

بررسی پتانسیل قارچ ریشه‌ها و باکتری‌های سودوموناس در پالایش سبز کادمیم از یک خاک آلوده

میرحسین رسولی صدقیانی*، حبیب خداوردیلو، محسن برین و سولماز کاظم علیلو^۱

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۷/۶؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۲/۹)

چکیده

استفاده از گیاهان و میکروب‌های خاک روشی نوید بخش برای پالایش سبز خاک‌های آلوده به فلزات سنگین است. این مطالعه به منظور ارزیابی پتانسیل میکروبی خاک با سطوح غلظت کادمیم (صفر، ۱۰، ۳۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و تیمار میکروبی شامل تلقیح قارچ ریشه‌های آربوسکولار (AMF) ترکیبی از گونه‌های *Rhizophagus fasciculatus* و *Rhizophagus irregularis*، *Funneliformis mosseae* و باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) ترکیبی از گونه‌های *Pseudomonas* شامل برخی سویه‌های *P. putida*، *P. fluorescens* و *P. aeruginosa* در حضور گیاه گل‌گندم انجام شد. خاک مورد استفاده با نمک نترات کادمیم به‌طور یکنواختی برای ایجاد غلظت‌های مختلف کادمیم آلوده شد. خاک آلوده شده استریل و سپس با AMF و PGPR مایه‌زنی شد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت کادمیم در خاک، درصد کلنیزاسیون، فراوانی باکتری‌های ریزوسفری، عملکرد و عملکرد نسبی شاخساره به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0/05$) کاهش یافت، در حالی که مقدار پرولین، غلظت کادمیم در شاخساره و ریشه به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0/05$) افزایش یافت. میانگین کادمیم استخراج شده در تیمارهای PGPR و AMF به ترتیب بیش از ۱/۸ و ۲/۸ و فاکتور انتقال کادمیم به ترتیب بیش از ۱/۲ و ۱/۵ برابر تیمارهای مشابه شاهد بود. چنین استنباط شود که مایه‌زنی میکروبی علاوه بر افزایش زیست‌توده گیاه، در افزایش کارایی پالایش سبز کادمیم توسط گیاه نقش مهمی ایفا می‌کند.

واژه‌های کلیدی: پالایش سبز، گل‌گندم، کادمیم، قارچ ریشه‌های آربوسکولار، باکتری‌های محرک رشد گیاه

۱. گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

*: مسئول مکاتبات: پست الکترونیکی: m.rsadaghiani@urmia.ac.ir

مقدمه

در سال‌های اخیر توجه به فلزات سنگین در خاک‌ها به دلیل اثرات نامطلوب بر فعالیت‌های متابولیکی و فیزیولوژیکی موجودات زنده افزایش یافته است. خطر فلزات سنگین برای سلامتی انسان و دام به دلیل دوام طولانی آنها در محیط زیست تشدید می‌شود (۲۰). پالایش خاک‌های آلوده به فلزات سنگین با استفاده از روش‌های فیزیکی و شیمیایی که طی سال‌های گذشته برای پاک‌سازی خاک مورد استفاده قرار گرفته، بسیار پرهزینه هستند و همچنین برای هزاران هکتار اراضی آلوده به فلزات سنگین قابل استفاده نیستند (۴). افزون بر این، بسیاری از آلاینده‌ها را نمی‌توان به وسیله این روش‌ها از محیط زیست حذف کرد. اخیراً رهیافت‌های زیستی و سازگار با محیط توسعه و کاربرد بسیاری در سطح تجاری یافته‌اند (۳۹). گیاه‌پالایی یک فناوری نوظهور و مقرون به صرفه است. گیاه‌پالایی به صورت به‌کارگیری گیاهان سبز جهت خارج کردن مواد خاص از خاک است. برخی گیاهان قادر به تأثیر بر آلاینده‌ها جهت جذب آنها به درون سیستم آوندی خود هستند و برخی دیگر، ترکیبات مذکور را تجزیه نموده و یا آنها را به ترکیبات متابولیزه شده کمتر سمی، تغییر شکل می‌دهند. این گیاهان، با جذب آلودگی توسط ریشه‌ها، آنها را درون ساختار سلولی و یا برگ و میوه ذخیره می‌کنند. آخرین سرنوشت ممکن، تبخیرشدن و آزادسازی درون اتمسفر است (۵). همچنین برخی دیگر از گیاهان مقدار زیادی از فلزات را در بخش‌های هوایی خود ذخیره می‌کنند، به طوری که چندین برابر غلظت فلز در خاک شود (۳۴). این گیاهان راه‌کارهایی برای غیرسمی کردن سطوح بالای فلزات به منظور انباشتن آن در غلظت‌های بالا در درون گیاه فراهم می‌آورند (۳۷). از بین این گیاهان می‌توان به برخی گیاهان مرتهی همچون خارزن‌بابا (*Onopordon acanthium L*) و گل گندم (*Centaurea hypoleuca johncouths*) اشاره کرد که از قابلیت گیاه‌پالایی نسبتاً بالایی برخوردار هستند (۱ و ۳۶). غلظت بالای فلزات سنگین در خاک دارای اثر معکوس روی میکروارگانیسم‌ها و فرایندهای میکروبی خاک است. در بین

میکروارگانیسم‌های خاک، قارچ ریشه‌ها ارتباط مستقیمی را بین خاک و ریشه گیاه فراهم می‌کنند (۲۸). اخیراً استفاده از توانایی میکروارگانیسم‌های ریزوسفر (عمدتاً قارچ ریشه آریوسکولار (AMF) (*Arbuscular Mycorrhiza Fungi*) و باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه ((*Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)*) در افزایش بردباری گیاهان به فلزات سنگین مورد توجه قرار گرفته است. قارچ ریشه‌های آریوسکولار و باکتری‌های محرک رشد گیاه می‌توانند جذب آب، مواد غذایی و رشد گیاهان را در خاک‌های آلوده به این فلزات افزایش دهند (۴۲). ریشه‌های قارچی می‌توانند چندین سانتی‌متر در داخل خاک رشد کرده و مقادیر زیادی عناصر غذایی از قبیل فلزات سنگین را جذب و به ریشه گیاه میزبان منتقل نمایند. تأثیر کلنی‌زایی قارچ ریشه‌های آریوسکولار به‌طور قابل توجهی در جذب عناصر غذایی بین قارچ ریشه‌های آریوسکولار و ژنوتیپ میزبان فرق می‌کند (۳۲). وجود همزیستی‌های قارچی در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین اهمیت زیادی در پالایش میکوریزایی (*Mycorrhizo-remediation*) خاک‌های آلوده به فلزات دارد، چون قارچ ریشه‌های آریوسکولار به رشد گیاه از طریق افزایش جذب مواد غذایی کمک می‌کند (۲۵).

