مجله دانش آب و خاک / جلد 21 شماره 2/ سال 1390

# تاثیر باکتریهای محرّک رشد و قارچ میکوریز بر رشد و جذب روی توسط ذرت در یک خاک آلوده به روی

**میرحسن رسولی صدقیانی[1*]، تورج قره‌ملکی[2]، حسین بشارتی[3] و علیرضا توسلی[4]**

تاریخ دریافت: 89/10/27 تاریخ پذیرش: 920/3/18

1-استادیار، گروه مهندسی علوم خاک، دانشگاه ارومیه
2- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، علوم خاک، دانشگاه زنجان
3- استادیار، بخش میکروبیولوژی موسسه تحقیقات خاک و آب کشور، کرج
4- مربی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان شرقی
* مسئول مکاتبه : Email : m.rsadaghiani@urmia.ac.ir

**چکیده**

افزایش فعّالیت میکروبی در خاک و استفاده از روابط همزیستی و سینرژیستی بین باکتری‌های محرّک رشد گیاه (PGPR)، میکوریزها و گیاهان در شرایط آلایندگی ناشی از فلزات سنگین و پالایش اراضی آلوده یک راهکار مدیریتی سودمند و اقتصادی به شمار می‌آید. برای این منظور یک آزمایش گلخانه‌ای با استفاده از گیاه بذر ذرت رقم سینگل کراس 704 به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در 3 تکرار و با دو فاکتور تیمار آلودگی روی (صفر، 100، 200 و 300 میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) و تیمار تلقیح میکروبی شامل بدون تلقیح (C)، تلقیح باکتریایی (B)، تلقیح میکوریزی (F) و تلقیح توام باکتریایی و میکوریزی (BF) اجرا شد. پس از گذشت 14 هفته وزن خشک اندام‌های هوایی، ریشه‌ها، غلظت و مقدار روی در آنها اندازه‌گیری شدند. تجزیه آماری داده‌ها نشان داد که تاثیر سطوح مختلف روی و تلقیح میکروبی بر صفات اندازه‌گیری شده معنی‌دار بود. با افزایش سطوح روی از وزن خشک اندام هوایی کاسته شد (15 درصد) اما غلظت و مقدار روی در اندام‌های هوایی در مقایسه با شرایط بدون مصرف روی به ترتیب 2/6 و 2 برابر افزایش نشان داد بطوری‌که مقدار روی جذب شده کل از 907 میکروگرم در تیمار شاهد به 2855 میکروگرم در گلدان در سطح 300 میلی‌گرم در کیلوگرم روی رسید. تلقیح گیاه با تیمارهای میکروبی سبب افزایش وزن خشک در مقایسه با گیاهان بدون تلقیح شد و بیشترین وزن خشک (21/6 گرم در گلدان) در تیمار باکتری‌های PGPR به دست آمد و 2/28 برابر بیشتر از شرایط بدون تلقیح (6/6 گرم در گلدان) بود. تلقیح میکروبی به‌ویژه با ریزجانداران محرک رشد بطور معنی‌داری مقدار کل جذب روی توسط ذرت را نسبت به شرایط بدون تلقیح تا دو برابر افزایش داد. در میان تیمارهای میکروبی، اگر چه تلقیح باکتری‌های سودوموناس غلظت روی در برگ‌ها را کاهش داد اما با توجه به افزایش بیوماس گیاه، منجر به تجمع بیشتر روی در گیاه ذرت شدند و با توجه به این نتایج می‌توان از این پتانسیل در افزایش کارایی گیاه‌پالایی بهره جست.

**واژه‌های کلیدی**: باکتری‌های محرّک رشد، ذرت، روی، گیاه پالایی، میکوریز

# Effects of PGPR and AM Fungi on Growth and Zn Uptake by Corn Plant in a Zn- Contaminated Soil

**MR Sadaghiani[1*], T Gharemaleki[2], H Besharati[3] and A Tavasolee[4]**

Received: 17 January 2011 Accepted: 08 June 2011
[1]Asist. Prof., Soil Sci. Dept., Faculty of Agric., Univ. of Urmia, Iran
[2]MSc Student, Soil Sci. Dept., University of Zanjan, Iran
[3]Asist. Prof., Soil Microbiology Dept., Soil and Water Research Institute, Karaj, Iran
[4]Researcher, East Azerbaijan Research Center for Agriculture and Natural Resources, Tabriz, Iran
*Corresponding author: Email: m.rsadaghiani@urmia.ac.ir

**Abstract**

Improving soil microbial activity and using synergistic relations including plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) as well as arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) are profitable and have economical significance for plant growth in soils with heavy metals contamination. A greenhouse factorial experiment with corn plant was carried out using factorial design with four Zn levels (mg $kg^{-1}$) $Zn_0$, $Zn_{100}$, $Zn_{200}$ and $Zn_{400}$ and three microbial inoculations including control (C), PGPR inoculation (B), AMF inoculation (F) and PGPR+AMF (BF). PGPRs inoculants were mixtures of fluorescent *Pseudomonas* spp and the AMF islolate belonged to *Glomus versciforme*. After 14 weeks plants were harvested and shoots and roots separately were weighed and dried. Growth parameters, Zn concentration and Zn content (accumulation) were determined in different parts of plants. Analysis of variances showed that Zn levels and microbial inoculations significantly affected the measured indices. High Zn levels decreased shoot dry weight (15%) and increased its Zn concentration as well as content compared to the sterile condition 2.6 and 2 folds, respectively. Accumulated Zn in $Zn_0$ treatment (907 μg/pot) was significantly increased in $Zn_{300}$ treatment (2855 μg/pot). Microbial inoculation of corn has led to an increase in plant biomass compared to sterile plants at contaminated conditions. The highest plant biomass (21.6 g/pot) was achieved in PGPR inoculation which was 2.28 times higher than that of sterile plants (6.6 g/pot). Microbial inoculation particularly with PGPR significantly increased (2.95 fold) Zn uptake in comparison with sterile conditions. It is concluded that inoculation with PGPR decreased Zn concentration in the leaves but drastically raised its accumulation in the whole plant and thus PGPR seems to have the potential that can be used in soil phytoremediation process.

