهبود راندمان پالایش عناصر فلزی توسط گیاهان که به منظور افزایش حلalیت این عناصر در داخل خاک‌ها به کار گرفته می‌شود (۲۹). کلات‌ها می‌توانند فلزات را از فاز جامد و غیر محلول به فازهای تبادلی تبدیل کرده و در نهایت میزان جذب این فلزات توسط گیاهان را افزایش دهند.

### ۱- فعالیت ریزسازواره‌های خاک

نتایج یک بررسی که بر روی پتانسیل گیاه‌پالایی چند گونه گیاهی در مراحل جوانه زنی و در محیط آلوده به سرب صورت گرفت نشان داد که همزمان با افزایش محتوای این فلز در خاک (۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) از میزان درصد کلونیزاسیون قارچ‌های همزیست (میکوریز) در گونه گیاهی *Mimosa caesalpiniaeefolia* کاسته شد (۴۴). در آزمایشی که سوزا و همکاران (۵۱) به منظور بررسی نقش همزیستی اکتو میکوریزها با گونه گیاهی *Pinus pinaster* و در محیط آلوده به فلز کادمیوم انجام داده بودند، دریافتند که از میزان

دريافتند که ميزان غلظت عناصر سرب، روی و کادميوم در بافت‌های اين گياه رابطه مستقيم با محتوای آلدگی خاک دارد و با افزایش محتوای اين عناصر در خاک بر ميزان غلظت آنها در گياه افزوده می‌شود.

## ۲-۱- فراهمی عناصر مغذی گياه

تحت تأثیر سطوح بالاي فلزات در خاک، ميزان جذب آهن و گوگرد که در فعالیت بسیاری از آنزیم‌ها نقش دارند و یا به عنوان کوفاکتور در ساختارهای مولکولی ترکیب‌های مختلف شرکت می‌کنند تغییر می‌یابد (۴). چن و همکاران (۱۳) در پژوهشی که بر روی گياه ذرت و در خاک‌های آلدده به فلز روی (تا سطح ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) انجام داده بودند، گزارش کردند که اثر این آلينده بر ميزان غلظت فسفر ريشه، ساقه و برگ گياه معنی‌دار است و با افزایش سطح آن در محیط، غلظت فسفر در گياه نیز افزوده شده است. هرناندزاورتگا و همکاران (۲۳) در تحقیقی که در خاک‌های آلدده بر روی گياه *Melilotus albus* به هیدروکربن‌های نفتی (سوخت دیزل) انجام داده بودند دریافتند که با افزایش سطح آلدگی در این خاک‌ها از محتوای عناصر کلسیم، روی، مس، منگنز، آهن، پتاسیم و فسفر گياه کاسته شده است.

انجام دادند. نتایج این پژوهش نشان داد که با افزایش سطوح این آليندها در محیط، غلظت این عناصر در بافت‌های هوایی و ریشه گیاهان نیز افروده شد و بالاترین ميزان عناصر سرب و کادميوم به ترتیب در بافت‌های ریشه و هوایی گياه به دست آمد. از سوی دیگر با افزایش محتوای آلينده خاک ميزان فاکتور انتقال این عناصر در گياه کاسته شد. این کاهش برای عنصر کادميوم محسوس‌تر بود. آنها همچنین گزارش کردند که با افزایش سطوح سرب و کادميوم خاک، نمودار شاخص تجمع زیستی این عناصر پس از یک دوره صعود که بر اثر افزایش غلظت این فلزات در خاک روی داد کاهش یافت. نمودار رسم‌شده برای این تغییرها به شکل سهمی بود. در تحقیقی که محمود و همکاران (۳۸) در زمین‌های آلدده به فلز کادميوم بر روی کاهو انجام دادند مشاهده شد که با افزایش سطح آلينده گی خاک (۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) بر ميزان غلظت کادميوم بافت‌های هوایی گياه افزوده می‌شود. سوکساؤت و همکاران (۵۰) در پژوهشی که بر روی گونه گیاهی *Chara aculeata* و در خاک‌های آلدده به عناصر سنگین انجام داده بودند،

تنظیم بیان ژن‌های پروتئین‌های ناقل فلزی و غیره هستند (۲۷؛ ۲۱). علاوه بر این‌ها قارچ‌های میکوریز ممکن است عناصر را در بافت‌های خود، برای مثال در واکوئل‌ها و یا در میسلیوم‌های میکوریزی خود ذخیره کرده و اثر سمیت آن‌ها را در گیاه به حداقل برسانند (۱۲).

در مجموع، در زیست فراهمی عناصر سنگین توسط همزیستی قارچ‌های میکوریز با ریشه گیاهان نتایج متفاوتی حاصل می‌شود که ناشی از: ۱- گونه گیاه و غلظت عنصر آلاینده ۲- وجود بیش از یک عنصر و اثرات متقابل بین آن‌ها ۳- ویژگی خاک ۴- نوع همزیستی بین گیاه و میکروارگانیسم‌های خاک ۵- شرایط رشدی گیاهان ۶- حجم و تراکم ریشه گیاه است (۹؛ ۷).

## ۲-۲- مطالعه موردهی تأثیر قارچ‌های میکوریز بر گیاهان در محیط آلوده

### ۲-۲-۱- شاخص‌های مورفولوژیکی گیاه

چان و همکاران (۱۰) در پژوهشی که بر روی تأثیر همزیستی قارچ‌های میکوریز با گیاه برنج و در خاک‌های آلوده به آرسنیک انجام داده بودند، مشاهده کردند که کمترین مقدار زیست توده اندام‌های هوایی و ریشه این گیاه، در بالاترین سطح آلودگی (۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) و در شرایط عدم تلقیح با قارچ‌های آرباسکول (*Glomus*

۲- ۲- تأثیر ریزسازواره‌های خاک در گیاه‌پالایی حضور جوامع زیستی در رایزوسفر گیاهان فعل و انفعالات زیست پالایی را با تحریک و افزایش جذب و یا تجزیه آلودگی تشدید می‌کند (۴۱). بسیاری از ریزسازواره‌های خاک قادر به محلول کردن فرم‌های غیر قابل جذب کانی‌های معدنی حاوی فلزات سنگین، از طریق ترشح اسیدهای آلی هستند (۲۸). سازوکارهای عمدۀ‌ای که ریزسازواره‌های خاک توسط آن‌ها می‌توانند استرس ناشی از فلزات سنگین را در گیاهان بکاهند به دو بخش کلی تقسیم می‌شوند که عبارت است از: ۱- کاهش غلظت عناصر سنگین در خاک ۲- افزایش رشد گیاه (۳۰). اثرات متقابل بین میکروارگانیسم‌های خاک و گیاهان در فرآیند گیاه‌پالایی مؤثر هستند (۳۴) بدین نحو که ریزسازواره‌های خاک سبب افزایش تولید تنظیم کننده‌های رشد و افزایش جذب آب و مواد غذایی در گیاهان شده، در نتیجه رشد گیاه را افزایش دادند (۴۱).

