نشریه دانش آب و خاک / جلد23 شماره2 صفحه‌های 227 تا 243/ سال 1392

نقش تحریک کنندگی برخی گونه‌های قارچ *گلوموس* و باکتری *سودوموناس* در پالایش‌سبز سرب خاک توسط بنگ‌دانه (*Hyoscyamus niger*)

اکبر کریمی[1]، حبیب خداوردی‌لو[2*] و میر حسن رسولی صدقیانی[2]

تاریخ دریافت : 90/11/24 تاریخ پذیرش: 91/09/01

[1]-دانش‌آموخته کارشناسی ارشد ، گروه علوم خاک، دانشگاه ارومیه.
[2]-استادیار، گروه علوم خاک، دانشگاه ارومیه
[*]مسئول مکاتبه: Email: h.khodaverdiloo@urmia.ac.ir

چکیده

پالایش‌سبز، استفاده از گیاهان و همزیستی آن‌ها با ریزجانداران برای پالایش مکان‌های آلوده، روشی نویدبخش برای پالایش خاک‌های آلوده به فلزات سنگین است. در این پژوهش نقش برخی گونه‌های قارچ *گلوموس* (*G. intraradices*، *G. mosseae* و *G. fasciculatum*) و باکتری *سودوموناس* (*P. putida*، *P. fluorescens* و *P. aeruginosa*) در پالایش آلودگی سربی خاک توسط بنگ‌دانه (*Hyoscyamus niger*) بررسی شد. این مطالعه در شرایط گلخانه‌ای به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با دو فاکتور غلظت سرب (در 4 سطح) و تیمار میکروبی (در 3 سطح) و در سه تکرار انجام گرفت. یک نمونه خاک با نمک نیترات سرب به‌طور یکنواختی برای ایجاد غلظت‌های مختلف سرب (صفر، 250، 500 و 1000 میلی‌گرم بر کیلوگرم) آلوده شد. خاک آلوده شده استریل و سپس مایه‌زنی مخلوط سه گونه قارچ *گلوموس* و مخلوط سه گونه باکتری *سودوموناس* انجام شد. گیاه بنگ‌دانه در این خاک‌ها کشت گردید. نتایج نشان داد قارچ های *گلوموس* و باکتری‌های *سودوموناس* مقدار پرولین، زیست‌فراهمی سرب، زیست توده ریشه و شاخساره و مقدار سرب تثبیت شده و استخراج شده توسط بنگ‌دانه را به‌طور معنی‌داری ($p\leq0/05$) نسبت به تیمار شاهد افزودند. قارچ‌های *گلوموس* و باکتری‌های *سودوموناس*، مقدار سرب استخراج شده توسط شاخساره را به‌ترتیب بیش از 2/7 و 2 و مقدار سرب تثبیت شده در ریشه را به‌ترتیب بیش از 3/1 و 1/9 برابر نسبت به تیمارهای مشابه در شاهد افزایش دادند. می‌توان نتیجه‌گیری کرد که میکروب‌های مورد مطالعه عواملی نوید بخش برای کاهش سمیت سرب در بنگ‌دانه و افزایش کارآیی پالایش‌سبز سرب توسط گیاه هستند.

واژه‌های کلیدی: بنگ‌دانه، پالایش‌سبز، سرب، *سودوموناس*، *گلوموس*

Induction Effect of Some Species of *Glomus* and *Pseudomonas* in Phytoremediation of Soil Pb by Hyoscyamus (*Hyoscyamus niger*)

A Karimi[1], H Khodaverdiloo[2,*] and MH Rasouli Sadaghiani[2]

Received:13 February 2012 Accepted: 21 November 2012
[1-]Graduated M.Sc student, Dept. of Soil Sci., Urmia Univ., Iran.
[2-]Assist. Prof., Dept. of Soil Sci., Urmia Univ., Iran.
[*]Corresponding Author E-mail:h.khodaverdiloo@urmia.ac.ir

Abstract

Phytoremediation, the use of plants in association with microorganisms for remediation of contaminated sites, is a promising technique for reclamation of heavy metals contaminated soils. In this research the role of selected species of *Glomus* (*G. intraradices* ،*G. mosseae* و *G. fasciculatum*) and *Pseudomonas* (*P. putida* ،*P. fluorescens* و *P. aeruginosa*) in phytoremediation of soil Pb contamination by Hyoscyamus (*Hyoscyamus niger*) was investigated. This study was carried out in greenhouse condition as a factorial experiment based on a randomized complete block design with two factors including Pb concentration (in four levels) and microbial treatment (in three levels) and in three replications under greenhouse conditions. A soil sample was spiked uniformly with Pb-nitrate salt to create different Pb concentrations (0, 250, 500 and 1000 mg kg^{-1}). The contaminated soils were then sterilized and subsequently inoculated with the species of *Glomus* fungi and *Pseudomonas* bacteria. Hyoscyamus plant was grown in these soils. Results indicate that *Glomus* fungi and *Pseudomonas* bacteria increased significantly ($P \leq 0.05$) the amount of proline, soil bioavailable Pb, biomass of root and shoot and the amount of Pb was stabilized and extracted by *Hyoscyamus niger* as compared to the control treatment. *Glomus* fungi and *Pseudomonas* bacteria increased the amounts of extracted Pb by shoots up to 2.7 and 2 times and the stabilized Pb in roots up to 3.1 and 1.9 times higher than corresponding control treatments, respectively. It can be concluded that the studied microbes are promising agents to alleviate Pb phytotoxicity and to enhance Pb phytoremediation efficiency by Hyoscyamus.

KeyWords: *Glomus, Hyoscyamus niger*, Pb, Phytoremediation, *Pseudomonas*.

مقدمه

پیشرفت سریع فناوری در دهه‌های اخیر با وجود مزایای فراوانی که برای بشر داشته، منابع‌طبیعی و اجزای محیطزیست را در معرض آلاینده‌های مختلف از جمله فلزات سنگین قرار داده است. آلودگی اراضی کشاورزی به فلزات سنگین مانند سرب، کادمیم، روی و نیکل از منابعی نظیر کودهای شیمیایی فسفاته، کاربرد لجن فاضلاب، پساب‌های شهری و فاضلاب‌های خانگی

یکی از مشکلات مهم و تهدیدهای جدی برای محیط-زیست و سلامت انسان است (خان 2005). در کشورهای در حال توسعه مانند ایران نیز به دلیل فشارهای اقتصادی و صنعتی شدن، آلودگی فلزی رفته رفته به عنوان واقعیتی انکارناپذیر درمی‌آید. لذا شناخت مسایل محیط‌زیست و روش‌های حفاظتی پیش از آنکه دیر شده باشد، بسیار ضروری است (خداوردی‌لو 1385). سرب یکی از فلزات سنگین فوق العاده سمّی است که اثرات آن بر سلامتی انسان در دراز مدت نمایان می‌گردد (خان 2005).

در سال‌های گذشته روش‌های فیزیکی و شیمیایی گوناگونی برای پالایش خاک‌های آلوده ارائه شده و مورد استفاده قرار گرفته‌اند (مولیگان و همکاران 2001). اغلب این روش‌ها پرهزینه و ناکارآمد بوده و همچنین در پایان موجب آلودگی بخشی دیگر از محیط-زیست می‌شوند (پنگ و همکاران 2009). بنابراین ارائه روش‌هایی کارآمد که ضمن رفع آلودگی، کم‌هزینه بوده و آثاری ناخواسته بر محیط‌زیست نداشته باشند، ضروری است. پالایش‌سبز یکی از روش‌های نویدبخش در پالایش خاک‌های آلوده به فلزات سنگین است که در این روش از گیاهان برای پالایش آلاینده‌های خاک استفاده می‌شود (خان 2005). پالایش‌سبز با وجود داشتن برتری‌هایی چند، اما کاستی‌هایی نیز دارد. ازجمله این کاستی‌ها زیست‌فراهمی اندک فلزات سنگین برای گیاهان و تولید زیست‌توده‌ی کم گیاهان بیش‌اندوز می‌باشد (مولیگان و همکاران 2001، خداوردی‌لو و همایی 2008).

اخیراً استفاده از توانایی ریزجانداران ریزوسفر برای چیرگی بر کاستی‌های پالایش‌سبز خاک‌های آلوده به فلزات سنگین مورد توجه قرار گرفته است (ما و همکاران 2011). از جمله این ریزجانداران خاک قارچ-ریشه‌های آربوسکولار (AMF) و باکتری‌های افزاینده رشد گیاه (PGPR) می‌باشند. نتایج مطالعات نشان داده که این ریزجانداران نسبت به تنش فلزات سنگین بردبار بوده و زیست‌توده گیاهان را در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین می‌افزایند. (جمال و همکاران 2002، گلیک 2003، گری گوریو و همکاران 2006، کریمی و همکاران 2011). این ریزجانداران همچنین زیست‌فراهمی فلزات سنگین در ریزوسفر را افزایش می‌دهند و از این راه گیاهان را در جذب بیش‌تر فلزات از خاک توانا می-سازند. (خان 2001).

