تأثیر ریزجانداران مفید خاکزی بر رشد و جذب کادمیوم توسط ذرت

میرحسن رسولی‌صدقیانی[1]*، تورج قره‌ملکی، حسین بشارتی و اکبر کریمی

عضو هیأت علمی گروه علوم خاک دانشگاه ارومیه؛ m.rsadaghiani@urmia.ac.ir

دانشجوی سابق کارشناسی ارشد علوم خاک دانشگاه زنجان؛ gharemaleki@yahoo.com

عضو هیأت علمی بخش میکروبیولوژی خاک، مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور، کرج؛ hbesharati@swri.ir

دانشجوی سابق کارشناسی ارشد علوم خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه؛ akbar.karimi84@yahoo.com

چکیده

استفاده از روابط هم‌افزایی بین باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) و قارچ‌های میکوریز آربوسکولار (AMF) برای رشد گیاه در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین و پالایش آنها به‌عنوان یک راهکار مدیریتی پایدار و اقتصادی معرفی شده است. برای این منظور یک آزمایش گلخانه‌ای با استفاده از گیاه ذرت به صورت فاکتوریل با دو فاکتور تیمار آلودگی کادمیوم (صفر، 10، 20 و 30 میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) و تیمار تلقیح میکروبی شامل بدون تلقیح (C)، تلقیح باکتری‌های سودوموناس گروه فلورسنت (B)، تلقیح میکوریز گلوموس ورسیفورم (F) و تلقیح توأم باکتری‌ها و میکوریز (BF) در 3 تکرار اجرا شد. پس از گذشت 14 هفته وزن خشک اندام‌های هوایی، ریشه‌ها، غلظت و مقدار کادمیوم در آنها اندازه‌گیری شدند. با افزایش سطوح کادمیوم وزن خشک اندام هوایی نسبت به شاهد کاهش نشان داد، با اینحال غلظت و مقدار کادمیوم جذب شده در اندام‌های هوایی در مقایسه با شرایط بدون مصرف کادمیوم به‌ترتیب 1/8 و 1/4 برابر افزایش نشان داد. مقدار کادمیوم جذب شده کل از 250 میکروگرم در تیمار بدون کادمیوم به 966 میکروگرم در گلدان در سطح 30 میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیوم رسید. وزن خشک کل گیاه با تلقیح ریزجانداران خاک در مقایسه با شرایط بدون تلقیح به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و بیشترین وزن خشک (27/5 گرم در گلدان) در تیمار باکتری‌های PGPR به دست آمد و 3/4 برابر بیشتر از شرایط بدون تلقیح (8/1 گرم در گلدان) بود. تلقیح ریزجانداران محرک رشد بطور معنی‌داری مقدار کل جذب کادمیوم توسط ذرت را نسبت به شرایط بدون تلقیح تا 2/57 برابر افزایش داد. در میان تیمارهای میکروبی باکتری‌های محرک رشد بیشترین تأثیر را بر وزن خشک و مقدار کادمیوم اندام‌های هوایی داشتند. با تلقیح ریزجانداران مفید غلظت کادمیوم در برگ‌ها کاهش یافت، اما با توجه به افزایش بیوماس گیاه، منجربه تجمع بیشتر کادمیوم در گیاه ذرت شدند. با توجه به نتایج چنین استنباط می‌شود که تلقیح باکتریهای محرک رشد و قارچ‌های میکوریز به‌ترتیب سبب افزایش استخراج‌گیاهی (Phytoextraction) و تثبیت‌گیاهی (Phytostabilization) کادمیوم توسط ذرت گردید.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های محرک رشد، میکوریز، کادمیوم، ذرت، گیاه پالایی

مقدمه

استفاده نادرست از تکنولوژی به دلایل زیادی از قبیل آلودگی ناشی از فعالیت کارخانجات صنعتی، استفاده از پساب‌های صنعتی در کشاورزی، رشد روز افزون جمعیت و گسترش پدیده شهرنشینی و در نتیجه

---

[1]. نویسنده مسئول، آدرس: ارومیه، دانشگاه ارومیه، پردیس نازلو، دانشکده کشاورزی-گروه علوم خاک، کد پستی 44931 - 57159

* دریافت: 90/12/23 و پذیرش: 91/12/9

تشدید آلودگی محیط زیست، سلامتی و حیات موجودات زنده به ویژه انسان را با خطرات جدی مواجه کرده است. خاک به عنوان یکی از اجزاء مهم محیط زیست، دریافت کننده انواع مختلفی از آلاینده‌ها از جمله پسماندها و آلاینده‌های شیمیایی و آلی بوده و از این نظر سلامت جوامع بشری را تحت تأثیر قرار می‌دهد (ارنست، 1996). فلزات سنگین سمی‌ترین آلاینده‌های معدنی هستند که وجودشان در خاک یا منشاء طبیعی داشته و یا در نتیجه فعالیت‌های بشری به محیط زیست وارد می‌شوند. در میان فلزات سنگین کادمیوم از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است، زیرا که به راحتی از طریق ریشه گیاه جذب می‌شود و اثرات ناشی از سمیت آن تا 20 برابر بیشتر از سایر فلزات سنگین است (رجایی و کریمیان، 1385؛ مک گرات و همکاران، 2001). سمیت کادمیوم به طور کلی موجب اختلال در متابولیسم عناصر کم مصرف، کاهش میزان کلروفیل، کاهش نسبت کربن دی اکسید و تعرق، کاهش مقاومت در مقابل عوامل بیماری‌زا، کاهش جذب عناصر غذایی توسط گیاه، کاهش راندمان آب مصرفی، ممانعت از فتوسنتز و کاهش نفوذپذیری دیواره سلولی در نتیجه افزایش ضخامت لایه اپیدرمی می‌شود (جونر و لیوال، 2001). دابین و همکاران (1978) گزارش کردند کادمیوم تمایل بالایی به تجمع در اجزای پروتئینی گیاه دارد. کادمیوم به عنوان عنصری سمی برای گیاه در نظر گرفته می‌شود و این سمیت ناشی از اختلالاتی است که در سیستم آنزیمی گیاهان ایجاد می‌کند. در حضور غلظت‌های بالای کادمیوم از تشکیل آنتوسیانین و رنگدانه‌های کلروفیل جلوگیری می‌شود. بنابراین درک عوامل موثر بر قابلیت استفاده این فلز و تأثیری که بر رشد و شرایط تغذیه‌ای گیاه دارد، از اهمیت فراوانی برخوردار است (ارنست، 1996؛ مک گرات و همکاران، 2001).