۲- ۱- تأثیر قارچ‌های میکوریز در گیاه‌پالایی سازوکارهایی که قارچ‌های میکوریز به منظور کاهش اثرات تنش فلزات سنگین بر روی گیاهان اعمال می‌کنند شامل کلاته کردن و غیر پویایی فلزات سنگین در میسلیوم‌های خارجی، بهبود تغذیه معدنی به ویژه فسفر، تغییر pH رایزوسفر خاک،

در حالی که در گیاهان همزیست با این قارچ‌ها، تأثیر تنش بر روی عملکرد گیاه کمتر محسوس بود. بالاترین میزان بیوماس خشک در این اندام‌ها در کمترین سطح آلوودگی و در گیاهان همزیست با قارچ به دست آمد.

هرناندزاورتگا و همکاران (۲۳) در پژوهشی که بر روی گونه گیاهی *Melilotus albus* و در خاک‌های آلووده به هیدروکربن‌های نفتی (سوخت دیزل) انجام داده بودند، مشاهده کردند که همزمان با افزایش سطح آلوودگی این خاک‌ها، از میزان بیوماس زیست توده کل گیاه کاسته شد. در صورتیکه نمونه‌های تلقیح شده با قارچ کمتر تحت تأثیر این تنش قرار گرفتند. سولیس‌دومینگووز و همکاران (۴۹) در آزمایشی که به منظور بررسی نقش گونه قارچی *Glomus intraradices* در گیاه کهور و در حوالی معدن کلوندیک آمریکا (حاوی پسماندهای روی و سرب) انجام داده بودند، مشاهده کردند که این قارچ‌ها سبب افزایش طول ریشه در گیاهان همزیست نسبت به گیاهان شاهد شدند. نتایج حاصل از پژوهشی که سودوا و واساتکا (۵۲) بر روی گیاه توتون و در شرایط محیطی آلووده به سرب انجام دادند نشان داد که استفاده از این قارچ‌ها سبب افزایش چشم‌گیر زیست توده ریشه در این گیاه شد.

(*mosseae*) و بیشترین میزان آن نیز در کمترین سطح آلوودگی خاک و در شرایط تلقیح با قارچ‌های آرباسکول به دست آمد.

بسراکاسترو و همکاران (۸) در پژوهشی که به منظور بررسی نقش چند گونه از ریزسازواره‌های خاکزی در فرآیند گیاه‌پالایی و در زمین‌های آلووده به عناصر کادمیوم و روی انجام داده بودند، دریافتند که اکثر این ریزسازواره‌ها سبب افزایش میزان زیست توده گونه‌های گیاهی *Festuca pratensis* و *Salix caprea* شد. در آزمایشی که به منظور بررسی تأثیر همزیستی قارچ‌های میکوریز در خاک‌های گیاه‌پالایی گونه گیاهی *Pteris vittata* در آلووده به آرسنیک صورت گرفت، مشاهده شد که استفاده از قارچ‌های میکوریز گونه موسه‌ای (Glomus mosseae) سبب افزایش میزان زیست توده اندام‌های هوایی گیاه در تمام سطوح آلاینده شده است (۳۱).

گارچ و سینگلا (۲۰) در پژوهشی که به منظور بررسی نقش گونه قارچی *Glomus mosseae* در گیاه نخودفرنگی (*Pisum sativum*) و در محیط آلووده به فلز آرسنیک انجام داده بودند، مشاهده کردند که همزمان با افزایش محتوای آلاینده خاک تا سطح ۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک، از میزان وزن خشک اندام‌های هوایی و ریشه گیاه کاسته شد.

بافت‌های گیاه در سطوح بالای آلودگی باشد. در رابطه با این دو صفت بیشترین مقادیر در نمونه‌های گیاهی همزیست با قارچ و در کمترین سطح آلودگی مشاهده شد. از سوی دیگر با افزایش سطح آلایندگی خاک بر محتوای گلیسین، بتائین و پرولین گیاهان افزوده شد و به دنبال آن مقاومت گیاهان افزایش یافت. بالاترین محتوای این مواد در گیاهان همزیست با قارچ به دست آمد.

در تحقیقی که به منظور بررسی نقش قارچ‌های آرباسکولار در گیاه‌پالایی گیاه ذرت و در خاک‌های آلوده به کادمیوم صورت گرفت مشاهده شد که گیاهان همزیست با این قارچ‌ها نسبت به سایر گیاهان مقادیر بیشتری از پروتئین را در اندام‌های خود انباشته بودند. همچنین با افزایش محتوای آلایندگی خاک، از میزان طول میسلیوم‌های خارجی این قارچ‌ها کاسته شد (۵).

### ۳-۲-۲- فراهمی عناصر سنگین گیاه

در آزمایشی که اورلوسکا و همکاران (۴۲) به منظور بررسی نقش قارچ‌های آرباسکولار بر فرآیند گیاه‌پالایی گیاه بارهنگ (*Plantago lanceolata*) انجام داده بودند، گزارش کردند که گیاهان همزیست با این قارچ‌ها نسبت به گیاهان شاهد حاوی مقادیر بالاتری از عناصر سرب، کادمیوم،

### ۲-۲-۲- شاخص‌های کیفی گیاه

در تحقیقی که پانامیا و همکاران (۴۳) بر روی گونه گیاهی *Chrysopogon zizanioides* و در محیط آلوده به سرب انجام دادند، گزارش کردند که اثرات متقابل فلز سرب و قارچ‌های میکوریز بر میزان رنگیزه فتوستزی این گیاهان معنی‌دار بود. بدین نحو که با افزایش محتوای آلایندگی خاک (تا سطح ۱۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) از محتوای کلروفیل a و b در این گیاه کاسته شد ولیکن گیاهان همزیست با قارچ کمتر تحت تأثیر تنفس قرار گرفته بودند.

