نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۵، شماره ۲، خرداد – تیر ۱۳۹۰، ص. ۲۷۴-۲۶۶

Journal of Water and Soil
Vol. 25, No.2, May-Jun 2011, p. 266-274
Archive of SID

برهم کنش قارچ‌های میکوریز آربوسکولار و باکتری‌های PGPR مقاوم به کادمیوم در گیاه پالایی کادمیوم

الهام ملک زاده[1*]- حسینعلی علیخانی[2]- غلامرضا ثواقبی فیروزآبادی[3]- مهدی زارعی[4]

تاریخ دریافت:۸۹/۲/۲۶
تاریخ پذیرش:۸۹/۱۲/۱

چکیده

برهم کنش بین قارچ‌های میکوریز آربوسکولار بومی (*Glomus mosseae*) و غیر بومی (*Glomus* spp.) مناطق آلوده با باکتری‌های مقاوم به کادمیوم و محرک رشد گیاه بومی مناطق آلوده (*Bacillus mycoides* و *Micrococcus roseus*) بر رشد، جذب کادمیوم و عناصر غذایی توسط گیاه ذرت (*Zea mays* L.)، در خاک آلوده به کادمیوم بررسی گردید. با افزایش سطح کادمیوم خاک، وزن خشک اندام هوایی، ریشه، مقدار فسفر و آهن اندام هوایی کاهش و مقدار کادمیوم اندام هوایی و ریشه افزایش یافت. درصد کلنیزاسیون ریشه در سطوح مختلف کادمیوم و در مایه زنی توام با باکتری‌های محرک رشد گیاه متفاوت بود. بیشترین وزن خشک اندام هوایی و ریشه، جذب فسفر و آهن به اندام هوایی در غلظت‌های بالای کادمیوم، در تیمار گلوموس موسه بود. در تیمارهای فقط میکوریزی در سطوح ۱۰۰ و ۲۰۰ کادمیوم، به ترتیب گیاهان کلنیزه شده با *Glomus* spp. و گلوموس موسه بیشترین مقدار کادمیوم ریشه را داشتند. در هر دو سطح کادمیوم، مایه زنی توام باکتری‌های میکروکوکوس روزئوس و باسیلوس میکودیس با گلوموس موسه به ترتیب منجر به افزایش و کاهش مقدار کادمیوم اندام هوایی در مقایسه با مایه زنی جداگانه گلوموس موسه گردید. این در حالی است که در سطوح ۱۰۰ و ۲۰۰، مایه زنی توام باکتری‌های محرک رشد گیاه با *Glomus* spp. به ترتیب منجر به افزایش و کاهش یا عدم تفاوت معنی دار در جذب کادمیوم به اندام هوایی گردید. تیمار مایه زنی توام گلوموس موسه با باکتری میکروکوکوس روزئوس با بیشترین مقدار تجمع کادمیوم در گیاه، موثرترین تیمار در گیاه پالایی و تثبیت کادمیوم شناخته شد.

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

مقدمه

آلودگی خاک به فلزات سنگین نتیجه بسیاری از فعالیت‌های بشری نظیر معدن کاوی، استخراج و ذوب فلزات و کاربرد کودها، سموم و قارچ کش‌های کشاورزی و غیره می‌باشد که سلامتی بشر و زیست بوم را به خطر می‌اندازد (۱۲). کادمیوم فلز سمی برای موجودات زنده و محیط زیست می‌باشد. وسعت زیادی از خاک‌های کشاورزی جهان به دلیل استفاده درازمدت از کودهای فسفاتی، لجن فاضلاب و غیره به غلظت‌های کم تا متوسط کادمیوم آلوده شده اند (۳۱). روش‌های فیزیکوشیمیایی مرسومی که برای پالایش خاک‌های آلوده به فلزات سنگین توسط گیاهان می‌باشد. موفقیت این روش نه تنها به گیاه، بلکه به اثرات متقابل ریشه‌های گیاه با میکروارگانیسم‌های ریزوسفری و گونه و غلظت فلزات سنگین در خاک بستگی دارد (۲۱). باکتری‌های محرک رشد گیاه جذب عناصر غذایی و رشد گیاه را از طریق مکانیسم‌های متعدد نظیر تثبیت زیستی نیتروژن، تولید هورمون‌های گیاهی، ویتامین ها، آنزیم ها، سیدروفورها، آنتی بیوتیک ها، تولید آنزیم ACC- دآمیناز و ممانعت از تولید اتیلن تنشی و انحلال فسفات‌های آلی و معدنی افزایش می‌دهند (۲۲). بنابراین میکروارگانیسم‌های ریزوسفری از طریق مکانیسمهای مستقیم و غیر میستقیم می‌توانند زیست توده گیاه و تحمل گیاهان را به فلزات

۱،۲و۳- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و دانشیاران گروه مهندسی علوم خاک، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران
(*- نویسنده مسئول: Email:malekzadeh.elham@gmail.com)
۴- استادیار گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

