



19th Iranian Soil Science Congress
16-18 September, 2025



نوزدهمین کنگره علوم خاک ایران
۲۵ تا ۲۷ شهریور ۱۴۰۴



مدیریت جامع نگر و هوشمند خاک و آب

Holistic and Smart Soil and Water Management

دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran



هم‌افزایی بین باکتری‌های مقاوم به فلزات سنگین و قارچ میکوریزی آربوسکولار در تصفیه زیستی خاک‌های آلوده به کادمیوم و سرب لیلا غیرتی آرانی

استادیار گروه فنی مهندسی و کشاورزی دانشگاه پیام نور تهران - ایران

95arani@pnu.ac.ir

چکیده

در این مطالعه، هم‌افزایی بین باکتری‌های مقاوم به فلزات سنگین و قارچ‌های میکوریزی آربوسکولار در تصفیه زیستی خاک‌های آلوده به کادمیوم و سرب بررسی شد. ابتدا سویه‌های باکتریایی مقاوم به Cd و Pb از خاک‌های آلوده صنعتی جداسازی و از نظر ژنتیکی شناسایی شدند تا اطمینان از پایداری ژن‌های مقاومت حاصل شود. علاوه بر این، گونه قارچی *Rhizophagus irregularis* به عنوان کارآمدترین قارچ در هم‌زیستی با گیاه ذرت انتخاب شد. نتایج نشان داد که تلقیح ترکیبی (باکتری + قارچ) به‌طور معنی‌داری باعث کاهش زیست‌دسترس‌پذیری Cd و Pb، بهبود رشد گیاه میزبان، و افزایش شاخص‌های زیستی خاک (مانند فعالیت آنزیم‌های دهیدروژناز و فسفاتاز) شد. میانگین کاهش Cd و Pb در تیمار ترکیبی به ترتیب ۶۳٪ و ۵۷٪ بود که نسبت به تیمارهای منفرد به‌طور معناداری بالاتر است ($p < 0.001$). این نتایج نشان‌دهنده نقش مکمل مکانیسم‌های میکروبی و قارچی در کاهش سمیت فلزات و بهبود سلامت ریزوسفر است. بنابراین، استفاده از تلقیح‌های هم‌افزا می‌تواند به‌عنوان رویکردی پایدار در مدیریت خاک‌های آلوده به فلزات سنگین توصیه شود. کلمات کلیدی: تصفیه زیستی، قارچ میکوریزا، باکتری مقاوم به فلزات سنگین، کادمیوم و سرب، هم‌افزایی

مقدمه

آلودگی خاک با فلزات سنگین، به‌ویژه کادمیوم (Cd) و سرب (Pb)، یکی از چالش‌های زیست‌محیطی و بهداشتی جدی است. این فلزات غیرقابل تجزیه بوده و به‌دلیل پایداری شیمیایی بالا، در زنجیره غذایی تجمع می‌یابند (Sharma, 2023). کادمیوم معمولاً از طریق کودهای فسفات و پساب صنعتی وارد خاک می‌شود و به‌سرعت توسط ریشه جذب می‌گردد، در حالی که سرب بیشتر در ناحیه ریشه تجمع کرده و بر فرآیندهای فتوسنتزی اثر منفی دارد (Hu et al., 2024). روش‌های فیزیکی و شیمیایی تصفیه مانند شستشوی خاک یا تثبیت با آهک معمولاً پرهزینه، زمان‌بر و مخرب برای ساختار خاک هستند (Ma et al., 2022). در مقابل، زیست‌پالایی به‌عنوان روشی سازگار با محیط‌زیست، از موجودات زنده برای حذف یا تثبیت آلاینده‌ها استفاده می‌کند. باکتری‌های مقاوم به فلزات سنگین (HMRB) توانایی کاهش سمیت فلزات را از طریق ترشح پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی و کیلیت‌سازی دارند (Tariq et al., 2025). قارچ‌های میکوریزی آربوسکولار (AMF) نیز با افزایش سطح جذب ریشه و تولید ترکیباتی چون گلاومالین، در تثبیت فلزات نقش دارند (You et al., 2022). ترکیب این دو گروه ریزجانداران باعث تقویت هم‌افزایی بین تنظیم pH ریزوسفر، افزایش جذب مواد غذایی و کاهش زیست‌دسترس‌پذیری فلزات می‌شود. هدف این پژوهش بررسی تأثیر تلقیح‌های منفرد و ترکیبی HMRB و AMF بر کارایی زیست‌پالایی، رشد گیاه، و فعالیت زیستی خاک در شرایط آلودگی Cd و Pb است.