قارچ‌ریشه‌های آربوسکولاراز مهم‌ترین ریزجانداران خاک بوده که در همزیستی با گیاهان، رشد و سلامتی آن‌ها را بوسیله‌ی بهبود تغذیه‌ی معدنی و یا افزایش بردباری به تنش‌های محیطی بهبود می-بخشند (کلارک و زیتو 2000). بافیل و همکاران (2008) گزارش کردند که در اثر استفاده از زادمایه قارچ‌ریشه-های آربوسکولار، زیست‌توده گیاه اکالیپتوس در خاک-های آلوده به سرب افزایش می‌یابد. نتایج برخی پژوهش‌ها نشان داده که نوع قارچ‌ریشه می‌تواند تاثیرات متفاوتی در جذب و پالایش فلزات سنگین داشته باشد. برای مثال آووتوی و همکاران (2009) گزارش کردند کارآیی قارچ *G. intraradices* در افزایش جذب سرب و کادمیم توسط گیاه آفتابگردان نسبت به قارچ *G mosseae*. بیش‌تر بود.

باکتری‌های ریزوسفری افزاینده رشد گیاه گروهی از ریزجانداران خاک هستند که در شرایط مختلف از جمله آلودگی خاک‌ها به فلزات سنگین می-توانند از طریق راهکارهای گوناگون از جمله انحلال فسفات‌های نامحلول تشکیل کمپلکس سیدروفور- آهن تولید آنزیم ACC دآمیناز باعث تحریک و بهبود رشد گیاهان شوند (بلیموو و همکاران 2004، ارشد و همکاران 2007، ما و همکاران 2011). PGPR همچنین می‌توانند با افزایش مقاومت گیاهان به تنش فلزات سنگین و افزایش ریشه‌زایی و زیست‌توده گیاهان و همچنین افزایش جذب فلزات سنگین توسط گیاهان، کارآیی پالایش‌سبز را بیفزایند (ما و همکاران 2011). براود و همکاران (2009) گزارش کردند که مایه‌زنی

باکتری *P. aeruginosa* در خاک‌های آلوده به سرب سبب افزایش زیست‌فراهمی سرب و در نتیجه افزایش جذب سرب توسط گیاهان می‌شود.

آلودگی سربی در ایران در سال‌های اخیر افزایش چشم‌گیری داشته است. با توجه به این‌که در بیش‌تر پژوهش‌ها نقش گونه‌های قارچ *گلوموس* و باکتری *سودوموناس* در پالایش‌سبز فلزات سنگین به‌طور جداگانه بررسی شده است. در این پژوهش نقش تحریکی برخی گونه‌های قارچ *گلوموس* (*G. intraradices*، *G. mosseae* و *G. fasciculatum*) و باکتری *سودوموناس* (*P. putida*، *P. fluorescens* و *P. aeruginosa*) به‌صورت ترکیبی از گونه‌ها، در پالایش‌سبز خاک آلوده به سرب توسط بنگ‌دانه (*Hyoscyamus niger*) در شرایط گلخانه‌ای مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس پژوهش‌های پیشین، تلقیح توأم سویه‌های میکروبی نسبت به شرایط تک‌تلقیح آنها اثراتی چشمگیرتر داشته است (برای نمونه، رایان و همکاران 2003).

مواد و روش‌ها

برای انجام این پژوهش از یک نمونه خاک با مشخصات Fine, mixed, Typic Halaquepts Inceptisols mesic واقع در استان آذربایجان غربی نمونه‌برداری شد. این خاک پس از هواخشک شدن به دو بخش تقسیم گردید. یک بخش آن برای انجام آزمایشات فیزیکی و شیمیایی از الک دو میلی‌متری عبور داده شد. برخی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک به روش‌های استاندارد (کارتر و گری گوریچ 2008) اندازه‌گیری شد. بخش دوم نمونه‌های خاک به گلخانه پژوهشی گروه علوم‌خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، انتقال داده شد و پس از عبور از الک پنج میلی‌متری با غلظت‌های مختلف سرب آلوده شد. برای آلوده کردن خاک، ابتدا مقدار لازم نیترات‌سرب $Pb(NO_3)_2$ برای آلوده کردن جرم مشخصی از خاک محاسبه شد. سپس، جرم محاسبه شده نمک به یک کیلوگرم از خاک افزوده شد و کاملاً با آن مخلوط گردید تا پیش‌ماده‌ای همگن بدست آید. نیتروژن افزوده شده به خاک توسط نمک نیترات سرب، با افزودن مقادیر محاسبه شده اوره به تیمارهای مختلف تصحیح شد. این پیش‌ماده‌ی آلوده سپس به‌طور کامل با توده خاک مخلوط گردید. بر پایه مطالعات پیشین (خداوردی‌لو و حمزه‌نژاد 1390، خداوردی‌لو و همکاران 2012)، خاک آلوده به‌مدت پنج ماه در معرض تناوب‌های تر و خشک شدن و به‌مدت 18 ماه دیگر در شرایط هواخشک قرار گرفت تا توزیع سرب در خاک به شرایط آلودگی درازمدت و طبیعی نزدیک‌تر شود. نمونه‌های خاک آلوده شده پس از الک کردن در اتوکلاو در دو نوبت در دمای 121 درجه سانتی‌گراد و فشار 1/5 بار در داخل کیسه‌های کنفی استریل شدند. گلدان‌ها نیز با الکل استریل سطحی شدند. خاک‌های استریل در گلدان‌هایی با ظرفیت تقریبی 2/5 کیلوگرم ریخته شدند. برای اعمال تیمارهای میکروبی، در تیمارهای مربوط به قارچ *گلوموس* قبل از کشت، در زیر بذرها مقدار 25 گرم از زادمایه بصورت لایه‌ای به ضخامت تقریبی 2 سانتی‌متر اضافه شد. تیمار قارچ شامل ترکیبی از زادمایه قارچ‌های جنس *گلوموس* شامل گونه‌های *G. intraradices*، *G. mosseae* و *G. fasciculatum* بود. تعداد کل اسپورهای قارچی زادمایه، 250 اسپور در هر 50 گرم زادمایه بود. برای تیمار باکتریایی مقدار 15 میلی‌لیتر از محیط کشت مایع Nutrient Broth حاوی باکتری‌ها به گلدان‌ها مایه‌زنی گردید. تیمار باکتریایی شامل ترکیبی از باکتری‌های *سودوموناس* از سه گونه‌ی پوتیدا (*P. putida*)، فلورسنس (*P. fluorescens*) و آئروژینوزا (*P. aeruginosa*) بود که به مدت 48 ساعت در دمای 28 درجه سانتی‌گراد در انکوباتور در محیط کشت مایع Nutrient Broth رشد کرده بودند. جمعیت این باکتری‌ها حدود $2/6 \times 10^8$ (CFU ml^{-1}) بود. گفتنی است با اینکه *P. aeruginosa* گاهی می‌تواند بیماریزا باشد، بندرت در افراد سالم منجر به بیماری می‌گردد (آرون و

همکاران 2010). این گونه گاهی نسبت به گونه‌های *Putida* و *fluorescens* توانایی بالاتری در تولید متابولیتهای محرک رشد (اکسین)، سیدروفور، فنازین و سیانید هیدروژن دارد و لذا بعنوان زادمایه میکروبی در کشاورزی استفاده می‌شود (برای نمونه، شارما و همکاران 2003).

این پژوهش در شرایط گلخانه به‌صورت آزمایش فاکتوریل با دو فاکتور غلظت سرب (در چهار سطح) و تیمار میکروبی (در سه سطح) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی و در سه تکرار انجام شد.

پس از اعمال تیمارها و رساندن رطوبت گلدان‌ها به ظرفیت مزرعه، در هر گلدان 6 تا 8 بذر گیاه بنگ‌دانه با فواصل منظم در گلدان‌های مورد نظر کشت گردید. گیاه یاد شده در گلدان‌ها کاشته شده و پس از آبیاری تا حد ظرفیت مزرعه وزن شدند. وزن هر گلدان در رطوبت ظرفیت مزرعه بر روی آن یادداشت شد تا در مراحل بعدی آبیاری برای جلوگیری از هر گونه تنش رطوبتی آبیاری گردد. آبیاری و نگه‌داری گلدان‌ها در شرایط گلخانه با دمای حداقل 15 و حداکثر 30 درجه سلسیوس انجام شد. در پایان ماه پنجم ارتفاع گیاهان اندازه‌گیری شد. سپس شاخساره‌های گیاهان از رویه‌ی خاک بریده شدند. ریشه گیاهان نیز به آرامی از خاک گلدان‌ها جدا شد. مقداری (حدود یک گرم) از ریشه‌های ریز و ظریف برای رنگ‌آمیزی جهت تعیین درصد کلنیزاسیون ریشه در محلول اتانول 50 درصد نگه‌داری شدند.

نمونه‌های گیاهی پس از شستشو با آب مقطر و خشک کردن، به درون پاکت‌های کاغذی منتقل شدند و به‌مدت 72 ساعت در آون و در دمای 70 درجه سلسیوس قرار داده شدند. نمونه‌ها پس از خشک شدن و توزین ماده‌خشک، با استفاده از آسیاب برقی با محفظه تمام استیل آسیاب شدند. نمونه‌های آسیاب شده تا زمان عصاره‌گیری در ظروف پلاستیکی (که قبلا با اسید رقیق شسته شده بودند) نگهداری شدند. برای ارزیابی اثرات آلودگی سربی خاک و مایه‌زنی ترکیب گونه‌های قارچ *گلوموس* و باکتری *سودوموناس* بر عملکرد گیاه، عملکرد نسبی ماده خشک شاخساره آن نیز به صورت زیر محاسبه شد :

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

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 سرب و در تیمارشاهد (بدون مایه‌زنی با میکروب‌ها) است (خداوردی‌لو و همکاران 2011).