www.SID.ir

Archive of SID

سنگین افزایش دهند (۱۵). مایه زنی توام باکتری‌های محرک رشد گیاه با قارچ‌های میکوریز آربوسکولار روش مناسبی برای افزایش کارآیی گیاه پالایی می‌باشد (۲۱). قارچ‌های میکوریزی آربوسکولار ارتباط مستقیمی بین خاک و ریشه‌های گیاه برقرار می‌کنند، به این ترتیب کارآیی گیاه پالایی را از طریق تاثیر بر قابلیت دسترسی فلزات سنگین و افزایش تحمل گیاه تحت تاثیر قرار می‌دهند (۱۱). مکانیسم هایی که قارچ میکوریز آربوسکولار برای کاهش تنش فلزات سنگین برای گیاهان اعمال می‌کنند شامل کلات شدن و غیر پویایی فلزات سنگین در میسلیوم‌های خارجی، بهبود تغذیه معدنی بویژه فسفر، تغییر pH ریزوسفر، تنظیم بیان ژن ناقل‌های فلزی و غیره می‌باشد (۷، ۱۶و ۲۰). علاوه بر این، قارچ‌های میکوریز آربوسکولار جذب فلزات توسط گیاهان را از خاک و انتقال آن به ریشه و اندام هوایی تحت تاثیر قرار می‌دهد که به نوع فلز، گیاه و گونه/اکوتیپ قارچ بستگی دارد (۲۴). دیپنوسیس و همکاران (۱۰) نشان دادند که سودوموناس مونتولی نه تنها کلنیزاسیون ریشه گیاه سورگوم را افزایش می‌دهد، بلکه به عنوان باکتری کمک کننده میکوریزی عمل می‌کند و به میزان قابل ملاحظه ای جذب کادمیوم توسط گیاه را افزایش می‌دهد. دیپنوسیس و پلنچت (۹) نشان دادند که باکتری‌های محرک رشد گیاه از طریق دو مکانیسم رشد گیاه را تحت تاثیر قرار می‌دهند: ۱) توسعه بیشتر قارچ‌های میکوریز آربوسکولار و افزایش فرآهمی عناصر غذایی در خاک و کاهش اثرات سمیت گیاهی فلزات و ۲) افزایش قابلیت دسترسی زیستی و جذب کادمیوم در گیاه. هدف این تحقیق، تعیین اثرات مایه زنی جداگانه و توام قارچ‌های میکوریز آربوسکولار بومی (گلوموس موسه،*Glomus mosseae*) و غیر بومی (*Glomus* spp.) مناطق آلوده و باکتری‌های مقاوم به کادمیوم و محرک رشد گیاه بومی مناطق آلوده (باسیلوس میکودیس،*Bacillus mycoides* و میکروکوکوس روزئوس، *Micrococcus roseus*) بر رشد گیاه ذرت و تجمع کادمیوم در بخش‌های مختلف گیاه می‌باشد. نتایج حاصله از این پژوهش ممکن است جهت انتخاب مناسب گیاهان و زادمایه‌های میکروبی جهت گیاه پالایی خاک‌های آلوده به غلظت‌های بالای کادمیوم مفید باشد.

مواد و روش ها

برای کشت گیاه نمونه خاک مرکب با بافت لوم شنی از عمق ۳۰-۰ سانتی متری (از منطقه بهشت سکینه واقع در اطراف کرج با موقعیت جغرافیایی "۵۸'۵۲°۳۵ شمالی و"۵۹'۵۲°۵۰ شرقی و ارتفاع ۱۲۵۴ متری از سطح دریا) تهیه گردید. خاک ها، پس از هواخشک شدن و عبور از الک ۲ میلیمتری به طور یکنواخت مخلوط و با روشهای استاندارد خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیک اندازه گیری شد (جدول ۱)(۱۳، ۱۹، ۲۵و ۲۶). جهت کشت گلخانه ای، نمونه‌های ۴ کیلوگرم خاک هواخشک، غیر استریل عبور یافته از الک ۲ میلیمتری توزین و به هر گلدان اضافه شد. عناصر پرمصرف و کم مصرف بر اساس آزمون خاک در حد بهینه به خاک اضافه شدند. تیمارهای کادمیوم در سه سطح صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم کادمیوم در کیلوگرم خاک از منبع کلرید کادمیوم ($CdCl_2.H_2O$) از طریق اسپری کردن به طور کامل با خاک هر گلدان مخلوط گردید. کشت گلخانه ای به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه فاکتور در سه تکرار و با ۵۴ گلدان اجراشد که فاکتورهای آزمایش شامل موارد زیر بوده است: ۱) قارچ‌های میکوریز آربوسکولار در دو سطح:G1 غیربومی (*Glomus* spp.) و G2 بومی (گلوموس موسه،*Glomus mosseae*) مناطق آلوده ۲) باکتری‌های مقاوم به کادمیوم و محرک رشد گیاه بومی مناطق آلوده در سه سطح B0 (بدون مایه زنی باکتری)،B1 (باسیلوس میکودیس، *Bacillus mycoides*) و B2 (میکروکوکوس روزئوس، *Micrococcus roseus*) و ۳) کادمیوم در سه سطح (صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم کادمیوم در کیلو گرم خاک). قارچ گلوموس موسه (G2) بومی خاک‌های آلوده اطراف معدن انگوران زنجان است، که در مطالعات زارعی (۱) و باکتری‌های B1 و B2 نیز بومی خاک‌های آلوده اطراف معدن هفت عمارت اراک، استان مرکزی است که در مطالعات متشرع زاده (۲) جداسازی و شناسایی شده اند. باکتری ها علاوه بر مقاومت به غلظت بالای فلزات سنگین سرب، روی، نیکل و کادمیوم (۲) بر روی محیط کشت جامد HEPES-MES (۵) و تا غلظت ۲۰۰ میلی گرم کادمیوم در لیتر ($CdCl_2.H_2O$) قادر به رشد بودند. برخی خصوصیات محرک رشد گیاه نظیر توان انحلال فسفاتهای آلی و معدنی، تولید سیدروفور، آنزیم ACC- دآمیناز و هورمون اکسین نیز در این جدایه مورد ارزیابی قرار گرفت که به اختصار در جدول ۲ ارائه شده است (۳). زادمایه قارچ میکوریز از طریق کشت تله گلدانی گیاه سورگوم علوفه ای تهیه شد. بعد از ۴/۵ ماه از رشد گیاه، بخش هوایی حذف گردید و محتویات گلدان داخل کیسه‌های پلی اتیلنی در یخچال نگهداری شدند. شمارش اسپور و درصد کلنیزاسیون ریشه به ترتیب با روش های گردمن و نیکلسون (۱۳)، جنکیس (۱۹) و کورمانیک و مک گراو (۲۳) انجام گرفت و ۹ اسپور در هر گرم زادمایه و درصد کلنیزاسیون ریشه، ۸۰/۳ درصد برآورد گردید. جهت اعمال تیمار گلوموس موسه حدود ۷۰ گرم از زادمایه در زمان کشت، درست زیر بذرهای ذرت به گلدان ها اضافه گردید. در هر گلدان تعداد ۵ بذر ذرت رقم سینگل گراس ۷۰۴ با یک میلی لیتر از زادمایه باکتری‌های B1 و B2 با جمعیت ۱×۱۰^{۸} سلول زنده در هر میلی لیتر مایه زنی گردید. سوسپانسیون ۱:۱ از زادمایه اتوکلاو نشده ی قارچ گلوموس موسه تهیه و پس از عبور از کاغذ صافی واتمن ۴۵ مقدار ۱ میلی لیتر از مواد صاف شده به خاک تمام گلدان ها اضافه شد تا ترکیب جامعه میکروبی خاک به جزء قارچ میکوریز آربوسکولار در همه تیمارها