کازم‌علیلو و رسولی صدقیانی در ارزیابی برخی شاخص‌های زیستی خاک در حضور میکروارگانیسم‌های محرک رشد گیاه و آلودگی کادمیم خاک نشان دادند که میکروارگانیسم‌های محرک رشد گیاه توانستند به‌طور معنی‌داری آثار بازدارندگی کادمیم بر رشد گیاه و فعالیت بیولوژیکی خاک را کاهش دهند (۲). در همین راستا شهابیوند و همکاران گزارش کردند که حضور قارچ ریشه گلواموس موسه در غلظت‌های کم کادمیم، کادمیم را در ریشه گیاه گندم کاهش داد (۴۰). هدف از این مطالعه نقش تحریکی برخی گونه‌های قارچ ریشه و باکتری‌های سودوموناس به صورت ترکیبی در پالایش سبز خاک آلوده به کادمیم توسط گیاه گل گندم در شرایط گلخانه مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی خاک مورد مطالعه

برای انجام این تحقیق از یک نمونه خاک با مشخصات

درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۵ بار در داخل کیسه‌های کفنی استریل شدند. گلدان‌ها نیز با الکل استریل سطحی شدند. خاک‌های استریل در گلدان‌هایی با ظرفیت تقریبی ۲/۵ کیلوگرم ریخته شدند. برای اعمال تیمارهای میکروبی، در تیمارهای مربوط به قارچ ریشه آربوسکولار قبل از کشت، در زیر بذرها مقدار ۷۰ گرم از زاد مایه به صورت لایه‌ای به ضخامت تقریبی دو سانتی‌متر اضافه شد. تیمار قارچ ریشه‌ای شامل ترکیبی از زاد مایه قارچ ریشه‌های از گونه‌های *Rhizophagus irregularis*، *Funneliformis mosseae* و *Rhizophagus fasciculatus* بودند. تعداد کل اسپورهای قارچی زادمایه، ۲۵۰ اسپور در هر ۵۰ گرم زادمایه بود. برای تیمار باکتریایی مقدار ۱۵ میلی‌لیتر از محیط کشت مایع Nutrient Broth حاوی باکتری‌ها به گلدان‌ها تلقیح شد (۳). تیمار باکتریایی شامل ترکیبی از باکتری‌های جنس سودوموناس فلورسنت از سه گونه پوتیدا (*P. putida*)، فلورسنس (*P. fluorescens*) و آئروژینوزا (*P. aeruginosa*) بود که به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد در آنکوباتور در محیط کشت مایع Nutrient Broth رشد کرده بودند. جمعیت این باکتری‌ها حدود $10^8 \times 2/6$ (CFU ml⁻¹) بود. پس از اعمال تیمارها کشت گیاهان انجام شد.

کشت گیاهان و مراحل داشت

پس از رساندن رطوبت گلدان‌ها به ظرفیت زراعی و اعمال تیمارها در هر گلدان ۶ تا ۸ بذر (ضد عفونی سطحی شده) گیاه گل گندم با فواصل منظم در گلدان‌های مورد نظر کشت شد. پس از جوانه زدن بذرها، ۲ تا ۳ تا از بوته‌های سالم‌تر و قوی‌تر نگهداری شدند. پس از آبیاری گلدان‌ها تا حد ظرفیت زراعی، وزن هر گلدان بر روی آن یادداشت شد تا در مراحل بعدی از هر گونه تنش رطوبتی جلوگیری شود. گلدان‌ها در شرایط گلخانه با دمای حداقل ۱۵ و حداکثر ۳۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

برداشت گیاهان و اندازه‌گیری ویژگی‌ها

در پایان ماه پنجم رشد، بخش هوایی گیاهان از رویه خاک بریده شدند. شاخساره‌های گیاهان پس از شستشو با آب مقطر،

Fine, mixed, mesic Typic Halaquepts واقع در استان آذربایجان غربی نمونه‌برداری شد. نمونه‌های خاک پس از هوا خشک شدن، به دو بخش تقسیم شد. یک بخش بعد از عبور از الک ۲ میلی‌متر، برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک به روش‌های استاندارد اندازه‌گیری شد (۱۲). بخش دیگر نمونه‌های خاک پس از عبور از الک ۵ میلی‌متری، به گلخانه پژوهشی گروه علوم خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، انتقال یافت.

آلوده کردن خاک مورد مطالعه

برای آلوده کردن خاک، غلظت آلاینده با توجه به حدود غلظت مجاز کادمیم در خاک انتخاب شد. بنابراین، غلظت‌های کادمیم صفر، ۱۰، ۳۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک انتخاب شد. ابتدا مقدار لازم نیترات کادمیم $Cd(NO_3)_2$ جهت آلوده کردن جرم مشخصی از خاک محاسبه شد (۲۶). سپس، جرم محاسبه شده نمک به یک کیلوگرم از خاک افزوده شد و کاملاً با آن مخلوط شد تا پیش‌ماده‌ای همگن به دست آید. این پیش‌ماده آلوده سپس به طور کامل با توده خاک مخلوط شد. سپس خاک‌های آلوده در جعبه‌های پلاستیکی بدون زهکش در معرض دوره‌های متناوب تر و خشک شدن قرار گرفتند. در هر چرخه، خاک از آب اشباع شد و سپس تا هوا-خشک شدن در دمای اتاق ماند. خاک‌ها در چهار چرخه به همین روش تر و خشک شدند که هر چرخه حدود ۴۰ روز به طول انجامید که تا حد امکان برهمکنش‌های آلاینده و خاک تکوین یافته و شرایط آلودگی طبیعی‌تر باشد. سپس، خاک‌های آلوده با غلظت‌های یاد شده در سه تکرار برای هر غلظت در گلدان‌هایی با ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر (عمق ریشه‌دوانی گیاه) ریخته شد (۲۶).

تیمارهای میکروبی

نمونه‌های خاک آلوده شده در اتوکلاو در دو نوبت در دمای ۱۲۱

به مدت ۷۲ ساعت در آون و در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. سپس، نمونه‌ها برای تعیین عملکرد ماده خشک توزین و با آسیاب آسیاب شدند. ریشه‌های گیاهان نیز به آرامی از خاک گلدان‌ها جدا شده و پس از شستشو با آب مقطر و خشک کردن، به درون پاکت‌های کاغذی منتقل شدند. قسمتی از ریشه‌های ریز و ظریف (حدود یک گرم) برای رنگ‌آمیزی و تعیین درصد کلنیزاسیون ریشه در محلول اتانول ۵۰ درصد نگه‌داری شدند. برای ارزیابی اثرات آلودگی کادمیمی خاک و مایه‌زنی میکروبی، ماده خشک گیاه، عملکرد نسبی ماده خشک شاخساره آن نیز به صورت زیر محاسبه شد:

به مدت ۷۲ ساعت در آون و در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. سپس، نمونه‌ها برای تعیین عملکرد ماده خشک توزین و با آسیاب آسیاب شدند. ریشه‌های گیاهان نیز به آرامی از خاک گلدان‌ها جدا شده و پس از شستشو با آب مقطر و خشک کردن، به درون پاکت‌های کاغذی منتقل شدند. قسمتی از ریشه‌های ریز و ظریف (حدود یک گرم) برای رنگ‌آمیزی و تعیین درصد کلنیزاسیون ریشه در محلول اتانول ۵۰ درصد نگه‌داری شدند. برای ارزیابی اثرات آلودگی کادمیمی خاک و مایه‌زنی میکروبی، ماده خشک گیاه، عملکرد نسبی ماده خشک شاخساره آن نیز به صورت زیر محاسبه شد:

$$BCF = \frac{C_p}{C_s} \quad [4]$$

که BCF، ضریب تغلیظ زیستی برای پالایش سطوح مختلف آلودگی کادمیمی، C_p غلظت کادمیم در گیاه و C_s غلظت کادمیم در خاک است. هرچه این ضریب بیشتر از یک باشد، به معنای تجمع بیشتر آلودگی خاک توسط گیاه است.

$$TF = \frac{C_p^{Shoot}}{C_p^{root}} \quad [5]$$

که C_p^{root} و C_p^{Shoot} به ترتیب غلظت کادمیم در شاخساره و ریشه گیاه و TF فاکتور انتقال کادمیم از ریشه به شاخساره است.

$$RY = \frac{Y_i}{Y_0} \quad [1]$$

که در آن RY عملکرد نسبی گیاه، Y_i عملکرد ماده خشک گیاه در هر تیمار و Y_0 عملکرد ماده خشک گیاه در شرایط بدون کادمیم و در تیمار شاهد (بدون مایه‌زنی با میکروب‌ها) است (۲۶).

برای بررسی تأثیر آلودگی کادمیمی بر قارچ ریشه‌ها، درصد کلنیزاسیون ریشه اندازه‌گیری شد. درصد کلنیزاسیون ریشه با روش رنگ‌آمیزی با محلول رنگی تریپان بلو و شمارش خطوط تلاقی شبکه اندازه‌گیری شد (۱۹). برای اندازه‌گیری پرولین از روش بیتز و همکاران (۸) استفاده شد. در این پژوهش از روش اکسیداسیون تر برای عصاره‌گیری کادمیم کل از گیاه استفاده شد. برای ارزیابی توانایی گیاهان و نیز تأثیر AMF و PGPR در

پالایش سبز سطوح مختلف آلودگی کادمیمی، در هر سطح آلودگی خاک به کادمیم، کادمیم استخراج شده توسط گیاهان، کادمیم تثبیت شده در ریشه، ضریب تغلیظ زیستی و فاکتور انتقال با استفاده از روابط (۲، ۳، ۴ و ۵) تعیین شدند (۳ و ۲۶):

$$ME = C_p^{Shoot} \times Y^{Shoot} \quad [2]$$

که در آن ME کادمیم استخراج شده توسط شاخساره گیاهان (C_p^{Shoot} ، $mg \text{ pot}^{-1}$) غلظت کادمیم در شاخساره گیاه (Y^{Shoot} ، $mg \text{ kg}^{-1}$) و عملکرد شاخساره گیاه ($kg \text{ pot}^{-1}$) در سطوح مختلف آلودگی است.

$$MS = C_p^{root} \times Y^{root} \quad [3]$$

که در آن MS کادمیم استخراج شده توسط شاخساره گیاهان

تجزیه آماری داده‌ها

آزمایش به صورت فاکتوریل با دو فاکتور غلظت کادمیم (در چهار سطح) و تیمار میکروبی (در سه سطح) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی و در سه تکرار در شرایط گلخانه انجام شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها نیز با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه نشان داد که این خاک دارای بافتی متوسط، pH آهکی، کمی شور، غیرسدیمی، با ظرفیت تبادل کاتیونی نسبتاً بالا و با توجه به حدود مجاز گزارش شده در منابع (۱۱) غیرآلوده به فلزات سنگین بود (جدول ۱).

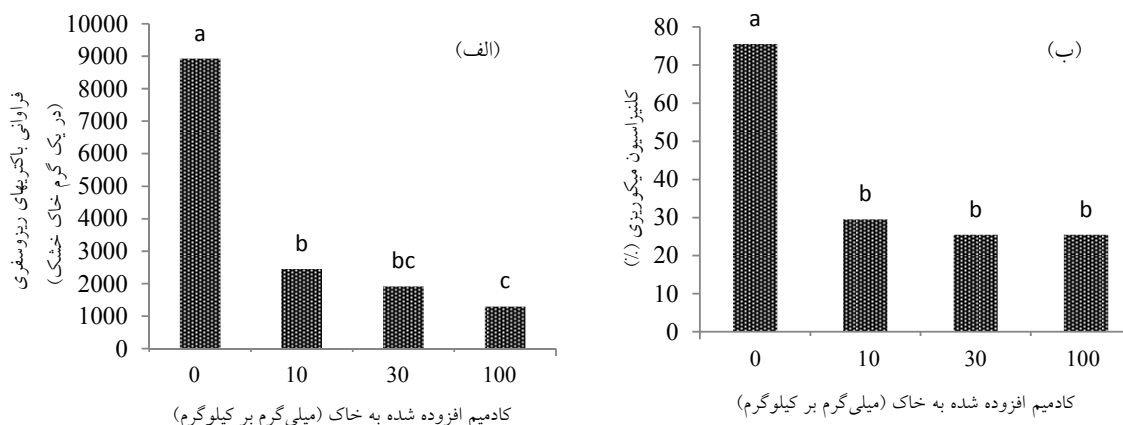
فراوانی باکتری‌های ریزوسفری

فراوانی باکتری‌های ریزوسفری خاک با افزایش شدت آلودگی کادمیم در خاک به طور معنی‌داری ($P \leq 0/05$) کاهش یافت (شکل ۱ الف). کاهش فراوانی باکتری‌ها در اثر آلودگی کادمیمی خاک را می‌توان به

جدول ۱. برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی اولیه خاک مورد مطالعه

ویژگی	مقدار	ویژگی	مقدار
شن (g kg^{-1})	۳۲۳	سدیم محلول (mg L^{-1})	۲۳/۸
سیلت (g kg^{-1})	۴۰۳	پتاسیم محلول (mg L^{-1})	۰/۰
رس (g kg^{-1})	۲۷۴	کربنات محلول (mg L^{-1})	۰/۸
کلاس بافتی خاک	لوم	بی‌کربنات محلول (mg L^{-1})	۵/۶
مواد آلی (g kg^{-1})	۲۶/۹	کلر محلول (mg L^{-1})	۱۵/۲
CEC (cmolc kg^{-1})	۲۲/۱	سولفات محلول (mg L^{-1})	۳/۸
ECe (dS m^{-1})	۲/۵	کل سرب (mg kg^{-1})	۲۱/۴۲
ESP (%)	۳	کل کادمیم (mg kg^{-1})	۱/۴۷
CCE (%)	۳۰/۵	کل آهن (mg kg^{-1})	۲۹۵/۵
pH	۸/۱	کل روی (mg kg^{-1})	۶۲
کلسیم محلول (mg L^{-1})	۱/۲	کل مس (mg kg^{-1})	۱۴/۱۱
منیزیم محلول (mg L^{-1})	۰/۴		

