

Effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) Inoculation on Arsenic Uptake by Sunflower, Corn and Pumpkin in Contaminated Soil

Abdolreza Akhgar^{1*}, Mojtaba Hatamizadeh², Payman Abbaszadeh Dahaji³, Mohsen Hamidpour⁴

(Received: March, 2023 Accepted: August, 2024)

Abstract

Remediation of heavy metals from soil through phytoremediation is considered one of the most cost-effective and environmentally friendly methods. In many cases, beneficial soil microorganisms are utilized to enhance the extraction of heavy metals. In this research, 15 bacteria resistant to arsenic were isolated from the rhizosphere of six native plants around the Sarcheshmeh copper mine in Rafsanjan. According to minimum inhibitory concentration tests of arsenic, it was found that all isolates were resistant to 150 mg L⁻¹ of arsenic and about 70 percent of them were able to grow at a concentration of 500 mg.L⁻¹ of arsenic. Among the arsenic resistant isolates, eight were capable of producing siderophore in the CAS-agar medium and while five were able to produce hydrogen cyanide. Additionally all isolates demonstrated the ability to produce IAA and solubilize insoluble phosphorus compounds in the liquid medium. To evaluate the effect of these isolates on arsenic uptake by plant, three arsenic-resistant isolates with growth-stimulating characteristics were selected for a greenhouse experiment as factorial based on a completely randomized design with four replications. The tested factors included three levels of plant (sunflower, corn and pumpkin) and bacteria in four levels (non-inoculation, inoculation with BH6, BH9 and BH10 isolates). The results of the greenhouse experiments revealed that the highest arsenic uptake (77.8 µg pot⁻¹) was observed in the interaction between the BH9 isolate and pumpkin, representing a 62.1 percent compared to the control. Furthermore, the highest transfer factor (TF) of arsenic was obtained from the interaction of BH9 isolate with pumpkin (0.825), significantly differing from other treatments. In general, pumpkin and corn plants due to their higher biomass production were more effective in extracting arsenic from the soil, compared to sunflower. The P9 isolate demonstrated the highest efficiency among all isolates tested.

Keywords: Auxin, Phytoextraction, PGPR, Siderophore

Akhgar A., Hatamizadeh M., Payman Abbaszadeh Dahaji P. and Hamidpour M. 2025. Effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) inoculation on Arsenic uptake by Sunflower, Corn and Pumpkin in contaminated. soil *Applied Soil Research*, 13(1): 79-92.

1. Associate Professor, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Vali-e-Asr University of Rafsanjan

2. Former MSc Student, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Vali-e-Asr University of Rafsanjan

3. Assistant Professor, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Vali-e-Asr University of Rafsanjan

4. Professor, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Vali-e-Asr University of Rafsanjan

* Corresponding Author Email: arakhgar@yahoo.com

تأثیر مایه‌زنی باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه (PGPR) بر جذب آرسنیک توسط آفتابگردان، ذرت و کدو در یک خاک آلوده

عبدالرضا اخگر^{۱*}، مجتبی حاتمی زاده^۲، پیمان عباس‌زاده دهجی^۳، محسن حمیدپور^۴

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۱۵)

(تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۶/۰۶)

چکیده

پالایش خاک‌های آلوده به فلزات سنگین به وسیله گیاهان یکی از روش‌های کم‌هزینه و دوست‌دار محیط‌زیست می‌باشد. در بسیاری از موارد برای افزایش کارایی استخراج گیاهی فلزات سنگین از میکروارگانیسم‌های مفید خاک‌زی استفاده می‌شود. در این پژوهش تعداد ۱۵ باکتری مقاوم به آرسنیک از ریزوسفر شش گیاه بومی اطراف معدن مس سرچشمه رفسنجان جداسازی شدند. بر اساس آزمون حداقل غلظت بازدارنده آرسنیک، همه‌ی جدایه‌ها در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر از خود مقاومت نشان دادند و حدود ۷۰ درصد از جدایه‌ها در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر آرسنیک توانایی رشد داشتند. در بین جدایه‌های مقاوم به آرسنیک تعداد هشت جدایه توانایی تولید سیدروفور در محیط CAS-آگار و پنج جدایه توانایی تولید هیدروژن سیانید را داشتند. همه‌ی جدایه‌ها توانایی تولید اکسین و حل‌کنندگی ترکیبات نامحلول فسفر در محیط مایع را داشتند. به منظور ارزیابی تأثیر جدایه‌ها بر جذب آرسنیک توسط گیاه، سه جدایه مقاوم به آرسنیک و دارای صفات محرک رشد انتخاب و در یک آزمایش گلخانه‌ای به‌صورت فاکتوریل و بر پایه طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار مورد استفاده قرار گرفتند. فاکتورهای مورد آزمایش شامل نوع گیاه در سه سطح (آفتابگردان، ذرت و کدو) و باکتری در چهار سطح (عدم تلقیح باکتری، تلقیح با جدایه‌های BH6، BH9 و BH10) بودند. نتایج کشت گلخانه‌ای نشان داد که بیش‌ترین جذب آرسنیک به مقدار ۷۷/۸ میکروگرم در گلدان از برهمکنش جدایه BH9 با گیاه کدو بدست آمد که در مقایسه با شاهد همان گیاه باعث افزایش معنی‌دار جذب آرسنیک در اندام‌هوایی به میزان ۶۲/۱ درصد شد. همچنین بالاترین فاکتور انتقال آرسنیک نیز از برهمکنش جدایه BH9 و گیاه کدو (۰/۸۲۵) حاصل شد که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت. به‌طور کلی گیاهان کدو و ذرت با تولید زیست‌توده بیش‌تر در مقایسه با آفتابگردان نقش مؤثرتری در استخراج آرسنیک از خاک داشتند و جدایه BH9 کارآمدترین جدایه در بین جدایه‌ها بود.

واژه‌های کلیدی: اکسین، باکتری‌های محرک رشد گیاه، سیدروفور، گیاه‌استخراجی

اخگر ع، حاتمی‌زاده م، عباس‌زاده دهجی پ، حمیدپور م. ۱۴۰۴. تأثیر مایه‌زنی باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه (PGPR) بر جذب آرسنیک توسط آفتابگردان، ذرت و کدو در یک خاک آلوده. تحقیقات کاربردی خاک. جلد ۱۳، شماره ۱. صفحه: ۷۹-۹۲.