خاک‌های آلوده به فلزات سنگین علاوه بر تأثیرشان بر سلامتی جوامع، نیازمند صرف هزینه‌های زیادی برای حذف و جایگزینی می‌باشند. از این‌رو فناوری‌های مؤثر و ارزان برای بازیابی اراضی آلوده توسعه یافته است. گیاه‌پالایی یکی از این فناوری‌ها است که در آن از توانایی گیاهان و همزیستی گیاهان و میکروارگانیزم‌های خاک در جذب و پالایش آلاینده‌های خاک توسط گیاهان استفاده می‌شود (ژانگ و همکاران 2010). یکی از مشکلات گیاه‌پالایی، تحمل اندک گیاهان در شرایط تنش فلزات‌سنگین است که باعث می‌شود رشد و عملکرد گیاهان در خاک‌های آلوده به این فلزات کاهش یابد. به نظر می‌رسد استفاده از همزیستی میان میکروارگانیزم‌های محرک رشد گیاه از جمله باکتری‌های محرک رشد[1] (PGPR) و قارچ‌های میکوریز[2] (AMF) در افزایش جذب فلزات سنگین توسط گیاهان، افزایش تحمل گیاهان به غلظت‌های بالای فلزات سنگین در محیط رشد و بهبود وضعیت رشد و تغذیه‌ای گیاهان یکی از روش‌های مؤثر و مطمئن در گیاه‌پالایی خاک‌های آلوده به فلزات سنگین است (آندراد و همکاران، 2008؛ بورد و همکاران، 1998؛ گلیک و همکاران، 1998؛ ژانگ و همکاران، 2010). بلیمو و همکاران (2002) گزارش کردند تلقیح باکتری‌های محرک رشد گیاه به محیط رشد گیاه کلم روغنی موجب تحریک رشد گیاه و افزایش جذب عناصر غذایی در خاک آلوده به کادمیوم گردید. لیائو و همکاران (2003) نشان دادند که تلقیح میکوریزی با افزایش سطوح کادمیوم در خاک سبب افزایش ماده خشک ریشه گیاه در مقایسه با تیمار شاهد شده و افزایش غلظت مس و کادمیوم موجب افزایش جذب آنها در اندام هوایی و ریشه گیاه نسبت به تیمار شاهد گردید. همچنین جانوسکووا و همکاران (2007) تأثیر تلقیح میکوریزی را بر انباشت کادمیوم در سه واریته تنباکو مطالعه کرده و گزارش کردند که تلقیح میکوریزی مقدار ماده خشک اندام هوایی و غلظت عناصر پر مصرف را در ارقام مورد مطالعه تنباکو افزایش داد و در مجموع موجب افزایش جذب کادمیوم در شرایط آلودگی ناشی از این فلز گردید. در مطالعه‌ای مشابه جونر و لیوال (1997) نیز گزارش کردند که همزیستی قارچ‌های میکوریز با ریشه گیاه شبدر سبب افزایش جذب کامیوم در ریشه گیاه و کاهش انتقال آن از ریشه به اندام‌های هوایی شد، که دلیل آن را به فعال شدن موانع بیولوژیکی در مقابل اثرات سمی کادمیوم نسبت دادند. همچنین حَسنِین و صبری (1996) گزارش کردند تلقیح باکتری‌های سودوموناس و باسیلوس، گیاه خردل هندی را در برابر اثرات بازدارندگی کروم (Cr) حفاظت می‌کند که علت آن را می‌توان مربوط به تولید ایندول استیک اسید (IAA)، سیدروفور و محلول کردن فسفات توسط این باکتری‌ها دانست. تاکنون تحقیقات مختلفی در زمینه تأثیر قارچ‌های میکوریز و باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد در رشد گیاهان و جذب فلزات سنگین توسط گیاهان انجام شده است. در بیش‌تر این تحقیق‌ها تأثیر گونه‌های قارچ‌های میکوریز و باکتری‌های محرک رشد به‌طور جداگانه بررسی شده است. اما این تحقیق با هدف بررسی نقش قارچ‌های میکوریز و باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد به‌صورت ترکیبی از گونه‌های

[1] Plant growth promoting rhizobacteria: PGPR
[2] Arbuscular mycorrhizal fungi: AMF

قارچی و باکتریایی و همچنین تلقیح توأم قارچ‌های میکوریز و باکتری‌های محرک رشد، در رشد و جذب کادمیوم توسط ذرت سینگل‌کراس 704 انجام گردید.

مواد و روش‌ها

به منظور ارزیابی تلقیح میکروبی در کاهش اثرات سمی ناشی از غلظت‌های بیش از حدّ کادمیوم بر شاخص‌های رشد و تغذیه‌ای ذرت، آزمایشی گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی گروه علوم خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه اجرا گردید. پس از اندازه‌گیری غلظت برخی عناصر غذایی در چندین خاک، خاک مناسب از نظر تناسب عناصر غذایی برای کشت ذرت و اجرای آزمایش انتخاب شد. مقادیر کافی خاک از اراضی کشاورزی دانشگاه ارومیه تهیه گردید. خاک مورد استفاده (جدول 1) در این آزمایش یک خاک زراعی غیر گچی و غیر شور (از عمق 30-0 سانتی‌متری) با بافت رسی‌لومی و طبقه‌بندی آن از نوع Typic Haploxerept بود. فاکتورهای آزمایشی شامل فاکتور تلقیح میکروبی در چهار سطح بدون تلقیح (C)، تلقیح باکتری‌های سودوموناس بعنوان PGPR (B)، تلقیح میکوریز جنس گلوموس به عنوان AMF (F)، تلقیح همزمان باکتری‌های PGPR و AMF (BF) و فاکتور کادمیوم در چهار سطح 0، 10، 20 و 30 میلی‌گرم در کیلوگرم خاک بودند. سویه‌های میکروبی مورد استفاده در این بررسی شامل سودوموناس‌های گروه فلورسنت (ترکیبی از گونه‌های *P. putida*، *P. fluorescens* و *P. aeruginosa*) و قارچ میکوریز آربوسکولار (*Glomus versiforme*) بودند، که از بانک میکروبی بخش بیولوژی خاک موسسه تحقیقات خاک و آب کشور تهیه شدند. غلظت‌های کادمیوم با توجه به حدود غلظت بحرانی کادمیوم در خاک انتخاب شدند، به گونه‌ای که دامنه‌ای از غلظت صفر آن تا چندین برابر غلظت مجاز را بپوشاند.