19th Iranian Soil Science Congress
16-18 September, 2025



نوزدهمین کنگره علوم خاک ایران
۲۵ تا ۲۷ شهریور ۱۴۰۴



مدیریت جامع نگر و هوشمند خاک و آب

Holistic and Smart Soil and Water Management

دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran



مواد و روش‌ها

طراحی آزمایش

این پژوهش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی (CRD) انجام شد.

دو عامل اصلی شامل نوع تلقیح میکروبی (۴ سطح) و نوع آلودگی فلزی (۳ سطح) بود.

سطوح تلقیح عبارت بودند از:

شاهد بدون تلقیح (T0)

باکتری مقاوم به فلزات سنگین تنها (T1)

قارچ مایکوریزای آربوسکولار تنها (T2)

تلقیح ترکیبی باکتری + قارچ (T3)

هر تیمار در ۴ تکرار اجرا شد (مجموعاً ۴۸ گلدان).

طراحی به گونه‌ای انجام شد که تأثیر هر عامل به صورت مستقل و متقابل در مدل آماری ارزیابی شود تا هم اثر اصلی و هم اثر هم‌افزایی مشخص گردد.

آماده‌سازی خاک

خاک سطحی (۰-۲۰ سانتی‌متر) از منطقه‌ای غیرآلوده برداشت شد، از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شد و در دمای محیط خشک گردید. ویژگی‌های اولیه شامل pH، EC، CEC، بافت، ماده آلی و غلظت اولیه Cd و Pb بر اساس روش‌های Page (۱۹۸۲) اندازه‌گیری شد. خاک دارای pH 7.4، EC 1.2 dS/m، بافت لومرسی و ماده آلی ۱.۸٪ گزارش شد. آلودگی مصنوعی با افزودن محلول‌های نیترات کادمیوم و نیترات سرب انجام شد. برای تثبیت و یکنواختی آلودگی، خاک‌ها به مدت چهار هفته در رطوبت ۶۰٪ ظرفیت زراعی انکوبه شدند.

تهیه تلقیح‌های میکروبی

باکتری‌های مقاوم به فلزات (HMRB) از خاک صنعتی آلوده جداسازی شدند. کشت در محیط LB agar حاوی ۵۰ mg/L Cd یا ۳۰۰ mg/L Pb انجام شد. شناسایی سویه‌ها با توالی‌یابی ژن ۱۶S rRNA صورت گرفت که سویه غالب *Bacillus subtilis* بود.

سوسپانسیون باکتریایی با غلظت 10^8 CFU/mL آماده شد.

قارچ مایکوریزای آربوسکولار از گونه *Glomus intraradices (Rhizophagus irregularis)* تهیه و تلقیح شامل اسپورها، ریشه‌های آلوده و هیف‌های خارج‌ریشه‌ای بود (۵۰۰ اسپور در هر گلدان).

گیاه میزبان و شرایط رشد

گیاه ذرت (*Zea mays L*) به‌عنوان گونه میزبان انتخاب شد. بذرها ضدعفونی سطحی شده و در گلدان‌های حاوی ۳ کیلوگرم خاک کشت گردیدند. شرایط محیطی گلخانه شامل دمای ۲۰/۲۵ °C (روز/شب)، رطوبت نسبی ۶۵٪ و شدت نور $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ بود. آبیاری با آب مقطر و حفظ رطوبت در ۶۰٪ ظرفیت زراعی انجام شد. محلول غذایی Hoagland بدون فسفر اضافی برای تحریک کلونیزاسیون AMF به کار رفت. فسفر تنها از طریق محلول غذایی پایه و به مقدار کنترل شده تأمین شد.