گارچ و سینگلا (۲۰) در پژوهشی که به منظور بررسی نقش سویه قارچی *Glomus mosseae* بر روی گونه گیاهی *Pisum sativum* و در محیط آلوده به آرسنیک انجام داده بودند، مشاهده کردند که کمترین میزان رنگیزه فتوستزی در بالاترین سطح آلایندگی خاک (۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) و در گیاهان شاهد مشاهده شد. لیکن گیاهان همزیست با قارچ سهم بیشتری از رنگیزه‌های فتوستزی را در بافت‌های سبزینه خود انباشته بودند. آن‌ها همچنین گزارش کردند که تحت تأثیر تنفس محتوای نسبی آب در بخش‌های هوایی گیاه و محتوای پروتئین بافت‌های مختلف کاهش یافته است. علت این تغییرها می‌تواند ناشی از تخریب

میکوریز بر میزان غلظت این فلز در بافت ریشه گیاه معنی دار بوده و بیشترین میزان آن در بالاترین سطح آلودگی محیط و در گیاهان شاهد به دست آمد. در تحقیقی که بر روی پتانسیل گیاه‌پالایی گیاهانی از گونه‌های *Schizolobium parahyba* و *Erythrina speciosa* در مرحله جوانه‌زنی و در محیط آلوده به سرب صورت گرفت، مشاهده شد که همزمان با افزایش محتوای سرب خاک تا سطح ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک، از میزان فاکتور تغییز زیستی در این گونه‌های گیاهی کاسته شد (۴۴). در آزمایشی که به منظور بررسی تأثیر همزیستی قارچ‌های آرباسکولار در گونه گیاهی *Cynodon dactylon* و در خاک‌های آلوده به آرسنیک صورت گرفت، عنوان شد که استفاده از قارچ‌های میکوریز گونه موسه‌ای در سطوح ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک، سبب افزایش میزان غلظت آرسنیک در ریشه این گونه گیاهی شدند (۳۱).

#### ۴-۲-۲- فراهمی عناصر مغذی گیاه

پژوهش‌های زیادی در مورد نقش این قارچ‌ها و اثرات سودمند آن‌ها در گیاهان صورت گرفته است، بهبود تولید در گیاهان میکوریزی را به جذب بیشتر عناصر غذایی غیر متحرک مانند فسفر، روی و مس نسبت داده‌اند (۴۷). چان و همکاران (۱۰)

آرسنیک و روی در اندام‌های خود بودند. سولیس- دومینگوуз و همکاران (۴۹) در آزمایشی که بر روی گیاهان حوالی معدن کلوندیک آمریکا انجام داده بودند، عنوان کردند که قارچ‌های میکوریز سبب افزایش تجمع عناصر روی و کادمیوم در اندام‌های هوایی این گیاهان شده بودند در حالی که بین گیاهان همزیست و شاهد از لحاظ انباست سرب تفاوت چشمگیری مشاهده نشد. دماریا و همکاران (۱۴) گزارش دادند که تلقیح گیاهان با ریزسازواره‌های رایزوسفر، سبب افزایش فاکتور انتقال عناصر روی و کادمیوم از ریشه به بافت برگ گونه گیاهی *Salix caprea* شد.

در آزمایشی که گارج و سینگلا (۲۰) بر روی گونه قارچی *Glomus mosseae* و در محیط‌های آلوده به آرسنیک انجام دادند، گزارش کردند که با افزایش میزان آلودگی خاک تا سطح ۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک، بر میزان غلظت این فلز در بافت‌های هوایی و ریشه گیاه افزوده شد و این در صورتی بود که قارچ میکوریز سبب کاهش انتقال فلز از خاک به اندام‌های گیاه شد. در آزمایشی که سوزا و همکاران (۱۶) به منظور بررسی نقش اکتو‌میکوریزها در همزیستی با گونه گیاهی *Pinus pinaster* و در محیط آلوده به کادمیوم انجام داده بودند، گزارش کردند که برهمکنش کادمیوم و قارچ

افزایش سطح این آلاینده در خاک (۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) از محتوای فسفر اندام‌های هوایی و ریشه گیاه کاسته شد و این کاهش در اندام ریشه نسبت به زیست توده هوایی محسوس‌تر بود، در حالی‌که نمونه‌های گیاهی همزیست با قارچ حاوی مقادیر بالاتری از این عنصر در تمام سطوح آلاینده بودند.

در آزمایشی که به منظور بررسی نقش قارچ‌های میکوریز در فرآیند گیاه‌پالایی گونه گیاهی *Pteris vittata* و در خاک‌های آلوده به آرسنیک صورت گرفت، عنوان شد که استفاده از قارچ‌های میکوریز گونه موسه‌ای، سبب افزایش محتوای فسفر بافت ریشه در سطح شاهد آلاینده نسبت به گیاهان شاهد در همان سطح از آلاینده شد (۳۱).

### ۳- تأثیر کلاتورها در گیاه‌پالایی

ثبت فلزات سنگین در بین ذرات خاک یک مشکل عمده در حلایت و جذب آن‌ها از خاک است (۴۶). پژوهش‌ها نشان داده است که دیواره سلول‌های آوند چوبی به دلیل داشتن ظرفیت تبادل کاتیونی بالا سبب تأخیر در حرکت کاتیون‌های فلزی به سمت بافت‌های هوایی گیاه می‌شوند (۱۸). گیاه‌پالایی شیمیایی عبارت است از کاربرد ترکیبات شیمیایی و مواد آلی برای بهبود راندمان پالایش عناصر فلزی توسط گیاهان که به منظور افزایش

در تحقیقی که بر روی تأثیر همزیستی قارچ‌های میکوریز در گیاه برنج و در خاک‌های آلوده به آرسنیک انجام داده بودند، دریافتند که نمونه‌های گیاهی همزیست با این قارچ، در تمام سطوح آلاینده حاوی مقادیر بالاتری از فسفر در بافت‌های هوایی و ریشه خود بودند. مالکوا و همکاران (۳۵) در پژوهشی که به منظور بررسی نقش گونه قارچی *Glomus intraradices* در گونه‌های گیاهی *Zea mays* و *Agrostis capillaris* آلوده به فلزات سنگین انجام داده بودند، گزارش کردند که تیمارهای گیاهی تلقیح شده با این قارچ، در تمامی سطوح آلاینده حاوی غلظت بیشتری از عنصر فسفر در بافت‌های خود بودند.