۱- دانشیار گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی دانشگاه ولی عصر رفسنجان (مکاتبه کننده)

۲- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی دانشگاه ولی عصر رفسنجان

۳- استادیار گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی دانشگاه ولی عصر رفسنجان

۴- استاد گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی دانشگاه ولی عصر رفسنجان

* پست الکترونیک: arakhgar@yahoo.com

مقدمه

خاک یکی از اجزای مهم محیط زیست بوده و نقشی مهم و کلیدی در رشد و نمو گیاهان، تعیین سرنوشت آب در نظام چرخه‌ی آب در طبیعت و باز چرخ مواد در طبیعت ایفا می‌کند. بنابراین آلودگی خاک یکی از انواع مهم آلودگی‌های محیط زیست است (Erfanmanesh & Afyuni, 2012). آرسنیک یکی از سمی‌ترین و سرطان‌زاترین فلزات است که عموماً از طریق مصرف آب یا غذای آلوده به آرسنیک وارد زنجیره غذایی می‌شود و به زندگی موجودات زنده به ویژه انسان آسیب می‌رساند. از این رو کاهش محتوای آرسنیک در غذا می‌تواند برای زندگی سالم اهمیت زیادی داشته باشد (Alka, et al., 2021). آرسنیک از دو راه مصرف آب و مصرف مواد غذایی وارد بدن انسان می‌شود و باعث سرطان پوست، ریه، کبد، کلیه و مثانه می‌گردد. علاوه بر این، آرسنیک بر سیستم‌های قلبی عروقی، خونی، عصبی، کلیوی و تولید مثل تأثیر منفی می‌گذارد (Mawia, et al. 2020). انسان از طریق فعالیت‌های معدن کاری در مناطق آلوده و مصرف آب آشامیدنی و مواد غذایی آلوده به آرسنیک در معرض این سم خطرناک قرار می‌گیرد. اگر چه آلودگی آرسنیک بیش‌تر در کشورهای جنوب شرقی آسیا (هندوستان، پاکستان و بنگلادش) دیده می‌شود؛ ولی در مناطقی از ایران (استان‌های کردستان و خراسان) نیز آلودگی خاک و آب به این آلاینده گزارش شده است (Haydarpoor et al., 2017). همچنین آلودگی خاک و آب به آرسنیک در برخی از مناطق استان کرمان مشاهده شده است. غلظت این عنصر در خاک برخی از این مناطق، به بیش از ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و در آب برخی از چشمه‌ها این مقدار به بیش از ۱۰۰۰ میکروگرم بر لیتر می‌رسد (et al., 2005). (Mosaferi). این در حالی است که غلظت مجاز آرسنیک در خاک و در آب، طبق استاندارد جهانی به ترتیب ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ۱۰ میکروگرم بر لیتر می‌باشد (Khaden Moghadam & Golchin, 2019).

روش‌های مختلفی برای پالایش خاک‌ها و منابع آلوده به فلزات سنگین وجود دارد که در این میان گیاه‌پالایی، یک روش کم‌هزینه، مؤثر و دوست‌دار محیط زیست است و از

همه مهم‌تر آن که فناوری گیاه‌پالایی قادر به حفظ حاصلخیزی خاک حتی پس از پالایش فلزات سنگین می‌باشد (Kirkham, 2006). این تکنولوژی باعث افزایش کیفیت خاک، اصلاح مجدد آن و استقرار دوباره فعالیت‌های زیستی می‌شود (Rahmanian et al., 2011). در این روش، گیاهان از طریق جذب و استخراج فلزات سنگین از خاک، تغییر شکل، کاهش تحرک و زیست‌فراهمی باعث حذف این فلزات از اکوسیستم خاک می‌شوند. در سیستم‌های گیاه‌پالایی، از گیاهان دارای سرعت رشد و زیست‌توده بالا و مقاوم به غلظت‌های بالای فلزات سنگین استفاده می‌گردد (Yan-de, 2007).

باکتری‌های خاک نقش مهمی در فراهمی زیستی و گونه-بندی آرسنیک در سیستم خاک-گیاه ایفا می‌کنند (Ahmad et al., 2016). به دلیل حلالیت کم اکثر فلزات سنگین در خاک، بهبود کارایی گیاه‌پالایی، علاوه بر ویژگی-های گیاه مورد استفاده، به فاکتورهای ریزوسفری از جمله جوامع میکروبی آن نیز بستگی دارد (Baroni et al., 2000). ریزجانداران ریزوسفری محرک رشد گیاه با بهبود رشد و نمو گیاه و تحت تأثیر قرار دادن زیست‌فراهمی فلزات سنگین، نقش بسزایی در افزایش کارایی گیاه‌پالایی خاک-های آلوده به این فلزات ایفا می‌کنند (Burd, 2000; Hamidpour et al. 2021). در بین ریزموجودات ریزوسفری، باکتری‌ها فراوان‌ترین آن‌ها می‌باشند. حدود ۵-۲ درصد باکتری‌های ریزوسفری باکتری‌هایی هستند که اثرات مفید بر رشد گیاه دارند و به باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه (PGPR)^۱ معروف هستند (Kloepper & Schroth, 2008). این باکتری‌ها با استفاده از یک یا چند مکانیسم محرک رشد از جمله توانایی تولید IAA^۲، سیدروفور، آنزیم ACC-دآمیناز^۳ و انحلال فسفات‌های نامحلول معدنی باعث افزایش رشد گیاه می‌گردند (Penros & Glick, 2003). نتایج پژوهش کریمی و همکاران (Karimi et al., 2018) نشان داد که تلقیح گل‌کندم (*Centaurea cyanus* L.) با جدایه محرک رشد گیاه (PGPR) از جنس *سودوموناس* وزن خشک اندام هوایی و تجمع سرب در گیاه را نسبت به گیاهان غیر تلقیح شده به طور معنی‌داری افزایش داد. رسولی صدقیانی و همکاران (Rasouli-Sadaghiani et al.,)

^۳Aminocyclopropan-Carboxylic Acid-Deaminase^۱Plant growth promoting rhizobacteria^۲Indole acetic acid

(2019) نیز تأثیر مثبت یک باکتری محرک رشد گیاه بر جذب کادمیوم از خاک توسط گیاه تلخه (*Acroptilon repens* L.) را نشان دادند. همچنین در گزارشی نشان داده شد که کاربرد باکتری‌های محرک رشد گیاه ضمن افزایش وزن خشک اندام هوایی، جذب آرسنیک را به مقدار قابل ملاحظه‌ای افزایش دادند (Haydarpoor et al. 2017). با توجه به اثرات سمی آرسنیک در خاک و پیامدهای منفی آن بر گیاه و سلامت انسان و گزارش‌هایی مبنی بر وجود آلودگی ناشی از این عنصر در خاک‌های ایران (Khaden Moghadam & Golchin, 2019)، غربالگری باکتری‌های مقاوم به آرسنیک و استفاده از آن‌ها در افزایش کارایی گیاه‌پالایی خاک‌های آلوده ضروری به نظر می‌رسد. از این رو پژوهش حاضر به منظور جداسازی باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد مقاوم به آرسنیک و بررسی تأثیر آن‌ها بر افزایش کارایی جذب آن توسط گیاهان آفتاب‌گردان، ذرت و کدو انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری از خاک اطراف ریشه گیاهان بومی

برای انجام این پژوهش شش نمونه از خاک اطراف ریشه گیاهان بومی مختلف رویده در اراضی آلوده به آرسنیک اطراف معدن مس سرچشمه رفسنجان به همراه ریشه آن‌ها تهیه و در فلاسک‌های حاوی یخ به آزمایشگاه منتقل گردیدند و تا هنگام جداسازی باکتری‌ها درون یخچال نگه‌داری شدند.