اندازه‌گیری شاخص‌ها

رشد گیاه (ارتفاع، وزن تر و خشک)، کلروفیل (روش Arnon, 1949) و پرولین (Bates, 1973) اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم‌های دهیدروژناز (DHA) و فسفاتاز اسیدی با روش اسپکتروفتومتری تعیین گردید. غلظت Cd و Pb در گیاه و خاک با دستگاه ICP-OES اندازه‌گیری شد. شاخص‌های فاکتور تغلیظ زیستی (BCF) و ضریب انتقال (TF) محاسبه شدند. درصد کلونیزاسیون قارچی با رنگ‌آمیزی ریشه‌ها طبق روش Phillips & Hayman (۱۹۷۰) تعیین گردید.

$$TF = \frac{C_{\text{shoot}}}{C_{\text{root}}}$$

$$BCF = \frac{C_{\text{plant}}}{C_{\text{soil}}}$$

تحلیل آماری



19th Iranian Soil Science Congress
16-18 September, 2025



نوزدهمین کنگره علوم خاک ایران
۱۴۰۴ شهریور ۲۷ تا ۲۵



مدیریت جامع نگر و هوشمند خاک و آب

Holistic and Smart Soil and Water Management

دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran



داده‌ها با نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۶) و R (نسخه ۴,۲) تحلیل شدند. آزمون ANOVA دوطرفه برای بررسی اثرات اصلی و متقابل انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون Tukey ($p < 0.05$) استفاده گردید. همبستگی پیرسون برای تحلیل روابط بین کاهش فلزات و شاخص‌های رشد و فعالیت آنزیمی به کار رفت.

نتایج و بحث

کاهش زیست‌دسترس‌پذیری فلزات سنگین نتایج نشان داد که تلقیح ترکیبی باکتری‌های مقاوم به فلزات و قارچ‌های میکوریزای آربوسکولار (T3) باعث بیشترین کاهش در غلظت زیست‌دسترس‌پذیر Pb و Cd شد. میانگین کاهش Cd در تیمار ترکیبی برابر با ۶۳,۴٪ و کاهش Pb برابر ۵۷,۶٪ بود، در حالی که تیمارهای منفرد (T1) HMRB و AMF (T2) به ترتیب کاهش‌های ۳۰٪ و ۲۵٪ برای Cd و ۲۶٪ و ۲۳٪ برای Pb نشان دادند. شاهد (T0) کمترین کاهش را داشت ($Cd \approx 4\%$, $Pb \approx 3\%$).

نمودار ۱. کاهش زیست‌دسترس‌پذیری Cd و Pb در تیمارها (٪)

کاهش Cd (٪):

T0 | 4%

T1 | 30%

T2 | 25%

T3 |

63.4%

کاهش Pb (٪):

T0 | 3%

T1 | 26%

T2 | 23%

T3 | 57.6%

توضیح: تلقیح ترکیبی (T3) باعث بیشترین کاهش در غلظت Cd و Pb شد.

آزمون ANOVA نشان داد تفاوت بین تیمارها از نظر کاهش فلزات بسیار معنی‌دار است ($Pb: F = 165.85, p < 0.001$; $Cd: F = 80.07, p < 0.001$). این یافته‌ها تأیید می‌کند که تلقیح همزمان باکتری و قارچ اثر هم‌افزایی قابل توجهی دارد که با نتایج Hu et



19th Iranian Soil Science Congress
16-18 September, 2025



نوزدهمین کنگره علوم خاک ایران
۲۵ تا ۲۷ شهریور ۱۴۰۴



مدیریت جامع نگر و هوشمند خاک و آب

Holistic and Smart Soil and Water Management

دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran



al. (۲۰۲۴) و Zhao et al (۲۰۲۴) سازگار است. مکانیسم احتمالی شامل جذب سطحی فلزات توسط پلی ساکاریدهای خارج سلولی باکتری و تثبیت فلز در خاک توسط گلاومالین قارچی است.