CEC: ظرفیت تبادل کاتیونی؛ ECe: هدایت الکتریکی عصاره اشباع خاک؛ ESP: درصد سدیم تبادل؛ CCE: کربنات کلسیم معادل



شکل ۱. الف) فراوانی باکتری‌های ریزوسفری و ب) درصد کلینزاسیون میکوریزی ریشه در سطوح مختلف کادمیم در خاک

کاهش یافت. این کاهش با افزایش غلظت کادمیم از ۳۰ به ۱۰۰ تغییر معنی‌دار نداشت. ولی در سایر غلظت‌ها به‌طور معنی‌دار ($P \leq 0/05$) کاهش یافت (شکل ۱ ب). اثرات منفی فلزات سنگین بر توسعه همزیستی قارچ ریشه‌ای به‌طور مکرر گزارش شده است. محققان نشان دادند که با افزایش غلظت کادمیم، همزیستی میکوریزی در گیاه کاهش یافت و معلوم شد که

تخریب DNA و RNA، مهار سنتز پروتئین، جلوگیری از فرایندهای آنزیمی و مهار تقسیم سلولی توسط فلزات سنگین و نهایتاً آسیب‌رسانی به سلول و فرایندهای سلولی باکتری‌ها نسبت داد (۳۰).

درصد کلینزاسیون ریشه

درصد کلینزاسیون ریشه گیاه با افزایش غلظت کادمیم در خاک

جدول ۲. مقایسه میانگین ویژگی‌های فیزیولوژیکی گیاه در سطوح مختلف کادمیم در خاک در تیمارهای شاهد، AMF و PGPR

AMF	PGPR	شاهد	کل کادمیم افزوده شده به خاک (mg kg ⁻¹)
عملکرد شاخساره (g pot ⁻¹)			
۱/۴۵±۰/۵ ^{a,a}	۱/۳۵±۰/۲۹ ^{a,a}	۰/۸۷±۰/۱۹ ^{b,a}	۰
۰/۹۹±۰/۰۵ ^{a,ab}	۰/۵۳±۰/۰۳ ^{b,b}	۰/۵۲±۰/۰۹ ^{b,b}	۱۰
۰/۵۹±۰/۰۷ ^{a,bc}	۰/۲۵±۰/۰۲ ^{b,b}	۰/۱۶±۰/۰۳ ^{b,c}	۳۰
۰/۴۰±۰/۰۴ ^{a,c}	۰/۲۵±۰/۰۴ ^{b,b}	۰/۰۹±۰/۰۱ ^{c,c}	۱۰۰
عملکرد نسبی شاخساره گیاه (g pot ⁻¹)			
۱/۶۴±۰/۱۹ ^{a,a}	۱/۵۵±۰/۰۸ ^{a,a}	۱/۰۰±۰/۰۰ ^{b,a}	۰
۱/۱۸±۰/۲۷ ^{a,b}	۰/۶±۰/۱۱ ^{b,b}	۰/۶۲±۰/۱۹ ^{b,b}	۱۰
۰/۷۰±۰/۰۲ ^{a,c}	۰/۳۰±۰/۰۶ ^{b,b}	۰/۱۹±۰/۰۶ ^{b,c}	۳۰
۰/۴۷±۰/۰۶ ^{a,c}	۰/۲۹±۰/۰۶ ^{b,b}	۰/۱۰±۰/۰۳ ^{c,c}	۱۰۰
پرولین (μM g ⁻¹ DW)			
۶۹۱/۳±۷۱/۵ ^{a,d}	۶۵۳/۵±۲۰۰/۹ ^{a,d}	۷۰۱/۷±۱۷۲/۸ ^{a,c}	۰
۱۵۷۲/۰±۲۶۴/۰ ^{b,c}	۴۷۷۷/۳±۳۶۸/۰ ^{a,c}	۴۴۰۷/۴±۷۱۷/۶ ^{a,b}	۱۰
۲۶۵۶/۳±۱۸۰/۸ ^{c,b}	۸۲۳۷/۰±۱۲۲/۹ ^{a,b}	۵۴۹۴/۹±۶۳/۵ ^{b,ab}	۳۰
۳۷۵۰/۰±۶۴۰/۳ ^{c,a}	۱۰۰۹۹/۷±۳۸۳۶/۹ ^{a,a}	۶۸۰۲/۳±۱۳۸/۲ ^{b,a}	۱۰۰

حروف بالانویس اول و دوم بر روی هر عدد به ترتیب نشان‌دهنده اختلاف آماری در سطح احتمال ۵ درصد در هر ردیف و هر ستون می‌باشند. میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن اختلاف معنی‌داری آماری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند. اعداد مقابل داده‌ها انحراف معیار داده‌ها در ۳ تکرار را نشان می‌دهند

عملکرد و عملکرد نسبی ماده خشک شاخساره

با افزایش غلظت کادمیم در خاک، عملکرد و عملکرد نسبی شاخساره در تمامی تیمارها به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0/05$) کاهش یافت (جدول ۲). در هر سطح از غلظت کادمیم در خاک، مقادیر ماده‌خشک شاخساره در تیمارهای AMF و PGPR به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0/05$) بیشتر از تیمار شاهد بود. همچنین در هر سطح از غلظت کادمیم در خاک، مقادیر ماده خشک شاخساره در تیمار AMF بیشتر از تیمار PGPR بود.

کادمیم در گیاهان سبب توقف رشد و کلروزه شدن برگ‌های گیاهان، کاهش و توقف رشد ریشه، افزایش تولید اتیلن در گیاه و به‌ویژه اندوزش آن در ریشه، چوب‌پنبه‌ای شدن و صدمه به ساختمان خارجی و داخلی ریشه، کاهش هدایت هیدرولیکی آب در ریشه می‌شود. همچنین سمیت کادمیم بر فرایندهای اصلی گیاه نظیر فتوسنتز، تکثیر سلولی و جذب آب توسط ریشه‌های گیاهان اثر می‌گذارد (۴۱). احتمالاً تلقیح باکتری‌های محرک رشد گیاه تولید اتیلن ناشی از تنش فلزات

سطوح بالای فلزات سنگین در خاک، همزیستی میکوریزی را به شدت کاهش می‌دهد (۱۰).