برای آلوده کردن خاک به کادمیوم، ابتدا مقدار لازم کلرور کادمیوم ($CdCl_2.H_2O$) برای آلوده کردن جرم کل خاک مربوط به هر تیمار محاسبه و در ادامه از محلول مادر تهیه شده، مقدار مشخصی برداشته (با توجه به غلظت مورد نظر برای هر سطح) و به بخش کوچکی از خاک مورد نظر اضافه و با تمام خاک تیمار موردنظر مخلوط شد تا توزیع یکنواختی از کادمیوم در خاک ایجاد گردد. سپس خاک‌ها در گلدان‌های پلاستیکی به مدت حدود 5 ماه در دوره‌های متناوب خشک - مرطوب در دمای اتاق خوابانده شدند. در هر دوره خشک - مرطوب، خاک‌ها در گلدان‌ها اشباع و بعد اجازه داده شد تا هوا خشک گردند طوری‌که رطوبت خاک به حد نسبتاً ثابتی برسد. به منظور جلوگیری از آبشویی کادمیوم، از گلدان‌های بدون زهکش استفاده گردید. هر دوره تناوب خشک – مرطوب به‌مدت 40 روز طول کشید و بعد از هر دوره خاک گلدان‌ها به منظور ایجاد یکنواختی در غلظت کادمیوم کاملاً مخلوط گردیدند. پس از تکوین واکنش‌ها، خاک‌های آلوده به کادمیوم دو بار (با یک هفته فاصله) با استفاده از اتوکلاو در دمای 121 درجه سانتی‌گراد و فشار 1/5 اتمسفر به مدّت 2 ساعت استریل شدند.

برای اِعمال تیمارهای میکروبی، در گلدان‌های مربوط به تیمار قارچی قبل از کشت و در زیر بذور، مقدار 60 گرم از مایه تلقیح قارچی با پتانسیل حدود 250 پروپاگول در سانتیمتر مکعب به صورت لایه‌ای به ضخامت تقریبی 2 سانتیمتر اضافه شد. برای تیمار باکتریایی نیز مقدار 20 میلی‌لیتر از محیط کشت مایع حاوی باکتری‌هایی که به مدت 48 ساعت در دمای 28/5 درجه سانتی‌گراد در انکوباتور در محیط کشت نوترینت براث رشد کرده و جمعیت آنها در حدود 10^8 باکتری در میلی‌لیتر بودند، به گلدان‌های مورد نظر تلقیح گردید. تیمارهای شاهد مقدار مشابه از مایه تلقیح استریل‌شده دریافت نمودند. پس از اِعمال تیمارها کشت گیاه به تعداد 8 بذر ذرت رقم سینگل کراس 704 در گلدان‌های با ظرفیت 3 کیلوگرم خاک خشک انجام شد و نهایتاً 4 بوته در هر گلدان حفظ گردید. بذرهای ذرت از بانک بذر گروه زراعت دانشگاه ارومیه تأمین گردید. طی دوره رشد آبیاری گلدان‌ها تا ظرفیت زراعی صورت گرفت و دمای گلخانه در محدوده 30 الی 33 درجه کنترل گردید. پس از گذشت 12 هفته از تاریخ کشت، بوته‌ها در مرحله قبل از ظهور تاسل برداشت و اندام‌های هوایی و ریشه‌ها تفکیک شده و پس از شستشو در دمای 70 درجه سانتیگراد به مدّت 48 ساعت در آون خشک شدند. پس از این‌که نمونه‌ها به‌طور کامل خشک شده و وزن خشک آن‌ها به‌طور مجزا اندازه‌گیری گردید. سپس نمونه‌ها آسیاب شده و غلظت و مقدار کادمیوم اندازه‌گیری شد. غلظت کادمیوم در اندام‌های گیاهی به روش هضم تَر (با استفاده از سولفوسالسیلیک اسید) با استفاده از دستگاه جذب اتمی اندازه-گیری شد. به‌منظور تعیین درصد همزیستی میکوریزی، ریشه‌ها به روش رنگ‌آمیزی با تریپان بلو رنگ‌آمیزی شدند (نوریس و همکاران، 1992) و درصد همزیستی طول ریشه با روش مک‌گونیگل و همکاران (1990) تعیین گردید. داده‌های به دست آمده توسط نرم‌افزار آماری SAS نسخه 9.1 تجزیه و تحلیل گردیدند. مقایسات میانگین داده‌ها نیز با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد تأثیر سطوح مختلف کادمیم و تیمارهای میکروبی بر صفات اندازه‌گیری شده در سطح یک درصد ($P<0/01$)

معنی‌دار بود (جدول 2). مقایسه میانگین داده‌های به دست آمده از ارتفاع گیاه و وزن خشک اندام‌های هوایی و ریشه گیاه نشان داد که با افزایش سطوح کادمیوم ارتفاع گیاه در تمام تیمارها نسبت به شاهد کاهش یافته و اختلاف بین شاهد و سایر تیمارها معنی‌دار بود (جدول3). نتایج بیانگر آن بود که بین سطوح 10 و 20 میلی‌گرم کادمیوم در کیلوگرم خاک اختلافی از لحاظ آماری وجود نداشت. با این وجود، بیشترین کاهش ارتفاع در سطح 30 میلی‌گرم در کیلوگرم بدست آمد. در مجموع افزایش سطوح کادمیوم سبب کاهش ارتفاع گیاه به میزان 12% نسبت به شاهد گردید. در تیمارهای میکروبی، با تلقیح میکروارگانیزم‌ها به محیط رشد گیاه، ارتفاع گیاه نسبت به شاهد افزایش چشمگیری داشت و بین گیاهان تلقیح نشده و گیاهان تلقیح شده اختلاف معنی‌دار ($P<0/01$) بود. گرچه بین تیمار باکتری‌های سودوموناس و قارچ میکوریز اختلاف معنی‌داری ($P<0/01$) مشاهده نشد، با این حال بیشترین ارتفاع در میان تیمارهای میکروبی از تلقیح باکتری‌های محرک رشد حاصل شد که 97% نسبت به تیمار شاهد برتری داشت.

با افزایش غلظت کادمیوم وزن خشک ریشه و اندام‌های هوایی در تمام غلظت‌ها نسبت به شاهد کاهش یافت (جدول3). بین شرایط بدون کادمیوم و سطوح مختلف آن، اختلاف معنی‌داری ($P<0/01$) در وزن ریشه و اندام‌های هوایی وجود داشته، امّا اختلاف بین وزن خشک ریشه در تیمارهای 20 و 30 میلی‌گرم کادمیوم در کیلوگرم خاک معنی‌دار ($P<0/01$) نبود. مقایسه اثر اصلی کادمیوم بر وزن خشک گیاه حاکی از آن بود که وزن خشک در غلظت‌های 10، 20 و 30 میلی‌گرم در کیلوگرم به ترتیب 10/46، 18/05، 29/66 درصد در اندام‌های هوایی و 11/08، 16/18، 17/93 درصد در ریشه کاهش یافته است. در مجموع افزایش سطوح کادمیوم سبب کاهش ماده خشک به میزان 19/39% نسبت به شاهد شد. نتایج حاصل از تجزیه داده‌ها بیانگر آن بود که اثر کادمیوم بر کاهش زیست توده اندام‌های هوایی بیشتر از ریشه بود.