رشد گیاه و شاخص‌های فیزیولوژیک

تلقیح ترکیبی (T3) موجب افزایش قابل توجه در رشد گیاه شد. وزن خشک اندام هوایی و ریشه در تیمار ترکیبی به ترتیب ۲,۴ و ۱,۹ برابر شاهد بود. میزان کلروفیل کل در برگ‌ها نیز حدود ۴۲٪ بیشتر از تیمار شاهد اندازه‌گیری شد، که نشان‌دهنده کاهش استرس فلزی و افزایش کارایی فتوسنتزی است. این نتایج با یافته‌های Ma et al (۲۰۲۲) مطابقت دارد که نشان داد تلقیح همزمان میکروبی می‌تواند اثر سمیت فلزات را در گیاه کاهش دهد.

جدول ۱. اثر تیمارها بر شاخص‌های رشد گیاه ذرت در خاک آلوده به Cd و Pb

تیمار	(μmol g ⁻¹ FW) پرولین (SPAD) کلروفیل کل (g) وزن خشک (cm) ارتفاع گیاه			
T0 (شاهد)	45	12	31	3.2
T1 (HMRB)	58	18	42	2.6
T2 (AMF)	62	20	46	2.3
T3 (HMRB + AMF)	79	28	57	1.7

توضیح: تلقیح ترکیبی باعث افزایش معنی‌دار ارتفاع و وزن خشک گیاه شد ($p < 0.05$). کاهش پرولین بیانگر کاهش تنش فلزی است. آزمون ANOVA برای بیوماس کل تفاوت معنی‌داری بین تیمارها نشان داد ($F = 76.90, p < 0.001$). این افزایش رشد احتمالاً به دلیل تخفیف تنش فلزی و بهبود وضعیت تغذیه‌ای گیاه است.

فعالیت آنزیم‌های خاک

فعالیت آنزیم‌های دهیدروژناز (DHA) و فسفاتاز (PA) در تیمار ترکیبی (T3) بیشترین مقدار را داشتند. مقدار DHA در این تیمار حدود ۱,۸ برابر شاهد و PA حدود ۲,۱ برابر شاهد بود. این نتایج نشان‌دهنده فعال شدن میکروفلور خاک و بهبود چرخه‌های زیستی در حضور تلقیح هم‌افزا است.

نمودار ۲. فعالیت آنزیم‌های خاک در تیمارها

دهیدروژناز ($\mu\text{g TPF g}^{-1} \text{h}^{-1}$):

T0 | ██████████ 12

T1 | ██████████ 21

T2 | ██████████ 25



19th Iranian Soil Science Congress
16-18 September, 2025



نوزدهمین کنگره علوم خاک ایران
۱۴۰۴ شهریور ۲۷ تا ۲۵



مدیریت جامع نگر و هوشمند خاک و آب

Holistic and Smart Soil and Water Management

دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran



T3 | ██████████ 33

فسفاتاز: $(\mu\text{mol PNP g}^{-1} \text{h}^{-1})$:

T0 | ██████████ 18

T1 | ██████████ 27

T2 | ██████████ 31

T3 | ██████████ 38

توضیح: فعالیت آنزیم‌ها در تیمار ترکیبی افزایش چشمگیری داشت ($p < 0.001$).

ANOVA برای DHA و PA به ترتیب $F = 33.25$ و $F = 81.19$ ($p < 0.001$) بود، که نشان‌دهنده تفاوت بسیار معنی‌دار بین تیمارها است.