www.SID.ir

Archive of SID

یکسان گردد (۲۹). پس از ظهور گیاهچه، بذرهای ذرت به سه عدد در هر گلدان کاهش یافت. گیاهان در گلخانه با ۱۴ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و دمای حداکثر ۲۸ و حداقل ۱۵ درجه سانتیگراد به مدت سه ماه با حفظ ۷۰ درصد رطوبت ظرفیت مزرعه در خاک نگهداری شدند. پس از پایان دوره ی کشت سه ماهه، بخش هوایی و ریشه به طور جداگانه در هر گلدان برداشت گردید. نمونه هایی از ریشه‌های تازه برای تعیین درصد کلنیزاسیون ریشه تهیه گردید. وزن خشک ریشه ها و اندام هوایی پس از شستشو و خشک شدن در دمای ۶۵ درجه سانتیگراد به مدت ۷۲ ساعت اندازه گیری شد، درصد کلنیزاسیون ریشه با روش تقاطع خطوط شبکه بعد از رنگ آمیزی با تریپان بلو ۰/۰۵ درصد تعیین گردید (۲۳). غلظت کادمیوم در ریشه و اندام هوایی و آهن در اندام هوایی به روش خاکستر خشک با اسید کلریدریک ۲ نرمال و با دستگاه جذب اتمی مدل (Shimadzu,Japan A-670) و نیز غلظت فسفر اندام هوایی با روش نیترو وانادومولیبدات با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل (Shimadzu, JapanUV-3100) اندازه گیری گردیدند (۸). فاکتور انتقال از خاک به ریشه[1] و فاکتور انتقال از ریشه به اندام هوایی [2] محاسبه گردید (۶ و ۱۸).

داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS تجزیه واریانس شدند و مقایسه میانگین تیمارها و گروه بندی آنها به روش آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح ۵ درصد انجام گرفت. نمودارها با استفاده از نرم افزار آماری Excel ترسیم گردید.

$$\text{فاکتور انتقال از خاک به ریشه} = \frac{\text{غلظت کادمیوم ریشه}}{\text{غلظت کادمیوم خاک}} \quad (۱)$$

$$\text{فاکتور انتقال از ریشه به اندام هوایی} = \frac{\text{غلظت کادمیوم اندام هوایی}}{\text{غلظت کادمیوم ریشه}} \quad (۲)$$

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک مورد استفاده در آزمون گلخانه ای (۱۳، ۱۹، ۲۵و ۲۶)

مقدار	خصوصیت خاک	مقدار	خصوصیت خاک
۱۰۹۳	پتاسیم قابل دسترس(میلی گرم در کیلوگرم)	لوم شنی	بافت خاک
۳	آهن* (میلی گرم در کیلوگرم)	۸/۲	پ. هاش (۱:۱)
۲	مس*(میلی گرم در کیلوگرم)	۰/۵۵	هدایت الکتریکی (دسی زیمنس برمتر)
۱۱/۲۸	منگنز*(میلی گرم در کیلوگرم)	۱۱/۶	کربنات کلسیم معادل(درصد)
۱/۶۴	روی*(میلی گرم در کیلوگرم)	۰/۷۷	ماده آلی(درصد)
۰/۰۳	کادمیوم*(میلی گرم در کیلوگرم)	۲۰	رطوبت ظرفیت مزرعه(درصد)
۶/۸	تعداد اسپور در گرم خاک خشک	۰/۰۸۴	نیتروژن کل (درصد)
$۱/۳\times۱۰^{۸}$	جمعیت کل میکروبی(سلول زنده در گرم خاک)	۳/۴۴	فسفر قابل دسترس(میلی گرم در کیلوگرم)

* قابل استخراج با DTPA

جدول ۲- برخی خصوصیات محرک رشد باکتری‌های مورد استفاده در آزمون گلخانه ای (۳)

میکروکوکوس روزئوس (B2)	باسیلوس میکودیس (B1)	صفت مورد بررسی
+	+	مقاوم به کادمیوم (۲۰۰ میلی گرم در لیتر)
+	+	آنزیم ACC-دآمیناز
+	-	سیدروفور
+	+	هورمون ایندول استیک اسید
+	+	انحلال فسفات‌های نا محلول (آلی و معدنی)