جداسازی باکتری‌های مقاوم به آرسنیک

یک گرم خاک ریزوسفری به همراه ریشه در نه میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی (کلور سدیم ۰/۹ درصد) منتقل و به مدت ۳۰ دقیقه روی شیکر با دور ۱۲۰ دور در دقیقه تکان داده شد. جهت غنی‌سازی و جداسازی باکتری‌های مقاوم به آرسنیک، ابتدا پنج میلی‌لیتر از سوسپانسون حاصل به ۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت BSMY^۱ حاوی ۱۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر آرسنیک پنج ظرفیتی انتقال داده شد. این محیط شامل یک گرم عصاره مخمر، ۰/۳ گرم $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ، ۰/۱۴ گرم $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ، ۰/۲ گرم $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ، ۰/۱ گرم NaCl ، ۰/۰۵ گرم KH_2PO_4 ، ۰/۰۵ گرم KHPO_4 ، ۰/۰۶ میلی‌گرم H_3BO_3 ، ۰/۱۷ میلی‌گرم $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.

۰/۰۹ گرم $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ، ۰/۱ میلی‌گرم $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ، ۰/۲۲ میلی‌گرم ZnCl_2 ، ۱۰ گرم گلوکز در هر لیتر بود که در pH=7 تنظیم گردید. ارلن‌ها به مدت ۴۸ ساعت در شیکر انکوباتور با دمای ۲۸ درجه سلسیوس و دور ۱۲۰ دور در دقیقه تکان داده شدند. سپس پنج میلی‌لیتر از سوسپانسون حاصل مجدداً به ۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت BSMY این‌بار حاوی ۲۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر آرسنیک منتقل و عمل انکوباسیون مشابه مرحله قبل صورت پذیرفت. در ادامه فرایند غنی‌سازی عمل انتقال از سوسپانسیون حاصل به محیط کشت BSMY حاوی ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر آرسنیک مشابه با شرایط ذکر شده در دو مرحله قبل انجام گرفت. جهت جداسازی باکتری‌های مقاوم به آرسنیک، ۱۰۰ میکرولیتر از محیط کشت غنی شده بر روی پلیت‌های حاوی محیط کشت BSMY حاوی ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر آرسنیک پنج ظرفیتی پخش و پلیت‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۸ درجه سلسیوس خوابانیده شدند. کلونی‌های باکتریایی رشد یافته‌ای که از نظر شکل متفاوت بودند انتخاب و پس از چند بار کشت خالص‌سازی گردیدند (Saha et al. 2016).

ارزیابی صفات محرک رشدی باکتری‌ها

برای اندازه‌گیری صفات محرک رشدی جدایه‌ها شامل تولید اکسین (IAA) از روش بنت و همکاران (Bent et al. 2001) با کمی تغییرات و سیدروفور از محیط Cas Blue Agar (Alexander & Zuberer, 1991) استفاده شد. همچنین برای تعیین توان جدایه‌ها در انحلال فسفات‌های معدنی نامحلول و ترکیبات روی نامحلول، از محیط کشت مایع اسپرر حاوی پنج گرم در لیتر تری‌کلسیم فسفات استفاده گردید (Sperber, 1958). توان تولید سیانید هیدروژن جدایه‌ها نیز بر اساس روش دونیت کوریا و همکاران (Donate-Correa et al. 2004) انجام گرفت.

انتخاب باکتری برای استفاده در آزمون گلخانه‌ای

بر اساس نتایج حاصل از آزمون‌های صفات محرک رشد جدایه‌های مقاوم به آرسنیک، تعداد سه جدایه که از صفات محرک رشد بهتری برخوردار بودند (BH6، BH9 و BH10) انتخاب و برای آزمون گلخانه‌ای و به منظور ارزیابی تأثیر

¹ Basal Salt Minimal Media

و ترکیبات روی نامحلول انتخاب شدند. جدایه‌ها در محیط کشت NB کشت داده شدند و بعد از ۴۸ ساعت و تنظیم جمعیت یکسان (10^8 سلول در هر میلی‌لیتر) جهت مایه‌زنی مورد استفاده قرار گرفتند.

کشت گیاه در گلدان‌ها

خاک مورد استفاده در آزمون گلدانی با مقدار ۳۱۷۰ میلی‌گرم در کیلوگرم آرسنیک از منطقه آلوده و از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری برداشته و پس از هوا خشک شدن و عبور از الک چهار میلی‌متری به گلدان‌های یک کیلوگرمی منتقل شد. برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک شامل pH در عصاره ۱:۲/۵ آب به خاک، EC در عصاره گل اشباع، کربنات کلسیم معادل به‌روش خنثی‌سازی با اسید کلریدریک، بافت خاک به روش هیدرومتری و غلظت کل آرسنیک خاک در جدول ۱ آمده است.

آن‌ها بر افزایش کارایی جذب آرسنیک توسط سه گیاه آفتابگردان، ذرت و کدو مورد استفاده قرار گرفتند.

آزمایش گلخانه‌ای

به‌منظور بررسی تأثیر کاربرد باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد (PGPR) بر جذب آرسنیک توسط آفتابگردان، ذرت و کدو آزمایش گلخانه‌ای به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایشی شامل سه نوع گیاه آفتابگردان، ذرت و کدو و همچنین سه جدایه مقاوم به آرسنیک که از نظر صفات محرک رشدی برتر بودند در خاکی با آلودگی طبیعی با مقدار ۳۱۷۰ میلی‌گرم در کیلوگرم آرسنیک انجام شد (جدول ۱).

بدین منظور تعداد سه جدایه مقاوم به آرسنیک براساس توانایی آن‌ها در صفات محرک رشد گیاه شامل تولید IAA، تولید سیدروفور و توانایی انحلال فسفات‌های معدنی

جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه

Table 1. Some physical and chemical characteristics of the studied soil

Characteristics	Soil texture	pH	EC	%	mg kg ⁻¹
				Equivalent CaCO ₃	Arsenic concentration
value	Sandy loam	7.9	0.7	28	3170

یکنواخت پودر شدند. عصاره‌گیری نمونه‌های پودر شده در دمای ۵۵۰ درجه سلسیوس به‌روش خاکستری خشک انجام شد. غلظت آرسنیک در نمونه‌ها به‌وسیله‌ی دستگاه جذب اتمی مجهز به کوره گرافیتی (GBC Avanta 932) اندازه‌گیری شد (Estefan et al., 2013) و با توجه به مقدار وزن خشک اندام‌هوایی و ریشه مقدار جذب این عناصر در اندام‌هوایی و ریشه گیاهان محاسبه شد. همچنین فاکتور انتقال عناصر مورد آزمایش از نسبت غلظت عنصر در اندام‌هوایی بر غلظت همان عنصر در ریشه گیاهان بدست آمد شد (Hamidpour et al., 2010). پس از برداشت گیاه از خاک، غلظت آرسنیک قلیل دسترس خاک، به‌روش عصاره‌گیری با DTPA در خاک اطراف ریشه گیاهان کشت شده اندازه‌گیری گردید شد (Estefan et al., 2013).

تجزیه آماری داده‌ها

تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS (نسخه 9.1) انجام شد و مقایسه میانگین‌ها بر مبنای آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

تهیه مایه تلقیح باکتریایی

بذرهای تهیه شده پس از ضدعفونی سطحی و چندین بار شستشو با آب مقطر، به تعداد پنج بذر در داخل خاک هر گلدان کاشته شد. هنگام کاشت، هر بذر با یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری موردنظر تلقیح گردید. در طول دوره رشد، گلدان‌ها با آب مقطر و به‌روش وزنی تا حد ۸۰ درصد رطوبت FC آبیاری شدند. گلدان‌ها به‌مدت ۵۰ روز در شرایط گلخانه با نور طبیعی و دمای 25 ± 1 نگهداری شدند.