مقدار پرولین در شاخساره

با افزایش غلظت کادمیم در خاک مقدار پرولین در همه تیمارها به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0/05$) افزایش یافت. مقدار پرولین، غیر از غلظت صفر در تمامی سطوح کادمیم در PGPR بیشتر از شاهد و AMF بود که دلیل این امر را می‌توان به بالا بودن غلظت کادمیم در تیمارهای PGPR نسبت داد (جدول ۲). افزایش تولید پرولین یک مکانیسم سازگاری به تنش‌های محیطی است (۴۲). پرولین در گیاهان تحت شرایط نامناسب رشد، از جمله تنش فلزات سنگین تجمع می‌یابد (۳۵). تیمارهای میکوریزی با جذب بهتر آب و عناصر غذایی احتمالاً کمتر تحت تنش بوده به همین دلیل مقدار پرولین نیز پایین‌تر است. پرولین به‌عنوان یک اسمولایت مهم در تعدیل فشار اسمزی سلول تحت تنش‌های فلزات سنگین، دمای پایین، کمبود مواد غذایی و اسیدیته بالا نقش دارد (۳۳ و ۱۷).

جدول ۳. مقایسه میانگین مقادیر غلظت کادمیم شاخساره، کادمیم استخراج شده و غلظت کادمیم در ریشه گیاه در سطوح مختلف

کادمیم در خاک در تیمارهای شاهد، AMF و PGPR			
AMF	PGPR	شاهد	کل کادمیم افزوده شده به خاک (mg kg ⁻¹)
غلظت کادمیم شاخساره گیاه (mg kg ⁻¹)			
۴۲/۶±۴ ^{b,c}	۵۶/۴±۱ ^{a,d}	۵۰/۴±۱ ^{ab,c}	۰
۷۱۷/۹±۴۸ ^{a,b}	۷۶۵/۵±۱۹۸ ^{a,c}	۴۸۵/۰±۷۸ ^{b,b}	۱۰
۸۰۵/۷±۶۶ ^{b,b}	۱۳۲۵/۰±۱۷۷ ^{a,b}	۹۲۳/۱±۸۹ ^{ab,a}	۳۰
۱۰۴۷/۳±۱۸۷ ^{b,a}	۱۶۳۶/۹±۴۷ ^{a,a}	-	۱۰۰
کادمیم استخراج شده توسط گیاه (mg pot ⁻¹)			
۶۰/۷±۱۵/۹ ^{a,c}	۶۷/۷±۱۰/۳ ^{a,c}	۳۸/۳±۳/۹ ^{b,c}	۰
۷۲۴/۰±۱۷/۹ ^{a,a}	۲۵۲/۹±۳۹/۴ ^{b,b}	۲۴۵/۱±۱۸/۲ ^{b,a}	۱۰
۴۸۲/۴±۱۱۳/۳ ^{a,b}	۳۳۳/۸±۸۱/۷ ^{a,ab}	۱۵۳/۹±۴۷/۳ ^{b,b}	۳۰
۴۱۷/۵±۴۲/۲ ^{a,b}	۴۴۱/۶±۱۰/۵ ^{a,a}	-	۱۰۰
غلظت کادمیم در ریشه (mg kg ⁻¹)			
۰/۸۳±۰/۱ ^{b,d}	۱/۵۲±۰/۰۱ ^{a,d}	۱/۷۰±۰/۲ ^{a,c}	۰
۷۲/۵۵±۴ ^{b,c}	۸۷/۱۴±۸ ^{a,c}	۵۷/۰۰±۷ ^{c,b}	۱۰
۱۱۵/۶±۰/۴ ^{b,b}	۱۲۳/۴۶±۵ ^{a,b}	۹۸/۷۶±۷ ^{c,a}	۳۰
۱۸۸/۰۵±۳ ^{b,a}	۲۶۵/۴۸±۸ ^{a,a}	۱۳۴/۵۶±۱۰ ^{c,a}	۱۰۰

حروف بالا نویسنده اول و دوم بر روی هر عدد به ترتیب نشان‌دهنده اختلاف آماری در سطح احتمال ۵ درصد در هر ردیف و هر ستون می‌باشند. میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری آماری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند. اعداد مقابل داده‌ها انحراف معیار داده‌ها در ۳ تکرار را نشان می‌دهند. (-) به معنی عدم کفایت وزن خشک ریشه‌ها جهت تعیین غلظت فلز می‌باشد.

غلظت کادمیم و مقدار کادمیم استخراج شده توسط شاخساره با افزایش غلظت کادمیم در خاک، غلظت کادمیم در شاخساره در همه تیمارها به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0/05$) افزایش یافت (جدول ۳). غلظت کادمیم در شاخساره در تیمار PGPR در همه سطوح کادمیم در خاک، بیشتر از تیمار AMF بود. نوع جمعیت میکروبی (قارچ ریشه‌ها و PGPRها)، غلظت فلزات و نوع گیاه می‌توانند تأثیراتی متفاوت بر جذب و انتقال فلزات فلزات سنگین داشته باشد (۱۸، ۲۴ و ۳۱). هوانگ و همکاران (۲۱) با بررسی تأثیر قارچ میکوریز آربوسکولار بر جذب فلزات سنگین توسط ذرت بیان کردند که قارچ ریشه‌ها می‌توانند از گیاهان عالی در مقابل سمیت و غلظت بیش از حد مس، روی و سرب به کمک تغییر شکل دادن آنها از فرم قابل دسترس به فرم غیرقابل دسترس محافظت کنند. در واقع تجمع مس و روی در ریشه‌ها و اندام هوایی گیاهان آلوده به قارچ ریشه به‌طور

سنگین در گیاه را کاهش داده (باکتری‌های مانند سودوموناس‌ها حاوی آنزیم تجزیه‌کننده پیش‌ساز اتیلن (ACC)) و موجب افزایش زیست‌توده گیاهی و ارتفاع گیاه می‌شود (۶). همچنین با تولید سیدروفورهای میکروبی و ترکیبات متابولیت، می‌توانند در دستیابی به هدف مورد نظر که همان افزایش تولید و پالایش آلاینده‌هاست، بسیار مفید باشند. همچنین در منابع گزارش شده است قارچ ریشه‌های آربوسکولار به دلیل داشتن شبکه‌ای از هیف‌ها می‌توانند جذب عناصر غذایی به‌ویژه فسفر را توسط گیاه افزایش دهند که در نتیجه آن با بهبود شرایط تغذیه‌ای گیاه، وزن خشک اندام‌های هوایی و برخی از پارامترهای رشد افزایش می‌یابد (۱، ۲ و ۳) لیاو و همکاران (۲۹) نشان دادند که تلقیح میکوریزی با افزایش سطوح کادمیم در خاک سبب افزایش ماده خشک ریشه گیاه در مقایسه با گیاهان شاهد شد.

غلظت بیش از ۱۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از فلز روی در بافت‌های قارچ *G.mosseae* و بیش از ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در بافت‌های قارچ *G.versiforme* گزارش شده است (۱۳).