+ و - : وجود و عدم وجود ویژگی مورد نظر

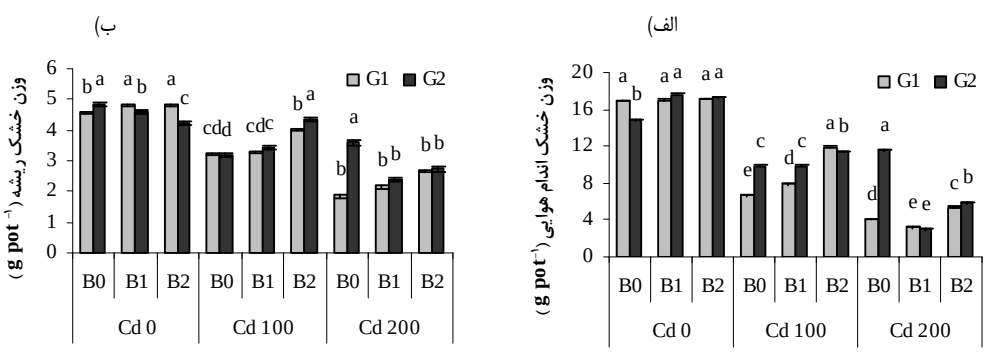
www.SID.ir

Archive of SID

نتایج

وزن خشک اندام هوایی و ریشه

با افزایش سطح کادمیوم خاک، وزن خشک اندام هوایی و ریشه به طور معنی داری کاهش یافت (شکل ۱ الف و ب). در سطح صفر و ۱۰۰ کادمیوم، مایه زنی باکتری‌های محرک رشد گیاه باعث افزایش یا عدم تفاوت معنی دار وزن خشک اندام هوایی در مقایسه با گیاهان فقط میکوریزی گردید (شکل ۱ الف). در سطح ۱۰۰ کادمیوم، تیمارهای مایه زنی توام میکروکوکوس روزئوس با هر دو قارچ میکوریز آربوسکولار (G2B2 و G1B2) بیشترین وزن خشک اندام هوایی را احتمالا بواسطه جذب آهن (تولید سیدروفور توسط باکتری) و فسفر داشتند. در سطح ۲۰۰ کادمیوم، بیشترین وزن خشک اندام هوایی (۱۱/۵۶ گرم در گلدان) در تیمار مایه زنی جداگانه گلوموس موسه (G2B0) بود، که افزایش ۱۷/۴ درصدی را نسبت به سطح ۱۰۰ کادمیوم نشان داد، که ممکن ناشی از سیستم ریشه ای گسترده تر و جذب مقادیر بالای فسفر و آهن به اندام هوایی و بهبود رشد گیاه و در نتیجه افزایش وزن خشک اندام هوایی باشد. در سطح صفر کادمیوم، مایه زنی باکتری‌های محرک رشد گیاه در حضور *Glomus* spp. و گلوموس موسه به ترتیب منجر به افزایش و کاهش وزن خشک ریشه گردید (شکل ۱ ب). علت احتمالی اثر افزایشی و کاهشی باکتری‌های محرک رشد گیاه به ترتیب بر وزن خشک ریشه گیاه در حضور *Glomus* spp. و گلوموس موسه می‌تواند ناشی از تاثیر باکتری ها بر رشد بیشتر ریشه‌های فرعی و جانبی در حضور *Glomus* spp. و رشد ریشه‌های مویین و میسلیوم‌های خارجی در حضور گلوموس موسه باشد که در نهایت بر وزن خشک ریشه گیاهان میکوریزی شده با *Glomus* spp. تاثیر معنی دارتری داشته است. در سطح ۱۰۰ کادمیوم، گرچه اثر متقابل قارچ و باکتری معنی دار نگردید، ولی اثر افزایشی باکتری محرک رشد گیاه بر وزن خشک ریشه در حضور هر دو قارچ میکوریزی مشاهده گردید. در سطح ۲۰۰ کادمیوم، وزن خشک ریشه در مایه زنی توام *Glomus* spp. با باکتری‌های محرک رشد گیاه تفاوت معنی داری با تیمارهای فقط میکوریزی *Glomus* spp. نداشت، این در حالی بود که بیشترین وزن خشک ریشه در تیمار مایه زنی جداگانه گلوموس موسه مشاهده گردید. بنابراین، مایه زنی توام گلوموس موسه با باکتری‌های محرک رشد گیاه در این سطح منجر به کاهش وزن خشک ریشه گردید. مسلم است که با افزایش سطح آلودگی، باکتری‌های محرک رشد گیاه به عنوان باکتری‌های کمک کننده میکوریزی عمل می‌کنند و با تولید آنزیم ACC- دآمیناز سطح اتیلن تنشی را در ریشه‌های گیاه کاهش می‌دهند و به این ترتیب بر رشد و توسعه ریشه گیاه کمک می‌کنند، اما در غلظت‌های بالاتر کادمیوم، باکتری‌های محرک رشد گیاه بر وزن خشک ریشه گیاه یا تاثیری نداشته و یا اثر کاهشی دارند. زیرا، بیشترین وزن خشک ریشه در سطح ۲۰۰ کادمیوم در تیمار مایه زنی جداگانه گلوموس موسه می‌باشد، این امر احتمالا به دلیل افزایش نسبت ریشه‌های ریز و میسلیوم‌های میکوریزی در اثر تولید هورمون ایندول استیک اسید توسط باکتری ها باشد، غلظت‌های بالای این هورمون سبب تحریک رشد ریشه‌های جانبی و فرعی می‌گردد (۱۴) که می‌تواند باعث کاهش نسبت وزن به حجم ریشه گردد. تحت شرایط آلوده به کادمیوم شاخص‌های رشد گیاه ذرت در گیاهان مایه زنی شده با گلوموس موسه در مقایسه با *Glomus* spp. بهبود یافت. ویواس و همکاران (۳۲) نیز گزارش کردند که گیاهان کلنیزه شده با گلوموس موسه بومی مناطق آلوده در افزایش رشد ریشه و اندام هوایی و جذب عناصر غذایی در مقایسه با سویه غیر بومی گلوموس موسه (BEG119) موثرتر می‌باشد. همچنین مایه زنی توام یک گونه از باکتری محرک رشد گیاه جنس بریویباسیلوس با قارچ‌های میکوریز آربوسکولار کارآیی میکوریزی را در بهبود رشد گیاه و جذب عناصرغذایی افزایش می‌دهد.



شکل ۱- تاثیر *Glomus* spp. (G1) و گلوموس موسه (G2) در مایه زنی جداگانه و توام با باکتری‌های محرک رشد گیاه بر وزن خشک اندام هوایی (الف) و ریشه (ب) گیاه ذرت در سطوح مختلف کادمیوم