همان‌طور که در جدول (3) و شکل (1) نشان داده شده وزن خشک ریشه و اندام‌های هوایی در تمام تیمارهای میکروبی نسبت به شرایط کنترل بطور معنی‌داری ($P<0/01$) افزایش یافت. در میان تیمارهای میکروبی، تیمار PGPR در اندام‌های هوایی و تلقیح توأم PGPR و AMF در بخش ریشه بیشترین تأثیر را بر وزن خشک داشتند. بطوری‌که در اندام‌های هوایی تلقیح باکتریایی 2/44 برابر و در ریشه تلقیح مشترک باکتری‌های محرک رشد و قارچ میکوریز 2/18 برابر افزایش در وزن خشک نسبت به شاهد نشان دادند. در مجموع تلقیح میکروارگانیزم‌ها به محیط رشد سبب افزایش معنی‌داری ($P<0/01$) در وزن خشک گیاهان تلقیح شده در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده در شرایط آلایندگی کادمیوم گردید. وزن خشک کل گیاه با تلقیح ریزجانداران خاک در مقایسه با شرایط بدون تلقیح بطور معنی‌داری افزایش یافت و بیشترین وزن خشک (27/5 گرم در گلدان) در تیمار باکتری‌های PGPR به دست آمد و 3/4 برابر بیشتر از شرایط بدون تلقیح (8/1 گرم در گلدان) بود. اختلال در رشد گیاه می‌تواند به دلایل متعددی از جمله کاهش آب سلول، اختلال در روابط آبی گیاه به دلیل کاهش اندازه و تعداد آوندهای چوبی (بالستراس و همکاران، 2001)، کاهش جذب عناصر غذایی و کاهش وزن خشک به جهت اختلال در فرآیند فتوسنتز، تنفس و متابولیسم نیتروژن (بالستراس و همکاران، 2001؛ بارسلو و پوسچنریدر، 1990؛ کیم و همکاران، 2004) در اثر غلظت‌های سمی کادمیوم رخ دهد. همچنین غلظت بالای کادمیوم سبب کاهش وزن خشک ریشه گردید. به نظر می‌رسد سمیت کادمیوم، سبب جلوگیری از تقسیم سلولی و آسیب به دیواره‌ی سلولی ریشه می‌شود. بنابراین رشد ریشه گیاه کاهش یافته و به‌دنبال آن دسترسی و فراهمی عناصر غذایی را برای گیاه کاهش یافته است، (مت والی و همکاران، 2003). از فرآیندهای مهّم در خصوص مقاومت به اثرات سمی فلزات سنگین در پروکاریوت‌ها می‌توان به سنتز مواد پلیمریک برون سلولی که مخلوطی از پلی‌ساکاریدها، موکوپلی‌ساکاریدها و پروتئین‌هایی که توانایی بالایی در به دام انداختن و بی‌تحرک کردن ترکیبات سولفیدی و اکسیدی این فلزات دارند، اشاره کرد (سارا و همکاران، 2008).

نتایج حاصل از تجزیه آماری داده‌ها بیانگر آن بود که در گیاهان تلقیح شده با باکتری‌های سودوموناس وزن خشک اندام هوایی و ریشه و همچنین ارتفاع گیاه افزایش یافت (جدول 3). این احتمال وجود دارد که با تلقیح باکتری‌های محرک رشد گیاه تولید اتیلن در گیاه کاهش یافته باشد و در نتیجه موجب افزایش زیست توده گیاهی و ارتفاع گیاه شده است (هال و همکاران، 1996؛ گلیک، 2003؛ ژوانگ و همکاران، 2007).

تنش‌های محیطی از جمله تنش فلزات سنگین باعث افزایش تولید اتیلن در گیاهان و تجمع آن در ریشه گیاهان می‌شوند. افزایش بیش از حد اتیلن، اثر بازدارنده‌ای بر رشد و نمو گیاه دارد. در نتیجه با پائین آوردن سطح اتیلن در گیاه می‌توان رشد گیاه را بهبود بخشید. باکتری‌های محرک رشد تولید اتیلن در گیاه را کاهش داده و با کاهش

اثرات تنشی اتیلن، رشد گیاه را افزایش می‌دهند (گلیک، 2003؛ لیائو و همکاران، 2003). همانطور که در جدول (3) مشاهده می‌شود با افزایش سطوح کادمیوم در خاک، غلظت آن در اندام‌های هوایی گیاه نیز افزایش یافته و اختلاف این مقدار در تیمارهای میکروبی با تیمار شاهد معنی‌دار (P<0/01) بود. با افزایش غلظت کادمیوم در خاک یک روند افزایشی معنی‌دار (P<0/01) در غلظت کادمیوم ریشه نیز مشاهده شد. طوری‌که در غلظت 30 میلی‌گرم کادمیوم در کیلوگرم خاک، غلظت آن در ریشه 2/77 برابر افزایش را نسبت به شاهد نشان داد که اختلاف معنی‌داری با سایر سطوح کادمیوم داشت. همچنین غلظت کادمیوم در گیاهان تلقیح شده با میکروارگانیزم‌های محرک رشد در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده کم‌تر بود. در اندام‌های هوایی کمترین غلظت کادمیوم از تلقیح مشترک باکتری‌های سودوموناس و قارچ گلوموس ورسی‌فورم به دست آمد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که افزایش سطوح کادمیوم یک روند افزایشی را در مقدار تجمع آن توسط گیاه موجب شد (جدول 3 و شکل 2). این افزایش، اختلاف معنی‌داری (P<0/01) را بین شاهد و سایر تیمارها نشان داد. در تیمارهای مختلف با افزایش سطوح غلظت کادمیوم، مقدار آن در اندام‌های هوایی به ترتیب 0/26، 0/47، 0/39 برابر و در ریشه به ترتیب 0/09، 0/48، 1/1 برابر افزایش را نسبت به شاهد داشت. بیشترین مقدار کادمیوم در اندام‌های هوایی(383/7 میکروگرم در گلدان در تیمار تلقیح باکتریایی) از سطح 20 میلی‌گرم کادمیوم در کیلوگرم و در ریشه (717 میکروگرم در گلدان در تیمار تلقیح توام) از سطح 30 میلی‌گرم در کیلوگرم حاصل شد. در اندام‌های هوایی از سطح صفر تا سطح 20 میلی‌گرم در کیلوگرم یک روند افزایشی در مقدار تجمع کادمیوم مشاهده شد. امّا با افزایش سطح کادمیوم از 20 به 30 میلی‌گرم در کیلوگرم مقدار کادمیوم بطور معنی‌داری (P<0/01) کاهش یافت. این یافته بیانگر آن است که افزایش سطح کادمیوم تا 20 میلی‌گرم در کیلوگرم باعث افزایش آن در اندام‌های هوایی گردید، امّا در غلظت 30 میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیوم، کاهش تجمع آن در اندام‌های هوایی مشاهده گردید (جدول 3).