**Keywords:** AM fungi, Corn, PGPR, Phytoremediation, Zinc

**مقدمه**

تنش‌های محیطی یکی از مهم‌ترین مشکلات در حیطه مسائل بخش کشاورزی به شمار می‌رود. با توّجه به اهمّیت امنیت غذایی در جامعه و نیاز روز افزون جوامع به تولیدات کشاورزی و همچنین وجود عوامل محدود کننده مانند تنش ناشی از فلزات سنگین که باعث کاهش کمّیت و کیفیت محصولات کشاورزی می‌شوند (گلیک 2010)، توجه به راهکارهای مدیریتی مناسب و مفید به منظور کاهش اثرات مخرب تنش ناشی از آلودگی فلزات سنگین و همچنین دستیابی به حداکثر عملکرد در بیشتر محصولات کشاورزی امری ضروری به نظر می‌رسد. خاک‌های آلوده به فلزات سنگین علاوه بر تأثیرشان بر سلامتی جوامع، نیازمند صرف هزینه-های زیادی برای حذف و پالایش آلاینده‌ها می‌باشند (آلووی 1995). علاوه بر راهکارهای معمول برای مقابله با تنش فلزات سنگین، توّجه به روش‌های بیولوژیکی از جمله استفاده از پتانسیل همزیستی ریزجانداران افزاینده رشد (باکتری‌های محرک رشد گیاه[1] و قارچ‌های میکوریز[2]) و گیاهان بیش‌اندوز[3] به جهت افزایش توانایی و جذب آلاینده‌ها توسط گیاهان در جهت کاهش اثرات مضر آنها، مفید می‌باشد. این راهکار یکی از روش‌های موثر و مطمئن در مقایسه با سایر فناوری‌های پاکسازی از لحاظ سازگاری با محیط زیست، بهره‌وری و هزینه است (ملکوتی و همکاران 1383، جی‌اُفری و گد 2004).

روی (Zn) یکی از عناصر ریزمغذی ضروری است و مشاهده شده است زمانیکه غلظت آن در برگ بیش از 400 میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک باشد، علائم سمّیت آن به صورت نقاط نکروزه بر روی برگ نمایان می‌شود و در غلظت‌های بالا سبب مرگ گیاه می‌گردد (مارشنر 1986). ریشه گیاهان با تعداد زیادی از موجودات زنده مختلف در ارتباط است. واکنش این دو با یکدیگر و با شرایط خاک تعیین کننده رشد و تکثیر گیاهان است (لینچ 1990، واروارا و همکاران 2000). در این حالت واکنش بین فلزها، میکروب‌ها و گیاهان به دلیل پتانسیل بیولوژیکی موجودات زنده برای جابه‌جایی فلز به طور مستقیم از خاک‌های آلوده شده، یا انتقال احتمالی فلزات تجمع یافته در اندام هوایی، همچنین اثر سمّیت فلزات سنگین بر سوخت و ساز میکروبی و رشد گیاهان مورد توجه قرار می‌گیرد (ماس و هافمن 1977، جی‌اُفری و گد 2004). واکنش‌های بین گیاهان و ریزجانداران مفید ریزوسفر می‌تواند تولید زیست توده و تحمل گیاه به فلزات سنگین را افزایش دهد، بنابراین می‌تواند جزء مهّمی از تکنولوژی گیاه پالایی محسوب می‌شود (لونگراگان و وب 1993، برنارد و گلیک 2003). در بین موجودات ریزوسفری که در واکنش گیاه با خاک اطراف دخالت دارند، باکتری‌های محرّک رشد گیاه (PGPR) مانند حل‌کننده‌های فسفات و پتاسیم و باکتری‌های آزادزی تثبیت کننده نیتروژن، ریزوبیوم‌ها، میکوریز آربوسکولار (AM) مورد توجه قرار گرفته‌اند (وِلِر و همکاران 1993، واروارا و همکاران 2000).

باکتری‌های سودوموناس خاکزی به دلیل داشتن خصوصیاتی همچون تنوع کاتابولیکی، توانایی بالا در کلونیزاسیون ریشه و قابلیت آنها در تولید محدوده وسیعی از آنزیم‌ها (از جمله آنزیم ACC دِآمیناز)، سیدروفورها و مواد متابولیک از اهمّیت ویژه‌ای برخوردار هستند و از این نظر جزء مهمترین و پرشمارترین اعضای جمعیت باکتریایی ریزوسفر محسوب می‌شوند (خاوازی و ملکوتی 1380، نیلند و لیونگ 1986، گلیک و همکاران 1998، گلیک 2010). حَسنین و صَبری (1996) گزارش کردند که تلقیح گیاه خردل هندی به باکتری‌های سودوموناس و باسیلوس، گیاه را در برابر اثرات بازدارندگی کروم (Cr) حفاظت می‌کند که علّت آن را می‌توان مربوط به تولید ایندول استیک اسید (IAA)، سیدروفور و محلول کردن فسفات توسط این باکتری‌ها دانست.

از آنجائی که قارچ‌های میکوریزی پس از برقراری رابطه همزیستی، ترشحات ریشه‌ای گیاه میزبان را به صورت کمی و کیفی تغییر می‌دهند (پینیور و همکاران 1999)، لذا می‌توانند نقش مهمّی در پاکسازی

[1]Plant growth-promoting rhizobacteria
[2]Arbuscular mycorrhiza
[3]Hyperaccumulator

محیط از این نوع آلاینده‌ها داشته باشند. قارچ‌های میکوریزی از طریق بهبود شرایط تغذیه‌ای گیاه، اصلاح روابط آبی گیاه و افزایش تحمل گیاه به آلاینده‌ها نقش مهمی را ایفاء می‌نمایند (هاردی و لیتون 1981). گزارشات متفاوتی از اثر بخشی میکوریز در جذب و تجمع عناصر سنگین از جمله روی وجود دارد. کلونیزاسیون قارچ‌های میکوریزی جذب و تجمع فلزات سنگین را در گیاهان عالی افزایش می‌دهد. قارچ‌های میکوریز با ترشح برخی آنزیم‌ها در فرآیند غیر متحرک کردن (آلی شدن) فلزات سنگین در خاک‌های آلوده نقش داشته و میزان انباشت آنها را در گیاهان کاهش می‌دهند (جونر و لیوال 2001). آئودت و چِرست (2006) نشان دادند که غلظت و جذب روی با افزایش سطوح روی در اندام‌های هوایی گیاهان میکوریزی بیشتر از گیاهان غیرمیکوریزی بود و بخش اعظم روی جذب شده گیاه در اندام‌های هوایی تجمع یافت. گزارش شده که در گیاهان میکوریزی رشد کرده در خاک‌های آلوده به روی در مقایسه با گیاهان غیر میکوریزی، روی کل جذب شده بطور معنی‌داری کمتر بود.

نتایج بسیاری از مطالعات نشان می‌دهد که حضور باکتری‌های محرک رشد در ریزوسفر گیاهان رشد کرده در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین، موجب شده است تا غلظت برخی از اینگونه فلزات همچون روی، مس، سرب و کروم در اندام‌های گیاهی افزایش یابد (جانسکووا و وساتکا 2005، ابوشاناب 2007). لی و همکاران (2007) بیان کردند که تلقیح باکتری‌های محرک رشد در خاک‌های تیمار شده با سطوح مختلف روی، بطور بسیار معنی‌داری ($P<0/001$) وزن خشک اندام‌های هوایی و جذب روی در گیاه را در مقایسه با گیاهان بدون تلقیح افزایش داد.