هرناندزاورتگا و همکاران (۲۳) در پژوهشی که بر روی گونه گیاهی *Melilotus albus* و در خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی (سوخت دیزل) انجام داده بودند، گزارش کردند که قارچ‌های میکوریز سبب افزایش تجمع عناصر نیتروژن، فسفر، پتاسیم، آهن، کلسیم، روی، منگنز، مینزیم و مس در تمامی سطوح آلاینده نسبت به گیاهان شاهد شدند. در آزمایشی که گارچ و سینگلا (۲۰) به منظور بررسی نقش قارچ همزیست میکوریز در گونه گیاهی *Pisum sativum* و در محیط آلوده به آرسنیک انجام داده بودند، دریافتند که همزمان با

قابل جذب بوده و می‌توانند با تبدیل فلزات از شکل جامد و غیر محلول به اشکال قابل تبادل، جذب آنها را توسط گیاهان افزایش دهند (۲) (شکل ۱). EDT سبب نابودی مانع‌های فیزیولوژیکی موجود در ریشه از طریق حذف کاتیون‌های  $\text{Fe}^{2+}$  و  $\text{Ca}^{2+}$  می‌شود که نقش مهمی در خاصیت انتخاب-پذیری غشای پلاسمای سلول‌های ریشه دارند (۴۰). یافته‌های آزمایشی نشان داد که کلات کننده‌های شیمیایی و آلی با تأثیر مثبت بر تحرک فلزات سنگین در خاک، قدرت گیاه پالایی را افزایش دادند (۱۱).

به نظر می‌رسد که مولکول‌های EDTA می‌توانند سلول‌های جدار ریشه و یا ناقلين عناصر را که در روی سلول‌های جدار ریشه قرار دارند تخریب کرده و همراه فلزی که آن را کلاته کرده‌اند به راحتی از این سلول‌ها عبور کنند (۳۳).

### ۲-۳- مطالعه موردنی تأثیر کلاتور بر گیاهان در محیط آلوده

#### ۱-۲-۳- شاخص‌های مورفو‌لوژیکی گیاه

در یک بررسی که بر روی گیاه ذرت و در خاک‌های آلوده به سرب صورت گرفت، مشاهده شد که استفاده از کلات EDTA سبب کاهش میزان طول ریشه و اندام‌های هوایی در این گیاه شد (۲۲). در تحقیقی که به منظور بررسی نقش عوامل کلات

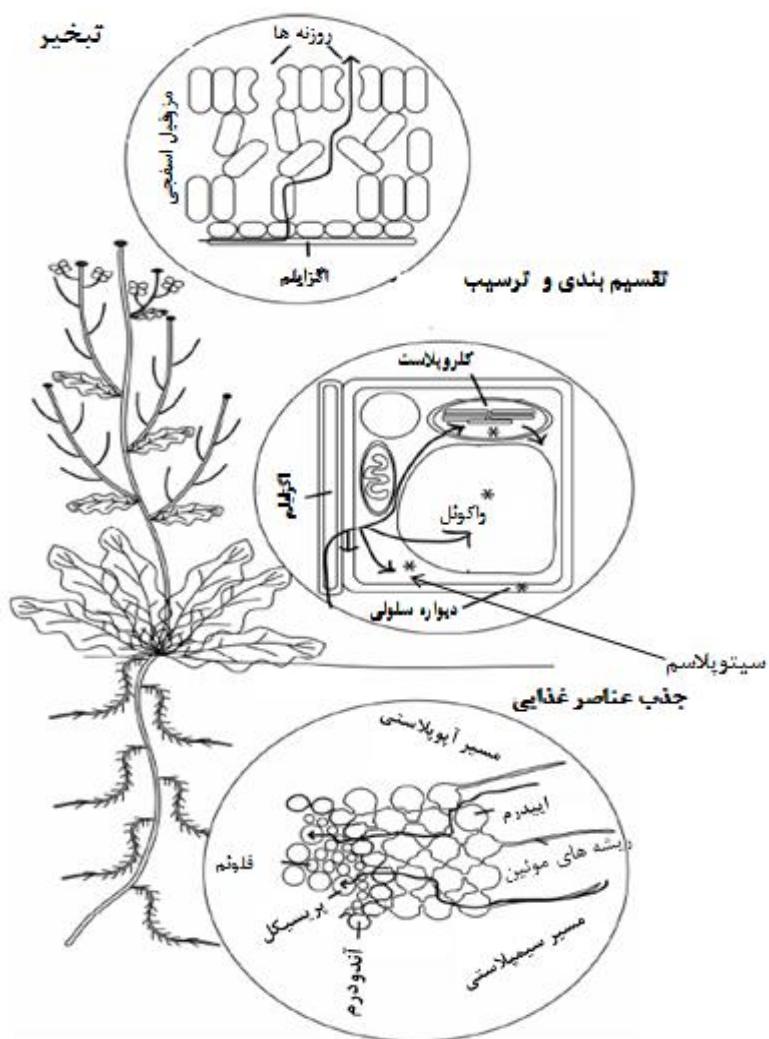
حلالیت عناصر فلزی در خاک بکار گرفته می‌شود (۲۹). افزودن آمینو پلی کربوکسیلیک اسیدها به خاک، در برهه‌ای از رشد که گیاهان در حداقل رشد (مرحله پایانی) هستند صورت می‌گیرد. در این مرحله به دلیل تعرق بالای گیاه، مقدار قابل توجهی از کمپلکس‌های فلزی طی جریان توده‌ای از سمت ریشه گیاه حرکت نموده و به شاخساره انتقال می‌یابند (۳۲).

ورود هر یون به درون سلول‌های ریشه و انتقال آن به آوند چوبی از دو مسیر سیمپلاستی (انتقال از سلولی به سلول دیگر از محل پلاسمالما) و آپوپلاستی (انتقال از فضای مابین دیواره خارجی دو سلول) انجام می‌گیرد. انتقال یون از مسیر آپوپلاستی به دلیل غیر اختصاصی بودن فرآیند جذب سریع تر از مسیر سیمپلاستی صورت می‌گیرد. در حضور آمینو پلی کربوکسیلیک اسیدها انتقال فلز به صورت غیر اختصاصی و از مسیر آپوپلاستی است و در شرایط عدم حضور این ترکیبات، جذب این فلزات به صورت اختصاصی و از مسیر سیمپلاست خواهد بود (۴۰). وجود پیوندهای آلی-فلزی در ترکیب کلات و فلز سبب می‌شود که فلزات کمتر در معرض کلوئیدها، هیدروکسیدها و اکسیدها قرار گرفته در نتیجه کمتر در خاک رسوب یا تثبیت شوند. از طرفی این ترکیب‌ها توسط ریشه گیاهان

## "شهقی و همکاران، برهم کش ریزسازواره‌ها و کلات‌ها بر پالایش عناصر سنگین توسط گیاهان"

سطوح بالا سبب کاهش میزان وزن تر و خشک و

کننده در پاکسازی محیط آلوده به اورانیوم صورت گرفت، گزارش شد که استفاده از این عوامل در



شکل(۱) مسیر جذب عناصر در گیاهان، ویندی و همکاران (۵۶).