تهیه عصاره گیاهی و اندازه‌گیری غلظت عناصر در گیاهان و خاک

پس از گذشت ۵۰ روز از تاریخ کشت، بوته‌ها از محل طوقه قطع و ریشه‌ها از خاک خارج گردیدند. اندام‌هوایی گیاهان و ریشه آن‌ها به‌طور جداگانه با آب مقطر شستشو و به مدت ۷۲ ساعت در آون با دمای ۶۵ درجه سلسیوس خشک شدند. سپس وزن خشک اندام‌هوایی و ریشه گیاهان اندازه‌گیری و نمونه‌های خشک شده به‌صورت

همچنین جدول‌ها و نمودارهای مربوطه با استفاده از برنامه‌های Excel و Word رسم گردید.

نتایج و بحث

غربالگری باکتری‌های ریزوسفری مقاوم به آرسنیک

نتایج این مطالعه نشان داد که باکتری‌های جداسازی شده، بردباری یکسانی نسبت به غلظت‌های مختلف آرسنیک نداشتند (جدول ۲). نتایج حاصل از ارزیابی مقاومت جدایه‌ها نسبت به غلظت‌های مختلف آرسنیک نشان داد که همه جدایه‌ها توانایی رشد در غلظت‌های ۱۵۰ میلی گرم بر لیتر آرسنیک را داشتند. ۱۳ جدایه شامل BH1، BH2، BH3، BH4، BH5، BH7، BH8، BH9، BH10، BH11، BH12، BH14، BH15 در غلظت ۲۵۰ میلی گرم بر لیتر و ۱۰ جدایه شامل BH1، BH2، BH3، BH5، BH6، BH8، BH9، BH10، BH11، BH12 در غلظت ۵۰۰ میلی گرم بر لیتر آرسنیک قادر به رشد بودند (جدول ۴-۱). ریزجانداران

هنگام مواجه با فلزات سنگین، برای زنده ماندن باید خود را با محیط سازگار و اثر فلزات را در داخل سیتوپلاسم خود کنترل کنند؛ بنابراین آن‌ها می‌توانند مقادیر کافی از فلزات ضروری را کسب نمایند و از تجمع مقادیر سمی اجتناب کنند. این واکنش را ریزجانداران از طریق بیان ژن‌هایی که تولیدات آن‌ها باعث خارج‌سازی فلزات اضافی از سلول می‌شوند و تولید پروتئین‌های جذب‌کننده فلز و سیستم‌های جذب با همیستگي بالا انجام می‌دهند (Smith et al., 1997). گونه‌های مختلفی از باکتری‌های گرم مثبت و منفی که تحمل غلظت‌های بالایی از آرسنیک را داشته‌اند در مطالعات مختلف گزارش شده است (Haghi et al., 2023; Titah et al., 2018). باکتری‌های مقاوم به آرسنیک از راه‌های مختلفی مانند تشکیل کمپلکس با آرسنیک، متیل دار کردن آرسنیک، جذب زیستی و اکسید کردن آرسنیت به آرسنات می‌توانند غلظت‌های زیاد آن را تحمل نمایند (Titah et al., 2018).

جدول ۲- رشد و عدم رشد سویه‌های جدا شده در غلظت‌های مختلف آرسنیک

Table 2. Growth and non-growth of isolated strains in different concentrations of arsenic

Isolates	0	150	250	500
BH1	+	+	+	+
BH2	+	+	+	+
BH3	+	+	+	+
BH4	+	+	-	-
BH5	+	+	+	+
BH6	+	+	+	+
BH7	+	+	+	-
BH8	+	+	+	+
BH9	+	+	+	+
BH10	+	+	+	+
BH11	+	+	+	+
BH12	+	+	+	+
BH13	+	+	-	-
BH14	+	+	+	-
BH15	+	+	+	-

ارزیابی صفات محرک رشد جدایه‌های مقاوم به آرسنیک از بین جدایه‌های مقاوم به آرسنیک، ۱۰ جدایه که از مقاومت بیش‌تری برخوردار بودند (رشد در محیط کشت

حاوی ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر آرسنیک) برای بررسی صفات محرک رشد انتخاب شدند. بر اساس جدول تجزیه واریانس (جدول ۳)، توانایی جدایه‌ها در تولید اکسین (IAA) و سیدروفور در سطح یک درصد و

های سودوموناس جدا شده از ریزوسفر سویا توانایی انحلال فسفات‌های معدنی نامحلول را دارا بودند. با توجه به تثبیت بخش زیادی از فسفر در خاک و غیر قابل دسترس بودن آن برای گیاه، استفاده از باکتری‌های حل‌کننده فسفات می‌تواند به فراهمی و تغذیه فسفر در گیاه کمک کند. باکتری‌های حل‌کننده فسفات، pH خاک را از طریق تولید انواع اسیدهای آلی کاهش می‌دهند و یا با کمپلکس کردن کاتیون‌های پیوند شده با فسفر، سبب آزاد شدن فسفر و در نهایت افزایش زیست‌فراهمی آن برای گیاه می‌شوند (Sundra et al., 2002; Nasirzadeh et al., 2023).

۱۰ جدایه از ۱۲ جدایه مورد آزمایش توانایی تولید سیدروفور در محیط CAS agar را داشتند و بیش‌ترین نسبت قطر هاله به کلونی به جدایه‌های BH9 و BH10 (به ترتیب ۱/۸۷ و ۱/۹۷) تعلق داشت. حجت‌نوقی و همکاران (Hojjat Noughi et al., 2014)، گزارش کردند که ۴۸٪ جدایه‌های ریزوسفری مورد آزمایش قادر به تولید سیدروفور در محیط جامد CAS agar بودند. سرچشمه‌پور و همکاران (Sarcheshmepour et al., 2010) نیز در تحقیقی نشان دادند که ۴۶٪ جدایه‌های مورد بررسی توانایی تولید سیدروفور را داشتند.

براساس نتایج حاصل از این پژوهش، جدایه‌های BH11، BH8 و BH2 به مقدار کم و جدایه BH10 متوسط و بقیه جدایه‌ها قادر به تولید سیانید هیدروژن نبودند. در پژوهش‌های انجام شده توسط کرمر و سوئسی (Kremer & Souissi, 2011) نشان داده شد که تقریباً ۳۲ درصد از یک مجموعه شامل ۲۰۰۰ جدایه باکتری، توانایی تولید سیانید هیدروژن را داشتند.

در انحلال فسفات‌های معدنی نامحلول در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری داشتند.

مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۴) نشان داد که همه‌ی جدایه‌ها قادر به تولید IAA در حضور ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر ال-تریپتوفان بودند و تولید اکسین توسط این جدایه‌ها در دامنه‌ای از ۱/۲۵ تا ۴/۳۵ میلی‌گرم در لیتر متغیر بود. بیش‌ترین مقدار تولید IAA (۴/۳۵) میکروگرم بر میلی‌لیتر) مربوط به جدایه BH9 بود که با جدایه‌های BH12، BH8 و BH6 در یک سطح آماری قرار گرفت. حسنی و همکاران (Hasani et al., 2012) گزارش کردند تمامی جدایه‌های سودوموناس فلورسنت جدا شده از ریزوسفر درختان پسته (۵۲ جدایه) در محیط TSB حاوی ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر ال-تریپتوفان قادر به تولید IAA بودند و میزان تولید در این جدایه‌ها در دامنه‌ای از ۰/۶۸ تا ۷/۶ میکروگرم در میلی‌لیتر تغییر می‌کرد. رجایی و همکاران (Rajaei et al., 2007) نشان دادند از بین ۶۳ باکتری جداسازی شده از ریزوسفر گندم، ۶۰ جدایه قادر به تولید IAA بودند. نتایج حاصل از بررسی توان تولید IAA در ۱۱ جدایه توسط احمد و همکاران (Ahmad et al., 2005) نشان داد در غلظت‌های مختلف تریپتوفان، دامنه تولید IAA توسط باکتری‌ها بین ۵/۳۴ تا ۵۳/۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر متغیر بود. همچنین همه‌ی جدایه‌ها قادر به انحلال تری‌کلسیم فسفات در محیط مایع بودند. بیش‌ترین مقدار انحلال تری‌کلسیم فسفات متعلق به جدایه BH9 (۲۵۵ میلی‌گرم در لیتر) بود که با جدایه‌های BH5، BH6 و BH1 از نظر آماری در یک سطح قرار گرفت. مقامی و همکاران (Maghami et al., 2013) نشان دادند که باکتری-

جدول ۳- تجزیه واریانس صفات محرک رشدی در جدایه‌ها

Table 3. Analysis of variance for Plant growth-promoting properties of isolates

Source of variation	df	Mean Square		
		P- solubilization	IAA- production	Siderophore production
Isolates	9	2198*	0.373**	1.38**
Error	20	808	0.015	0.011
CV (%)	-	12.3	11.5	9.35

* and ** respectively significant at 5% and 1%

جدول ۴-مقایسه میانگین صفات محرک رشدی در جدایه‌ها

Table 4. Mean comparison of the Plant growth-promoting properties in isolates

Isolates	P- solubilization	IAA	Siderophore	HCN
	mg l ⁻¹ (µg ml ⁻¹)		Halo colony ⁻¹	*
BH1	253a	2.75de	1.13d	1
BH2	179c	3.10cd	0.00e	2
BH3	209c	2.25f	1.11d	1
BH5	247a	3.50bc	0.00e	1
BH6	249a	3.90ab	1.15d	1
BH8	244ab	4.30a	1.65b	2
BH9	255a	4.35a	1.87a	1
BH10	238ab	2.50ef	1.97a	3
BH11	241ab	3.10cd	1.38c	2
BH12	191bc	4.10a	1.12d	1

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد به‌روش دانکن می‌باشد

*: ۱ (عدم تولید)، ۲ (تولید کم)، ۳ (تولید متوسط)، ۴ (تولید زیاد) و ۵ (تولید خیلی زیاد).

Mean values in each column having a common letter are not significantly different ($P \leq 0.05$)

* 1(no production), 2(low production), 3(medium production), 4(high production), 1(very high production)

شد (Grichko et al., 2000). گزارش شده است گیاهانی با زیست توده زیاد مانند آفتابگردان (Jiang et al., 2015)، سالیکیس (Jiang et al., 2015) و خردل هندی (Srivastava et al., 2009) پتانسیل خوبی در انباشت آرسنیک در اندام هوایی خود دارند. در یک مطالعه مزرعه‌ای در خاک‌های با بافت مختلف، غلظت آرسنیک در برگ آفتابگردان بین ۳۵ تا ۶۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک گیاه گزارش شد (Piracha et al., 2019). محققین مشاهده نمودند که مایه‌زنی گیاه کلزا کشت‌شده در یک خاک آلوده به سرب با دو باکتری *Pseudomonas fluorescens* و *Microbacterium* sp باعث افزایش زیست‌توده گیاه و جذب عنصر سرب گردید (Sheng, 2008 & Xia). فعل و انفعالات بین گیاه و باکتری‌های ریزوسفری محرک گیاه می‌تواند خصوصیات شیمیایی خاک در ریزوسفر و در نتیجه اندوزش فلزات سنگین در گیاهان را افزایش دهد (Heidarpour et al., 2016; Hamidpour et al., 2020).

افزایش غلظت آرسنیک در اندام‌هوایی گیاه در تیمارهای حاوی جدایه‌ها ممکن است به‌دلیل افزایش حلالیت فازهای جامد آرسنیک در خاک مانند CaHAsO_4 ، Na_2HAsO_4 ، MnHAsO_4 ، FeAsO_4 و ... باشد زیرا باکتری‌ها با ترشح سیدروفور و اسیدهای آلی و از طریق کلاته کردن

تأثیر جدایه‌های منتخب بر جذب آرسنیک توسط آفتابگردان، ذرت و کدو

نتایج بدست آمده از تجزیه واریانس نشان داد، اثر گیاه و باکتری و برهم‌کنش باکتری و گیاه در جذب آرسنیک اندام‌هوایی و ریشه گیاهان مورد آزمایش در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۵).

مقایسه میانگین‌ها نشان داد بیش‌ترین مقدار آرسنیک در اندام‌هوایی گیاهان در تیمار جدایه‌های BH9 و BH6 با گیاه ذرت و همچنین جدایه BH9 با کدو به‌ترتیب به مقدار ۷۷/۷، ۷۷/۰ و ۷۸/۸ میکروگرم در گلدان بود؛ هرچند این تیمارها با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند، لیکن با سایر تیمارها این اختلاف معنی‌دار شد. همچنین کمترین مقدار جذب در اندام‌هوایی گیاه نیز مربوط به تیمار شاهد آفتاب‌گردان بود (۳۷/۸ میکروگرم در گلدان). بیش‌ترین جذب آرسنیک در ریشه از برهم‌کنش جدایه BH9 و ذرت بدست آمد (۱۳۶ میکروگرم در گلدان) که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت. کمترین مقدار جذب در ریشه نیز در تیمار بدون باکتری با آفتاب‌گردان (شاهد) با مقدار ۶۲/۲ میکروگرم در گلدان مشاهده شد (جدول ۶).

در یک پژوهش، مایه‌زنی گیاهان با جدایه‌های مقاوم باعث جذب بیش‌تر آرسنیک در ریشه و انتقال آن به اندام‌هوایی

کاتیون‌های فلزی فازهای جامد حلالیت آن‌ها را افزایش می‌دهند و منجر به افزایش فراهمی زیستی آرسنیک می‌شوند. از طرف دیگر باکتری‌های حل‌کننده فسفات می‌توانند غلظت فسفات را در محلول خاک افزایش دهند و فسفات می‌تواند با آرسنات بر سر مکان‌های جذب خاک رقابت نمایند.