برای بررسی تاثیر آلودگی سربی بر قارچ-ریشه‌ها، درصد کلنیزاسیون ریشه اندازه‌گیری شد. درصد کلنیزاسیون ریشه با روش رنگ‌آمیزی با محلول رنگی تریپان بلو و شمارش خطوط تلاقی شبکه اندازه-گیری شد (گیووانتی و موسی 1980).

برای اندازه‌گیری پرولین از روش بیتز و همکاران (1973) استفاده شد. زیست‌فراهمی سرب در خاک نیز پس از برداشت گیاهان به‌روش عصاره‌گیری با نیترات آمونیوم 1 نرمال اندازه‌گیری شد (لانگر و همکاران 2009). در این پژوهش از روش اکسیداسیونِ تر برای عصاره‌گیری سرب کل از گیاه استفاده شد (گیوپتا 2000) و غلظت سرب، با دستگاه جذب اتمی اسپکترومتری (Shimadzu6300 AA) قرائت شد.

در هر سطح آلودگی خاک، مقادیر سرب استخراج شده توسط شاخساره گیاه و سرب تثبیت شده در ریشه آن با استفاده از روابط 2 و 3 تعیین شد (خداوردی‌لو و همکاران 2011):

$$ME = C_P^{Shoot} \times Y^{Shoot} \qquad [2]$$

که در این رابطه ME سرب استخراج شده توسط شاخساره گیاه ($mg\ pot^{-1}$)، C_P^{Shoot} غلظت سرب در شاخساره گیاه ($mg\ kg^{-1}$) و Y^{Shoot} عملکرد شاخساره گیاه ($kg\ pot^{-1}$) در سطوح مختلف آلودگی سربی است.

$$MS = C_P^{root} \times Y^{root} \qquad [3]$$

که در این رابطه C_P^{root} غلظت سرب در ریشه گیاه (mg kg^{-1})، Y^{root} عملکرد ریشه گیاه (kg pot^{-1}) و MS سرب تثبیت شده در ریشه گیاهان (mg pot^{-1}) در سطوح مختلف آلودگی سربی است.

فاکتور انتقال گیاهی شاخص مناسبی برای ارزیابی توانایی گیاه و نیز تاثیر ترکیب گونه‌های قارچ *گلوموس* و باکتری *سودوموناس* در انتقال سرب از ریشه به شاخساره گیاه است. به‌همین دلیل این شاخص با استفاده از رابطه 4 تعیین شد:

$$TF = \frac{C_p^{shoot}}{C_p^{root}} \quad [4]$$

که در آن C_P^{Shoot} و C_P^{root} به‌ترتیب غلظت سرب در شاخساره و ریشه گیاه و TF فاکتور انتقال سرب از ریشه به شاخساره است (گیوپتا و همکاران 2008)

برای ارزیابی تاثیر ترکیب گونه‌های قارچ *گلوموس* و باکتری *سودوموناس* در افزایش نسبی استخراج و تثبیت سرب توسط گیاه و مقایسه آن‌ها به‌ترتیب از روابط 5 و 6 استفاده شد:

$$RI_{ext} = \frac{Pb_{ext}^{t} - Pb_{ext}^{c}}{Pb_{ext}^{c}} \quad [5]$$

که در این رابطه RI_{ext} افزایش نسبی مقدار سرب استخراج شده توسط گیاه بر اثر تیمار میکروبی Pb_{ext}^{t} و Pb_{ext}^{c} به‌ترتیب مقادیر سرب استخراج شده در تیمارهای میکروبی و تیمار شاهد است.

$$RI_{stab} = \frac{Pb_{stab}^{t} - Pb_{stab}^{c}}{Pb_{stab}^{c}} \quad [6]$$

که در این رابطه RI_{stab} افزایش نسبی مقدار سرب تثبیت شده در ریشه گیاه بر اثر تیمار میکروبی و Pb_{stab}^{t} و Pb_{stab}^{c} به‌ترتیب مقادیر سرب تبیت شده در تیمارهای میکروبی و تیمار شاهد است.

برای ارزیابی توانایی گیاه و نیز تاثیر قارچ‌های *گلوموس* و باکتری‌های *سودوموناس* در پالایش سطوح مختلف آلودگی سربی، ضریب تغلیظ زیستی سرب در ریشه و شاخساره گیاهان تعیین شد:

$$BCF = \frac{C_P}{C_S} \quad [7]$$

که در آن BCF، ضریب تغلیظ زیستی ریشه یا شاخساره برای پالایش سطوح مختلف آلودگی سربی، C_P غلظت سرب در ریشه یا شاخساره گیاه و C_S غلظت سرب در خاک است (خداوردی‌لو و همکاران 2011).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های به‌دست آمده از این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS و مقایسه میانگین داده‌ها نیز با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. رسم نمودارها نیز با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

جدول 1 برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه را نشان می‌دهد. این خاک دارای بافتی متوسط، pH آن در محدوده‌ی خاک‌های آهکی، کمی شور و غیر سدیمی بود. خاک مورد مطالعه با توجه به حدود مجاز گزارش شده در منابع (کارینی 1995)، غیرآلوده به فلزات سنگین بود (جدول 2).

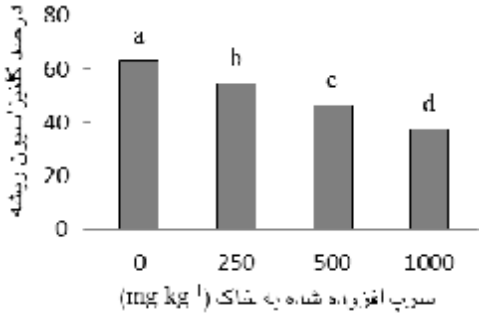
جدول 1- برخی ویژگی‌های فیزیکی وشیمیایی خاک مورد مطالعه

ویژگی	شن	سیلت	رس	مواد آلی	کلاس بافتی	ظرفیت تبادل کاتیونی	هدایت الکتریکی عصاره اشباع	سدیم تبادلی	کربنات کلسیم معادل	pH
واحد	(g kg^{-1})					(cmol$_c$kg^{-1})	(dS m^{-1})	(%)		
مقدار	323	403	274	26/9	لوم	22/1	2/5	3	30/5	8/1

جدول 2- غلظت اولیه برخی عناصر در خاک مورد مطالعه

ویژگی	کلسیم محلول	منیزیم محلول	سدیم محلول	پتاسیم محلول	کربنات محلول	بی‌کربنات محلول	کلر محلول	سولفات محلول	سرب کل	کادمیم کل	آهن کل	روی کل	مس کل
واحد	(mg L^{-1})								(mg kg^{-1})				
مقدار	1/2	0/4	23/8	0/0	0/8	5/6	15/2	3/8	21/42	1/47	295/5	62	14/11

شکل 1 درصد کلنیزاسیون ریشه گیاه بنگ‌دانه را در تیمار *گلوموس* در سطوح مختلف آلودگی سربی خاک نشان می‌دهد. این در حالی است که در تیمارهای شاهد و *سودوموناس* کلنیزاسیون ریشه مشاهده نشد. درصد کلنیزاسیون ریشه گیاه با افزایش غلظت سرب در خاک به‌طور معنی‌داری ($p\leq0/05$) کاهش یافت. کاهش کلنیزاسیون ریشه احتمالاً به دلیل کاهش زیست-توده و عملکرد ریشه گیاه و در نتیجه کاهش احتمالی ترشحات ریشه بود (جدول 3). کاهش کلنیزاسیون ریشه در شرایط تنش فلزات سنگین به‌عنوان یک راهکار سازگاری در شرایط سمیت فلزات سنگین معرفی شده است (ایوده و همکاران 2002). برخی پژوهش گران کاهش کلنیزاسیون ریشه را راهکاری برای محدود کردن جذب اضافی برخی از فلزات سنگین از طریق ریسه‌های قارچی گزارش کردند (ایوده و همکاران 2002، هاوسیپیان و گریپسون 2004). در حالی‌که برخی دیگر کاهش کلنیزاسیون ریشه‌ها را در نتیجه اثرات سمی فلزات سنگین روی اندام‌های قارچ‌ریشه‌های آربوسکولار بیان نموده‌اند (آریاگادا و همکاران 2005). نتایج برخی پژوهشگران نیز با نتایج این پژوهش مشابه بود. برای مثال هاوسیپیان و گریپسون (2004) گزارش کردند توانایی کلنیزاسیون قارچ‌ریشه‌های همزیست با ذرت در خاک‌های آلوده به سرب کاهش می‌یابد.