این تحقیق با هدف بررسی تاثیر تلقیح باکتریهای محرک رشد گیاه و میکوریز آربوسکولار بر رشد و جذب روی توسط گیاه ذرت در خاکهای تیمار شده با سطوح مختلف روی انجام گردید.

**مواد و روش‌ها**

در این تحقیق، آزمایشی گلدانی به صورت فاکتوریل با دو فاکتور در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام گردید. پس از تجزیه و اندازه‌گیری غلظت برخی عناصر غذایی در چندین نمونه خاک، خاک مناسب از نظر تناسب عناصر غذایی برای کشت ذرت و اجرای آزمایش انتخاب شد و سپس مقادیر کافی خاک تهیه گردید. خاک مورد استفاده (جدول 1) یک خاک زراعی غیر گچی و غیر شور (از عمق 30-0 سانتی-متری)، با بافت رسی‌لومی و طبقه‌بندی آن از نوع Typic Haploxerept بود. فاکتورهای آزمایشی شامل فاکتور تلقیح میکروبی در چهار سطح بدون تلقیح (C)، تلقیح باکتریایی (B)، تلقیح میکوریزی (F)، تلقیح همزمان باکتریهای PGPR و میکوریزی (BF) و فاکتور غلظت روی در چهار سطح 0، 100، 200 و 300 میلی‌گرم در کیلوگرم خاک بودند. سویه‌های میکروبی مورد استفاده در این بررسی که شامل سودوموناس‌های گروه فلورسنت (ترکیبی از گونه‌های *P. putida*، *P. fluorescens* و *P. aeruginosa*) و قارچ میکوریز آربوسکولار (*Glomus versiforme*) بودند، از بانک میکروبی بخش بیولوژی خاک موسسه تحقیقات خاک و آب کشور تهیه شدند.

قبل از توزیع خاک در گلدان‌ها، برای آلوده کردن خاک به عنصر روی، ابتدا مقدار لازم سولفات روی ($ZnSO_4$) برای آلوده کردن جرم کل خاک مربوط به هر تیمار محاسبه گردید. در ادامه از محلول مادر تهیه شده، مقادیر مشخصی بر اساس غلظت مورد نظر برای هر سطح برداشته و به بخش کوچکی از خاک مورد نظر اضافه و با تمام خاک تیمار موردنظر مخلوط شد تا توزیع یکنواختی از روی در خاک ایجاد گردد. سپس خاک‌ها در گلدان‌های پلاستیکی به مدت حدود 5 ماه در دوره‌های خشک - مرطوب متوالی در دمای اتاق خوابانده شدند. در هر دوره خشک – مرطوب شدن، خاک گلدان‌ها اشباع و بعد اجازه داده شد تا هوا خشک گردد بطوریکه رطوبت خاک به حد نسبتاً ثابتی برسد. به منظور جلوگیری از آبشویی روی از گلدان‌های بدون

زهکش استفاده گردید. هر دوره خشک - مرطوب 40 روز طول کشید و بعد از هر دوره خاک گلدان‌ها به منظور ایجاد یکنواختی در غلظت روی کاملاً مخلوط می‌گردید. در انتهای هر دوره مقدار روی کل و محلول اندازه‌گیری شد. پس از تکوین واکنش‌ها، خاک‌های آلوده به روی دو بار (با یک هفته فاصله) با دستگاه اتوکلاو در دمای 121 درجه سانتیگراد و فشار 1/5 اتمسفر به مدّت 2 ساعت در داخل کیسه‌های کنفی ضدعفونی شدند.

برای اِعمال تیمارهای میکروبی، در گلدان‌های مربوط به تیمار قارچی قبل از کشت و در زیر بذور، مقدار 100 گرم از مایه تلقیح قارچی با پتانسیل در حدود 250 پروپاگول در سانتیمتر مکعب به صورت لایه‌ای به ضخامت تقریبی 2 سانتیمتر اضافه شد. برای تیمار باکتریایی نیز مقدار 50 میلی‌لیتر از محیط کشت مایع حاوی باکتری‌های سودوموناس که در دمای 28/5 درجه سانتیگراد در انکوباتور در محیط کشت نوترینت براس رشد کرده و جمعیت آنها در حدود $10^8$ باکتری در میلی‌لیتر بود، به هر یک از گلدان‌های مورد نظر تلقیح گردید (هی و همکاران 2009). 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 انجام شد. اما در ادامه در هر گلدان فقط 4 بوته نگهداری شد. طی دوره رشد، آبیاری گلدان-ها تا حد ظرفیت زراعی با روش وزنی صورت گرفت. پس از گذشت سه ماه از زمان کشت، بوته‌ها از محل طوقه برداشت، شستشو، و در دمای 70 درجه سانتیگراد به مدت 48 ساعت خشک شدند. پس از تعیین وزن خشک گیاه، غلظت روی در اندام هوایی با روش هضم تَر (استفاده از سولفوسالسیلیک اسید) و با دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری 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 با آزمون چند دامنه‌ای دانکن تجزیه و تحلیل گردیدند.

## نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جداول 2 و 3) نشان داد تأثیر سطوح مختلف روی و تیمارهای میکروبی بر صفات اندازه‌گیری شده در سطح یک درصد معنی‌دار بود. وزن خشک، غلظت و میزان جذب روی در بخش هوایی گیاهان تیمار شده با گیاهان شاهد

**جدول 1- نتایج تجزیه فیزیکی و شیمیایی برخی از ویژگی‌های خاک مورد استفاده**

| خصوصیت | بافت خاک | pH | EC ($dSm^{-1}$) | کربنات کلسیم معادل (%) | ماده آلی (%) | فسفر $mg\ kg^{-1}$ | DTPA-Zn $mg\ kg^{-1}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| مقدار | لوم رسی | 7/57 | 1/27 | 28/75 | 1/06 | 16/2 | 0/5 |