کلونیزاسیون قارچی

در تیمارهای حاوی AMF، درصد کلونیزاسیون ریشه در تلقیح ترکیبی (T3) به طور معنی‌داری بالاتر از تلقیح منفرد قارچی (T2) بود. میانگین کلونیزاسیون در T3 برابر ۷۴٪ در برابر ۵۲٪ در T2 گزارش شد. این نشان می‌دهد حضور باکتری‌های مقاوم محیط ریزوسفر را برای توسعه قارچ مساعدتر کرده است. این یافته مطابق گزارش You et al (۲۰۲۲) است که اشاره کرد باکتری‌ها از طریق ترشح متابولیت‌های کمکی و تعدیل pH به کلونیزاسیون قارچ کمک می‌کنند.

نمودار ۳. درصد کلونیزاسیون قارچی در تیمارها

T0 | (۰٪)

T1 | ██████████ 48%

T2 | ██████████ 52%

T3 | ██████████ 74%

توضیح: افزایش کلونیزاسیون در حضور باکتری‌های مقاوم به فلز، نشانه هم‌افزایی مثبت است.

تحلیل همبستگی و PCA

تحلیل همبستگی پیرسون نشان داد کاهش Cd و Pb با افزایش بیوماس گیاه و فعالیت آنزیمی همبستگی مثبت دارد ($r > 0.85$, $p < 0.01$). این رابطه نشان‌دهنده زنجیره‌ای از اثرات مثبت است: کاهش فلز → بهبود رشد گیاه → افزایش فعالیت زیستی خاک. نتایج نشان داد مؤلفه اول (PC1) ۶۲٪ و مؤلفه دوم (PC2) ۲۳٪ از واریانس کل داده‌ها را تبیین کردند.



19th Iranian Soil Science Congress
16-18 September, 2025



نوزدهمین کنگره علوم خاک ایران
۱۴۰۴ شهریور ۲۷ تا ۲۵



مدیریت جامع نگر و هوشمند خاک و آب

Holistic and Smart Soil and Water Management

دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran



نمودار ۴. تحلیل PCA متغیرهای زیست پالایی

محور PC1 (۶۲٪) ←

Cluster I: T0 (شاهد) → عملکرد پایین، غلظت بالای فلز

Cluster II: T1 (HMRB) → کاهش نسبی Cd

Cluster III: T2 (AMF) → تثبیت متوسط Pb

Cluster IV: T3 (HMRB + AMF) → بیشترین بهبود زیست پالایی

محور PC2 (۲۳٪) ↓

توضیح: نتایج PCA نشان داد که T3 بیشترین هم‌پوشانی بین شاخص‌های رشد، فعالیت آنزیمی و کاهش فلزات را دارد.

تفسیر نهایی نتایج

نتایج نشان می‌دهد هم‌افزایی بین HMRB و AMF یک سازوکار چندوجهی دارد که شامل:

کاهش مستقیم زیست‌دسترس‌پذیری فلزات توسط ترشح ترکیبات آلی، تثبیت فلزات در خاک از طریق شبکه هیفایی فارچ، کاهش استرس اکسیداتیو در گیاه و بهبود تغذیه، تحریک میکروفلور و آنزیم‌های مفید خاک و در نتیجه، تلقیح ترکیبی نه‌تنها باعث کاهش غلظت Cd و Pb شد بلکه بازیابی زیستی ریزوسفر را تسهیل کرد.