آلوده به فلز کادمیوم انجام داده بودند، دریافتند که با افزایش میزان آلودگی خاک به این فلز تا سطح ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک، از میزان زیست توده اندام‌های هوایی و زیرین گیاه کاسته شد. شب

همچنین ارتفاع گیاه شدند (۲۶). محمود و همکاران (۳۸) در پژوهشی که به منظور بررسی تأثیر کلات (Diethylene Triamine Penta ) DTPA (Aceticacid) بر روی گیاه کاهو و در زمین‌های

حضور کلاتور و با افزایش سطح آلودگی خاک از میزان بیوماس زیست توده خشک بافت هوایی گیاه و به خصوص از بیوماس زیست توده ریشه کاسته شد. در حالی که در گیاهان تیمار شده با کلاتور این کاهش عملکرد محسوس‌تر بود (۵۴).

در تحقیقی که به منظور بررسی تأثیر کلاتور EDTA بر روی گیاه ذرت و در زمین‌های آلوده به آرسنیک صورت گرفت، مشاهده شد که در صورت استفاده از این کلاتور از میزان ارتفاع کل، ارتفاع ساقه و وزن خشک اندام‌های هوایی و ریشه گیاه کاسته شد (۳). نیوشواتنر و همکاران (۳۹) در یک پژوهش دو وجهی گلدانی و مزرعه‌ای که بر روی گیاه ذرت و در خاک‌های آلوده به عنصر سرب و کادمیوم انجام داده بودند، مشاهده کردند که میزان زیست توده این گیاه رابطه عکس با محتوای EDTA در خاک داشت و همزمان با افزایش میزان مصرف این کلاتور در خاک از میزان زیست توده گیاه کاسته شد.

### ۲-۲-۳- شاخص‌های کیفی گیاه

در غلظت‌های بالای سرب و آمینو پلی کربوکسیلیک اسید، علائم سمیت این مواد به صورت خشکیدگی، نکروز و پیچیدگی حاشیه برگ‌ها مشاهده می‌شود. این علائم به دلیل جذب سریع کمپلکس‌های سرب و شکل آزاد EDTA در

کاهش زیست توده در ریشه به مراتب شدیدتر از بافت‌های هوایی گیاه بود. در گیاهان تیمار شده با کلات، میزان کاهش زیست توده نسبت به گیاهان شاهد (عدم اعمال کلات) بیشتر بود.

در تحقیقی که سودوا و همکاران (۵۳) بر روی گیاه توتون و در شرایط خاکی آلوده به سرب انجام داده بودند، مشاهده کردند که با افزایش سطح مصرف Ethylene Diamin Di (EDDS) کلاتور (Succinate) در خاک، از میزان زیست توده خشک اندام‌های هوایی و زیرین گیاه کاسته شد. در آزمایشی دیگر که به منظور بررسی تأثیر کلاتورهای NTA و EDDS (Tiacetic Acid) بر فرآیند گیاه‌پالایی اسفناج و در خاک‌های آلوده به کادمیوم صورت گرفت، مشاهده شد که میزان زیست توده خشک اندام‌های هوایی و زیرین و همچنین ارتفاع این گیاه، رابطه عکس با محتوای این عنصر در خاک داشتند. با افزایش سطح آلودگی خاک به این فلز، از میزان این صفات در گیاه کاسته شد. با استفاده از این کلاتورها (تا سطح ۵ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک) در تمامی سطوح آلاینده از میزان این صفات کاسته شد (۲۴). در آزمایشی دیگر که به منظور بررسی نقش کلاتور EDDS در گیاه‌پالایی خاک‌های آلوده به سرب صورت گرفت، مشاهده شد که در حضور و یا عدم

محتوای این آلاینده تا سطح ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک، در میزان متابولیک (فعالیت) ریزسازواره‌های خاکزی اختلاف چشمگیری مشاهده نشد ولیکن در گیاهانی که در آن‌ها از عامل کلات کننده استفاده شده بود از میزان متابولیک ریزسازواره‌های خاکزی کاسته شد (۱۹). در تحقیقی که سودوا و همکاران (۵۳) به منظور بررسی نقش عامل کلات کننده EDDS بر روی گیاه توتون و در شرایط محیطی آلوده به سرب انجام داده بودند، گزارش کردند که کمترین میزان کلونیزاسیون و طول میسلیوم‌های قارچ‌های میکوریز، در بالاترین سطح آلاینده و کاربرد ۵ میلی‌مول از کلاتور به دست آمد. مارکوییز و همکاران (۳۷) در آزمایشات خود که به منظور بررسی نقش کلاتور EDTA بر میزان کلونیزاسیون قارچ‌های همزیست با گیاه تاج ریزی سیاه (Solanum nigrum) و در خاک‌های آلوده به فلز روی انجام داده بودند، گزارش کردند که میزان کلونیزاسیون این قارچ‌ها رابطه عکس با مصرف کلاتور در خاک داشته و با افزایش سطح مصرف این ماده در خاک، از میزان کلونیزاسیون قارچی ریشه گیاه کاسته شد.

شاخصاره و اختلال در فتوستتر و کلروفیل سازی برگ روی می‌دهد (۳۸). سس و همکاران (۴۵) در پژوهشی که به منظور بررسی تأثیر کلاتور EDTA در سطوح ۱۴ و ۲۸ (میلی‌مول بر کیلوگرم خاک) بر روی گیاه آفتاب‌گردان و در محیط آلوده به سرب انجام داده بودند، گزارش کردند که اثرات متقابل سرب و کلاتور بر محتوای پروتئین گیاه معنی‌دار بود و کمترین میزان آن در بالاترین سطح سرب و عدم مصرف کلاتور به دست آمد. جاگتیا و شارما (۲۶) در تحقیقی که به منظور بررسی نقش عامل کلات کننده EDTA در محیط آلوده به اورانیوم و بر روی گیاه خردل هندی (*Brassica juncea*) انجام داده بودند، دریافتند که با افزایش میزان مصرف این کلاتور در محیط از میزان شاخص تحمل این گیاه کاسته شد. در آزمایشی که به منظور بررسی نقش کلاتور EDTA در گیاه ذرت و در زمین‌های آلوده به فلز آرسنیک صورت گرفت مشاهده شد که محتوای رنگیزه فتوستتری این گیاه با مقدار کلاتور اضافه شده به خاک رابطه عکس داشت (۳).