تیمار تلقیح باکتری‌های محرک رشد توانست مقدار کادمیم جذب‌شده را افزایش دهد، امّا در مورد غلظت آن، گیاهان تلقیح شده با این باکتری‌ها در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده کاهش معنی‌داری (P<0/01) را نشان دادند (جدول 3). افزایش مقدار جذب کادمیوم (انباشت) ممکن است به دلیل افزایش رشد و سطح ریشه و در نتیجه دسترسی ریشه گیاه به حجم بیشتری از خاک باشد. این احتمال نیز وجود دارد که باکتری‌های مورد استفاده با تولید آنزیم‌ها و ترکیبات خاص باعث افزایش کادمیم قابل جذب توسط گیاه شده باشند و از این طریق جذب آن را توسط ریشه تسهیل کرده‌اند (پنروز و گلیک، 2001).

تلقیح میکروب‌ها مقدار کادمیوم تجمع‌یافته در ریشه را در مقایسه با شاهد افزایش دادند و تفاوت معنی‌داری بین تلقیح میکوریزی، تلقیح باکتری‌های محرک رشد و تلقیح توأم باکتریایی و میکوریزی در مقدار کادمیوم جذب‌شده مشاهده شد. تلقیح قارچهای میکوریزی در مقدار کادمیوم ریشه در مقایسه با سایر تیمارها تأثیر بیش‌تری نشان داد و بیشترین جذب کادمیوم از تلقیح مشترک باکتریایی و میکوریزی با 7/5 برابر افزایش نسبت به شاهد حاصل شد (جدول 3 و شکل 2). باکتری‌های محرک رشد گیاه رشد ریسه‌ها و میسیلیوم‌های بیرونی قارچ‌های میکوریز را افزایش می‌دهند (سارا و همکاران، 2008). همچنین قارچ‌های میکوریز می‌توانند با غیرمتحرک‌کردن کادمیوم در ریسه‌ها و زیست‌توده قارچی سمیت آن‌ها را کاهش داده و جذب آن‌ها را در ریشه گیاهان افزایش دهند (جونر و لیوال، 1997 و 2001). به‌همین دلیل بیش‌ترین جذب کادمیوم در تیمار تلقیح مشترک باکتریایی و میکوریزی بود. این نتایج با نتایج بسیاری از پژوهش‌گران مشابه بود برای مثال ویواس و همکاران (2003) گزارش کردند تلقیح مشترک قارچ میکوریز گلوموس با باکتری باسیلوس در خاک‌های آلوده به کادمیوم جذب کادمیوم در ریشه گیاه شبدر را می‌افزاید. همچنین دیوپنوسیس و همکاران (2006) گزارش کردند تلقیح مشترک قارچ‌های میکوریز با باکتری سودوموناس سبب افزایش چشم‌گیر جذب کادمیوم در ریشه‌های گیاه سورگوم می‌شود.

همچنین تلقیح میکروبی اختلاف معنی‌داری (P<0/01) را در مقدار کادمیوم اندام‌های گیاهی در مقایسه با گیاهان تلقیح‌نشده نشان داد. اندام‌های هوایی گیاهان تلقیح‌شده با PGPRها مقدار بالاتری کادمیوم نسبت به سایر تیمارها از جمله تیمارهای میکوریزی و تلقیح توأم داشتند، بطوری‌که مقدار کادمیوم در این تیمارها بیش از 3 برابر تیمارهای بدون تلقیح بود. این نتایج نشان می‌دهد که تلقیح باکتری‌های سودوموناس منجربه افزایش انتقال کادمیوم به اندام‌های هوایی شده است و از نقطه نظر پالایش سبز، استخراج کادمیوم را افزایش داده است. بطورکلی مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بین گیاهان تلقیح شده با میکروارگانیزم‌ها و گیاهان تلقیح نشده تفاوت معنی‌داری در جذب کل کادمیوم در

شرایط آلایندگی ناشی از فلز کادمیوم در محیط رشد گیاهان وجود داشت.

با توجه به جدول (3) و شکل (2) می‌توان بیان کرد که بخش ریشه ذرت در مقایسه با اندام‌های هوایی تحمل بیشتری به غلظت‌های بالای کادمیوم دارد و مقدار بیشتری از کادمیوم را در خود انباشته کرده است، به‌ویژه زمانی که ریشه‌ها با قارچ‌های میکوریز همزیستی داشته‌اند. شکل 2 نشان می‌دهد که در شرایط همزیستی میکوریزی مقدار تجمع کادمیوم در ریشه‌ها افزایش یافته است، یعنی آلودگی میکوریزی سبب تثبیت مؤثر کادمیوم در ریشه ذرت گریده است. نتایج تأثیر تیمارهای میکروبی بیان‌گر این مطلب است که تلقیح باکتری‌های محرک رشد و قارچ میکوریز آربوسکولار به دلیل داشتن تماس مستقیم با ریشه و وجود رابطه همزیستی با گیاه ذرت، تولید برخی متابولیت‌ها و هورمون‌های محرک رشد گیاه مانند اکسین، سایتوکینین، جیبرلین و همچنین تولید آنزیم‌های مؤثر در کاهش تنش اتیلنی ناشی از اثرات سوء فلزات سنگین، تحمّل ریشه را به غلظت‌های بالای کادمیوم افزایش داده و موجب تجمع بیشتر کادمیوم نسبت به اندام‌های هوایی شده است، بطوریکه بخش اعظم کادمیوم جذب شده توسط کل گیاه، در بخش ریشه انباشته شده است. با این حال در تیمارهایی که صرفا با باکتری‌های محرک رشد تلقیح شده بودند، وضعیت برعکس مشاهده گردید یعنی تجمع کادمیوم به نفع اندام‌های هوایی بود و مقدار کادمیوم اندام‌های هوایی بیشتر از کادمیوم تجمع‌یافته در ریشه بود. تلقیح تیمارهای میکروبی جذب کادمیوم اندام هوایی را نسبت به شاهد افزایش (به طور متوسط 3 برابر) داد و همانطور که اشاره گردید تیمار باکتریایی بیشترین تأثیر را بر مقدار کادمیوم در اندام‌های هوایی داشت. بعضی از ریزوباکترها می‌توانند یک سری ترشحات مثل آنتی بیوتیک-های حل‌کننده‌ی فسفات، اسیدهای هیدروسایکلین و ایندول استیک اسیدها (IAA) را ترشح کنند که زیست فراهمی فلزاتی مثل آهن منگنز، فلزات غیر ضروری مثل کادمیم را افزایش داده و غلظت ریشه‌ای آنها را تسهیل کند و مقاومت گیاه میزبان را توسط غلظت فسفر و تحریک رشد گیاهان را افزایش دهد (بورد و همکاران، 1998). کاهش رشد و زیست توده گیاهی یکی از اثرات اولیه غلظت‌های سمی کادمیوم بر گیاهان است. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که غلظت بالا کادمیوم اثرات سوء بر وزن خشک ذرت داشته و از رشد گیاه ممانعت کرده است. استفاده از باکتری‌های محرک رشد که قابلیت تولید آنزیم ACC دِآمیناز دارند مانند سودوموناس‌ها، با تأثیری که بر کاهش سطح اتیلن ناشی از تنش فلزات سنگین در گیاه می‌گذارند و همچنین با تولید سیدروفورهای میکروبی و ترکیبات متابولیت، می‌توانند در دست‌یابی به هدف مورد نظر که همان افزایش تولید و پالایش آلاینده‌ها است، بسیار مفید باشند (هاگ-کیور و همکاران، 1999؛ گلیک و همکاران، 1998؛ گلیک، 2003).