**جدول 2- تجزیه واریانس میانگین مربعات صفات اندازه‌گیری شده در اندام هوایی**

| منابع تغییرات | درجه آزادی | غلظت روی اندام هوایی | مقدار روی اندام هوایی | مقدار روی کل | وزن خشک | ارتفاع گیاه |
|---|---|---|---|---|---|---|
| تیمارهای میکروبی | 3 | 5551/357** | 3577710/8** | 31554090/2** | 529/149** | 2991/584** |
| روی | 3 | 26064/43** | 3936250/25** | 47018131/7** | 23/525** | 160/695** |
| تیمارهای میکروبی× روی | 9 | 2672/845** | 819418/11** | 4242049/4** | 19/312** | 146/046** |
| خطا | 32 | 9/147 | 3693/4 | 38050/2 | 0/228 | 22 |
| ضریب تغییرات | - | 3/09 | 4/26 | 4/63 | 2/93 | 6/81 |

ns عدم وجود اختلاف معنی‌دار؛ ** معنی‌دار در سطح 1%؛ * معنی‌دار در سطح 5%

**جدول 3- تجزیه واریانس میانگین مربعات صفات اندازه‌گیری شده در ریشه**

| منابع تغییرات | درجه آزادی | غلظت روی در ریشه | مقدار روی در ریشه | وزن خشک ریشه | درصد همزیستی میکوریزی |
|---|---|---|---|---|---|
| تیمارهای میکروبی | 3 | 93274/7** | 1095068/9** | 18/05** | 9174** |
| روی | 3 | 4186/7** | 1091445/8** | 46/40** | 161/4** |
| تیمارهای میکروبی× روی | 9 | 2305/32** | 96630/12** | 0/41** | 56/1** |
| خطا | 32 | 26/05 | 1417/84 | 0/073 | 6/8 |
| ضریب تغییرات | - | 3/44 | 5/69 | 5/34 | 10/89 |

ns عدم وجود اختلاف معنی‌دار؛ ** معنی‌دار در سطح 1% ؛ * معنی‌دار در سطح 5%

**جدول 4- اثرات متقابل سطوح روی و تیمارهای میکروبی بر غلظت و مقدار روی در اندام هوایی و ریشه، مقدار روی کل گیاه، و شاخص‌های رشد ذرت**

| تیمارها* | | غلظت روی ($mg\ kg^{-1}$) اندامهای هوایی | غلظت روی ($mg\ kg^{-1}$) ریشه‌ها | مقدار روی ($\mu gpot^{-1}$) اندامهای هوایی | مقدار روی ($\mu gpot^{-1}$) کل گیاه | وزن خشک ($g/pot^{-1}$) اندامهای هوایی | وزن خشک ($g/pot^{-1}$) ریشه‌ها | ارتفاع گیاه (cm) | همزیستی میکوریزی (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| $Zn_0$ | C | 39/6h | 33/3j | 451/3j | 601i | 11/4g | 4/5e | 55e | 0f |
| | B | 33/1h | 42/3i | 727h | 1036h | 22b | 7/3b | 70dc | 0f |
| | F | 33/1h | 47i | 618/9i | 976h | 18/7d | 7/6ab | 69dc | 56/17a |
| | BF | 33/4h | 49/3i | 621/3i | 1015h | 18/6e | 8a | 63d | 54/47a |
| $Zn_{100}$ | C | 134/2c | 108/4hg | 858/8g | 1043h | 6/4h | 1/7f | 49fe | 0f |
| | B | 82/6f | 144f | 1916/3d | 2780e | 23/2a | 6c | 88a | 0f |
| | F | 67/1g | 115/9g | 1189/5f | 1815g | 17/7f | 5/4d | 79b | 50/40abc |
| | BF | 101e | 101/3h | 1919/3d | 2537f | 19d | 6/1c | 76bc | 53ab |
| $Zn_{200}$ | C | 213/6a | 208/7d | 768/9hg | 1041h | 3/6i | 1/3gf | 43fg | 0f |
| | B | 84f | 222/2c | 1747/2e | 2947e | 20/8c | 5/4d | 81ab | 0f |
| | F | 158/2b | 158/9e | 2895/8a | 3610c | 18/3def | 4/5e | 79b | 44/67cd |
| | BF | 101/2e | 150/8ef | 1781/1e | 2625ef | 17/6f | 5/6de | 75bc | 47/33bc |
| $Zn_{300}$ | C | 129/5c | 313/1a | 388/5j | 701ji | 3i | 1g | 36g | 0f |
| | B | 117/7d | 242/9b | 2389/3b | 3749a | 20/3c | 5/6de | 83ab | 0f |
| | F | 118/6d | 217/9c | 2455/1b | 3631b | 20/7c | 5/4d | 82ab | 37/33e |
| | BF | 119/8d | 217/4c | 2132/4c | 3350d | 17/8ef | 5/6dc | 74bc | 39/67de |

*: تیمارهای روی 0، 100، 200 و 300 میلی‌گرم در کیلوگرم خاک

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

با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن مورد مقایسه آماری قرار گرفتند (جدول 4). همانطور که در جدول 4 مشاهده می‌شود با افزایش سطوح روی وزن خشک اندام‌های هوایی کاهش یافته‌است (بطور متوسط 15 درصد). هرچند تفاوت معنی‌داری بین سطوح 200 و 300 میلی‌گرم روی در کیلوگرم خاک در وزن خشک مشاهده نشد، با این حال بیشترین کاهش (17/11%) از سطح روی 200 میلی‌گرم در کیلوگرم حاصل شد. همچنین نتایج این تحقیق نشان داد که تلقیح میکروارگانیسم‌ها موجب افزایش بارز وزن خشک گیاه در مقایسه با شرایط استریل گردید و باکتری‌های محرک رشد در میان تیمارهای میکروبی تأثیر چشمگیری را بر افزایش وزن خشک و ارتفاع گیاه داشتند. بیشترین وزن خشک (21/6 گرم در گلدان) از سطح تیمار باکتری‌های PGPR به دست آمد و 2/28 برابر بیشتر از شرایط بدون تلقیح (6/6 گرم در گلدان) بود (شکل 1). نتایج نشان داد که در گیاهان تلقیح شده با باکتری‌های سودوموناس و میکوریز وزن خشک اندام هوایی بالا بود.