جدول ۵- تجزیه واریانس تأثیر باکتری و گیاه بر مقادیر آرسنیک اندام‌هوایی و ریشه
Table 5. Variance analysis of the effects of bacteria and plant on amount of Arsenic in shoot and root

Source of variation	df	Mean Square	
		Shoot	Root
Plant	2	1012401**	1086616**
Bacteria	3	1521539**	679525**
Plant × Bacteria	6	125993**	49368**
Error	36	17714	13043
CV (%)	-	6.92	3.76

* and ** respectively significant at 5% and 1%

جدول ۶- مقایسه میانگین اثرات متقابل گیاه و باکتری بر جذب آرسنیک (میکروگرم در گلدان)
Table 6. Mean comparison of interaction effects of plant and bacteria on arsenic uptake ($\mu\text{g pot}^{-1}$)

Treatment	Plant		
	Shoot	Sunflower	Corn
Control	37.8f	52.0de	48.0e
BH6	51.3e	77.0a	68.5e
BH9	57.9cd	77.7a	78.8a
BH10	59.4c	67.8c	69.2b
Treatment	Root		
	Shoot	Sunflower	Corn
Control	62.2g	119c	79.1e
BH6	71.4f	122bc	89.8d
BH9	81.0e	136a	95.5d
BH10	79.9e	126b	94.3d

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد به‌روش دانکن می‌باشد

Mean values in each column having a common letter are not significantly different ($P \leq 0.05$)

فاکتور انتقال آرسنیک

مطابق جدول تجزیه واریانس، اثر گیاه، باکتری و برهمکنش آن‌ها بر فاکتور انتقال آرسنیک معنی‌دار بود (جدول ۷). بر اساس جدول مقایسه میانگین‌ها (جدول ۸)، بیش‌ترین فاکتور انتقال آرسنیک مربوط به برهمکنش جدایه BH9 و گیاه کدو (۰/۸۲۵) بود که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت. فاکتور انتقال نسبت غلظت فلز در اندام هوایی به ریشه می‌باشد و نتایج این پژوهش نشان داد که تلقیح با باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه باعث افزایش فاکتور انتقال یعنی انتقال فلز از ریشه به اندام هوایی

شد. لیکن در گیاه استخراجی ترجیح داده می‌شود که مقدار فاکتور انتقال آلاینده بیش‌تر از یک باشد. این پارامتر در گیاهان بیش‌اندوز معمولاً بیش‌تر از یک است (Mendez & Maier, 2008). در تحقیقی میرزایی و همکاران (Mirzaie *et al.*, 2014) فاکتور انتقال آرسنیک را برای گل جعفری کمتر از یک گزارش کردند و بیان نمودند که این گیاه نتوانست آرسنیک را به اندام‌هوایی منتقل کند. افزایش فاکتور انتقال نقش مهمی در افزایش کارایی گیاه استخراجی عنصر از خاک دارد. گزارش شده است که تلقیح باکتری محرک رشد فاکتور انتقال مس و روی را از ریشه به

زیاد آرسنیک رشد کند و حدود ۲۳ گرم بر کیلوگرم وزن خشک آرسنیک را در اندام هوایی خود تجمع دهد (Ma et al. 2005).

برگ‌های گیاه *Salix coprea* در خاک آلوده افزایش داد (De Maria et al., 2011). در مورد فلز آرسنیک، گیاه سرخس *Ptris vittata* به عنوان گیاه بیش‌اندوز این عنصر معرفی شده است. این گیاه قادر است در خاک‌های با غلظت

جدول ۷- تجزیه واریانس تأثیر باکتری و گیاه بر فاکتور انتقال آرسنیک

Table 7. Variance analysis of the effects of bacteria and plant on transfer factor of arsenic (TF)

Source of variation	df	Mean Square
		Arsenic
Plant	2	0.219**
Bacteria	3	0.068**
Plant × Bacteria	6	0.008*
Error	36	0.002
CV (%)	-	8.12

* and ** respectively significant at 5% and 1%

جدول ۸- مقایسه میانگین اثر برهمکنش گیاه و باکتری بر فاکتور انتقال (TF)

Table 8. Mean comparison of interaction effect of plant and bacteria on transfer factor of arsenic (TF)

Treatment	Arsenic		
	Sunflower	Corn	Pumpkin
Control	0.607c	0.438d	0.612c
BH6	0.722b	0.632c	0.767ab
BH9	0.717b	0.570c	0.825a
BH10	0.747ab	0.460d	0.737b

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد به‌روش دانکن می‌باشد

Mean values in each column having a common letter are not significantly different ($P \leq 0.05$)

پژوهشگران گزارش کردند باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه با سازوکارهای مختلفی از جمله تولید اسیدهای آلی، اسیدهای معدنی و ترشح پروتون، موجب کاهش pH ریزوسفر شده و در نتیجه فراهمی عناصر در خاک را برای گیاه افزایش می‌دهند (Sundra et al. 2002). از طرف دیگر، با توجه به این‌که سویه‌های مورد استفاده دارای خصوصیات محرک رشدی از جمله توان تولید سیدروفور بودند، می‌توان چنین استنباط کرد که احتمالاً سیدروفور تولید شده توسط باکتری‌ها نیز توانسته توزیع عناصر در خاک را تغییر دهد. در پژوهشی گزارش شده است که تولید سیدروفور سودوباکتین توسط سویه *Sودوموناس پوتیلا* موجب افزایش انحلال آرسنیک، روی، منگنز و مس در خاک گردید (Chen et al. 1994). همچنین در گزارشی نشان داده شد که تلقیح سه جدایه باکتری محرک رشد باعث افزایش معنی‌دار جزء مس قابل استخراج با DTPA گردید (Wu et al. 2005).

آرسنیک قابل استخراج با عصاره‌گیر DTPA

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۹) نشان داد که اثر گیاه، باکتری و برهمکنش آن‌ها در سطح ۵ درصد بر آرسنیک قابل استخراج با DTPA خاک ریزوسفری معنی‌دار بود. مقایسه میانگین اثر متقابل گیاه و باکتری (جدول ۱۰) نشان داد در اکثر تیمارها تلقیح جدایه‌ها باعث افزایش معنی‌دار آرسنیک قابل استخراج با DTPA در مقایسه با تیمارهای شاهد بدون تلقیح شدند. تمامی جدایه‌ها، آرسنیک قابل استخراج با عصاره‌گیر DTPA را در ریزوسفر آفتابگردان افزایش دادند و بیش‌ترین افزایش مربوط به تلقیح با جدایه‌های BH9 و BH10 به میزان حدود ۳۰ درصد بود. همچنین جدایه BH10 در گیاه ذرت باعث افزایش معنی‌دار (هشت درصدی) غلظت آرسنیک قابل استخراج با عصاره‌گیر DTPA نسبت به شاهد شد.