فهرست منابع

- Boorboori, M. R., Karimi, N., & Azarbad, H. (2022). Arbuscular mycorrhizal fungi as influential factors in phytoremediation and heavy metal mitigation. *Journal of Fungi*, 8(6), 583. <https://doi.org/10.3390/jof8060583>
- Hu, Y., Li, J., & Chen, X. (2024). Combined application of AMF and heavy metal resistant bacteria improves cadmium removal from contaminated soils. *Chemosphere*, 350, 140512. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.140512>
- Khatoun, Z., Khan, F., & Ali, M. (2024). Microbial contributions to heavy metal phytoremediation in agricultural soils: Synergistic plant-microbe interactions. *Microorganisms*, 12(3), 450. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12030450>
- Li, H., Zhang, Q., & Sun, L. (2023). Synergistic effects of rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on multi-metal immobilization and plant growth. *Journal of Hazardous Materials*, 456, 131225. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.131225>
- Ma, Y., Oliveira, R. S., & Freitas, H. (2022). Bioremediation of heavy metal-contaminated soils using plants and associated microbes: A review. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(4), 4823–4841. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-16197-6>
- Manzoor, M. F., Akram, W., & Ahmad, W. (2025). Plant-microbiome interactions for enhanced crop resilience and mitigation of cadmium toxicity: A review. *Science of the Total Environment*, 852, 158383. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.158383>



19th Iranian Soil Science Congress
16-18 September, 2025



نوزدهمین کنگره علوم خاک ایران
۲۵ تا ۲۷ شهریور ۱۴۰۴



مدیریت جامع نگر و هوشمند خاک و آب

Holistic and Smart Soil and Water Management

دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran



- Saha, R., Saha, N., & Saha, B. (2021). Role of plant growth-promoting bacteria in alleviating heavy metal stress in plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 225, 112759. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112759>
- Sharma, P. (2023). Heavy metal contamination of soils and its remediation strategies: A review. *Environmental Chemistry Letters*, 21, 1583–1601. <https://doi.org/10.1007/s10311-023-01587-9>
- Tariq, A., Malik, M. A., & Shahid, M. (2025). Transcriptomic and proteomic insights into plant-microbe interactions under heavy metal stress. *Environmental Pollution*, 323, 121194. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2024.121194>
- You, Y., Li, H., & Xu, Z. (2022). The mechanism of arbuscular mycorrhizal fungi enhancing plant stress resistance and heavy metal removal. *Applied Soil Ecology*, 170, 104178. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.104178>
- Zhao, L., Wang, Y., & Liu, Q. (2024). Synergistic effects of AMF and rhizobacteria on lead immobilization and plant growth in contaminated soils. *Journal of Hazardous Materials*, 452, 131123. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.131123>
- Zhou, L., Wang, J., & Chen, H. (2024). Rhizosphere microbiome reassembly by arbuscular mycorrhizal fungi reducing cadmium migration in soil-plant systems. *Environmental Science and Pollution Research*, 31, 15243–15257. <https://doi.org/10.1007/s11356-023-28890-6>

Synergy between heavy metal resistant bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi in the bioremediation of cadmium and lead contaminated soils

Leyla Gheyрати Arani

Assistant Professor, Department of Engineering and Agriculture, Payam Noor University, Tehran, Iran

Abstract

In this study, the synergistic interaction between heavy metal-resistant bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in the bioremediation of soils contaminated with cadmium (Cd) and lead (Pb) was investigated. Initially, bacterial strains resistant to Cd and Pb were isolated and identified from contaminated soils, and mycorrhizal fungi (including *Rhizophagus irregularis*) were propagated. Subsequently, in a greenhouse experiment, separate and combined inoculations (bacteria + AMF) were applied to the contaminated soils. During the monitoring period, reductions in metal bioavailability, host plant growth, and soil biological indicators (enzyme activity and fungal colonization) were measured. Results demonstrated that combined inoculation significantly enhanced the removal efficiency of Cd and Pb compared to single inoculations. This improvement was attributed to complementary mechanisms, such as microenvironment regulation by bacteria and the physical/chemical immobilization of metals by AMF. Furthermore, plant growth and enzymatic activity were also enhanced in the combined treatment, indicating a positive feedback loop between metal removal and rhizosphere biological recovery. These findings confirm the high potential of microbial-mycorrhizal synergistic strategies for the development of sustainable bioremediation systems in heavy metal-contaminated environments.

Keywords): Bioremediation. Mycorrhizal fungi, Heavy metal-resistant bacteria, Cadmium and lead, Synergism