شکل 1- درصد کلنیزاسیون ریشه بنگ‌دانه در تیمار *گلوموس* در سطوح مختلف سرب در خاک

با افزایش غلظت سرب در خاک مقدار پرولین تولید شده در شاخساره گیاه بنگ‌دانه در همه‌ی تیمارها به‌طور معنی‌داری ($p\leq0/05$) افزایش یافت (جدول 3). اختلاف میان مقدار پرولین در تیمارهای مختلف، در غلظت صفر معنی‌داری ($p\leq0/05$) نبود. این در حالی است مقدار پرولین در غلظت‌های بالای سرب (500،250 و 1000 میلی‌گرم بر کیلوگرم) در تیمارهای *گلوموس* و *سودوموناس* به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از تیمار شاهد ($p\leq0/05$) بود. اما اختلاف تیمارهای *گلوموس* و *سودوموناس* معنی‌دار ($p\leq0/05$) نبود. در شرایط تنش فلزات سنگین مقدار آمینواسیدهای گیاه به‌ویژه پرولین تغییر می‌کند (ژانگ و همکاران 2010). یکی از دلایل تولید بیش‌تر پرولین در تیمارهای *گلوموس* و *سودوموناس* نسبت به تیمار شاهد، غلظت بیش‌تر سرب در گیاه در این تیمارها بود. از جمله دلایل دیگر این نتیجه احتمالا مربوط به تولید هورمون آبسیزیک اسید توسط این میکروب‌ها است، زیرا این هورمون تولید اسیدهای آمینه به‌ویژه پرولین را افزایش می‌دهد و

سازش با تنش را بهبود می‌بخشد (مونس و همکاران 2002). با افزایش غلظت سرب در خاک، عملکرد و عملکرد نسبی ماده خشک شاخساره‌ی گیاه در تیمارهای شاهد و *سودوموناس* به‌طور معنی‌داری ($p\leq0/05$) کاهش یافت (جدول 3). در حالی‌که کاهش عملکرد ماده خشک در تیمار *گلوموس* در غلظت‌های 250 و 500 میلی‌گرم بر کیلوگرم معنی‌دار ($p\leq0/05$) نبود و این کاهش تنها در غلظت 1000 میلی‌گرم بر کیلوگرم معنی‌دار ($p\leq0/05$) بود. کاهش عملکرد شاخساره گیاه، با افزایش سطوح سرب در خاک، به‌دلیل افزایش غلظت سرب در شاخساره گیاهان (جدول 4) و سمیت ناشی از آن بود. در همه سطوح سرب در خاک، مقادیر عملکرد شاخساره گیاه در تیمارهای *گلوموس* و *سودوموناس* به‌طور معنی‌داری ($p\leq0/05$) بیش‌تر از تیمار شاهد بود.

مقایسه میانگین داده‌های مربوط به عملکرد نسبی شاخساره نیز نشان می‌دهد که عملکرد شاخساره گیاه در تیمارهای *گلوموس* و *سودوموناس* به‌ترتیب در غلظت‌های 500 و 250 میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک بیش‌تر از عملکرد گیاه در غلظت صفر تیمار شاهد است (جدول 3). همچنین در هر سطح از غلظت سرب در خاک، مقادیر ماده خشک شاخساره در تیمار *گلوموس* بیش‌تر از تیمار *سودوموناس* بود. هر چند که اختلاف آن‌ها تنها در غلظت 1000 میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک معنی‌دار ($p\leq0/05$) بود. که این احتمالاً به‌دلیل غلظت بیش‌تر سرب در تیمار *سودوموناس* بود. این نتایج نشان می‌دهد که قارچ‌های *گلوموس* نسبت به باکتری‌های *سودوموناس* در افزایش عملکرد شاخساره گیاه بنگ‌دانه موثرترند.

با افزایش غلظت سرب در خاک، غلظت سرب در شاخساره گیاه بنگ‌دانه در همه‌ی تیمارها به‌طور معنی-داری ($p\leq0/05$) افزایش یافت (جدول 4). استفاده از باکتری‌های *سودوموناس* و قارچ‌های *گلوموس* سبب عملکرد گیاهان در خاک‌های آلوده به سرب، کاهش جذب عناصر غذایی ضروری توسط گیاهان است. ریسه‌های قارچ آربوسکولار نسبت به ریشه‌های افزایش معنی‌دار ($p\leq0/05$) غلظت سرب در شاخساره گیاه بنگ‌دانه نسبت به تیمار شاهد شد. غلظت سرب در شاخساره بنگ‌دانه در تیمار *سودوموناس* در تمامی سطوح سرب در خاک بیش‌تر از تیمار گلوموس بود. با افزایش غلظت سرب در خاک از صفر تا 500 میلی‌گرم بر کیلوگرم، مقدار سرب در شاخساره گیاه به‌طور معنی‌داری ($p\leq0/05$) افزایش یافت. اما پس از آن با افزایش غلظت سرب خاک از 500 به 1000 میلی‌گرم بر کیلوگرم این مقدار به‌طور معنی‌داری ($p\leq0/05$) کاهش یافت (جدول 4). که این به‌دلیل کاهش عملکرد گیاه در تیمارهای *گلوموس* و *سودوموناس* در غلظت 1000 میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک نسبت به سایر سطوح سرب در خاک بود (جدول 3). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که مقدار سرب استخراج شده توسط شاخساره بنگ‌دانه در تیمارهای *گلوموس* و *سودوموناس* به‌طور معنی‌داری ($p\leq0/05$) بیش‌تر از تیمار شاهد بود. در حالی‌که تیمارهای *گلوموس* و *سودوموناس* اختلاف معنی‌داری ($p\leq0/05$) نداشتند و مقادیر آن‌ها تقریباً مشابه بود. بیش‌تر پژوهشگران افزایش جذب سرب در اثر مایه‌زنی قارچ‌های آربوسکولار و باکتری‌های افزاینده رشد گیاه را به افزایش زیست‌توده گیاه و به‌وجود آمدن اثر رقت (dillution effect)، نسبت داده‌اند (آریاگادا و همکاران 2005، پونامیا و همکاران 2010، داری و همکاران 2010). اما نتایج این پژوهش برخلاف نتایج آن پژوهشگران بود. چرا که افزون بر افزایش عملکرد گیاه، غلظت سرب در گیاه نیز بیش‌تر بود. با توجه به نتایج این پژوهش به‌نظر می‌رسد که قارچ *گلوموس* و باکتری *سودوموناس* آستانه تحمل گیاه را به سمیت سرب افزایش می‌دهند. یکی از دلایل این موضوع احتمالا جذب بیش‌تر عناصر غذایی ضروری توسط گیاه می‌باشد (چن و همکاران 2006، گوهری و پازکوفسکی 2006، ژانگ و همکاران 2010). زیرا یکی از دلایل کاهش گیاهان، در برابر تنش فلزات سنگین، حساسیت کمتری دارند، بنابراین گسترش ریشه‌ها و جذب آب و عناصر غذایی، رشد و عملکرد گیاهان را در خاک‌های آلوده به

فلزات سنگین افزایش می‌دهد (جونر و لیوال 1997). باکتری‌های *سودوموناس* نیز با تولید هورمون ایندول استیک اسید (IAA) و تولید آنزیم ACC دآمیناز، تولید سیدروفور، تولید انواع هورمون‌های افزاینده رشد گیاه و ویتامین‌ها، افزایش جذب عناصر غذایی ضروری و در نتیجه عملکرد گیاهان را در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین افزایش می‌دهند (شنگ و همکاران 2008، ما و همکاران 2011). *سودوموناس*‌های مورد مطالعه در این پژوهش دارای توان تولید هورمون ایندول استیک اسید (IAA)، آنزیم ACC دآمیناز، سیدروفور بودند (رسولی صدقیانی و همکاران 1385).

جدول 3- مقایسه میانگین مقادیر پرولین، سرب زیست‌فراهم و عملکرد در سطوح مختلف سرب در خاک در تیمارهای شاهد، *سودوموناس* و *گلوموس*