www.SID.ir

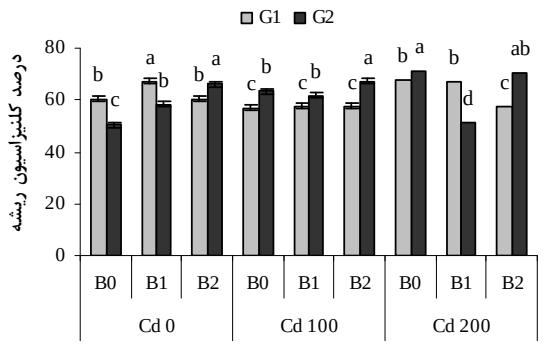
Archive of SID

کلنیزاسیون ریشه گیاه

در سطح صفر کادمیوم، مایه زنی با باکتری‌های محرک رشد گیاه باعث افزایش کلنیزاسیون ریشه در گیاهان میکوریزی گردید (شکل ۲). در سطح ۱۰۰ کادمیوم، اثر متقابل قارچ و باکتری بر کلنیزاسیون ریشه معنی دار نگردید و مایه زنی با باکتری‌های محرک رشد گیاه در گیاهان میکوریزی شده با *Glomus* spp. تاثیری بر کلنیزاسیون ریشه نداشت، ولی در گیاهان میکوریزی شده با گلوموس موسه، مایه زنی توام با میکروکوکوس روزئوس باعث افزایش کلنیزاسیون ریشه گردید. در سطح ۲۰۰ کادمیوم، مایه زنی توام گیاهان میکوریزی شده با *Glomus* spp. با باسیلوس میکودیس تاثیری بر کلنیزاسیون ریشه نداشت، ولی در مایه زنی توام با میکروکوکوس روزئوس کلنیزاسیون ریشه کاهش یافت. در حالی که در مایه زنی توام گلوموس موسه با باسیلوس میکودیس کلنیزاسیون ریشه کاهش یافت و در مایه زنی توام این قارچ با میکروکوکوس روزئوس اختلاف معنی دار آماری در مقایسه با تلقیح جداگانه گلوموس موسه مشاهده نگردید. بنابراین، اثر باکتری‌های محرک رشد گیاه بر کلنیزاسیون ریشه گیاه در سطوح مختلف آلودگی و در حضور قارچ‌های میکوریزی متفاوت بود (شکل ۲).

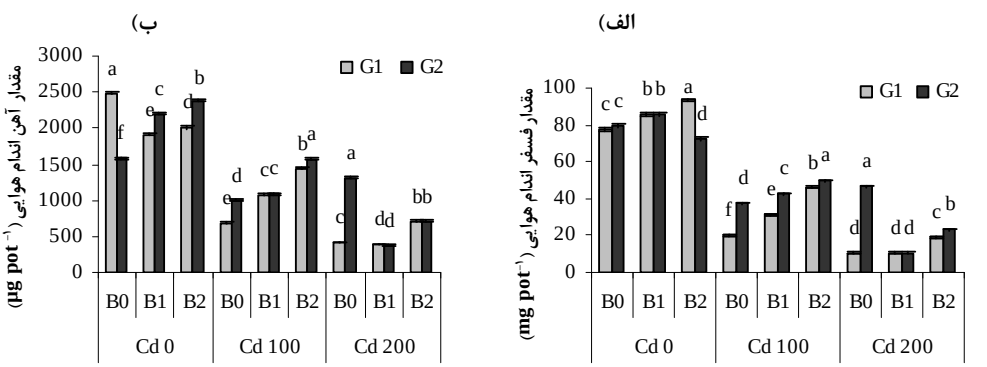
فسفرجذب شده در اندام هوایی

با افزایش سطح کادمیوم خاک، مقدار فسفر اندام هوایی به طور معنی داری کاهش یافت (شکل ۳ الف). نتایج نشان داد که گیاهان میکوریزی شده با گلوموس موسه با افزایش سطح کادمیوم از توان بیشتری در جذب فسفر به اندام هوایی برخوردارند. با افزایش آلودگی به سطح ۱۰۰ کادمیوم، تلقیح توام باکتری‌های محرک رشد گیاه با قارچ‌های میکوریز آربوسکولار منجر به افزایش جذب فسفر به اندام هوایی در مقایسه با گیاهان فقط میکوریزی گردید (شکل ۳ الف)، که می‌تواند از دلایل بهبود رشد گیاه در این سطح از آلودگی باشد. میکروارگانیسم‌های ریزوسفری پویایی و قابلیت دسترسی فلزات کم مصرف را از طریق تولید سیدروفور (بویژه قابلیت دسترسی آهن)، کاهش pH خاک و یا انحلال فسفات ها تحت تاثیر قرار می‌دهند (۲۸).



شکل ۲- تاثیر *Glomus* spp. (G1) و گلوموس موسه (G2) در مایه زنی جداگانه و توام با باکتری‌های محرک رشد گیاه بر درصد کلنیزاسیون ریشه گیاه ذرت در سطوح مختلف کادمیوم

بیشترین مقدار فسفر اندام هوایی در این سطح (۴۹/۷۳ میلی گرم در گلدان)، در تیمار مایه زنی توام گلوموس موسه و میکروکوکوس روزئوس مشاهده گردید. در سطح ۲۰۰ کادمیوم، بیشترین مقدار فسفر اندام هوایی (۴۶/۸۴میلی گرم در گلدان) در تیمار مایه زنی جداگانه گلوموس موسه مشاهده گردید، که می‌تواند ناشی از تمایل زیاد به مکانیسم‌های جذب فسفر، سطح جذب وسیع هیف‌های قارچی، تولید اسیدهای آلی و افزایش قابلیت دسترسی عناصر غذایی باشد (۱۷و ۲۷).



شکل ۳- تاثیر *Glomus* spp. (G1) و گلوموس موسه (G2) در مایه زنی جداگانه و توام با باکتری‌های محرک رشد گیاه بر مقدار فسفر (الف) و آهن اندام هوایی (ب) گیاه ذرت در سطوح مختلف کادمیوم