ضریب تغلیظ زیستی شاخساره و ریشه (BCF)

مقادیر BCF شاخساره و ریشه در تمامی تیمارها با افزایش غلظت کادمیم در خاک از صفر تا ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم افزایش یافت. اما پس از آن با افزایش غلظت کادمیم در خاک (۱۰۰ میلی‌گرم کادمیم بر کیلوگرم خاک) BCF به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0/05$) کاهش یافت (جدول ۴). در غلظت‌های ۱۰، ۳۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم کادمیم بر کیلوگرم خاک مقدار BCF ریشه در تیمارهای PGPR و AMF به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0/05$) بیشتر از تیمار شاهد بود. همچنین در بین تیمارهای میکروبی PGPR دارای BCF بیشتر در شاخساره و ریشه بودند. به‌طور کلی مایه‌زنی PGPR و AMF در تمامی سطوح کادمیم در خاک سبب افزایش BCF شاخساره و ریشه نسبت به تیمار شاهد شد. البته مایه‌زنی PGPR تأثیر بیشتری در افزایش این مقدار داشت. این نتایج نشان می‌دهد که PGPR نسبت به AMF در سطوح مختلف کادمیم در خاک به‌ویژه در غلظت‌های ۳۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در تغلیظ کادمیم در شاخساره و ریشه مؤثرتر هستند.

فاکتور انتقال گیاهی (TF) Translocation Factor

با افزایش غلظت کادمیم در خاک (تا ۱۰ میلی‌گرم کادمیم بر کیلوگرم خاک) مقدار فاکتور انتقال گیاهی در تمامی تیمارها کاهش یافت. درحالی‌که در غلظت‌های بالای کادمیم (۳۰ میلی‌گرم کادمیم بر کیلوگرم خاک) و در تیمار PGPR و شاهد افزایش ولی در تیمار AMF کاهش یافت. مقادیر TF در غلظت صفر میلی‌گرم کادمیم در تیمار میکوریزی بیشتر از PGPR و شاهد بود. درحالی‌که در غلظت ۳۰ و ۱۰ میلی‌گرم کادمیم در تیمار PGPR بیشتر از میکوریزی و شاهد بود. AMF سبب

معنی‌داری نسبت به گیاهانی که آلودگی قارچ ریشه‌ای ندارند کمتر است، که این نتیجه بیان‌کننده آن است که قارچ ریشه‌ها در کاهش آلاینده‌گی مس و روی جذب آنها در گیاهان عالی تأثیر بسزایی دارند (۲۱). معلوم شده است گیاهان قارچ ریشه‌ای در سطوح پایین آلودگی در به‌دست آوردن عناصر کم‌مصرف مانند آهن، روی، مس و منگنز توانا‌تر از گیاهان بدون قارچ ریشه هستند ولی در سطوح بالای آلودگی گزارش‌ها ضد و نقیض است (۱۴، ۱۶ و ۳۸). کاباتا پندپاس (۲۳) نشان دادند که غلظت‌های کادمیم، مس، روی، منگنز به‌طور معنی‌داری در گیاهان قارچ ریشه‌ای نسبت به گیاهان بدون قارچ ریشه کمتر بود که این نتایج پیشنهاد می‌کند قارچ‌هایی که تحمل بالایی نسبت به غلظت فلزات دارند می‌توانند برای اصلاح خاک‌ها مورد استفاده قرار گیرند. همچنین کادمیم جذب شده توسط گیاه بیشتر در ریشه تجمع می‌یابد. آنان اظهار داشتند که تجمع کادمیم در ریشه ممکن است به علت تشکیل پیوند بین کادمیم و سولفیدریل و پروتئین‌هایی به نام فیتولکتین باشد.

غلظت کادمیم در ریشه

با افزایش غلظت کادمیم در خاک، غلظت کادمیم در ریشه در همه تیمارها به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0/05$) افزایش یافت (جدول ۳). غلظت کادمیم در ریشه گیاه در تمامی سطوح کادمیم در خاک، در تیمارهای میکروبی به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0/05$) بیشتر از تیمار شاهد بود. همچنین در بین تیمارهای میکروبی PGPR دارای غلظت کادمیم بیشتر در ریشه بودند. دلیل بیشتر بودن غلظت کادمیم در ریشه‌های گیاهان در تیمار PGPR نسبت به تیمارهای AMF و شاهد، احتمالاً مربوط به بیشتر بودن زیست‌فراهمی کادمیم در تیمار PGPR است. معلوم شده است گیاهان پاپیروس تلفیح یافته با باکتری‌های محرک رشد در خاکی آلوده به سلنیوم، ۷۰-۸۰ درصد سلنیوم در ریشه و ۴۰-۶۰ درصد سلنیوم در اندام‌های هوایی خود تجمع می‌دهند (۱۵). همچنین گزارش شده است حجم زیادی از فلزات در اسپورها و ساختمان قارچ ریشه انباشته می‌شود. برای مثال

جدول ۴. مقایسه میانگین ضریب تغلیظ زیستی (BCF) در شاخساره و ریشه و فاکتور انتقال در سطوح مختلف کادمیم

در خاک در تیمارهای شاهد، AMF و PGPR			
AMF	PGPR	شاهد	کل کادمیم افزوده شده به خاک (mg kg ⁻¹)
ضریب تغلیظ زیستی (BCF) شاخساره			
۳۰/۱±۳/۰b,b	۳۸/۴±۰/۴a,bc	۳۴/۳±۰/۹ab,ab	۰
۶۲/۶±۴/۲a,a	۶۶/۷±۱۷/۳a,a	۴۲/۳±۶/۸b,a	۱۰
۳۰/۶±۲/۱b,b	۴۲/۱±۵/۶a,b	۲۹/۳±۲/۸b,b	۳۰
۱۱/۴±۰/۳b,c	۱۶/۱±۰/۵a,c	۱/۸±۰/۲c,c	۱۰۰
ضریب تغلیظ زیستی (BCF) ریشه			
۰/۵۷c,d	۱/۰۴b,d	۱/۱۷a,d	۰
۶/۳b,a	۷/۶۰a,a	۴/۹۷c,a	۱۰
۳/۶۷b,b	۳/۹۲a,b	۳/۱۴c,b	۳۰
۱/۸۵b,c	۲/۶۲a,c	۱/۳۳c,c	۱۰۰
فاکتور انتقال کادمیم (-)			
۵۱/۷۵a,a	۳۷/۵۵b,a	۲۹/۸c,a	۰
۹/۹۵ a,b	۸/۹۰b,c	۸/۷۵b,c	۱۰
۷/۵c,c	۱۰/۸۵a,b	۹/۶۵b,b	۳۰
۵/۸b,d	۶/۶a,d	۱/۶۵ c,d	۱۰۰

حروف بالانویس اول و دوم ب روی هر عدد به ترتیب نشان‌دهنده اختلاف آماری در سطح احتمال ۵ درصد در هر ردیف و هر ستون می‌باشند. میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری آماری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند. اعداد مقابل داده‌ها انحراف معیار داده‌ها در ۳ تکرار را نشان می‌دهند. *: غلظت اولیه کادمیم در خاک ۱/۴۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود، که در محاسبه BCF در نظر گرفته شد