کل سرب افزوده شده به خاک ($mg\ kg^{-1}$)	شاهد	سودوموناس	گلوموس
	پرولین ($mg\ g^{-1}DW$)		
0	$0/36 \pm 0/06^{c,a}$	$0/39 \pm 0/02^{d,a}$	$0/43 \pm 0/11^{d,a}$
250	$1/21 \pm 0/13^{c,b}$	$2/10 \pm 0/19^{c,a}$	$2/63 \pm 0/20^{c,a}$
500	$1/93 \pm 0/12^{b,b}$	$3/76 \pm 0/12^{b,a}$	$3/82 \pm 0/11^{b,a}$
1000	$3/32 \pm 0/11^{a,b}$	$4/93 \pm 0/41^{a,a}$	$4/93 \pm 0/14^{a,a}$
	زیست‌فراهمی سرب خاک ($mg\ kg^{-1}$)		
0	$1/07 \pm 0/13^{d,b}$	$1/93 \pm 0/21^{d,a}$	$1/95 \pm 0/52^{d,a}$
250	$3/99 \pm 0/23^{c,b}$	$5/08 \pm 0/16^{c,a}$	$5/09 \pm 0/54^{c,a}$
500	$5/87 \pm 0/13^{b,b}$	$8/39 \pm 0/26^{b,a}$	$8/52 \pm 0/40^{b,a}$
1000	$8/93 \pm 0/17^{a,b}$	$11/11 \pm 0/41^{a,a}$	$11/25 \pm 0/34^{a,a}$
	ماده خشک شاخساره ($g\ pot^{-1}$)		
0	$4/19 \pm 0/22^{a,b}$	$4/73 \pm 0/21^{a,a}$	$4/67 \pm 0/3^{a,a}$
250	$3/42 \pm 0/18^{b,b}$	$4/40 \pm 0/14^{b,a}$	$4/63 \pm 0/16^{a,a}$
500	$2/48 \pm 0/25^{c,b}$	$4/13 \pm 0/06^{c,a}$	$4/49 \pm 0/12^{a,a}$
1000	$1/83 \pm 0/23^{d,c}$	$2/24 \pm 0/06^{d,b}$	$3/24 \pm 0/08^{b,a}$
	ماده خشک نسبی شاخساره		
0	$1 \pm 0/05^{a,b}$	$1/12 \pm 0/05^{a,a}$	$1/13 \pm 0/07^{a,a}$
250	$0/82 \pm 0/04^{b,b}$	$1/05 \pm 0/03^{b,a}$	$1/1 \pm 0/04^{a,a}$
500	$0/59 \pm 0/06^{c,b}$	$0/98 \pm 0/02^{c,a}$	$1/07 \pm 0/03^{a,a}$
1000	$0/44 \pm 0/05^{d,c}$	$0/53 \pm 0/01^{d,b}$	$0/77 \pm 0/02^{b,a}$
	ماده خشک ریشه ($g\ pot^{-1}$)		
0	$2/98 \pm 0/27^{a,b}$	$4/74 \pm 0/25^{a,a}$	$4/68 \pm 0/11^{a,a}$
250	$2/70 \pm 0/38^{ab,b}$	$3/80 \pm 0/29^{b,a}$	$4/06 \pm 0/17^{b,a}$
500	$2/21 \pm 0/18^{b,c}$	$3/02 \pm 0/17^{c,b}$	$3/55 \pm 0/12^{c,a}$
1000	$2/06 \pm 0/06^{b,c}$	$2/44 \pm 0/22^{d,b}$	$3/24 \pm 0/08^{c,a}$
	ماده خشک نسبی ریشه		
0	$1 \pm 0/09^{a,b}$	$1/59 \pm 0/08^{a,a}$	$1/57 \pm 0/03^{a,a}$
250	$0/9 \pm 0/13^{a,b}$	$1/27 \pm 0/09^{b,a}$	$1/36 \pm 0/05^{b,a}$
500	$0/74 \pm 0/06^{b,c}$	$1/01 \pm 0/06^{c,b}$	$1/19 \pm 0/03^{c,a}$
1000	$0/69 \pm 0/02^{b,b}$	$0/82 \pm 0/07^{d,b}$	$1/09 \pm 0/13^{c,a}$

حروف بالانویس اول و دوم بر روی هر عدد به ترتیب نشان دهنده اختلاف آماری ($p \leq 0/05$) در هر ستون و هر ردیف می‌باشند. میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری ($p \leq 0/05$) ندارند.

اعداد مقابل داده‌ها انحراف معیار داده‌ها در سه تکرار را نشان می‌دهند.

جدول 4- مقایسه میانگین مقادیر شاخص‌های مختلف گیاه، در سطوح مختلف سرب در خاک در تیمارهای شاهد، *سودوموناس* و *گلوموس*

کل سرب افزوده شده به خاک ($mg\ kg^{-1}$)	شاهد	سودوموناس	گلوموس
	غلظت سرب در شاخساره ($mg\ kg^{-1}$)		
0	$0/34 \pm 0/07^{d,c}$	$2/35 \pm 0/28^{d,a}$	$1/79 \pm 0/11^{c,b}$
250	$6/93 \pm 0/83^{c,b}$	$16/21 \pm 1/59^{c,a}$	$15/81 \pm 2/01^{b,a}$
500	$12/07 \pm 0/69^{b,b}$	$20/35 \pm 0/63^{b,a}$	$21/86 \pm 2/89^{a,a}$
1000	$21/64 \pm 1/19^{a,c}$	$30/64 \pm 2/87^{a,a}$	$24/29 \pm 0/82^{a,b}$
	سرب استخراج شده توسط گیاه ($mg\ pot^{-1}$)		
0	$0/001 \pm 0/000^{d,b}$	$0/011 \pm 0/000^{c,a}$	$0/008 \pm 0/001^{c,a}$
250	$0/023 \pm 0/003^{c,b}$	$0/071 \pm 0/005^{b,a}$	$0/073 \pm 0/009^{b,a}$
500	$0/030 \pm 0/004^{b,b}$	$0/096 \pm 0/009^{a,a}$	$0/098 \pm 0/012^{a,a}$
1000	$0/039 \pm 0/005^{a,b}$	$0/068 \pm 0/005^{b,a}$	$0/079 \pm 0/003^{b,a}$
	غلظت سرب در ریشه ($mg\ kg^{-1}$)		
0	$0/61 \pm 0/18^{d,b}$	$2/29 \pm 0/28^{d,a}$	$1/78 \pm 0/18^{d,a}$
250	$7/39 \pm 0/44^{c,c}$	$15/13 \pm 1/59^{c,b}$	$21/21 \pm 2/01^{c,a}$
500	$12/92 \pm 0/55^{b,c}$	$20/35 \pm 0/63^{b,b}$	$29/82 \pm 2/89^{b,a}$
1000	$22/75 \pm 0/42^{a,c}$	$25/16 \pm 2/87^{a,b}$	$33/01 \pm 0/82^{a,a}$
	سرب تثبیت شده در ریشه گیاه ($mg\ pot^{-1}$)		
0	$0/001 \pm 0/000^{d,b}$	$0/011 \pm 0/000^{b,a}$	$0/008 \pm 0/001^{b,a}$
250	$0/023 \pm 0/003^{c,c}$	$0/071 \pm 0/005^{a,b}$	$0/073 \pm 0/007^{a,a}$
500	$0/030 \pm 0/004^{b,c}$	$0/096 \pm 0/009^{a,b}$	$0/105 \pm 0/012^{a,a}$
1000	$0/039 \pm 0/005^{a,b}$	$0/068 \pm 0/005^{a,b}$	$0/107 \pm 0/003^{a,a}$
	فاکتور انتقال گیاهی (TF)		
0	$1/00 \pm 0/45^{a,a}$	$1/02 \pm 0/10^{b,a}$	$1/01 \pm 0/05^{a,a}$
250	$1/19 \pm 0/10^{a,a}$	$1/25 \pm 0/16^{ab,a}$	$0/85 \pm 0/08^{a,b}$
500	$1/05 \pm 0/13^{a,ab}$	$1/59 \pm 0/27^{a,a}$	$0/93 \pm 0/17^{ab,b}$
1000	$0/84 \pm 0/07^{a,b}$	$1/11 \pm 0/08^{b,a}$	$0/74 \pm 0/13^{b,b}$
	ضریب تغلیظ زیستی (BCF) شاخساره*		
0	$0/015 \pm 0/003^{c,c}$	$0/109 \pm 0/008^{a,a}$	$0/083 \pm 0/015^{a,b}$
250	$0/025 \pm 0/003^{a,b}$	$0/059 \pm 0/007^{b,a}$	$0/058 \pm 0/006^{b,a}$
500	$0/023 \pm 0/001^{ab,c}$	$0/044 \pm 0/001^{bc,a}$	$0/03 \pm 0/004^{c,b}$
1000	$0/021 \pm 0/001^{b,c}$	$0/030 \pm 0/003^{c,a}$	$0/023 \pm 0/003^{c,b}$
	ضریب تغلیظ زیستی (BCF) ریشه*		
0	$0/028 \pm 0/002^{a,b}$	$0/107 \pm 0/008^{a,a}$	$0/083 \pm 0/008^{b,a}$
250	$0/027 \pm 0/002^{a,c}$	$0/075 \pm 0/007^{b,b}$	$0/109 \pm 0/005^{a,a}$
500	$0/025 \pm 0/001^{a,c}$	$0/048 \pm 0/001^{c,b}$	$0/057 \pm 0/030^{c,a}$
1000	$0/022 \pm 0/001^{a,b}$	$0/024 \pm 0/003^{d,b}$	$0/032 \pm 0/001^{d,a}$

حروف بالانویس اول و دوم بر روی هر عدد به ترتیب نشان دهنده اختلاف آماری ($p \leq 0/05$) در هر ستون و هر ردیف می‌باشند.

میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری ($p \leq 0/05$) ندارند.

اعداد مقابل داده‌ها انحراف معیار داده‌ها در سه تکرار را نشان می‌دهند.

*: غلظت اولیه سرب در خاک 21/42 میلی‌گرم بر کیلوگرم بود، که در محاسبه BCF در نظر گرفته شد.

یکی دیگر از راهکارهای قارچ‌های *گلوموس* و باکتری‌های *سودوموناس* در کاهش اثر فلزات سنگین در گیاهان، افزایش مقدار پرولین است. پرولین در گیاهان سبب تنظیم فشار اسمزی، پایداری پروتئین‌ها و محافظت از ساختارهای سلولی شده و در شرایط تنش-های محیطی به‌ویژه تنش فلزات سنگین با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی از جمله سوپراکسد دیسموتاز آسیب‌های ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن را می‌کاهد (اسچالر 2003، ژانگ و همکاران 2010). قارچ-های *گلوموس* و باکتری‌های *سودوموناس* در گیاهان احتمالا سبب کلاته شدن فلزات سنگین توسط لیگاند و به‌دنبال آن محبوس کردن کمپلکس فلز- لیگاند در واکوئل می‌باشد. حبس فلزسنگین در واکوئل از گردش آزاد یون‌های فلزات سنگین در سیتوزول جلوگیری می-کنند. به‌همین دلیل بردباری گیاهان به تنش فلزات سنگین افزایش می‌یابد (میرانصاری 2011).