www.SID.ir

Archive of SID

مقدار آهن جذب شده در اندام هوایی

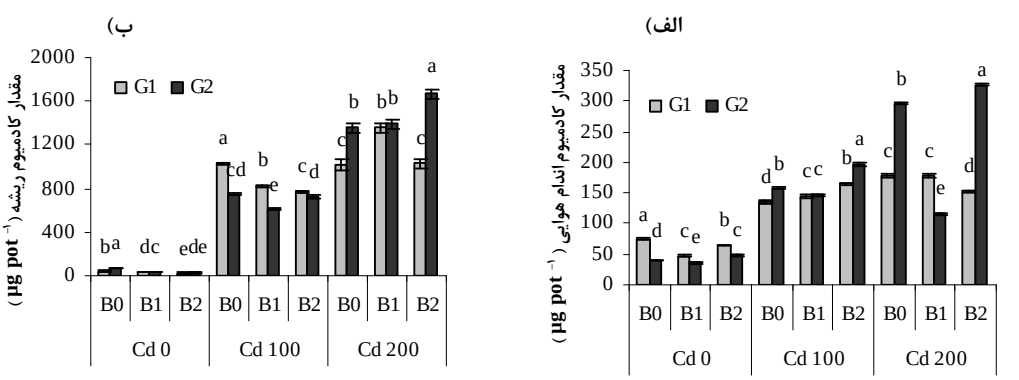
با افزایش سطح آلودگی، مایه زنی توام باکتری‌های محرک رشد گیاه در حضور *Glomus* spp. منجر به افزایش جذب آهن به اندام هوایی در مقایسه با گیاهان فقط میکوریزی گردید (شکل ۳ الف). این امر در ارتباط با تاثیر باکتری‌های محرک رشد گیاه بر بهبود سیستم ریشه ای گیاه (کاهش سطح اتیلن تنشی از طریق تولید آنزیم ACC-دآمیناز) و نیز تولید سیدروفور و افزایش جذب آهن در شرایط تنش ناشی از کادمیوم می‌باشد (۱۵). این در حالی است که تا سطح ۱۰۰ کادمیوم مایه زنی توام باکتری‌های محرک رشد گیاه با گلوموس موسه باعث افزایش جذب آهن گردید ولی در سطح ۲۰۰ کادمیوم کاهش جذب آهن در مایه زنی توام در مقایسه با تلقیح جداگانه گلوموس موسه مشاهده گردید (شکل ۳ الف)، علت احتمالی کاهش جذب آهن در این تیمارها توسعه ضعیف سیستم ریشه ای بواسطه افزایش سطح اتیلن تنشی (افزایش تولید ACC به عنوان پیش ماده سنتز اتیلن در نتیجه تولید هورمون IAA و عدم کفایت آنزیم ACC-دآمیناز تولیدی توسط باکتری‌های محرک رشد گیاه) و کاهش جذب عناصر غذایی از جمله آهن (علی رغم تولید سیدروفور توسط باکتری‌های محرک رشد گیاه) می‌باشد.

کادمیوم جذب شده در اندام هوایی و ریشه

با افزایش سطح کادمیوم خاک، مقدار کادمیوم اندام هوایی و ریشه به طور معنی داری افزایش یافت (شکل ۴ الف و ب). در سطح ۱۰۰ کادمیوم، مایه زنی توام باکتری میکروکوکوس روزئوس با هر دو قارچ میکوریزی باعث افزایش انتقال و جذب کادمیوم به اندام هوایی در مقایسه با مایه زنی توام باکتری باسیلوس میکودیس در حضور هر دو قارچ میکوریزی گردید. در این سطح کادمیوم، گیاهان میکوریزی شده با گلوموس موسه مقدار کادمیوم اندام هوایی بیشتری در مقایسه با گیاهان میکوریزی شده با *Glomus* spp. نشان دادند (شکل ۴ الف)، این در حالی بود که مقدار کادمیوم ریشه در گیاهان کلنیزه شده با *Glomus* spp. در مقایسه با گلوموس موسه بیشتر بود (شکل ۴ ب). در سطح ۲۰۰ کادمیوم، مقدار کادمیوم ریشه در گیاهان میکوریزی شده با گلوموس موسه در مقایسه با گیاهان میکوریزی شده با *Glomus* spp. افزایش بیشتری داشت (شکل ۴ ب) که بیانگر مقاومت بیشتر گیاهان میکوریزی شده با گلوموس موسه به کادمیوم در غلظت‌های بالا و احتمالا تجمع مقادیر بیشتر کادمیوم در ساختارهای هیفی ریشه می‌باشد. زیرا، اغلب قارچ‌های میکوریز آربوسکولار جداسازی شده از مناطق آلوده در مقایسه با قارچ‌های جداسازی شده از مناطق غیرآلوده، نسبت به فلزات سنگین بسیار مقاوم ترند (۳۰). با افزایش سطح کادمیوم خاک (در سطوح ۱۰۰ و ۲۰۰ کادمیوم)، مقدار کادمیوم اندام هوایی در گیاهان میکوریزی شده با گلوموس موسه به ترتیب زیر افزایش می‌یابد (شکل ۴ الف):

گلوموس موسه+ میکروکوکوس روزئوس > گلوموس موسه > گلوموس موسه + باسیلوس میکودیس

بنابراین می‌توان اظهار داشت، مایه زنی توام گلوموس موسه با میکروکوکوس روزئوس و گلوموس موسه با باسیلوس میکودیس به ترتیب باعث افزایش و کاهش جذب کادمیوم به اندام هوایی در مقایسه با مایه زنی جداگانه گلوموس موسه گردید. این در حالی است که نتایج نشان می‌دهد، در سطوح ۱۰۰ و ۲۰۰ کادمیوم، مایه زنی توام باکتری‌های محرک رشد گیاه در حضور *Glomus* spp. به ترتیب باعث افزایش (*Glomus* spp.+ میکروکوکوس روزئوس > *Glomus* spp. + باسیلوس میکودیس) و کاهش یا عدم تاثیر معنی دار بر جذب کادمیوم به اندام هوایی گردید (شکل ۴ الف و ب).



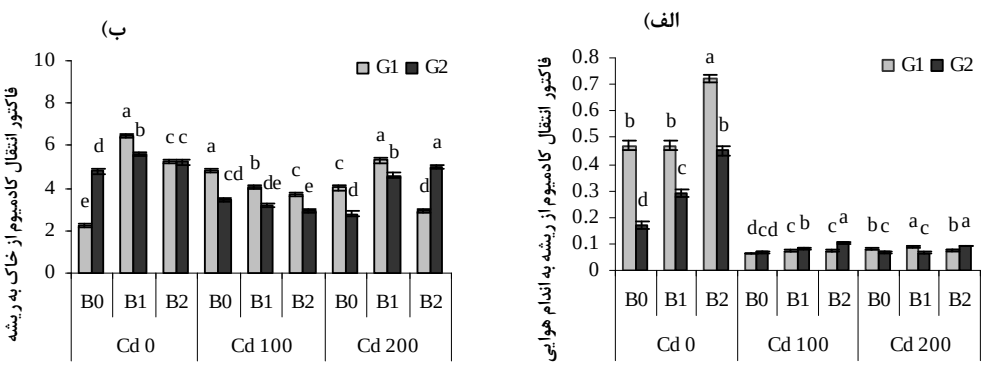
شکل ٤- تاثیر *Glomus* spp. (G1) و گلوموس موسه (G2) در مایه زنی جداگانه و توام با باکتری‌های محرک رشد گیاه بر مقدار کادمیوم اندام هوایی (الف) و ریشه (ب) گیاه ذرت در سطوح مختلف کادمیوم