### ۳-۲-۳- فعالیت میکرووارگانیسم‌های خاک

در پژوهشی که به منظور بررسی تأثیر عوامل کلات کننده بر روی گیاهان و در محیط آلوده به سرب صورت گرفت مشاهده شد که با افزایش

سرب، مس و کادمیوم در اندام‌های هوایی ذرت شد و از سوی دیگر، استفاده از این عامل سبب تشدید انتقال سرب از مسیرهای سیمپلاستی نسبت به مسیرهای غیر سیمپلاستی شد.

در آزمایشی که به منظور بررسی نقش عامل کلات کننده EDTA بر روی گونه گیاهی *Cynara cardunculus* و در خاک‌های آلوده به سرب صورت گرفت مشاهده شد که با اعمال این عامل در خاک، میزان فاکتور انتقال سرب در گیاه افزایش یافت (۱۹). در پژوهشی که نیوشواتنر و همکاران (۳۹) بر روی گیاه سورگوم انجام داده بودند، گزارش کردند که میزان تجمع فلز سرب در این گیاه رابطه مستقیم با مصرف کلاتور EDTA در خاک‌های آلوده داشت. هسو و همکاران (۲۴) در پژوهشی که بر روی گونه گیاهی *Ipomoea aquatic* و در آب‌های آلوده انجام دادند، عنوان کردند که با مصرف کلاتور EDDS، میزان غلظت و جذب کادمیوم در اندام‌های هوایی گیاه را به صورت معنی‌داری افزایش یافت.

### نتیجه گیری

با بهره‌گیری از روابط طبیعی می‌توان بر بسیاری از مشکلاتی که بشر به واسطه‌ی جاهطلبی بر محیط زیست تحمیل کرده است، هموار کرد. گیاه‌پالائی، یکی از فن‌آوری‌های طبیعی موجود جهت رسیدگی

### ۴-۲-۳- فراهمی عناصر سنگین گیاه

محمد و همکاران (۳۸) در پژوهشی که به منظور بررسی تأثیر کلاتور DTPA بر روی گیاه کاهو و در زمین‌های آلوده به کادمیوم انجام داده بودند، گزارش کردند که در حضور و یا عدم حضور کلاتور در خاک با افزایش سطح آلودگی کادمیوم، بر میزان غلظت این فلز در گیاه افزوده شد. در حالی که در صورت استفاده از این کلاتور در تمامی سطوح آلاینده، تجمع این آلاینده در گیاه شدت گرفت. عباس و ابوالحافظ (۱) در آزمایشی که در محیط آلوده به فلز آرسنیک انجام داده بودند، گزارش کردند که میزان غلظت این فلز در ریشه و بافت‌های هوایی گیاه رابطه مستقیم با مصرف کلاتور در خاک داشت. همچنین اعمال تیمار کلاتور در این خاک‌ها سبب افزایش معنی‌دار شاخص انتقال شد.

جاگتیا و شارما (۲۶) در پژوهشی که به منظور بررسی نقش عوامل کلات کننده در پاکسازی محیط آلوده به اورانیوم انجام داده بودند، مشاهده کردند که با افزایش مصرف کلاتور در محیط، بر محتوای این عنصر در بافت‌های هوایی و ریشه خردل هندی افزوده شد. ژائو و همکاران (۵۶) در آزمایشات خود دریافتند که استفاده از کلاتور EDTA سبب افزایش معنی‌دار میزان جذب عناصر

تحت تنفس، امکان بهبود رشد گیاه و افزایش میزان جذب و زدایش فلزات سنگین طی فرآیند گیاه‌پالایی وجود دارد. بنابراین، ارتقای روابط متقابل میان گیاه و ریزسازواره‌های ریزوسفری یکی از مهمترین عوامل جهت دستیابی به کارآیی مطلوب گیاه‌پالایی خاک‌های آلوده به فلزات سنگین است.

به معضل تجمع فلزات سنگین در خاک است که سازگار با محیط زیست بوده و در مقایسه با روش‌های فیزیکی و شیمیایی از فواید بیشماری نظری افزایش تنوع زیستی و کاهش فرسایش خاک برخوردار است. نتایج پژوهش‌های مختلف حاکی از آن هستند که با بهره‌برداری از ارتباط‌های متقابل میان برخی از ریزسازواره‌های ریزوسفری و گیاهان

#### منابع مورد استفاده:

۱. دبیری م. (۱۳۷۵). آلودگی محیط زیست (هوای آب، خاک، صوت)، انتشارات اتحاد. صفحه ۳۳۱-۳۸۰.
۲. فتاحی الف، آستارایی ع. ر و حق نیا غ. ح. (۱۳۸۹). بررسی اثر اسید سولفوریک و EDTA بر گیاه‌پالایی سه گیاه ذرت، آفتابگردان و پنبه. علوم و فنون کشاورزی. ۵۷: ۶۸-۵۷.
3. Abbas M. H. and Abdelhafez A. A. (2013). Role of EDTA in arsenic mobilization and its uptake by maize grown on an As-polluted soil. Journal of Mycorrhiza Chemosphere. 90: 588-594.
4. Akinci I. E, Akinci S and Yilmaz K. (2010). Response of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) to lead toxicity: Growth, element uptake, chlorophyll and water content. Journal of Mycorrhiza Afr J Agric Res. 5(6): 416-423.
5. Andrade S. A. D and Silveira A. P. D. (2008). Mycorrhiza influence on maize development under Cd stress and P supply. Brazilian Journal of Plant Physiology. 20(1): 39-50.
6. Audet, P and Charest, C. (2007). Dynamics of arbuscular mycorrhizal symbiosis in heavy metal phytoremediation: meta-analytical and conceptual perspectives. Journal of Environmental Pollution. 147(3): 609-614.
7. Baum, C, Hrynkiewicz K, Leinweber P and Meißner R. (2006). Heavy-metal mobilization and uptake by mycorrhizal and nonmycorrhizal willows (*Salix*×*dasyclados*). Journal of Plant Nutrition and Soil Science. 169(4): 516-522.
8. Becerra-Castro C, Monterroso C, Prieto-Fernández A, Rodríguez-Lamas L, Loureiro-Viñas M, Acea M. J and Kidd P. S. (2012). Pseudometallophytes colonising Pb/Zn mine tailings: a description of the plant–microorganism–rhizosphere soil system and isolation of metal-tolerant bacteria. Journal of Hazardous Materials. 217: 350-359.