در مورد کادمیوم جذب شده کل توسط گیاه (مجموع مقادیر کادمیوم در اندام‌های هوایی و ریشه‌ها) نیز، با افزایش سطوح کادمیوم، جذب آن بطور معنی‌داری ($P<0/01$) افزایش یافت، به‌طوری‌که بیشترین جذب کل از سطح 30 میلی‌گرم در کیلوگرم به دست آمد و به‌طور متوسط مقدار کادمیوم جذب شده کل نسبت به سطح صفر آن نزدیک به 2 برابر افزایش یافت (جدول 3). تلقیح میکروارگانیزم‌ها نیز جذب کل کادمیوم را افزایش داد و هر چند بین سطوح باکتریایی و تلقیح مشترک میکروبی تفاوت معنی‌دار نبود، با این حال تیمار تلقیح توأم باکتری‌های محرک رشد گیاه و میکوریز تأثیر بیش‌تری داشت و جذب کل کادمیوم را به مقدار 676 میکروگرم در گلدان رساند که نسبت به شرایط بدون تلقیح چهار برابر افزایش تجمع نشان داد (شکل 3).

نتایج تعیین درصد همزیستی طول ریشه گیاه ذرت نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم، این شاخص بطور معنی‌داری کاهش یافت (جدول 4). در غلظت‌های بالای کادمیوم، درصد همزیستی میکوریزی از 45/7% در شرایط Cd0 به حدود 18/3% در تیمار Cd30 کاهش پیدا نمود. یعنی افزایش غلظت کادمیوم تا 30 میلی‌گرم در کیلوگرم، درصد همزیستی ریشه ذرت را به میزان 2/5 برابر نسبت به شرایط بدون کادمیوم کاهش داد. مطالعات نشان داده که عناصر سنگین بر کلونیزاسیون میکوریزی ریشه را محدود می‌نمایند (آندراید و همکاران، 2008؛ لیائو و همکاران، 2003). کیم و همکاران (2004) نشان دادند که کادمیوم سبب کاهش میزان آلودگی میکوریزی درختان کاج گردید. همچنین با بررسی تأثیر همزیستی میکوریزی بر رشد گیاه ذرت در شرایط آلودگی کادمیوم و فسفر بالا نشان داده شد که با افزایش غلظت کادمیوم درصد همزیستی کاهش یافت و کادمیوم رشد و گسترش هیف‌های قارچی و طول ریشه‌های آلوده را محدود نمود (سارا و همکاران، 2008).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش نشانگر آن است که تأثیر باکتری‌های محرک رشد در کاهش غلظت و افزایش جذب کادمیوم اندام‌های هوایی محسوس‌تر از قارچ میکوریز است، علت آن را می‌توان به کاهش کلنیزاسیون ریشه (جدول 4) و متحمل نبودن قارچ میکوریز در غلظت‌های بالای کادمیوم در خاک نسبت داد. چندین دلیل برای این موضوع می‌تواند وجود داشته باشد. یکی

اینکه در کشت گلدانی حجم خاکی که در اختیار گیاه است، محدود بوده و ریشه گیاه تقریباً به تمامی حجم خاک دسترسی دارد و با این وجود، شبکه هیف قارچ‌ها نمی‌تواند کارائی را که در حجم زیاد خاک مزرعه‌ای دارد، در شرایط گلخانه و کشت گلدانی نشان دهد و نیز ممکن است باکتری‌های سودوموناس بکار رفته در این پژوهش با تولید ترکیبات و فیتوهورمون‌های خاص اثر منفی بر قارچ و رابطه همزیستی آن با گیاه ذرت داشته است. این احتمال نیز وجود دارد که با تلقیح باکتری‌های محرک رشد گیاه، به دلیل تأثیر منفی بر فعالیت قارچ تلقیح شده، همزیستی میکوریزی در زمان طولانی‌تری ایجاد شده و در نتیجه، گیاه دیرتر توانسته از اثرات مفید این همزیستی بهره‌مند شود. نتایج مشابهی توسط مک آلیستر و همکاران (1994) گزارش شده است. به‌طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد که تلقیح قارچ‌های میکوریز آربوسکولار و باکتری‌های سودوموناس سبب افزایش رشد ذرت و کاهش غلظت کادمیوم در ریشه و اندام‌های هوایی (اثر رقت) سبب افزایش جذب کادمیوم توسط ذرت شدند. از میان تیمارهای میکروبی تلقیح توأم باکتری و قارچ میکوریز بیشترین تأثیر را در جذب کادمیوم در ریشه و باکتری‌های محرک رشد بیشترین تأثیر را در جذب کادمیوم در اندام هوایی داشتند. بعبارت دیگر می‌توان گفت که تلقیح ترکیبی از باکتری‌های محرک رشد سبب افزایش استخراج‌گیاهی (Phytoextraction) کادمیوم و تلقیح ترکیبی با قارچ‌های میکوریز منجربه تثبیت (Phytostabilization) بیشتر آن گردیده است. با این وجود تلقیح توأم باکتری و قارچ میکوریز نقش مؤثرتری در افزایش کادمیوم در کل گیاه داشتند. این افزایش جذب فلزات سنگین در افزایش کارآیی گیاه‌پالایی بسیار مفید می‌باشد و می‌تواند به‌عنوان راهکاری مؤثر در افزایش کارآیی گیاه‌پالایی خاک‌های آلوده به فلزات سنگین مورد استفاده قرار گیرد.