www.SID.ir

Archive of SID

به طور کلی نتایج نشان می‌دهد که فاکتور انتقال کادمیوم از خاک به ریشه بیشتر از انتقال کادمیوم از ریشه به اندام هوایی می‌باشد و بخش اعظم کادمیوم در ریشه‌های گیاه و در هیف ها و میسلیوم ها ذخیره می‌گردد و از انتقال آن به اندام هوایی تا حدود زیادی جلوگیری بعمل می‌آید که نوعی مکانیسم برای کاهش اثرات سمی کادمیوم در اندام هوایی بوده و در نیل به هدف گیاه پالایی کادمیوم و تثبیت در ریشه‌های گیاه موثر می‌باشد.

در صورتی که هدف گیاه پالایی کادمیوم و تثبیت در اندام هوایی باشد مایه زنی توام گلوموس موسه و باکتری میکروکوکوس روزئوس موثرترین تیمار می‌باشد. با افزایش غلظت کادمیوم خاک، این تیمار بیشترین مقدار کادمیوم را نیز در ریشه گیاه تجمع می‌دهد و بیشترین کارآیی را در گیاه پالایی کادمیوم ایفا می‌کند (شکل۵ الف و ب). توانایی این باکتری در تولید سیدروفور، آنزیم ACC- دآمیناز و هورمون ایندول استیک اسید منجر به افزایش قابلیت دسترسی عناصر از جمله کادمیوم، برای گیاه شده و به این ترتیب جذب و تجمع کادمیوم توسط ریشه گیاه افزایش می‌یابد (۲۲ و ۳۲). همچنین بواسطه انحلال فسفات‌های نامحلول و بهبود تغذیه ای فسفری، گیاه از اثرات سمی کادمیوم محافظت می‌گردد (۳۲). نتایج این پژوهش نشان داد که مایه زنی توام قارچ‌های میکوریز آربوسکولار با باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه بسته به گونه/اکوتیپ قارچ و نیز میزان تحمل پذیری آن به فلزات سنگین، گونه، منشاء و میزان مقاومت باکتری ها به فلزات سنگین، بر هم کنش این باکتری ها با قارچ‌های میکوریز، نوع، غلظت فلز سنگین و شرایط ادافیکی خاک و بسیاری از فاکتورهای ناشناخته دیگر در ارتباط با گیاهان مختلف می‌تواند متفاوت باشد. بنابراین پیشنهاد می‌گردد که پژوهش‌های مشابه در شرایط مزرعه ای و طبیعی جهت کاربرد عملی این میکروارگانیسم ها در همیاری و همزیستی گیاهان تحت شرایط آلوده به فلزات سنگین طراحی و اجرا گردد.



شکل ۵- تاثیر *Glomus* spp.(G1) و گلوموس موسه (G2) در مایه زنی جداگانه و توام با باکتری‌های محرک رشد گیاه بر فاکتور انتقال کادمیوم از ریشه به اندام هوایی (الف) و از خاک به ریشه (ب) گیاه ذرت در سطوح کادمیوم

منابع

۱- زارعی م. ۱۳۸۷. بررسی تنوع قارچ های میکوریزی آربوسکولار در خاک های آلوده به فلزات سنگین و کارآیی آنها در گیاه پالایی. رساله دکتری خاکشناسی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران.

۲- متشرع زاده ب. ۱۳۸۷. بررسی امکان افزایش کارایی گیاه پالایی خاک آلوده به فلزات سنگین توسط عوامل زیستی. رساله دکتری خاکشناسی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران.

۳- ملک زاده ا. ۱۳۸۸. بررسی برهم کنش بین باکتری محرک رشد گیاه (PGPR) و قارچ میکوریزی وزیکولار آربوسکولار بر شاخص‌های رشد و جذب عناصر سنگین نیکل و کادمیوم در گیاه ذرت. پایان نامه کارشناسی ارشد خاکشناسی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران.

4- Alloway B.J., and Jackson A.P. 1991. The behavior of heavy metals in sewage sludge amended soils. Sci. Total Environ, 100: 151-176.

5- Angle J.S., McGrath S.P., and Chaudri A.M. 1992. Effects of media components on toxicity of Cd to rhizobia. Water, Air and Soil Pollution, 64:627-633.

6- Chen B.D., Zhu Y.G., and Smith F.A. 2006. Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation on uranium and arsenic