جدول ۹- تجزیه واریانس تأثیر باکتری و گیاه بر غلظت آرسنیک در خاک ریزوسفری
Table 9. Variance analysis of the effects of bacteria and plant on Arsenic concentration in rhizosphere soil

Source of variation	df	Mean Square
		Arsenic
Plant	2	719*
Bacteria	3	1850**
Plant × Bacteria	6	369*
Error	36	158
CV (%)	-	6.32

* and ** respectively significant at 5% and 1%

جدول ۱۰- مقایسه میانگین اثرات متقابل باکتری و گیاه بر آرسنیک قابل استخراج با عصاره گیر DTPA
Table 10. Mean comparison of interaction effects of plant and bacteria on extractable arsenic by DTPA

Treatment	Arsenic ($\mu\text{g kg}^{-1}$)		
	Sunflower	Corn	Pumpkin
Control	5099d	6202bc	6122bc
BH6	5903c	6697a	6376abc
BH9	6607ab	6430abc	6496abc
BH10	6603ab	6699a	6612ab

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد به‌روش دانکن می‌باشد

Mean values in each column having a common letter are not significantly different ($P \leq 0.05$)

نتیجه‌گیری کلی

استفاده از پتانسیل ارتباط مثبت بین ریزوموجودات ریزوسفری محرک رشد گیاه و گیاهان در شرایط تنش‌های محیطی به ویژه آلودگی ناشی از فلزات سنگین یکی از راهکارهای مدیریتی ارزان قیمت، موفق و مؤثر در جهت کاهش اثرات نامطلوب آرسنیک و سایر فلزات سنگین می‌باشد. نتایج این تحقیق نشان داد که جدایه‌های ریزوسفری بومی محرک رشد گیاه و مقاوم به آرسنیک جداسازی شده از خاک‌های آلوده، از توانایی قابل ملاحظه‌ای برای افزایش کارایی جذب این عنصر از خاک آلوده برخوردار بودند. در بین جدایه‌های مورد استفاده، جدایه BH9 نقش مؤثرتری در افزایش جذب آرسنیک در

گیاهان مورد استفاده داشت. در بین گیاهان مورد استفاده کدو و ذرت به‌دلیل زیست‌توده بیش‌تر در بخش هوایی، کارایی بیش‌تری در استخراج آرسنیک از خاک آلوده داشتند. در مجموع مایه‌زنی گیاهان مختلف با جدایه‌های مقاوم تأثیر زیادی بر جذب و تجمع آرسنیک در این گیاهان داشت. این افزایش جذب فلز سنگین در گیاه از دیدگاه استخراج گیاهی در فرایند گیاه‌پالایی بسیار حائز اهمیت بوده و به‌عنوان راه‌کار مدیریتی موفق و مؤثر قابل استفاده می‌باشد. البته برای اطمینان از مؤثر بودن این جدایه در گیاه پالایی، لازم است کارایی جدایه در مزرعه نیز بررسی شود و همچنین از گیاهان مناسب دیگری بدین‌منظور استفاده گردد.

References

- Ahmad F., Ahmad I., and Sahir khan M. 2005. Indole acetic acid production by the indigenous isolates of the *Azotobacter* and Fluorescent pseudomonads in the presence and absence of tryptophan. *Turkish Journal of Biology*, 29: 29-34.

- Alexander D.B., and Zuberer D.A. 1991. Use of cgmre azural S reagents to evaluate siderophore production by rhizosphere bacteria. *Biology and Fertility of Soils*, 12: 39-45.
- Alloway B.J. 1995. heavy metals in soils. Blackie Academic and Professional, Chapman and Hall. London, 368p.
- Alka S., Shahir S., Ibrahim N., Ndejiko M .J., Vo D., and Manan F.A. 2021. Arsenic removal technologies and future trends: A mini review. *Journal of Cleaner Productio*, 276: 1-14.
- Baroni F., Boscagli A., Protano G., and Riccobono F. 2000. Antimony accumulation in *Achillea ageratum*, *Plantago lanceolata* and *Silene vulgaris* growing in an old Sb-mining area. *Environmental Pollution*, 109: 347- 352.
- Bent E., Tuzan S., Chanway C.P., and Enebak S. 2001. Alteration in plant growth and in root hormone levels of lodgepole pines inoculated with rhizobacteria. *Canadian Journal of Microbiology*, 47: 793-800.
- Burd G.I., Dixon D.G., and Glick B.R. 2000. Plant growth-promoting bacteria that decrease heavy metal toxicity in plants. *Canadian Journal of Microbiology*, 46: 237- 245.
- Chen Y.F. 1994. Review of the research on heavy metal contamination of China's city soil and its treatment method. *Resources and Environment*, 21(3): 536-539.
- De Maria S., Rivelli A.R., Kuffner M., Sessitsch A., Wenzel W.W., Gorfer M., Strauss J., and Puschenreiter, M. 2011. Interactions between accumulation of trace elements and major nutrients in *Salix caprea* after inoculation with rhizosphere microorganisms. *Chemosphere*, 84: 1256-1261
- Donate-Correa J., Leon-Barrios M. and Perez-Galdona R. 2004. Screening for plant growth-promoting rhizobacteria in *Chamaecytisus proliferus* (tagasaste), a forage treeshrub legume endemic to the Canary Island. *Plant Soil*, 266: 261-272.
- Ellis R.J., Hanway J.J., Holmgren G., Keeney D.R., and Bidwell O.W. 1920. Sampling and Analysis of Soils, Plants, Waste Waters, and Sludge-Suggested Standardization and Methodology. Agricultural Exp. Station, Kansas State University, Manhattan. 230p.
- Erfanmanesh M., and Afyuni M. 2012. Environment Pollution Water, Soil and air. Arkan Publication. Esfahan, 318p. (In Persian)
- Estefan G., Sommer R., and Ryan J. 2013. Methods of soil, plant and water analysis: A manual for the West Asia and North Africa Region. Beirut: ICARDA.
- Grichko V.P., Filby B. and Glick B.R. 2000. Increased ability of transgenic plants expressing the bacterial enzyme ACC-deaminase to accumulate Cd, Co, Cu, Ni, Pb and Zn. *Journal of Biotechnology*, 81(1): 45-53.
- Haghi M., Diznabi S. H., Karaboz I. and Ersoy-Omeroglu E. 2013. Arsenic pollution and arsenic-resistant bacteria of drying Urmia Salt Lake. *Frontiers in Environmental Science*. 11: 1195643
- Hamidpour M., Afyuni M., Kalbasi M., Khoshgoftarmanes H., and Inglezakis V. J. 2010. Mobility and plant- availability of Cd(II) and Pb(II) adsorbed on zeolite and bentonite. *Applied Clay Sciences*, 48:342-48.
- Hamidpour M., Nemati H. and Abbaszadeh Dahaji P. 2020. Effects of plant growth-promoting bacteria on EDTA-assisted phytostabilization of heavy metals in a contaminated calcareous soil. *Environ Geochem Health*, 42: 2535-2545 .
- Hasani G., Akhgar A., and Tajabadipour A. 2012. Effectiveness of IAA and ACC-deaminase Producing Fluorescent Pseudomonads on Growth of Pistachio Seedlings. *Iranian journal of soil science*, 26(1): 89-97 (In Persian)
- Heidarpour N., Ghasemi Mobtaker H., and Touseh V. 2016. Effects of different tillage methods on dryland wheat yield and soil physical properties in wheat – fallow rotation in Kurdistan. *Journal of Soil Management and Sustainable Production*, 5(4): 61-77 (In Persian)
- Haydarpoor L., Soltani Toolarood A. A. and Goli Kalanpa E. (2017). Evaluation of plant growth promoting traits of arsenic resistant bacteria and their effect on morphological properties of *Origanum vulgare* plant in an arsenic-polluted soil. *Journal of Soil Biology*, 4(2): 135-151(In Persian)
- Haydarpoor L., Soltani Toolarood A., and Goli Kalanpa E. 2017. Effect of Arsenic-Resistant Plant Growth Promoting (PGP) Isolates on some Physiological Characteristics, Growth and Nutrition of *Mentha peparata* L. in an Arsenic-Polluted Soil. *Applied Soil Research*, 4(2): 14-25