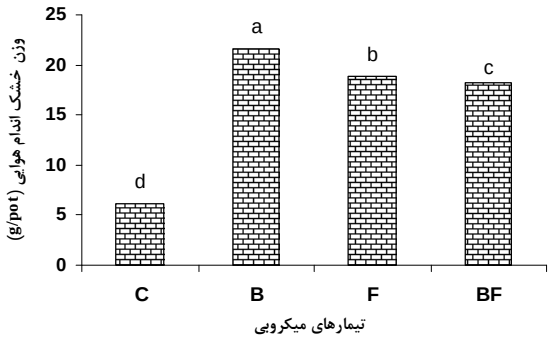
ترکیب باکتریهای سودوموناس استفاده شده در این تحقیق دارای خواص محرک رشد از قبیل توان تولید سیدروفور، هورمون اکسین، توانایی انحلال فسفاتها و ACC-دآمیناز بودند (رسولی‌صدقیانی 1385، جلیلی و همکاران 2009). این احتمال وجود دارد که با تلقیح باکتری‌های محرک رشد گیاه بواسطه تولید آنزیم ACC-دآمیناز، سطح اتیلن در گیاه کاهش یافته و در نتیجه موجب افزایش زیست توده گیاهی شده است و یا دلیل این امر را می‌توان اثر مثبت این باکتری‌ها در محیط ریشه، تولید اکسین، متابولیت‌ها و افزایش تولید ترکیبات محرک رشد ریشه ذکر کرد. PGPRهای مختلف با توانایی تثبیت $N_2$ و تولید اُکسین، می‌توانند فلزات سنگین را غیرمتحرک کرده و رشد و افزایش جذب عناصر غذایی را توسط گیاهان در حضور غلظت‌های سمی اینگونه فلزات افزایش دهند (بلیموو و دئیتز 2000، گلیک 2010). افزایش تولید آنزیم ACC دِآمیناز یکی از مکانیسم باکتری‌های محرک رشد در مقابل اثرات سمی فلزات سنگین بر گیاهان عالی توسط این‌گونه باکتری‌هاست (گلیک و همکاران، 1998). 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 ماده خشک گیاه و پالایش آلاینده‌ها است، بسیار مفید باشند. سویه‌هایی با توانایی تولید سیدروفور و ویژگی حل‌کنندگی فسفات می‌تواند در رشد و تکثیر ریشه و افزایش جذب مواد غذایی همچون آهن و فسفر در گیاهان عالی موثر باشند (گلیک و همکاران 1998، گوپتا و همکاران 2002).

غلظت و مقدار روی در اندام‌های هوایی در مقایسه با شرایط بدون مصرف روی به ترتیب 2/6 و 2 برابر افزایش نشان داد، بطوری‌که مقدار روی جذب شده کل از 907 میکروگرم در تیمار شاهد به 2855 میکروگرم در گلدان در سطح 300 روی رسید. با افزایش غلظت روی از سطح صفر تا 200 میلی‌گرم روی در کیلوگرم خاک، یک روند افزایشی معنی‌دار در سطح یک درصد نسبت به شاهد در غلظت روی مشاهده گردید، لیکن در سطح 300 میلی‌گرم روی در کیلوگرم غلظت روی در اندامهای هوایی کاهش یافت (جدول 4).

در تیمارهای میکروبی نیز یک روند کاهشی معنی‌دار نسبت به شاهد در غلظت روی در اندامهای هوایی وجود داشت، بطوریکه این روند در تیمارها بصورت زیر بود و تیمار باکتری‌های PGPR بیشترین تأثیر را در کاهش غلظت روی در اندام‌های هوایی داشت: تلقیح میکوریزی< تلقیح همزمان باکتریها و میکوریز< تلقیح باکتریایی.

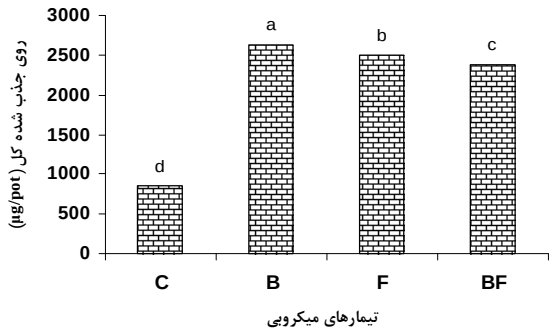
نتایج حاصل از بررسی مقادیر روی جذب‌شده در اندامهای هوایی ذرت نشان داد که تلقیح میکوریزی (با 1787 میکروگرم روی در گلدان) نسبت به سایر تیمارهای میکروبی بالاترین مقدار جذب روی را به‌خود اختصاص داد. اندامهای هوایی تیمارهای شاهد حاوی616 میکروگرم در گلدان بودند که این مقدار 1/9 برابر بیشتر از مقدار تجمع‌یافته در اندامهای هوایی گیاهان شاهد بود.

با این حال از نظر مقدار کل روی جذب شده (یا تجمع‌یافته) توسط گیاه روند متفاوتی مشاهده گردید. تلقیح میکروارگانیسم‌های محرک رشد بطور معنی‌داری مقدار کل جذب روی در ذرت را بطور متوسط 2 برابر نسبت به شرایط بدون تلقیح افزایش داد. در میان تیمارهای میکروبی، تلقیح باکتری‌های سودوموناس غلظت روی در برگها را کاهش داد، لیکن با توجه به افزایش بیوماس گیاه منجر به تجمع بالای روی در ذرت نیز گردید (جدول 4 و شکل 1).




**شکل1- تاثیر تیمارهای میکروبی بر وزن خشک اندام‌هوایی ذرت (C: بدون تلقیح، B: تلقیح با باکتری‌های PGPR، F: تلقیح با قارچ میکوریز (*G. versiforme*) و BF: تلقیح توام باکتری‌های PGPR و میکوریز)**

در مورد مقدار جذب روی کل گیاه نیز افزایش سطوح روی سبب شد تا جذب کل این عنصر توسط گیاه افزایش یابد و این شاخص در تیمارهای تلقیح باکتریایی، میکوریزی و تلقیح همزمان باکتریها و میکوریز به ترتیب 1/95، 1/5 و 1/25 برابر افزایش نسبت به شاهد نشان دادند (شکل 2). همچنین تلقیح میکروارگانیسم‌ها در مجموع با تأثیر مثبتی که بر تولید زیست توده گیاهی داشتند، افزایش جذب روی را در مقایسه با گیاهان بدون تلقیح نشان دادند و در این میان، تلقیح باکتری‌های محرک رشد موجب شد تا بیشترین مقدار جذب کل روی (با 5737 میکروگرم روی در گلدان) از تیمار مذکور به دست آید (شکل 2). در حضور باکتری‌های محرک رشد تحمل ریشه و اندام‌های هوایی به اثرات سمی فلزات سنگین افزایش می‌یابد (لی و همکاران 2007) که این مکانیسم می‌تواند بر اثر افزایش تولید سیدروفور، افزایش آنزیم ACC دِآمیناز و مواد بازدارنده گیاهی در مقابل سمیت روی که افزایش اتیلن تنشی را به دنبال دارد، باشد (بارد و همکاران 1998). در حضور باکتری‌های محرک رشد انتقال فلزات از ریشه به اندام‌های هوایی افزایش می‌یابد (ابوشاناب 2007، گلیک و همکاران 1998). باکتری‌ها سبب افزایش تولید موادی با خاصیت بازدارندگی در مقابل اثرات فلزات سنگین در گیاهان می‌شوند (لی و همکاران 2007).