جدول 1- برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خصوصیات خاک مورد مطالعه

خصوصیت	بافت	pH	EC (dSm^{-1})	کربنات کلسیم معادل (%) (CCE)	ماده آلی(O.M) (%)	DTPA-Cd ($mg\ kg^{-1}$)
مقدار	رسی - لومی	7/57	1/27	28/75	1/06	0/4

جدول 2- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) تأثیر سطوح کادمیوم و تیمارهای میکروبی بر صفات اندازه‌گیری شده

منابع تغییرات	درجه آزادی	غلظت Cd در اندام-های هوایی	غلظت Cd در ریشه	مقدار Cd در اندام‌های هوایی	مقدار Cd در ریشه	مقدار کل Cd	وزن خشک اندام‌های هوایی	وزن خشک ریشه	ارتفاع گیاه
تیمار میکروبی	3	53/44**	667/91**	120385/65**	250604/93**	2535470/56**	507/4**	86/77**	313/35**
کادمیوم	3	404/4**	5236/21**	16263/28**	143576/87**	1119295/85**	61/97**	3/69**	272/24**
میکروبی *کادمیوم	9	100/01**	266/39**	12147/05**	22293/24**	2666718/39**	16/75**	1/911**	141/58**
خطا	32	0/543	2/55	176/89	160/78	2302/06	0/225	0/069	25
ضریب تغییرات		4/64	3/86	5/83	4/88	4/79	3/05	4/34	8/62

ns اختلاف معنی‌دار نیست؛ ** در سطح 1% معنی‌دار است؛ * در سطح 5% معنی‌دار

جدول 3- اثرات متقابل سطوح کادمیوم و تیمارهای میکروبی بر غلظت و مقدار کادمیوم، ماده خشک اندام‌های هوایی و ارتفاع گیاه

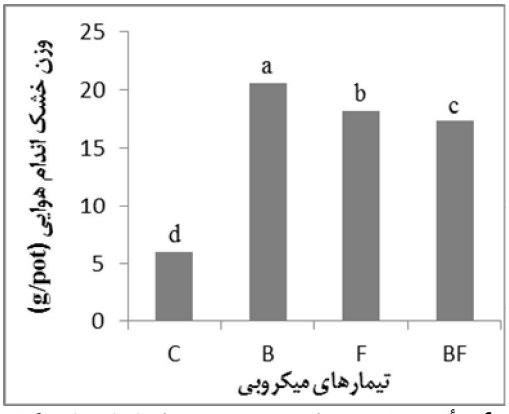
تیمارها		غلظت Cd در اندام-های هوایی	غلظت Cd درریشه	مقدار Cd در اندام‌های هوایی	مقدار Cd در ریشه	مقدار Cd در کل گیاه	وزن خشک اندام‌های هوایی	وزن خشک ریشه	ارتفاع گیاه
		(mg/kg)		(µg/pot)			g/pot		cm
Cd0	C	12/4hi	18/3g	167/4e	82/7h	249/1i	13/5g	4/5g	55ed
	B	11/5i	18/4g	253d	124/3g	377/3h	22a	7/3cd	67abc
	F	6/5k	16/4g	121/5f	124/6g	246/6i	18/7c	7/6c	69abc
	BF	9/2j	18/4g	171/1e	275/2e	446/3g	18/6c	8b	63bcd
Cd10	C	11/7i	17/2g	49/1gh	24j	73/1l	4/2h	1/7h	33f
	B	14/7fg	37/4f	308/7c	413c	721/7cd	21b	7/3cd	71/7ab
	F	13/5hg	40ef	287/5cd	280e	567/5ef	21/3ab	7def	72ab
	BF	13/5hg	42/2e	252/5d	496b	748/5c	18/7c	8/5a	52e
Cd20	C	13/1h	17/8g	56/3g	151fg	207/3j	4/3h	1/4h	29/3f
	B	18/1d	51/4d	383/7a	535d	738/7c	21/2ab	6/8ef	70/7abc
	F	16/7e	56/3c	297/3cd	411c	708/3d	17/8d	7/3dc	72/7a
	BF	19/3c	57/2c	316/5c	230f	546/5f	16/4e	7/5c	59/3de
Cd30	C	38/3a	68a	76/6g	67h	143/6k	2i	0/87i	25/3f
	B	19/4c	65/2b	355b	244/8ef	599/8e	18/3cd	6/5f	71/3ab
	F	20/7b	69/7a	310/5c	501/8b	812/3b	15f	7/2de	61/7cd
	BF	15/7f	67/5ab	249/6d	717a	966/6a	15/9e	8b	52e

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون، اختلاف معنی‌داری ندارند (دانکن 1%).

تیمار میکروبی بدون تلقیح (C)، تلقیح باکتریایی (B)، تلقیح میکوریزی (F) و تلقیح توام باکتریایی و میکوریزی (BF)

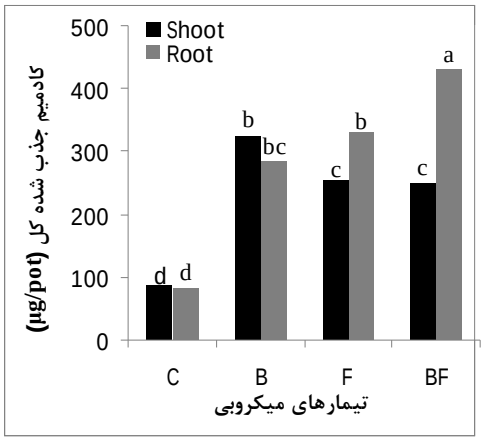
جدول 4- نتایج تاثیر غلظت‌های مختلف کادمیوم بر میزان همزیستی میکوریزی ریشه ذرت

غلظت کادمیوم ($mg\ kg^{-1}$)	همزیستی میکوریزی (%)
0	45/7a
10	31b
20	29b
30	18/3c



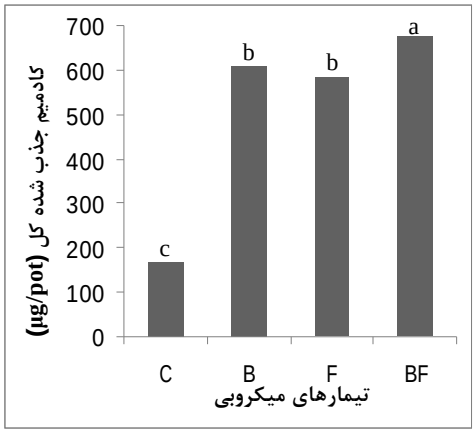
شکل 1- تأثیر تیمارهای میکروبی بر وزن خشک اندام‌هوایی گیاه ذرت

(C: بدون تلقیح، B: تلقیح با باکتری‌های PGPR، F: تلقیح با قارچ میکوریز (*G.versiforme*) و BF: تلقیح توأم باکتری‌های PGPR و میکوریز)



شکل 2- تأثیر تیمارهای میکروبی بر مقدار تجمع کادمیوم در اندام هوایی و ریشه گیاه ذرت

(C: بدون تلقیح، B: تلقیح با باکتری‌های PGPR، F: تلقیح با قارچ میکوریز (*G.versiforme*) و BF: تلقیح توأم باکتری‌های PGPR و میکوریز**)**



شکل 3- تأثیر تیمارهای میکروبی بر کادمیوم جذب شده کل توسط گیاه ذرت

(**C**: بدون تلقیح، **B**: تلقیح با باکتری‌های **PGPR**، **F**: تلقیح با قارچ میکوریز (***G.versiforme***) و **BF**: تلقیح توأم باکتری‌های **PGPR** و میکوریز)