کلاته شدن فلزات سنگین توسط اسیدهای آلی، اسیدهای آمینه و پلی پپتیدها صورت می‌گیرد که از مهم‌ترین ترکیبات آن‌ها می‌توان متالوتیونین‌ها (MTs) و فیتوکلاتین‌ها (PCs) را نام برد (میرانصاری 2011). همچنین راهکار مطرح دیگر در مورد کاهش سمیت فلزات سنگین در گیاهان مایه‌زنی شده با AMF تحریک سیستم فنولیک گیاه به‌واسطه کلنیزاسیون قارچ‌های *گلوموس* است که در نتیجه تیول‌هایی مانند گلوتاتیون تشکیل می‌شوند. این ترکیب‌ها از نظر ساختاری با فیتوکلاتین‌ها ارتباط دارند و با تشکیل پیوند با فلز سنگین، در کاهش سمیت فلز در گیاه، نقش مهمی را ایفا می‌کنند (مارکیوز و همکاران 2008). نتایج این پژوهش برخلاف نتایج برخی از پژوهشگران بود که گزارش کرده بودند قارچ آربوسکولار سبب کاهش جذب فلزات سنگین می‌شود. (شتی و همکاران 1994، ژیو و همکاران 2001).

همان‌طور که در جدول 3 نشان داده شده است، با افزایش غلظت سرب در خاک، عملکرد و عملکرد نسبی ماده‌خشک ریشه‌ی بنگ‌دانه در همه تیمارها به‌طور معنی‌داری ($p\leq0/05$) کاهش یافت. مقادیر عملکرد ریشه گیاه در تیمارهای *گلوموس* و *سودوموناس* در تمامی سطوح سرب در خاک به‌طور معنی‌داری ($p\leq0/05$) بیش‌تر از تیمار شاهد بود (جدول 3). عملکرد نسبی مقایسه میان تیمارها را بهتر نشان می‌دهد. نتایج محاسبه عملکرد نسبی ماده‌خشک ریشه نیز نشان داد که نه‌تنها عملکرد ریشه در تمامی سطوح سرب در خاک در تیمار *گلوموس* بیش‌تر از مقدار مشابه در تیمار شاهد بود، بلکه عملکرد ریشه حتی در غلظت 1000 میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک در تیمار *گلوموس* بیش‌تر از عملکرد ریشه در غلظت صفر در تیمار شاهد بود. در تیمار *سودوموناس* نیز عملکرد ریشه حتی در غلظت‌های 250 و 500 میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک بیش از عملکرد ریشه در غلظت صفر در تیمار شاهد بود (جدول 3). این نتایج و همچنین نتایج مربوط به عملکرد شاخساره تاثیر چشم‌گیر تیمارهای میکروبی به‌ویژه قارچ *گلوموس* را در افزایش عملکرد گیاه را به وضوح نشان می‌دهد. کاهش عملکرد ماده‌خشک ریشه گیاهان در اثر افزایش غلظت سرب در خاک ناشی از سمیت ایجاد شده توسط سرب می‌باشد (کنکی و همکاران 2010). سرب از تقسیم سلول‌های مریستمی و رشد سلول‌های ریشه جلوگیری کرده و عملکرد ریشه گیاهان را کاهش می‌دهد (کنکی و همکاران 2010). عملکرد ماده خشک ریشه بنگ‌دانه در همه‌ی سطوح سرب در خاک در تیمار مایه‌زنی شده با *گلوموس* بیش-تر از تیمارهای *سودوموناس* و شاهد بود. این در حالی است که غلظت سرب نیز در ریشه گیاهان مایه‌زنی شده با *گلوموس* بیش‌تر از تیمار *سودوموناس* و شاهد بود. این نتایج نشان می‌دهد که این قارچ‌ها توانایی بسیار بالایی در سمیت زدایی سرب و اندوزش آن در ریشه گیاه دارند. دلیل آن این است که این قارچ‌ها با اندوزش فلزات سنگین به‌شکل غیر سمی در ریشه‌های گیاه همزیست و میسیلیوم‌های برون‌ریشه‌ای به پایداری گیاهان و افزایش عملکرد آن‌ها در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین کمک می‌کنند (گنزالز-چاوز و همکاران 2004). نتایج پژوهش‌های مختلف نشان داده است که افزایش جذب عناصر غذایی، افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده گونه‌های فعال اکسیژن از جمله سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات اکسیداز و تحریک سیستم

فنولیک گیاه از دیگر دلایل کاهش سمیت سرب در ریشه‌های گیاهان و افزایش عملکرد ماده خشک آن‌ها در اثر مایه‌زنی با قارچ‌های *گلوموس* می‌باشد (مارکیوز و همکاران 2008). گیاهان در پاسخ به تنش فلزات سنگین در خاک، هورمون اتیلن را تولید می‌کنند که رشد ریشه گیاهان را کاهش می‌دهد. در این شرایط باکتری‌های *سودوموناس* می‌توانند با تولید آنزیم ACC دآمیناز و کاهش اثرات تنشی اتیلن، رشد ریشه گیاهان را افزایش دهند (ارشد و همکاران 2007، ما و همکاران 2011).

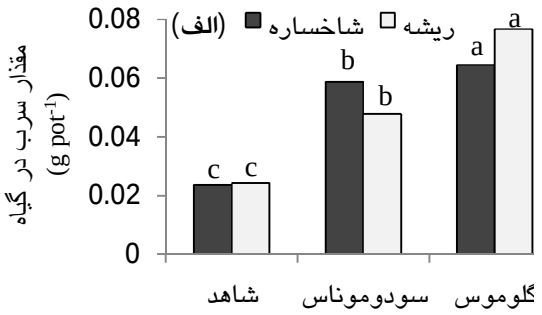
با افزایش غلظت سرب در خاک، غلظت سرب در ریشه گیاه بنگدانه در همه‌ی تیمارها به‌طور معنی‌داری ($p\leq0/05$) افزایش یافت (جدول 4). غلظت سرب در ریشه بنگدانه در تمامی سطوح سرب در خاک، در تیمارهای *گلوموس* و *سودوموناس* به‌طور معنی‌داری ($p\leq0/05$) بیش‌تر از تیمار شاهد بود. غلظت سرب در ریشه گیاه در تیمارهای مختلف بدین‌ترتیب بود: *گلوموس*>*سودوموناس*> شاهد. البته اختلاف میان تیمارهای *گلوموس* و *سودوموناس* در غلظت صفر سرب در خاک معنی‌دار ($p\leq0/05$) نبود.

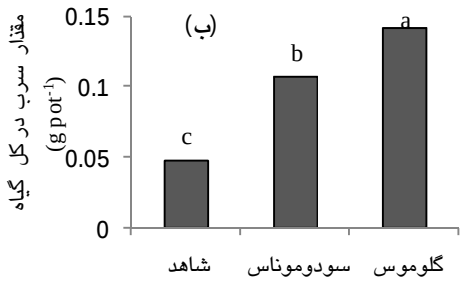
با افزایش غلظت سرب در خاک مقدار سرب تثبیت شده در ریشه در تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری ($p\leq0/05$) افزایش یافت (جدول 4). در حالی‌که در تیمارهای *گلوموس* و *سودوموناس* با افزایش غلظت سرب در خاک از صفر به 250 میلی‌گرم بر کیلوگرم، مقدار سرب تثبیت شده در ریشه این گیاه به‌طور معنی‌داری ($p\leq0/05$) افزایش یافت. اما پس از آن با افزایش غلظت سرب از 250 تا 1000 میلی‌گرم بر کیلوگرم مقدار سرب تثبیت شده، اگر چه افزایش یافت اما این افزایش معنی‌دار ($p\leq0/05$) نبود که به‌دلیل کاهش عملکرد ریشه این گیاه در تیمارهای *گلوموس* و *سودوموناس* در غلظت‌های 500 و 1000 سرب در خاک بود (جدول 3). در غلظت صفر سرب در خاک مقدار سرب تثبیت شده در ریشه بنگدانه به ترتیب زیر بود: *سودوموناس*>*گلوموس*> شاهد. هرچند که اختلاف تیمارهای *گلوموس* و *سودوموناس* بسیار اندک بوده و معنی‌دار ($p\leq0/05$) نبود و این مقدار اندک به‌دلیل عملکرد بیش‌تر ریشه این گیاه در تیمار *سودوموناس* بود. در حالی‌که در غلظت‌های 250، 500 و 1000 میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب در خاک این مقدار بدین‌ترتیب بود: *گلوموس*>*سودوموناس*> شاهد. البتّه در غلظت 1000 میلی‌گرم بر کیلوگرم اختلاف میان تیمارهای *سودوموناس* و شاهد معنی‌دار ($p\leq0/05$) نبود.