**شکل2- تاثیر تیمارهای میکروبی بر روی جذب شده کل توسط گیاه ذرت (C: بدون تلقیح، B: تلقیح با باکتری‌های PGPR، F: تلقیح با قارچ میکوریز (*G. versiforme*) و BF: تلقیح توام باکتری‌های PGPR و میکوریز)**

افزایش تجمع زیستی روی و کادمیم و دوری از تجمع زیاد در مورد سرب ، دو استراتژی اساسی گیاهان در پاسخ به غلظت‌های بالا و سمی این فلزات سنگین هستند (کاتارینا و همکاران 2005). افزایش تجمع روی در اندام‌های هوایی بیان‌گر افزایش انتقال آن از ریشه به بخش هوایی گیاه است. برخی مواد آلی مانند اسیدهای اگزالیک، تارتاریک، سیتریک و مالیک با کمپلکس‌کردن و غیرمتحرک کردن فلزات، نقش بسیار مهمی در تحمل به فلزات سنگین در گیاهان بازی می‌کند. این ویژگی در حضور میکروارگانیسم‌های محرک رشد افزایش یافته و تجمع فلزات سنگین در آپوپلاست یا واکوئل را موجب گردیده است (ملکوتی و همایی 1383، لاستا و همکاران

2000). در این تحقیق در میان تیمارهای میکروبی، تلقیح باکتری‌های محرک رشد بیشترین تأثیر را بر تجمع روی داشته است. همچنین جذب فلزات در اندام‌های هوایی و ریشه گیاهان، وابسته به میکروارگانیسم‌های ریزوسفری است که فعالیت‌هایشان تغییر شرایط و ویژگی‌های ریزوسفر و در نتیجه زیست فراهمی فلزات را موجب می‌شوند (لیوال و جونر 2001). ریزجانداران ریزوسفری محرک رشد سبب افزایش رشد گیاه، جذب فلزات و تحمل گیاهان عالی در حضور سطوح سمی فلزات سنگین شده (هافلیچ و متز 1997) و نقش مهمی در تحرک این‌گونه فلزات در ریزوسفر گیاهان را بر عهده دارند (گَد 1990). در گیاهان بیش‌اندوز، استفاده از پتانسیل ریزجانداران در جهت بهبود شرایط رشد سبب انباشت بیشتر فلزات سنگین در این گیاهان می‌شود (بارد و همکاران 1998).

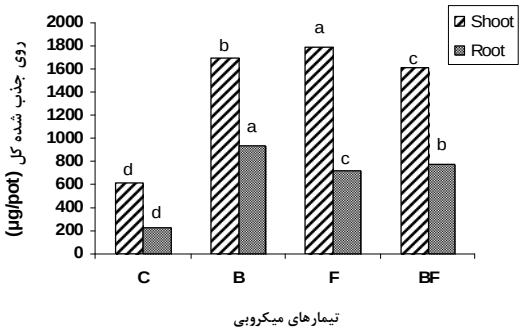
نتایج نشان داد تلقیح باکتری‌های محرک رشد توانست جذب روی توسط گیاه ذرت را افزایش دهد، امّا در مورد غلظت آن، گیاهان تلقیح شده با این باکتری‌ها در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده کاهش معنی‌داری را در غلظت روی نشان دادند. این افزایش جذب ممکن است به دلیل افزایش رشد و سطح ریشه و در نتیجه دسترسی ریشه گیاه به حجم بیشتری از خاک باشد (اثر رقت). این احتمال نیز وجود دارد که باکتری‌های تلقیح‌شده با تولید آنزیم‌ها و ترکیبات خاص باعث افزایش روی قابل جذب توسط گیاه شده باشند و از این طریق، جذب آن توسط ریشه را تسهیل کرده‌اند. ریزوباکترهای خاک همچنین می‌توانند به طور مستقیم در حلالیت فلزات با استفاده از تغییر ویژگی‌های فلزات سنگین در ریزوسفر مؤثر باشند. با بالارفتن روی جذب‌شده در اندام‌های هوایی گیاهان تلقیح شده با باکتری‌های PGPR این فرض که باکتری‌های محرک رشد با تحریک رشد گیاه (افزایش وزن خشک) و در نتیجه تعدیل غلظت فلزات سنگین در گیاه، باعث کاهش اثرات سمی و مخرب تنش آلودگی ناشی از این فلزات بر گیاه می‌شوند، قدرت می‌گیرد. با تلقیح تیمارهای میکروبی به گلدان‌ها تجمع روی روند افزایشی نشان داد، بطوریکه بیشترین مقدار جذب روی در اندام‌های هوایی از تیمار تلقیح میکوریزی حاصل شد (جدول 4). افزایش جمعیت قارچ میکوریز آربوسکولار در خاک‌های آلوده، سبب کاهش اثرات سمیت فلزات سنگین در محیط کشت گردید (لیوال و همکاران 1997، لیوال و جونر 2001). نتایج بررسی درصد همزیستی طول ریشه نشان داد که با افزایش سطح روی، این شاخص بطور معنی‌داری کاهش یافت، لیکن بین تیمارهای قارچی (F) و تلقیح ترکیبی قارچها و باکتریها (BF) اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نگردید (جدول 4). در غلظت‌های بالای روی، درصد همزیستی میکوریزی از متوسط 50% در شرایط $Zn_0$ به حدود 38% در تیمار $Zn_{300}$ کاهش پیدا نمود (جدول 4) و می‌توان گفت که به تبع آن بهره‌مندی گیاه از منافع همزیستی با قارچ میکوریز محدود شده‌است. مطالعات نشان داده روی بطور مستقیم بر کلونیزاسیون میکوریزی ریشه و یا بطور غیر مستقیم بر شرایط ریزوسفر گیاهان میکوریزی تأثیر می‌گذارد. به عبارت دیگر، روی می‌تواند بر گیاهان عالی، قارچ میکوریز یا هر دو اثر گذاشته و درصد کلونیزاسیون میکوریزی ریشه را کاهش دهد. در غلظت-های بالای روی خاک، میزان غلظت و جذب روی اندازه-گیری شده در گیاهان میکوریزی به دلیل غیر متحرک شدن روی در میسلیوم قارچی کمتر از گیاهان غیر میکوریزی بود (اودت و چارتی 2006). با اینحال در کشت‌های 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 نمی-تواند کارائی را که در حجم زیاد خاک مزرعه‌ای دارد، در شرایط گلخانه و کشت گلدانی نشان دهد.

به علاوه نتایج برخی مطالعات نشان می‌دهند که میکوریزها گیاه میزبان خود را از مسمومیت‌های گیاهی که بر اثر زیادی مس، روی و سرب حاصل می‌شود، با استفاده از تغییر ویژگی‌های فلز از شکل زیست‌فراهم به شکل غیرزیست فراهم، حفظ می‌کنند. امر مسلم این است که اندوزش فلزات در ریشه‌ها و ساقه‌های گیاهان میکوریزی به میزان قابل توجهی نسبت به گیاهان غیرمیکوریزی بالاتر است. شرایط شیمیایی ریزوسفر در نتیجه روابط متقابل بین ریشه گیاهان و ریزجانداران ریزوسفری تغییر می‌یابد. فعل و انفعالات بین گیاه و باکتری می‌تواند منجر به افزایش تولید ترکیباتی گردد که

خصوصیات شیمیایی خاک ریزوسفری و در نتیجه اندوزش فلزات سنگین را در گیاهان افزایش دهد (هی و همکاران 2009).