9. **Bi Y. L, Li X. L and Christie P.** (2003). Influence of early stages of arbuscular mycorrhiza on uptake of zinc and phosphorus by red clover from a low-phosphorus soil amended with zinc and phosphorus. *Journal of Chemosphere*. 50(6): 831-837.
10. **Chan W. F, Li H, Wu F. Y, Wu S. C and Wong M. H.** (2012). Arsenic uptake in upland rice inoculated with a combination or single arbuscular mycorrhizal fungi. *Journal of Hazardous Materials*.
11. **Chehregani A. B. D. O. L. K. A. R. I. M and Malayeri B.** (2007). Removal of heavy metals by native accumulator plants. *International Journal of Agriculture and Biology*. 9(3): 462-465.
12. **Chen B. D, Li X. L, Tao H. Q, Christie P and Wong M. H.** (2003). The role of arbuscular mycorrhiza in zinc uptake by red clover growing in a calcareous soil spiked with various quantities of zinc. *Journal of Chemosphere*. 50(6): 839-846.
13. **Chen B, Shen H, Li X, Feng G and Christie P.** (2004). Effects of EDTA application and arbuscular mycorrhizal colonization on growth and zinc uptake by maize (*Zea mays* L.) in soil experimentally contaminated with zinc. *Journal of Plant and Soil*. 261(1-2): 219-229.
14. **De Maria S, Rivelli A. R, Kuffner M, Sessitsch A, Wenzel W. W, Gorfer M and Puschenreiter M.** (2011). Interactions between accumulation of trace elements and macronutrients in *Salix caprea* after inoculation with rhizosphere microorganisms. *Journal of Chemosphere*. 84(9): 1256-1261.
15. **de Souza Costa E. T, Guilherme L. R. G, de Melo É. E. C, Ribeiro B. T, Euzelina dos Santos B. I, da Costa Severiano E and Hale B. A.** (2012). Assessing the Tolerance of Castor Bean to Cd and Pb for Phytoremediation Purposes. *Journal of Biological Trace Element Research*. 145(1): 93-100.
16. **De Souza L. A, de Andrade S. A. L, de Souza S. C. Rand Schiavinato M. A.** (2012). Arbuscular mycorrhiza confers Pb tolerance in *Calopogonium mucunoides*. *Journal of Acta Physiologiae Plantarum*. 34(2): 523-531.
17. **Del Río-Celestino M, Font R, Moreno-Rojas R and De Haro-Bailón A.** (2006). Uptake of lead and zinc by wild plants growing on contaminated soils. *Journal of Industrial Crops and Products*. 24(3): 230-237.
18. **Dushenkov V, Kumar P. N, Motto H and Raskin I.** (1995). Rhizofiltration: the use of plants to remove heavy metals from aqueous streams. *Journal of Environmental Science and Technology*. 29(5): 1239-1245.
19. **Epelde L, Hernández-Allica J, Becerril J. M, Blanco F and Garbisu C.** (2008). Effects of chelates on plants and soil microbial community: comparison of EDTA and EDDS for lead phytoextraction. *Journal of Science of the Total Environment*. 401(1): 21-28.
20. **Garg N and Singla P.** (2012). The role of *Glomus mosseae* on key physiological and biochemical parameters of pea plants grown in arsenic contaminated soil. *Journal of Scientia Horticulturae*. 143: 92-101.

21. **González-Guerrero M, Azcón-Aguilar C, Mooney M, Valderas A, MacDiarmid C. W, Eide D, Jand Ferrol N.** (2005). Characterization of a *Glomus intraradices* gene encoding a putative Zn transporter of the cation diffusion facilitator family. *Journal of Fungal Genetics and Biology.* 42(2): 130-140.
22. **Hadi F, Bano A and Fuller M. P.** (2010). The improved phytoextraction of lead (Pb) and the growth of maize (*Zea mays* L.): the role of plant growth regulators (GA<sub>3</sub> and IAA) and EDTA alone and in combinations. *Journal of Chemosphere.* 80(4): 457-462.
23. **Hernández-Ortega H. A, Alarcón A, Ferrera-Cerrato R, Zavaleta-Mancera H. A, López-Delgado H. A and Mendoza-López M. R.** (2012). Arbuscular mycorrhizal fungi on growth, nutrient status, and total antioxidant activity of *Melilotus albus* during phytoremediation of a diesel-contaminated substrate. *Journal of Environmental Management.* 95: S319-S324.
24. **Hseu Z. Y, Jien S. H, Wang S. H and Deng H. W.** (2013). Using EDDS and NTA for enhanced phyto extraction of Cd by water spinach. *Journal of Environmental Management.* 117: 58-64.
25. **Ikuoria E. U and Okieimen F. E.** (2000). Scavenging cadmium copper, lead, nickel and zinc ions from aqueous solution by modified cellulosic sorbent. *International Journal of Environmental Studies.* 57(4): 401-409.
26. **Jagetiya B and Sharma A.** (2013). Optimization of chelators to enhance uranium uptake from tailings for phytoremediation. *Journal of Chemosphere.* 91: 692-696.
27. **Joner E. J, Briones R and Leyval C.** (2000). Metal-binding capacity of arbuscular mycorrhizal mycelium. *Journal of Plant and Soil.* 226(2): 227-234.
28. **Kalinowski B. E, Liermann L. J, Brantley S. L, Barnes A and Pantano C. G.** (2000). X-ray photoelectron evidence for bacteria-enhanced dissolution of hornblende. *Journal of Geochimica et Cosmochimica Acta.* 64(8): 1331-1343.
29. **Kayser A, Wenger K, Keller A, Attinger W, Felix H. R, Gupta S. K and Schulz R.** (2000). Enhancement of phytoextraction of Zn, Cd, and Cu from calcareous soil: the use of NTA and sulfur amendments. *Journal of Environmental Science and Technology.* 34(9): 1778-1783.
30. **Lebeau T, Braud A and Jézéquel K.** (2008). Performance of bioaugmentation-assisted phytoextraction applied to metal contaminated soils: a review. *Environmental Pollution.* 153(3): 497-522.
31. **Leung H. M, Leung A. O. W, Ye Z. H, Cheung K. Cand Yung K. K. L.** (2013). Mixed arbuscular mycorrhizal (AM) fungal application to improve growth and arsenic accumulation of *Pteris vittata* (As hyperaccumulator) grown in As-contaminated soil. *Journal of Chemosphere.* 92(10):1367-74.
32. **Luo C, Shen Z and Li X.** (2005). Enhanced phytoextraction of Cu Pb Zn and Cd with EDTA and EDDS. *Journal of Chemosphere.* 59(1): 1-11.