www.SID.ir

Archive of SID

accumulation by Chinese brake fern (*Pteris vittata* L.) from a uranium mining-impacted soil. Chemosphere, 62: 1464-1473.
7- Christie P., Li X.L., and Chen B.D. 2004. Arbuscular mycorrhiza can depress translocation of zinc to shoots of host plants in soils moderately polluted with zinc. Plant and Soil, 261: 209-217.
8- Cottenie A. 1980. Soil and plant testing as a basis of fertilizer recommendation. FAO Soils Bulletin., No. 38/2.
9- Duponnois R., and Plenchette C. 2003. A mycorrhiza helper bacterium enhances extomycorrhizal and endomycorrhizal symbiosis of Australian *Acacia* species. Mycorrhiza, 13:85-91.
10- Duponnois R., Kisa M., Assigbetse K., Prin Y., Thioulouse J., Issartel M., Moulin P., and Lepage M. 2006. *Fluorescent pseudomonads* occuring in Macrotermes subhyalinus mound structures decrease Cd toxicity and improve its accumulation in sorghum plants. Science of the Total Environment, 370: 391–400.
11- Gaur A., and Adholeya A. 2004. Prospects of arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of heavy metal contaminated soils. Current Science, 86:528-534.
12- Gavrilescu M. 2004. Removal of heavy metals from the environment by biosorption. Eng. Life Sci4, 3: 219-232.
13- Gerdeman J.W., and Nicolson T.H. 1963. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting, Trans. Br. Mycol. Soc, 46 :235–244.
14- Glick B.R., Penrose D.M., and Li J. 1998. A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth-promoting bacteria. Journal of Theoretical Biology, 190: 63-68.
15- Glick B.R. 2003. Phytoremediation: synergistic use of plants and bacteria to clean up the environment. Biotechnology Advances, 21: 383–393.
16- Gonzalez-Guerrero M., Azcon-Aguilar C., Mooney M., Valderas A., MacDiarmid C.W., Eide D.J., and Ferrol N. 2005. Characterization of a *Glomus intraradices* gene encoding a putative Zn transporter of the cation diffusion facilitator family. Fungal Genetics and Biology, 42 (2): 130-140.
17- Hofer RM. 1996. Root hairs. In: Waisel Y, Eshel A, Kafkafi U (eds) Plant roots. The hidden half. Dekker, New York, pp 111– 126.
18- Jankong P., and Visoottiviseth P. 2008. Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation on plants growing on arsenic contaminated soil. Chemosphere, 72: 1092-1097.
19- Jenkis W.R. 1964 . A rapid centrifugal flotation technique for separating nematodes from soil, Plant Disease Reporter, Washington, 48: 692.
20- Joner E.J., Briones R., and Leyval C. 2000. Metal-binding capacity of arbuscular mycorrhizal mycelium. Plant and Soil, 226: 227-234.
21- Khan A.G. 2005b. Role of soil microbes in the rhizospheres of plants growing on trace metal contaminated soils in phytoremediation. J Trace Elem Med Biol, 18:355–364.
22- Khan M.S., Zaidi A., Wani P.A., and Oves M. 2008. Role of plant growth promoting rhizobacteria in the remediation of metal contaminated soils. Environ Chem Lett, 7: 1-19.
23- Kormanik P.P., and McGraw A.C. 1982. Quantification of vesicular-arbuscular mycorrhizae in plant roots, in: Schenck NC (Ed.) Methods and principles of mycorrhizal research. American Phytopathological Society, St. Paul, pp 37-45.
24- Li X.L., and Feng G. 2001. Ecology and Physiology of Arbuscular Mycorrhiza. Huawen Press Beijing.
25- Lindsay W.L., and Norvell W.A. 1978. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese, and copper, Soil Sci. Soc. Am. J., 42:421–428.
26- Page A.L., Miller H.R., and Keeney R.D. (Eds.). 1982. Methods of soil analysis, Part.II, Chemical and microbiological properties. Monograph number 9, Second edition, ASA, Madison, WI.
27- Ravnskov S., and Jakobsen I. 1995. Functional compatibility in arbuscular mycorrhizas measured as hyphal P transport to the plant. New Phytol, 129:611–618.
28- Sheng X.F., and Xia J.J. 2006. Improvement of rape (*Brassica napus*) plant growth and cadmium uptake by cadmium-resistant bacteria. Chemosphere, 64:1036–1042.
29- Sudova R., and Vosatka M. 2007. Differences in the effects of three arbuscular mycorrhizal fungal strains on P and Pb accumulation by maize plants. Plant and Soil, 296:77-83.
30- Del Val C., Barea J.M., and Azco´ n-Aguilar C. 1999. Assessing the tolerance to heavy metals of arbuscular mycorrhizal fungi isolated from sewagesludge contaminated soils. Applied Soil Ecology, 11: 261–269.
31- Vassilev A., Vangronsveld J., and Yordanov I. 2002. Cadmium phytoextraction: present state, biological backgrounds and research needs. BULG. J. Plant Physiol, 28: 68–95.
32- Vivas A., Vo¨ro¨s I., Biro´ B., Barea J.M., Ruiz-Lozano J.M., and Azco´n R. 2003. Beneficial effects of indigenous Cd-tolerant and Cdsensitive *Glomus mosseae* associated with a Cd-adapted strain of *Brevibacillus brevis* in improving plant tolerance to Cd contamination. Applied Soil Ecology, 24:177–186.

www.SID.ir

Journal of Water and Soil
Vol. 25, No.2, May-Jun 2011, p. 266-274

نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۵، شماره ۲، خرداد – تیر ۱۳۹۰، ص. ۲۷۴-۲۶۶

Archive of SID

Interaction between Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Cd-Resistant PGPR in Phytoremediation of Cadmium

E. Malekzadeh[1*]- H.A. Alikhani[2]- Gh.R. Savaghebi Firoozabadi[3]- M. Zarei[4]

Received:16-5-2010
Accepted:20-2-2011

Abstract

In this study, interaction between AMF (*G. mosseae* and *Glomus* spp., respectively indigenous and non-indigenous of HM-contaminated areas) with Cd-resistant PGPRs (*Bacillus mycoides* and *Micrococcus roseus*, indigenous of contaminated areas) on the growth, Cd and nutrient uptake of maize plant (*Zea mays* L.) in Cd polluted soil were investigated. With increasing levels of Cd, shoot and root dry weights, shoot Fe and P contents decreased but root and shoot Cd content increased. Root colonization was varied at different levels of Cd and co-inoculation with PGPRs. *G. mosseae* treatment had greatest amount of shoot and root dry weight, Fe and P of shoot at high concentration of Cd. At the levels of 100 and 200 Cd, in only mycorrhizal treatments, plants colonized by *Glomus* spp. and *G. mosseae* had respectively high content of Cd roots. At both levels of Cd, shoot Cd content in co-inoculation of *M. roseus* and *B. mycoides* with *G. mosseae* increased and decreased respectively in comparison with single inoculation of *G. mosseae*. While, at the levels of 100 and 200 Cd, shoot Cd content in co-inoculation of PGPRs with *Glomus* spp. respectively increased and decreased/did not significant different compared to single inoculation of *Glomus* spp. Co-inoculation of *G. mosseae* and *M. roseus*, with maximum Cd-accumulated in plant, was the most effective treatment in Cd phytoremediation and stabilization.

Keywords: AM fungi, Plant growth promoting rhizobacteria, Phytoremediation, Cd and maize

1,2,3- Former MSc Student and Associate Professors, Department of Soil Science Engineering, College of Agriculture and Natural Resource, University of Tehran Respectively
(*- Corresponding Author Email: malekzadeh.elham@gmail.com)
4- Assistant Professor, Department of Soil Science, College of Agriculture, Shiraz University

www.SID.ir