نتایج مربوط به جذب روی بیانگر آن بود که قسمت اعظمی از روی جذب شده توسط گیاه در اندام هوایی تجمع می‌یابد (شکل 3). این نکته از منظر افزایش انباشت روی و استفاده از راهکار گیاه پالایی[1] یا پالایش سبز در مناطق و خاک‌های آلوده به روی حائز اهمیت است. گزارش‌هایی وجود دارند که نشان می‌دهند به‌دنبال تلقیح باکتری های محرک رشد گیاه، کارایی پالایش سبز فلزات سنگین افزایش می‌یابد (بارد و همکاران 2000). این ریزجانداران درگستره‌ی وسیعی از گیاهان، فلزات سنگین و خاکها مقدار فلز جذب‌شده توسط گیاه را افزایش می‌دهند. باکتری‌هایی که برای این راهکار استفاده می‌شوند معمولا بایستی دارای توان تولید آنزیم ACC دآمیناز، سنتز IAA و ترشح سیدروفور باشند. (گلیک و همکاران 2007، گلیک 2010). گزارش‌ها نشان می‌دهد که در صورت وجود غلظت زیاد عناصر غذایی در محیط رشد، جذب زیاد این عناصر توسط گیاه با بر هم‌زدن ساختار و فیزیولوژی گیاه باعث کاهش جذب آنها توسط گیاه می‌شود، و در نهایت منجر به کاهش عملکرد و ایجاد خطرات زیست محیطی برای گیاهان و جانداران می‌شود (مارشنر 1986، دونبار و همکاران 2003).

افزایش جذب روی از خاک تا حد معینی تأثیر مثبتی بر عملکرد و کیفیت گیاه دارد، ولی برای گیاهان مختلف سطوح مسمومیت روی متفاوت می‌باشد که تعیین این سطح به فاکتورهایی چون ژنوتیپ گیاه، شرایط محیطی، شرایط خاک و غیره بستگی دارد (مورت‌ود و گلیکس 1993). سطح بالای روی سبب ظهور کمبود عناصر مختلف از جمله فسفر، آهن، مس و منگنز در گیاه و کاهش عملکرد و کیفیت محصول می‌گردد (ملکوتی و همکاران 1383، لینچ 1990). نتایج تجزیه برگهای ذرت در انتهای آزمایش نشان داد که با افزایش مقدار روی در خاک،




**شکل3- تاثیر تیمارهای میکروبی بر مقدار تجمع روی 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 توام باکتریهای PGPR و میکوریز)**

جذب کل عناصر نیتروژن، پتاسیم، کلسیم، منگنز و مس بطور معنی‌داری کاهش یافتند (داده‌ها نشان داده نشده‌اند). با افزایش روی به محیط کشت گیاه، جذب عناصر کم مصرف توسط گیاه کاهش می‌یابد، که این امر در نتیجه اثر رقابتی در جذب و یا تشکیل کمپلکس‌های روی می‌باشد (لونگراگان و وِب 1993). البته ممکن است با افزایش روی در خاک و در نتیجه بهبود رشد رویشی گیاه، نیاز به سایر عناصر غذایی نیز بالا رفته و در نتیجه افزایش جذب عناصر غذایی را به دنبال داشته باشد. همچنین جذب‌های بالای روی می‌تواند به علت رقابت برای مکان‌های جذب مشابه در ریشه قابلیت استفاده عناصری مانند مس و منگنز را برای گیاه کاهش دهد. همچنین چون انتقال عناصر کم مصرف در گیاه به صورت کمپلکس صورت می‌گیرد، در سطوح بالای روی، جایگزینی روی در این کمپلکس مانع از انتقال سایر عناصر کم مصرف در گیاه می‌شود (لاسات و همکاران 2000).

بطور کلی نتایج نشان داد که ریزجانداران به جهت تولید انواع مختلفی از مواد محرک رشد چون برخی آنزیم‌ها، متابولیت‌ها، هورمون‌های رشد، سیدروفورها و غیره سبب بهبود فراهمی عناصر غذایی، رشد و تغذیه گیاه در شرایط آلودگی فلزات سنگین

[1] Phytoremediation

گردیده و سبب کاهش غلظت اینگونه فلزات در گیاه شد (جدول 4). با این‌حال با تأثیر مثبتی که بر افزایش رشد گیاه داشتند، وزن خشک گیاه (اندام‌های هوایی و ریشه) را افزایش داده و از این طریق جذب آنها را افزایش دادند. در میان تیمارهای میکروبی، تلقیح میکوریزی بر مقدار تجمع روی در اندام‌های هوایی موثرتر از سایر تیمارهای میکروبی بود و باکتری‌های محرک رشد گیاه نقش بارزتری را بر میزان تجمع روی در کل گیاه ایفا کردند. این افزایش جذب فلزات سنگین در گیاهان بیش‌اندوز، از دیدگاه زیست پالایی و گیاه پالایی بسیار حائز اهمیت بوده و به عنوان یک راهکار مدیریتی موفق و موثر مورد بررسی و استفاده می‌باشد.

**منابع مورد استفاده**


خاوازی ک و ملکوتی م ج، 1380. ضرورت تولید صنعتی کودهای بیولوژیک در کشور. موسسه تحقیقات خاک و آب. تهران. ایران. 604 صفحه.

رسولی صدقیانی مح، خاوازی ک، رحیمیان ح، ملکوتی م ج و اسدی رحمانی ه. ارزیابی توان سویه‌های بومی سودوموناس‌های فلورسنت ریزوسفر گندم برای تولید سیدروفور. مجله علوم خاک و آب. جلد 20. شماره 1. صفحه‌های133 تا 142.

ملکوتی مج و همایی م، 1383. حاصلخیزی خاک‌های مناطق خشک و نیمه خشک با بازنگری کامل، چاپ دوّم، انتشارات دانشگاه تربیت مدرّس. تهران. ایران.

ملکوتی م ج، بای بوردی ا و طباطبائی س ج، 1383. مصرف بهینه کود گامی مؤثر در افزایش عملکرد و بهبود کیفیت و کاهش آلاینده‌ها در محصولات سبزی و صیفی و ارتقاء سطح سلامت جامعه. نشر علوم کشاورزی، تهران.

Abou-Shanab RAI, Angle JS and van Berkum P, 2007. Chromate tolerant bacteria for enhanced metal uptake by *Eichhornia crassipes* (Mart). Int J Phytoremediation 9: 91–105.