فهرست منابع:

1. رجایی م و کریمیان ن. 1385. اثر کادمیوم اضافه شده و زمان خواباندن بر شکل‌های شیمیایی کادمیوم، رشد و ترکیب شیمیایی اسفناج در دو بافت خاک. مجموعه مقالات همایش خاک، محیط زیست و توسعه پایدار، کرج، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، صفحه 322-321.
2. Andrade, S.A., Silveira, A.P., Jorge R.A., and M.F. de Abreu. 2008. Cadmium accumulation in sunflower plants influenced by arbuscular mycorrhiza. J. Phytoremediation. 10(1):1-13.
3. Balestrasse, K.B., Gardey, L., Gallego, S.M., and M.L. Tomaro. 2001. Response of antioxidant defence system in soybean nodules and roots subjected to cadmium stress. Aust. J. Plant Physiol. 28:497-504.
4. Barcelo, J. and C. Poschenrieder. 1990. Plant water relations as affected by heavy metal stress: A review. Journal of Plant Nutr, 13:1-37.
5. Belimov, A.A., Safronova, V.I., and T. Mimura. 2002. Response of spring rape to inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria containing 1-aminocyclopropane-1-

carboxylate deaminase depends on nutrient status of the plant. Can. J. Microbiol. 48(3):189-199.
6. Burd, G.I., Dixon, D.C., and B.R. Click. 1998. A plant growth promoting bacterium that decreases nickel toxicity in seedlings. Applied and Environ. Microbiol. 64:3663-3668.
7. Dabin, P., Marafanet, E., Miusny, J.M., and C. Myttenuere. 1978. Adsorption, Distribution and Binding of Cadmium and Zinc in irrigated rice plant. Plant Soil. 50:32-36.
8. Duponnois, R., Kisa, M., Assigbetse, K., Prin, Y., Thioulouse, J., Issartel, M., Moulin, P., and M. Lepage. 2006. Fluorescent pseudomonads occurring in Macrotermes subhyalinus mound structures decrease Cd toxicity and improve its accumulation in sorghum plants. Sci. Environ. 370: 391–400.
9. Ernest, W.H.O. 1996. Bioavailibility of heavy metal and decontamination of soil py plant. Applid Geochem. 11:163-167.
10. Glick, B.R., Penrose D.M., and J.P. Li. 1998. A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth-promoting bacteria. J Theor Biol, 190(1):63–68.
11. Glick, R.B. 2003. Phytoremediation: synergistic use of plants and bacteria to clean up the environment. Biotechnol. Adv. 21:383–393.
12. Haag-kever, A., Schafer, H.J., Heiss, S., Walter, C., and T. Rausch. 1999. Cadmium expose in *Brassica juncea* cause a decline in transpiration rate and leaf expansion without effect on photosynthesis. J. Experimental Botany. 50:1827-1835.
13. Hall, J.A., Peirson, D., Ghosh, S., and B.R. Glick. 1996. Root elongation in various agronomic crops by the plant growth promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida GR12-2*. Isr. J. Plant Sci. 44(2):37-42.
14. Hasnain, S., and A.N. Sabri. 1996. Growth Stimulation of Triticum Aestivum Seedlings under Cr-Stresses by Non Rhizospheric Pseudomonad Strains. Abstracts of the 7th International Symposium on Biological Nitrogen Fixation with Non-Legumes. Kluwer Academic Publishers, the Netherlands. p.36.
15. Janousˇkova´, M., Vosa´tka, M., Rossi, L., and N. Lugon-Moulin. 2007. Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation on cadmium accumulation by different tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) types. Applied Soil Ecology, 35:502–510.
16. Joner, E.J., and C. Leyval, 1997. Uptake of 190Cd by roots and hyphae of a Glomus mosseae/Trifolium subterraneum mycorrhiza from soil amended with high and low concentrations of cadmium. New Phytol, 135:353–360.
17. Joner, E.J., and C. Leyval. 2001. Time course of heavy metal uptake in maize and clover as affected by root density and different mycorrhizal inoculation regimes. Biol. and Fertil. Soils. 33:351-357.
18. Kim. C.G., Power S.A., and J.N. Bell. 2004. Effects of host plant exposure to cadmium on mycorrhizal infection and soluble carbohydrate levels of *Pinus sylvestris* seedlings. Environ. Pollut., 131(2):287-94.
19. Liao J.P., Lin X.G., Cao Z.H., Shi Y.Q., and Wong M.H. 2003. Interactions between arbuscular mycorrhizae and heavy metals under sand culture experiment. Chemosphere, 509(6):847-853.
20. McAllister, C.B., Garca-Romera, I., Godeas, A., and J.A. Ocampo. 1994. Interactions between *Trichoderma koningii*, *Fusarium solani* and *Glomus mosseae*: Effects on plant growth, Arbuscular Mycorrhizas and the saprophyte inoculants. Soil Biol. 26:1363–1367.
21. McGonigle T.P., Miller M.H., Evans D.G., Fairchild G.L., and Swan J.A. 1990. A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. New Phytol., 115:495-501.
22. McGrath S.P., Zhao, F.J., and E. Lombi. 2001. Plant and rhizosphere processes involved in phytoremediation of metal-contaminated soils. Plant Soil. 323:207–14.

23. Metwally A., Finkemeier I., George M., and Dietz K.J. 2003. Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in barley seedlings. Plant Physiology, 132:272-281.
24. Norris J.R., Read D.J., and Varma A.K. 1992. Methods in Microbiology. Volume 24, Techniques for the Study of Mycorrhiza, Academic Press, London.
25. Penrose, D.M., and B.R. Glick. 2001. Levels of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) in exudates and extracts of canola seeds treated with plant growth promoting bacteria. Can. J. Microbiol. 47(4):368-372.
26. Sara, AL. de Andrade and Adriana, P.D. da Silveira. 2008. Mycorrhiza influence on maize development under Cd stress and P supply. Braz. J. Plant Physiol. 20(1):39-50.
27. Vivas, A., Azcon, R., Biro, B., Barea, J.M. and J.M. Ruiz-Lozano. 2003. Influence of bacterial strains isolated from lead-polluted oil and their interactions with arbuscular mycorrhizae on the growth of *Trifolium pratense* L. under lead toxicity. Microbiol. 49: 577–588.
28. Zhang, H.H., Tang, M. and C. Zheng. 2010. Effect of inoculation with AM fungi on lead uptake, translocation and stress alleviation of *Zea mays* L. seedlings planting in soil with increasing lead concentrations. Euro. J. Soil Biol. 46:306-311.
29. Zhuang, X., Chen, J., Shim, H., and Z. Bai. 2007. New advances in plant growth promoting rhizobacteria for bioremediation. Environ. 33406–413.