شکل (2 الف) میانگین مقدار سرب در سطوح مختلف سرب خاک، در ریشه و شاخساره گیاه را نشان می‌دهد. با توجه به این شکل مقدار میانگین سرب استخراج شده در شاخساره بنگدانه در تیمارهای *گلوموس* و *سودوموناس* به‌ترتیب بیش از 2/7 و 2 برابر بیش‌تر از مقدار مشابه در تیمار شاهد بود. همچنین مقدار سرب تثبیت شده در ریشه بنگدانه در تیمارهای *گلوموس* و *سودوموناس* به‌ترتیب بیش از 3/1 و 1/9 برابر مقدار مشابه در تیمار شاهد بود. این نتایج نشان می‌دهد که به‌طور کلی در تیمار شاهد مقدار سرب در ریشه و شاخساره گیاه تقریباً یکسان بود. اما در تیمار *سودوموناس* مقدار سرب استخراج شده در شاخساره و در تیمار *گلوموس* سرب تثبیت شده در ریشه بیش‌تر بود. شکل (2ب) میانگین مجموع مقدار سرب ریشه و شاخساره گیاه در سطوح مختلف سرب در خاک را نشان می‌دهد. با توجه به این شکل میانگین مجموع مقدار سرب در ریشه و شاخساره بنگدانه، در سطوح مختلف سرب در خاک بدین ترتیب بود: *گلوموس*>*سودوموناس*> شاهد. این مقدار در تیمارهای *گلوموس* و *سودوموناس* به‌ترتیب بیش از 2/9 و 2/2 برابر مقدار مشابه در تیمار شاهد بود.

دلیل بیش‌تر بودن مقدار سرب تثبیت شده در ریشه گیاهان همزیست با قارچ‌های *گلوموس* این است که این قارچ‌ها می‌توانند با غیرمتحرک‌کردن فلزات سنگین در ریشه‌ها و زیست‌توده قارچی سمیت آن‌ها را کاهش داده و اندوزش آن‌ها را در ریشه گیاهان افزایش دهند (جونر و لیوال 1997، میرانصاری 2011). همچنین قارچ‌های آربوسکولار به‌دلیل داشتن شبکه ریشه‌ای گسترده سطح جذب ریشه را به‌طور چشم‌گیری افزایش می‌دهند، بنابراین کارآیی گیاهان همزیست با آن‌ها در جذب عناصر کم‌تحرک مانند سرب نیز افزایش می‌یابد

(گری گوریو و همکاران 2006 و خادی و همکاران 2009). بدین ترتیب قارچ‌های *گلوموس* می‌توانند در تثبیت سبز فلزات سنگین موثر باشند. نتایج بسیاری از پژوهش‌ها نیز با این نتایج مشابه بود. برای مثال سودووا و همکاران (2007) گزارش کردند قارچ‌ریشه‌های آربوسکولار جذب و اندوزش سرب در ریشه ذرت را به‌طور چشم‌گیری افزایش می‌دهند. با توجه به این نتایج می‌توان گفت که مایه‌زنی ترکیبی گونه‌های *G. intraradices*، *G. mosseae* و *G. fasciculatum* از قارچ *گلوموس* می‌تواند با افزایش جذب و اندوزش سرب در ریشه بنگ‌دانه تثبیت سرب را افزایش دهد.





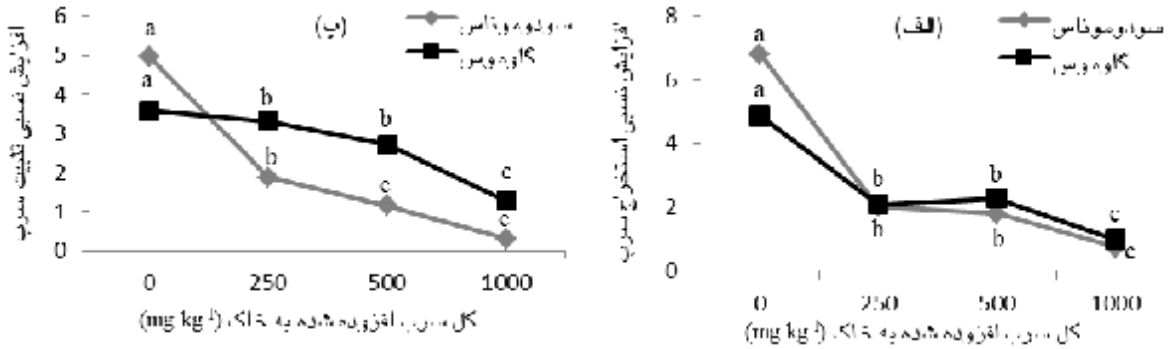
شکل 2- میانگین مقدار سرب در ریشه و شاخساره گیاه (الف) و میانگین مجموع مقدار سرب در ریشه و شاخساره (ب) در سطوح مختلف سرب در خاک، در تیمارهای مختلف

با افزایش غلظت سرب در خاک فاکتور انتقال آن در تیمار *گلوموس* کاهش یافت (جدول 4). اگرچه این کاهش تنها در غلظت 1000 میلی‌گرم بر کیلوگرم معنی‌دار ($p\leq0/05$) بود. این در حالی است که در تیمارهای *سودوموناس* و شاهد به‌ترتیب تا غلظت 500 و 250 میلی‌گرم بر کیلوگرم افزایش، سپس کاهش یافت. البته این تغییرات در تیمار شاهد معنی‌دار ($p\leq0/05$) نبود. فاکتور انتقال سرب در غلظت صفر در تیمارهای مختلف تقریباً یکسان بود. اما در سایر غلظت‌های سرب در خاک بدین‌ترتیب بود: *سودوموناس*> شاهد >*گلوموس* (جدول 4). با توجه به این نتایج قارچ *گلوموس* سبب کاهش انتقال سرب از ریشه به شاخساره و باکتری‌های *سودوموناس* سبب افزایش انتقال سرب از ریشه به شاخساره می‌شوند. قارچ آربوسکولار سبب می‌شوند که سرب در زیست‌توده قارچی اندوزش یابد و غیر متحرک شود و انتقال آن به شاخساره کاهش یابد (جونر و لیوال 2001). این نتایج با نتایج ژانگ و همکاران (2010) که گزارش کرده بودند مایه‌زنی قارچ‌های *گلوموس* سبب کاهش انتقال سرب از ریشه به شاخساره گیاه باقلا می‌شود، مشابه بود.

شکل 3 روند تغییرات افزایش نسبی استخراج سرب و افزایش نسبی تثبیت سرب را نشان می‌دهد. مقادیر این شاخص‌ها با افزایش غلظت سرب در خاک به‌طور معنی‌داری ($p\leq0/05$) کاهش یافت (شکل 3). این احتمالاً به‌دلیل کاهش فراوانی و فعالیت باکتری‌ها و قارچ‌ها در اثر سمیت سرب بود. میان تیمارهای میکروبی از نظر مقدار افزایش نسبی استخراج سرب توسط بنگ‌دانه اختلاف معنی‌داری ($p\leq0/05$) وجود نداشت (شکل 3الف). اگرچه این مقدار در غلظت صفر سرب در خاک، در تیمار *سودوموناس* بیش‌تر از تیمار *گلوموس* بود. کاهش شاخص افزایش نسبی تثبیت سرب در تیمار *سودوموناس* نسبت به تیمار *گلوموس* چشم‌گیرتر بود (شکل 3ب). این نتایج نقش تحریکی قارچ‌های *گلوموس* را در افزایش تثبیت سرب در ریشه‌های گیاهان و افزایش کارآیی تثبیت سبز به‌وضوح نشان می‌دهد.

مقادیر BCF شاخساره بنگدانه در تیمارهای AMF و PGPR با افزایش غلظت سرب در خاک از صفر تا 500 میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌طور معنی‌داری ($p\leq0/05$) کاهش یافت (جدول 4). اما پس از آن کاهش BCF معنی‌دار ($p\leq0/05$) نبود. این در حالی‌است که BCF شاخساره در تیمار شاهد در غلظت 250 میلی‌گرم بر کیلوگرم بر خلاف تیمارهای *گلوموس* و *سودوموناس* به‌طور معنی‌داری ($p\leq0/05$) افزایش یافت، اما در غلظت‌های 500 و 1000 میلی‌گرم بر کیلوگرم تغییر معنی‌داری ($p\leq0/05$) مشاهده نشد. مقدار BCF شاخساره بنگدانه در تیمارهای مختلف بدین ترتیب بود: *سودوموناس*> *گلوموس*> شاهد. هر چند که اختلاف میان تیمارهای *سودوموناس* و *گلوموس* در غلظت 250 میلی‌گرم بر کیلوگرم معنی‌دار ($p\leq0/05$) نبود (جدول 4).

با افزایش غلظت سرب در خاک مقدار BCF ریشه بنگدانه در تیمارهای شاهد و *سودوموناس* کاهش یافت (جدول 4). این در حالی‌است که در تیمار *گلوموس* بر خلاف تیمارهای *سودوموناس* و شاهد مقدار BCF ریشه گیاه در غلظت 250 میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌طور معنی‌داری ($p\leq0/05$) افزایش یافت، اما پس از آن با افزایش غلظت سرب در خاک BCF ریشه به‌طور معنی‌داری ($p\leq0/05$) کاهش یافت. به‌طور کلی مایه‌زنی *گلوموس* و *سودوموناس* در تمامی سطوح سرب در خاک، سبب افزایش چشم‌گیر BCF ریشه نسبت به تیمار شاهد شد. در غلظت صفر سرب در خاک اختلاف میان مقادیر BCF ریشه بنگدانه در تیمارهای *گلوموس* و *سودوموناس* معنی‌دار ($p\leq0/05$) نبود. اما در غلظت‌های 250، 500 و 1000 میلی‌گرم بر کیلوگرم مقدار BCF ریشه در تیمار *گلوموس* به‌طور معنی‌داری ($p\leq0/05$) بیش‌تر از تیمار *سودوموناس* بود. این نتایج نشان دهنده این است که هر دو تیمار *گلوموس* و *سودوموناس* سبب افزایش تغلیظ سرب در ریشه و شاخساره بنگدانه می‌شوند. هر چند که باکتری‌هاس *سودوموناس* در تغلیظ سرب در شاخساره و قارچ‌های *گلوموس* در تغلیظ سرب در ریشه موثرتر بودند.