Alloway BJ, 1995. Heavy metals in soils. 2nd Edition, Blackie Academic and Professional. London, England.

Audet P and Charest C, 2006. Effect of AM colonization on wild tobacco plants grown in Zinc-contaminated soil. Mycorrhiza 16: 277-283.

Belimov AA and Dietz KJ, 2000. Effect of associative bacteria on element composition of barley seedlings grown in solution culture at toxic cadmium concentrations. Microbiol Res 155: 113–121.

Bernard R and Glick BR, 2003. Synergistic use of plants and bacteria to clean up the environment. Biotechnol Adv 21: 383-393.

Burd GI, Dixon DC and Click BR, 1998. A plant growth promoting bacterium that decreases nickel toxicity in seedlings. Appl Environ Microbiol 64: 3663–3668.

Burd GI, Dixon DG, Glick BR. 2000. Plant growth-promoting bacteria that decrease heavy metal toxicity in plants. Can J Microbiol 46: 237–45.

Dunbar KR, McLaughlin MG and Reid RG, 2003. The uptake and partitioning of cadmium in two cultivars of potato (*Solanum tuberosum* L.). J Exp Bot 54: 349-354.

Gadd GM, 1990. Heavy metal accumulation by bacteria and other microorganisms. Experientia, 46: 834–840.

Geoffrey M and Gadd GM, 2004. Microbial influence on metal mobility and application for bioremediation. Geoderma 122: 109-119.

Glick BR. 2010. Using soil bacteria to facilitate phytoremediation. Biotech Adv 28: 367–374.

Glick BR, Cheng Z, Czarny J, Duan J, 2007. Promotion of plant growth by ACC deaminase-containing soil bacteria. Eur J Plant Pathol 119: 329–39.

Glick BR, Penrose DM and Li J, 1998. A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth promoting bacteria. J Theor Biol 190: 63–68.

Gupta A, Meyer JM and Goel R, 2002. Development of heavy metal resistant mutants of phosphate solubilizing Pseudomonas sp. NBRI4014 and their characterization. Curr Microbiol 45: 323–327.

Hardie K and Leyton L, 1981. The influence of vesicular–arbuscular mycorrhiza on growth and water relations of red clover. I. In phosphate deficient soil. New Phytol 89: 599-608.

Hasnain S and Sabri AN, 1996. Growth Stimulation of *Triticum aestivum* seedlings under Cr-Stresses by non rhizospheric Pseudomonad strains. P.36. Abstracts of the 7th International Symposium on Biological Nitrogen Fixation with Non-Legumes. Kluwer Academic Publishers, the Netherlands.

He LY, Chen ZJ, Ren GD, Zhang YF, Qian M, Sheng XF, 2009. Increased cadmium and lead uptake of a cadmium hyperaccumulator tomato by cadmium-resistant bacteria. Ecotox Environ Safety 72: 1343-1348.

Hoflich G and Metz R, 1997. Interactions of plant–microorganism associations in heavy metal containing soils from sewage farms. Bodenkultur 48: 239–247.

Jalili, F., K. Khavazi, E. Pazira, A. Nejati, H. Asadi Rahmani, MH. Rasouli-Sadaghiani and M. Miransari. 2009. Isolation and characterization of ACC deaminase producing fluorescent pseudomonads, to alleviate salinity stress on canola (*Brassica napus* L.) growth. J Plant Physiol 166: 667-674.

Janouskova M and Vosatka M, 2005. Response to cadmium of *Daucus carota* hairy roots dual cultures with *Glomus intraradices* or *Gigaspora margarita*. Mycorrhiza 15: 217–224.

Joner EJ and Leyval C, 2001. Time course of heavy metal uptake in maize and clover as affected by root density and different mycorrhizal inoculation regimes. Biol Fert Soils 33: 351-357.

Katarina VM, Damjana D and Marjana R, 2005. Zn, Cd and Pb accumulation and arbuscular mycorrhizal colonisation of pennycress *Thlaspi praecox* (Brassicaceae) from the vicinity of a lead mine and smelter in Slovenia. Environ Poll 133: 233–242.

Lasat MM, Pence NS, Garvin DF, Ebbs SD and Kochian LV, 2000. Molecular physiology of zinc transport in the Zn hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. J Exp Bot 51: 71–79.

Leyval C and Joner EJ, 2001. Bioavailability of heavy metals in the mycorrhizosphere Pp: 165–185. *In*: Gobran RG, Wenzel WW and Lombi E. (Eds.), Trace Metals in the Rhizosphere. CRC Press, Florida, USA.

Leyval C, Turnau K and Haselwandter K, 1997. Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonisation and function, physiological, ecological and applied aspects. Mycorrhiza 7: 139–153.

Li WC, Ye ZH and Wong MH, 2007. Effects of bacteria on enhanced metal uptake of the Cd/Zn-hyperaccumulating plant, *Sedum alfredii*. J Exp Bot 58: 4173-4182.

Lonegragan JF and Weeb MJ, 1993. Interaction between zinc and other nutrients affecting the growth of plants. Pp: 119-134. *In*: Robson AD (ed). Zinc in Soils and Plants. Kluwer Academic Publishers, Dordreacht.

Lynch JM, 1990. Beneficial interactions between micro-organisms and roots. Biotechnol Adv 8: 335-346.

Marschner H, 1986. Mineral nutrition of higher plants, 2nd edition. Academic Press. Orlando, FL.

Mass EV and Hoffman GJ, 1977. Crop tolerance – current assessment. J Irrig Drain Div, Am Soc Civil Eng 103: 115-134.

McGonigle TP, Miller MH, Evans DG, Fairchild GL, and Swan JA, 1990. A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. New Phytol 115:495-501.

Mortvedt JJ and Gilkes J, 1993. Zinc fertilizers, Pp: 33-44. In: Robson AD (ed). Zinc in Soil and Plants. Kluwer Academic Publishers. Dordreacht.

Neilands JB and Leong SA, 1986. Siderophores in relation to plant growth and disease. Plant Physiol 37: 187-208.

Norris JR, Read DJ, and Varma AK, 1992. Methods in Microbiology. Volume 24, Techniques for the Study of Mycorrhiza, Academic Press, London.

Pinior A, Wyss U, Piche Y, Vierheilig H, 1999. Plants colonized by AM fungi regulate further root colonization by AM fungi through altered root exudation. Can J Bot 77: 891–897.

Varvara P, Grichko, Brendan F, Bernard and Glick R, 2000. Increased ability of transgenic plants expressing the bacterial enzyme ACC deaminase to accumulate Cd, Co, Cu, Ni, Pb, and Zn. J Biotechnol 81: 45-53.

Weller D, Linda M and Thomashow S, 1993. Use of rhizobacteria for biocontrol. Curr Opin Biotechnol 4: 306-311.