33. **Luo C, Shen Z., Li X. and Baker A. J. (2006).** Enhanced phytoextraction of Pb and other metals from artificially contaminated soils through the combined application of EDTA and EDDS. *Journal of Chemosphere*. 63(10): 1773-1784.
34. **Ma Y, Prasad M. N. V, Rajkumar M and Freitas H. (2011).** Plant growth promoting rhizobacteria and endophytes accelerate phytoremediation of metalliferous soils. *Journal of Biotechnology Advances*. 29(2): 248-258.
35. **Malcová R, Vosátka M and Gryndler M. (2003).** Effects of inoculation with *Glomus* intraradices on lead uptake by *Zea mays* L. and *Agrostis capillaris* L. *Journal of Applied Soil Ecology*. 23(1): 55-67.
36. **Marques A. P, Oliveira R. S, Samardjieva K. A, Pissarra J., Rangel A. O. and Castro P. M. (2007).** *Solanum nigrum* grown in contaminated soil: Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on zinc accumulation and histolocalisation. *Journal of Environmental Pollution*. 145 (3): 691-699.
37. **Márquez-García B, Márquez C, Sanjosé I, Nieva F. J. J, Rodríguez-Rubio P and Muñoz-Rodríguez A. F. (2013).** The effects of heavy metals on germination and seedling characteristics in two halophyte species in Mediterranean marshes. *Journal of Marine Pollution Bulletin*. 70(1-2):119-24.
38. **Mehmood F, Rashid A., Mahmood T and Dawson L. (2013).** Effect of DTPA on Cd solubility in soil—Accumulation and subsequent toxicity to lettuce. *Journal of Chemosphere*. 90: 1805-1810.
39. **Neugschwandtner R. W, Tlustoš P, Komárek M and 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. *Journal of Geoderma*. 144(3): 446-454.
40. **Nowack B, Schulin R and Robinson B. H. (2006).** Critical assessment of chelant-enhanced metal phytoextraction. *Journal of Environmental science and technology*. 40(17): 5225-5232.
41. **Nwoko C. O. (2010).** Trends in phytoremediation of toxic elemental and organic pollutants. *African Journal of Biotechnology*. 9(37): 6010-6016.
42. **Orłowska E, Godzik B and Turnau K. (2012).** Effect of different arbuscular mycorrhizal fungal isolates on growth and arsenic accumulation in *Plantago lanceolata* L. *Journal of Environmental Pollution*. 168: 121-130.
43. **Punamiya P, Datta R, Sarkar D, Barber S, Patel M and Das P. (2010).** Symbiotic role of *Glomus mosseae* in phytoextraction of lead in vetiver grass [*Chrysopogon zizanioides* (L.)]. *Journal of Hazardous Materials*. 177(1): 465-474.
44. **Ribeiro de Souza S. C, Adrián López de Andrade S, Anjos de Souza L and Schiavinato M. A. (2012).** Lead tolerance and phytoremediation potential of Brazilian leguminous tree species at the seedling stage. *Journal of Environmental Management*. 110: 299-307.

45. **Seth C. S, Misra V, Singh R. R and Zolla L.** (2011). EDTA-enhanced lead phytoremediation in sunflower (*Helianthus annuus* L.) hydroponic culture. *Journal of Plant and soil*. 347(1-2): 231-242.
46. **Sheoran V, Sheoran A. S and Poonia P.** (2011). Role of hyperaccumulators in phytoextraction of metals from contaminated mining sites: A review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. 41(2): 168-214.
47. **Smith S. E and Read D. J.** (2010). Mycorrhizal symbiosis. Access Online via Elsevier. P800.
48. **Soleimani M, Hajabbasi M. A, Afyuni M, Charkhabi A. H and Shariatmadari H.** (2009). Bioaccumulation of nickel and lead by Bermuda grass (*Cynodon dactylon*) and tall fescue (*Festuca arundinacea*) from two contaminated soils. *Caspian Journal of Environmental Sciences*. 7(2): 59-70.
49. **Solís-Domínguez F. A, Valentín-Vargas A, Chorover J and Maier R. M.** (2011). Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on plant biomass and the rhizosphere microbial community structure of mesquite grown in acidic lead/zinc mine tailings. *Journal of Science of the Total Environment*. 409(6): 1009-1016.
50. **Sooksawat N, Meetam M, Kruatrachue M, Pokethitiyook P and Nathalang K.** (2013). Phytoremediation potential of charophytes: Bioaccumulation and toxicity studies of cadmium, lead and zinc. *Journal of Environmental Sciences*. 25(3): 596-604.
51. **Sousa N. R, Ramos M. A, Marques A. P and Castro P. M.** (2012). The effect of ectomycorrhizal fungi forming symbiosis with *Pinus pinaster* seedlings exposed to cadmium. *Journal of Science of the Total Environment*. 414L: 63-67.
52. **Sudová R and Vosátka M.** (2007). Differences in the effects of three arbuscular mycorrhizal fungal strains on P and Pb accumulation by maize plants. *Journal of Plant and Soil*. 296(1-2): 77-83.
53. **Sudová R, Pavlíková D, Macek T and Vosátka M.** (2007). The effect of EDDS chelate and inoculation with the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* on the efficacy of lead phytoextraction by two tobacco clones. *Journal of Applied Soil Ecology*. 35(1): 163-173.
54. **Wang X, Wang Y, Mahmood Q, Islam E, Jin X, Li T and Liu D.** (2009). The effect of EDDS addition on the phytoextraction efficiency from Pb contaminated soil by *Sedum alfredii* Hance. *Journal of Hazardous Materials*. 168(1): 530-535.
55. **Wendy Ann Peer, Ivan R. Baxter, Elizabeth L. Richards, John L. Freeman, Angus S. Murphy.** (2005). Phytoremediation and hyperaccumulator plants. *Journal of Phytoremediation and hyperaccumulator plants*, Vol. 14 300-339.
56. **Zhao Z, Xi M, Jiang G, Liu X, Bai Z and Huang Y.** (2010). Effects of IDSA, EDDS and EDTA on heavy metals accumulation in hydroponically grown maize (*Zea mays* L.). *Journal of Hazardous Materials*. 181(1): 455-459