- Jiang Y., Lei M., Duan L., Longhurst P. 2015. Integrating phytoremediation with biomass valorisation and critical element recovery: A UK contaminated land perspective. *Biomass Bioenergy*, 83: 328–339.
- Noughi Hojjat F., Akhgar A., Esfandiarpour I., and Khavazi K. 2014. Evaluation of Population and Properties of PGPB of Endorhizosphere, Rhizosphere and Nonrhizosphere in Pistachio Seedlings. *Water and Soil Science*, 23(4): 215-233 (In Persian)
- Karimi A., Khodaverdilo H., and Rasouli-Sadaghiani M.H. 2018. Microbial-enhanced phytoremediation of lead contaminated calcareous soil by *Centaurea cyanus* L. *Clean-Soil, Air, Water*, 46(2), 1700665.
- Khaden Moghadam N., and GOLCHIN A. 2019. Risk Assessment of Contamination of the Country's Soil and Water Resources with Arsenic. *Iranian Journal of Soil and Water Research*, 50(7): 1612-1617 (In Persian)
- Kirkham M.B., 2006. Cadmium in plants on polluted soils: Effects of soil factors, hyperaccumulation, and amendments. *Geoderma*, 137: 19-32
- Kremer R.J., and Souissi T. 2011. Cyanide production by rhizobacteria and potential for suppression of weed seedling growth. *Current Microbial*, 43:182-186
- Kloepper J.W. and Schroth M.N. 2008. Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes. International Conference on plant Pathogenic Bacteria. *Tours*, 879–882
- Ma L.Q., Komar K.M., Tu C., Zhang W., Cai Y., and Kennelley E.D. 2001. A fern that hyperaccumulates arsenic. *Nature*, 409: 579-582
- Maghami M., Olamaee M., Rasuli Sadaghiani M.H., and Dordipour E. 2013. Isolation and identification of *Pseudomonas Fluorecens* and evaluation of their plant growth promoting properties in soils Golestan province. *Journal of Soil Management and Sustainable Production*, 3(2): 251-264 (In Persian)
- Mawia A.M., Hui S., Zhou L., Li H., Tabassum J., Lai C., Wang J., Shao G., Wei X., Tang S., Luo J., Hu S., and Hu P. 2020. Inorganic arsenic toxicity and alleviation strategies in rice. *Journal of Hazard Mater*, 408: 1-21
- Mendez M.O., and Maier R.M. 2008. Phytostabilization of mine tailings in arid and semiarid environments-an emerging remediation technology. *Environmental Health Perspective*, 116: 278–283.
- Mirzaie N., Reyhanitabar A., Oustan S., and Hagighat Afshar M. 2014. Effects of combined application of as and P on the growth characteristics and uptake of as and P by two wheat and marigold plants. *Iranian journal of soil and water research*, 45(3): 353-367. (In Persian)
- Mosaferi M., and Mesdaghinia A.R. 2005. Removal of Arsenic from drinking water using modified activated alumina. *Journal of water and wastewater*, 16 (54): 2-14.
- Nasirzadeh A., Hamidpour M., Abbaszadeh-Dahaji P., Akhgar, A. and Kariman K. 2023. Zinc-solubilizing *Pseudomonas* strains improve zinc nutrition of maize plants grown in sand amended with tire waste powder. *Journal of Plant Nutrition*, 46(14): 3450–3468 .
- Penrose M. and Glick B.R. 2003. Methods for isolating and characterizing Acc deaminase- containing Plant Groeth- Promoting Rizobacteria. *Physiology Plant*, 118: 10-15.
- Piracha M.A., Ashraf M. and Niaz A. 2019. Arsenic fractionation and its impact on physiological behavior of sunflower (*Helianthus annuus* L.) in three texturally different soils under alkaline calcareous conditions. *Environmental Science and Pollution Research*, 26: 17438–17449.
- Rahmanian M., Khodaverdilo H., Rezaei Danesh Y., and Rasouli Sadaghiani M. 2011. Effects of heavy matal resistant soil microbes inoculation and soil Cd concentration on growth and metal uptake of millet, couch grass and alfalfa. *Journal Microbiology Research*, 5(4): 403-410
- Rajae S., Alikhani H.A., and Raiesi F. 2007. Effect of Plant Growth Promoting Potentials of *Azotobacter chroococcum* Native Strains on Growth, Yield and Uptake of Nutrients in Wheat. *Journal of Water and Soil Science*, 11: 285-297 (In Persian)
- Rasouli-Sadaghiani M.H., Barin M., Khodaverdilo H., Siavash Moghaddam S., Damalas C. A., and Kazemalilou S. 2019. Arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobacteria promote growth of Russian knapweed (*Acroptilon repens* L.) in a Cd-contaminated soil. *Journal of Plant Growth Regulation*, 38: 113-121 (In Persian)
- Saha D., and Sahu S. 2016. A decade of investigations on groundwater arsenic contamination in Middle Ganga Plain, India. *Environmental geochemistry and health*, 38: 315–337.

- Sarcheshmepour M., Savaghebi G.h., Saleh Rastin N., Alikhani H., and Pour-Babaei A. 2010. Isolation, screening, identification and determination of relative tolerance to salinity and drought superior strains of bacteria in the rhizosphere growth (PGPR) of pistachio trees. *Iranian Journal of Soil and Water Research*, 40(2): 177-190 (In Persian)
- Sheng X.F., and Xia J.J. 2008. Improvement of rape *Brassica napus* plant growth and cadmium uptake by cadmium-resistant bacteria. *Chemosphere*, 64: 1036–1042.
- Smith S.E. and Read D.J. 1997. Mycorrhizal symbiosis. *Academic Press, London*, 27: 555-561
- Sperber J.I. 1958. The incidence of apatite solubilizing organisms in the rhizosphere. *Australia Journal Agriculture Research*, 9: 778-781.
- Srivastava S., Srivastava A. K., Suprasanna P. and D'Souza S. F. 2009. Comparative biochemical and transcriptional profiling of two contrasting varieties of *Brassica juncea* L. in response to arsenic exposure reveals mechanisms of stress perception and tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 60: 3419–3431.
- Titah, H. S., Abdullah S. R., Idris M., Anuar N., Basri H., Mukhlisin M., Tangahu B. V. Purwanti I. F. and Kurniawan S. B. 2018. Arsenic resistance and biosorption by isolated rhizobacteria from the roots of *Ludwigia octovalvis*. *International Journal of Microbiology*, 3101498
- Sundra B., Natarajam V. and Hari K. 2002. Influence of phosphorus solubilizing bacteria on the changes in soil available phosphorus and sugarcane and sugar yields. *Field Crops Research*, 77:43-49.
- Wu S.C., Cao Z.H., Li Z.G., Cheung K.C. and Wong M.H. 2005. Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. *Geoderma*, 125: 155-166.
- Yan-de J., Zhen-li H., and Xiao Y. 2007. Role of soil rhizobacteria in phytoremediation of heavy metal contaminated soils. *Journal of Zhejiang University Science*, 8(3): 197- 207.