نتیجه‌گیری

نتیجه این پژوهش نشان داد که مایه‌زنی قارچ ریشه AMF در افزایش عملکرد شاخساره گیاه گل گندم نسبت به گونه‌های PGPR تأثیر بیشتری داشتند، درحالی‌که مایه‌زنی گونه‌های PGPR تأثیر بیشتر در افزایش میزان کادمیم در شاخساره داشت. گونه‌های PGPR در ضریب تغلیظ زیستی شاخساره و ریشه و فاکتور انتقال توسط گیاه تأثیر بیشتری از گونه‌های AMF داشتند. در غلظت‌های پایین کادمیم تأثیر مایه زنی PGPR و AMF در استخراج کادمیم توسط گل گندم تقریباً مشابه بود. هر چند گیاه گل گندم کادمیم بالایی را استخراج نکرد اما این نتیجه به این دلیل بود که این پژوهش در شرایط گلخانه انجام شد و گیاه در این شرایط به حداکثر رشد و عملکرد خود نرسید و در شرایط طبیعی و مزرعه زیست‌توده بالایی تولید می‌کند و احتمالاً می‌تواند مقدار کادمیم بیشتری را استخراج کند. به‌طور

کاهش انتقال کادمیم از ریشه به شاخساره (در غلظت‌های بالای کادمیم) و PGPR سبب افزایش انتقال کادمیم از ریشه به شاخساره می‌شود. این نتایج نشان‌دهنده توانایی بیشتر PGPR در انتقال کادمیم از ریشه به شاخساره نسبت به شاهد و AMF بود. جونر و لیوال (۲۲) نشان دادند که افزودن باکتری به محیط رشد گیاه سبب انتقال بهتر فلزات از ریشه به اندام هوایی شد، درحالی‌که قارچ ریشه‌های آربوسکولار سبب می‌شوند که بخش زیادی از کادمیم در ریشه‌های گیاه و ریشه‌ها و میسلیوم‌ها تجمع یابد و انتقال آن به شاخساره گیاه کاهش یابد. نتایج مطالعات نشان می‌دهد که تغییرات تجمع فلزات و جابه‌جایی آنها در درون گیاه در غلظت‌های بالای فلزات، به نوع قارچ ریشه آربوسکولار، ژنوتیپ گیاه میزبان، تراکم ریشه، ویژگی‌های خاک، نوع فلزات و زیست‌فراهمی آنها بستگی دارد (۲۷ و ۳۲).

خلاصه ترکیب گونه‌های PGPR و AMF در کاهش سمیت نتیجه افزایش عملکرد ریشه و شاخساره، نقش بسیار کادمیم و افزایش آستانه تحمل گل گندم به سمیت کادمیم و در چشمگیری در پالایش سبز آلودگی کادمیمی خواهند داشت.

منابع مورد استفاده

۱. برین، م.، م. ح. رسولی صدقیانی و ح. خداوردیلو. ۱۳۹۴. بررسی تأثیر مایه‌زنی میکروبی در خصوصیات کمی و کیفی گیاه گل‌گندم در یک خاک آلوده به کادمیم. زیست‌شناسی خاک ۳: ۱۵۰-۱۳۷.
۲. کاظم علیلو، س.، و م. ح. رسولی صدقیانی. ۱۳۹۲. ارزیابی برخی شاخص‌های زیستی خاک در حضور میکروارگانیسم‌های محرک رشد گیاه و آلودگی کادمیومی خاک ۴۴: ۶۸-۵۷.
۳. کریمی، ا.، ح. خداوردیلو، و م. ح. رسولی صدقیانی. ۱۳۹۲. نقش تحریک کنندگی برخی گونه‌های قارچ گلوموس و باکتری سودوموناس در پالایش سبز سرب خاک توسط بنگدانه (*Hyoscyamus niger*). نشریه دانش آب و خاک ۲۳ (۲): ۲۴۳-۲۲۷.
4. Abedi-Koupai, J. and A. H. Charkhabi. 2005. Phytoremediation of Petroleum Contaminated Soils, Aquifer Vulnerability and Risk, 2nd International Workshop and 4th congress on the Protection and management of Groundwater. Italy, 21-23.
5. Abedi-Koupai, J. M., S. Vossoughi-Shavari, M. Yaghmaei and R. Ezzatian. 2007. Effects of microbial population on phytoremediation of petroleum contaminated soils using tall fescue. Int. J. Agric. Biol. 9: 242-246.
6. Abou-Shanab, R. A., J. S. Angle and R. L. Ghaney. 2006. Bacterial inoculants affecting nickel uptake by *Alyssum murale* from low, moderate and high Ni soils. Soil Biol. Biochem. 38: 2886-2889.
7. Arshad, M., M. Saleem and S. Hussain. 2007. Perspectives of bacterial ACC deaminase in phytoremediation. Trends Biotechnol. 25: 356-362.
8. Bates, L. S., S. P. Waldren and I. D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant Soil 39: 205-207.
9. Belimov, A. A., V. I. Sarfronova 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: 189-199.
10. Blaudez, D., C. Jacob, K. Turnau, J. V. Colpaert, U. Ahonen-Jonnarth, R. Finlay, B. Botton and M. Chalot. 2000. Differential responses of ectomycorrhizal fungi to heavy metals in vitro. Mycol. Res. 104: 1366-1371.
11. Cariny, T. 1995. The Reuse of Contaminated Land: a Handbook of Risk Assessment. John Wiley and Sons Ltd. Publishers, England, UK.
12. Carter M. R. and Gregorich E. G. 2008. Soil Sampling and Methods of Analysis (2nd Ed.), CRC Press. Boca Raton, FL.
13. Chen, S. K., C. A. Edwards and S. Subler. 2001. Effects of the fungicides benomyl, captan, chlorothalonil on soil microbial activity and nitrogen dynamics in laboratory incubations. Soil Biol. Biochem. 33: 1971-1980.
14. Colpaert, J. V. and J. A. Van Assche. 1987. Heavy metal resistance in some ectomycorrhizal fungi. Funct. Ecol. 1: 415-421.
15. De Souza, M. P., C. P. Huang, N. Chee and N. Terry. 1999. Rhizosphere bacteria enhance the accumulation of selenium and mercury in wetland plants. Planta. 209 (2): 259-263.
16. Dehn, B. and H. Schuepp. 1989. Influence of VA mycorrhizae on the uptake and distribution of heavy metals in plants. Agric. Ecosyst. Environ. 29: 79-83.
17. Delauney, A. J. and D. P. Verma. 1993. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. Plant J. 4: 215-223.
18. Diaz, G., C. Azcon-Aguilar and M. Honrubia. 1996. Influence of arbuscular mycorrhiza on heavy metal (Zn and Pb) uptake and growth of *Lygедum spartum* and *Anthyllis cytisoides*. Plant Soil. 180: 241-249.
19. Giovannetti, M. and B. Mosse. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular Arbuscular mycorrhizal infection in roots. New Phytol. 84: 489-500.
20. Gisbert, C., R. Ros, A. De Haro, D. J. Walker, M. P. Bernal, R. Serrano and J. A. Navarro-Avino. 2003. Plant genetically modified that accumulates Pb is specially promising for phytoremediation. Biochem. Biophys. Res. Commun. 5: 303-440.
21. Huang, Y., S. A. Tao and Y. J. Chen. 2005. The role of arbuscular mycorrhiza on change of heavy metal speciation in rhizosphere of maize in wastewater irrigated agriculture soil. J. Environ. Sci. 17(2): 276-280.

22. Joner, E. J. and C. Leyval. 1997. Uptake of Cd 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.
23. Kabata-Pendias, A. and A. B. Mukherjee. 2007. *Trace Elements from Soil to Human*. Springer, Berlin, Germany.
24. Kaldorf, M., A. J. Kuhn, W. H. Schröder, U. Hildebrandt and H. Bothe. 1999. Selective element deposits in maize colonized by a heavy metal tolerance conferring arbuscular mycorrhizal fungus. *J. Plant Physiol.* 154: 718-728.
25. Khan, A. G. 2005. Role of soil microbes in the rhizospheres of plants growing on trace metal contaminated soils in phytoremediation. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 1: 355-364
26. Khodaverdiloo, H. S. Ghorbani Dashtaki, and S. Rezapour. 2011. Lead and cadmium accumulation potential and toxicity threshold determined for land cress (*Barbarea verna*) and spinach (*Spinacia oleracea* L.). *Int. J. Plant Prod.* 5: 275-281.
27. Leyval, C., B. R. Singh and E. J. Joner. 1995. Occurrence and infectivity of arbuscular mycorrhizal fungi in some Norwegian soils influenced by heavy metals and soil properties. *Water Air Soil Poll.* 84: 203-216.
28. Leyval, C., K. Turnau and R. Haselwandter. 1997. Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization and function: physiological, ecological and applied aspects. *Mycorrhiza* 7: 139-153.
29. Liao, J. P., X. G. Lin, Z. H. Cao, Y. Q. Shi and M. H. Wong. 2003. Interactions between *Arbuscular mycorrhizae* and heavy metals under sand culture experiment. *Chemosphere* 50: 847-853.
30. Ma, Y., M. N. V. Prasad, M. Rajkumar and H. Freitas. 2011. Plant growth promoting rhizobacteria and endophytes accelerate phytoremediation of metalliferous soils. *Biotechnol. Adv.* 29: 248–258.
31. Malcova, R., J. Rydlova and M. Vosatka. 2003. Metal-free cultivation of *Glomus sp.* BEG 140 isolated from Mn-contaminated soil reduces tolerance to Mn. *Mycorrhiza* 13: 151-157.
32. Marschner, H. and V. Romheld. 1995. Strategies of plants for acquisition of iron. *Plant Soil.* 165: 262-274.
33. McCue, K. F. and A. D. Hanson. 1990. Drought and salt tolerance: towards understanding and application. *Trends Biotech.* 8: 358-362.
34. McGrath, S. P., S. J. Dunham, and R. L. Correll. 2000. Potential for phytoextraction of zinc and cadmium from soils using hyperaccumulator plants. PP. 109-128. *In: Terry N., S. G. Banuelos (Ed.), Phytoremediation of Contaminated Soil and Water*. CRC Press, Boca Raton, FL.
35. Metwally, A., I. Finkemeier, M. George and K. J. Dietz. 2003. Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in barley seedlings. *Plant Physiol.* 132: 272-281.
36. Palutoglu, M., B. Akgul, V. Suyarko, M. Yakovenko, N. Kryuchenko and A. Sasmaz. 2018. Phytoremediation of cadmium by native plants grown on mining soil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology.* 100: 293-297.
37. Raskin, I., P. B. A. Nand-Kumar, S. Dushenkov and D. E. Salt. 1994. Bioconcentration of heavy metals by plants. *Curr. Opin. Biotechnol.* 5: 285-290.
38. Rudawska, M. and T. Leski. 1998. Aluminium tolerance of different *Paxillus involutus* Fr. strains originating from polluted and non-polluted sites. *Acta Soci. Bot. Poloniae.* 67: 115-122.
39. Salt, D. E., M. Blaylock, N. P. B. A. Kumar, V. Dushenkov, B. D. Ensley, I. Chet and I. Raskin. 1995. Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. *Nat. Biotechnol.* 13: 468 – 474.
40. Shahabivand S., H. Z. Maivan, E. M. Goltapeh, M. Sharifi, A. A. Aliloo. 2012. The effects of root endophyte and arbuscular mycorrhizal fungi on growth and cadmium accumulation in wheat under cadmium toxicity. *Plant Physiol. Biochem.* 60: 53-58.
41. Verma, P., K. V. George, H. V. Singh and R. N. Singh. 2007. Modeling cadmium accumulation in radish, carrot, spinach and cabbage. *Appl. Math. Model.* 31: 1652-1661.
42. Zhang, H. H., M. Tang 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. *Eur. J. Soil Biol.* 46: 306-311.

Evaluation of the Potential of Soil Microbial Activity on Cd Phytoremediation in a Contaminated Soil

M. H. Rasouli Sadaghiani*, H. Khodaverdiloo, M. Barin and S. Kazemalilou¹

(Received: Sept. 28-2014; Accepted: Feb. 28-2018)

Abstract

The use of plants and soil microorganisms is a promising technique for the phytoremediation of heavy metal-contaminated soils. This study was carried out in order to evaluate the soil microbial potential with four Cd concentration levels (0, 10, 30 and 100 mg kg⁻¹); the study also addressed the inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) species (a mixture of *Glomus* species including *G. intraradices*, *G. mosseae* and *G. fasciculatum*) as well as plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) (a mixture of *Pseudomonas* species including *P. putida*, *P. fluorescens*, and *P. aeruginosa*) with the *Centaurea cyanus* plant. The soil sample was spiked uniformly with Cd nitrate salt to create different Cd concentrations. The contaminated soils were then sterilized and subsequently inoculated with AMF and PGPR. The results indicated that with increasing the soil Cd concentration, colonization percent, abundance of rhizobacteria, shoot biomass, and shoot relative biomass were significantly decreased, while the proline content and the shoot Cd concentration were significantly increased ($P \leq 0.05$). The mean of Cd extracted in AMF and PGPR treatments was 1.8 and 2.8 and the translocation factor was 1.2 and 1.5 times higher, as compared to the corresponding control treatments, respectively. It could be concluded that microbial inoculation, in addition to improving plant growth, plays an important role in the Cd phytoremediation efficiency by plant.

Keywords: Phytoremediation, *Centaurea cyanus*, Cd, Arbuscular mycorrhizal fungi, Plant growth promoting rhizobacteria.

1. Dept. of Soil Sci., Faculty of Agric., Urmia Univ., Urmia, Iran.

*: Corresponding Author, Email: m.sadaghiani@urmia.ac.ir