شکل 3- روند تغییرات افزایش نسبی استخراج سرب (الف) و تثبیت سرب (ب)، در اثر تیمارهای میکروبی در سطوح مختلف سرب در خاک

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد که مایه‌زنی گونه‌های قارچ *گلوموس* در افزایش عملکرد شاخساره بنگ‌دانه نسبت به گونه‌های *سودوموناس* تاثیر بیش‌تری داشت، در حالی‌که مایه‌زنی گونه‌های *سودوموناس* تاثیر بیش‌تری در افزایش میزان سرب در شاخساره داشت.

تاثیر قارچ‌های *گلوموس* در افزایش تثبیت سرب در ریشه و همچنین مجموع مقدار سرب تثبیت شده و استخراج شده توسط گیاه نسبت به باکتری‌های *سودوموناس* چشم‌گیرتر بود. اگرچه بنگدانه مقدار سرب بالایی را استخراج و تثبیت نکرد، اما این نتیجه به‌این دلیل بود که این پژوهش در شرایط گلخانه‌ای انجام شد و گیاه در این شرایط به مرحله بلوغ و حداکثر عملکرد خود نرسید. این گیاه در شرایط طبیعی و

مزرعه‌ای زیست‌توده بسیار بالایی تولید می‌کند و احتمالاً می‌تواند مقدار سرب بسیار بیش‌تری را تثبیت و استخراج کند. به‌طور خلاصه ترکیب گونه‌های قارچ *گلوموس* و باکتری *سودوموناس* از سویی با کاهش سمیت سرب و افزایش آستانه تحمل بنگ‌دانه به سمیت سرب و در نتیجه افزایش عملکرد ریشه و شاخساره آن و از دیگر سوی با افزایش زیست‌فراهمی سرب برای گیاه و افزایش جذب و اندوزش آن در ریشه و شاخساره گیاه، نقش تحریک کنندگی بسیار چشم‌گیری در پالایش‌سبز آلودگی سربی خاک توسط بنگ‌دانه داشتند.

منابع مورد استفاده

خداوردی‌لو ح، 1385. مدل سازی پالایش سبز خاک‌های آلوده به کادمیم و سرب. رساله‌ی دوره دکتری تخصصی فیزیک و حفاظت خاک. دانشگاه تربیت مدرس. تهران، ایران. 131 صفحه.

خداوردی‌لو ح و حمزه‌نژاد تقلیدآباد ر، 1390. جذب و واجذب سرب و تاثیر تر-خشک شدن متناوب بر توزیع فلز در دو خاک با ویژگی‌های متفاوت. دانش آب و خاک. جلد21 شماره 1. صفحه‌های 149 تا 163.

رسولی صدقیانی م ح، خاوازی ک، رحیمیان ح ، ملکوتی م ج و اسدی رحمانی ه، 1385. ارزیابی توان سویه‌های بومی *سودوموناس فلورسنت* ریزوسفر گندم برای تولید سیدروفور. مجله علوم خاک و آب، جلد 20، شماره 1. صفحه-های 133 تا 143.

Aaron SD, Vandemheen KL, Ramotar K and Giesbrecht-Lewis T, 2010. Infection with transmissible strains of *Pseudomonas aeruginosa* and clinical outcomes in adults with cystic fibrosis. J Am Medical Assoc 17: 2145-53.

Arriagada CA, Herrera MA and Ocampo JA, 2005. Contribution of arbuscular mycorrhizal and saprobe fungi to the tolerance of *Eucalyptus globulus* to Pb. Water Air Soil Pollut 166: 31-47.

Arshad M, Saleem M and Hussain S, 2007. Perspectives of bacterial ACC deaminase in phytoremediation. Biotechnology 25: 356–362.

Awotoye OO, Adewole MB, Salami AO and Ohiembor MO, 2009. Arbuscular mycorrhiza contribution to the growth performance and heavy metal uptake of *Helianthusannuus LINN* in pot culture. Afr J Environ Sci and Technol 3: 157-163.

Bafeel SO, 2008. Contribution of mycorrhizae in phytoremediation of lead contaminated soils by *Eucalyptusrostrata* Plants. Sci J 5: 490-498.

Bates lS, Waldern RP, and Teare ID, 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil 39: 205-207.

Belimov AA, Kunakova AM, Safronova, VI, Stepanok, VV, Yudkin, LY, Akleseev YV and Kozhemyakov AP, 2004. Employment of rhizobacteria for the inoculation of barley plants cultivated in soil contaminated with lead and cadmium. Microbiology 73: 99–106.

Braud A, Jezequel K, Bazot S, and Lebeau T, 2009. Enhanced phytoextraction of an agricultural Cr and Pb-contaminated soil by bioaugmentation with siderophore-producing bacteria. Chemospher 74: 280-286.

Cariny T, 1995.The Reuse of Contaminated Land.John Wiley and Sons Ltd. Publisher.P. 219.

Carter MR and Gregorich EG, 2008. Soil Sampling and Methods of Analysis (2nd ed). CRC Press.Boca Raton, FL. P.1204.

Cenkci S, Cioerci IH, Yildiz M, Oezay C, Bozdao A and Terzi H, 2010. Lead contamination reduces chlorophyll biosynthesis and genomic template stability in *Brassica rapa L.* Environ Exp Bot 67: 467-473.

Chen Y, Zhu G and Smith FA, 2006. Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation on uranium and arsenic accumulation by Chinese brake fern *(Pteris vittata L.)* from a uranium mining-impacted soil, Chemosphere 62: 1464–1473.

Clark RB and Zeto SK, 2000. Mineral acquisition by arbuscular mycorrhizal plants. J Plant Nutri 23: 867-902.

Dary M, Chamber-Pérez MA, Palomares AJ and Pajuelo E, 2010. In situ phytostabilisation of heavy metal polluted soils using *Lupinus luteus* inoculated with metal resistant plant-growth promoting rhizobacteria. Hazard Mater 177: 323-330.

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

Gohre V and Paszkowski U, 2006. Contribution of the arbuscular mycorrhizal symbiosis to heavy metal Phytoremediation. Planta 223: 1115–1122.

Gonzalez-Chavez MC, Carrillo-Gonzalez R, Wright SF and Nichols K, 2004. The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potentially toxic elements. Environ Pollut 130: 317-323.

Gregorio SD, Barbafieri M, Lampis S, Sanangelantoni AM, Tassi E and Vallini G, 2006. Combined application of *Triton X-100* and *Sinorhizobium sp.Pb002* inoculum for the improvement of lead phytoextraction by *Brassica juncea* in EDTA amended soil. Chemosphere 63: 293–299.

Gupta RK, 2000. Soil, Plant, Water and Fertilizer Analysis. Agrobios, New Delhi, India.

Gupta S, Nayek S, Saha RN and Satpati S, 2008. Assessment of heavy metal accumulation in macrophyte, agricultural soil and crop plants adjacent to discharge zone of sponge iron factory. Environ Geol 55: 731-739.

Giovannetti M, and Mosse B, 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscularmycorrhizal infection in roots. New Phytol 84: 489-500.

Hovsepyan A and Greipsson S, 2004. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on phytoextraction by corn (*Zea mays*) of lead-contaminated soil. Int J Phytoremediation 6: 305-321.

Jamal A, Ayub N, Usman M and Khan AG, 2002. Arbuscular mycorrhizal fungi enhance zinc and nickel uptake from contaminatedsoil by *soyabean* and lentil. Int J Phytoremedeation 4: 205–221.

Joner EJ and Leyval C, 1997. Uptake of Cd by roots and hyphaeof a *Glomus mosseae*/*Trifolium* subterraneum mycorrhiza fromsoil amended with high and low concentrations of cadmium. New Phytol 135: 353–360

Joner EJ and Leyval C, 2001. Time-course of heavy metal uptake inmaize and clover as affected by root density and different mycorrhizal inoculation regimes. Bio Fertil Soils 33: 351–357.

Karimi A, Khodaverdiloo H, Sepehri M and Rasouli Sadaghiani MH, 2011. Arbuscular mycorrhizal fungi and heavy metal contaminated soils. Afr J Microbiol Res 5: 1571- 1576.

Khadi S, Sharda W and Rodrigues BF, 2009. Studies on effects of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi on mineral nutrition of *Carica papaya L.* Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca 37: 183-186.

Khan AG, 2001. Relationships between chromium biomag nification ratio, accumulation factor,and mycorrhizae in plants growing on tannery effluent-polluted soil. Environ Int 26: 417-423.

Khan AG, 2005. Role of soil microbes in the rhizospheres of plants growing on trace element contaminated soils inphytoremediation. J Trace Elem Med Biol 18: 355-364.

Khodaverdiloo H and Homaee M, 2008. Modeling of cadmium and lead phytoextraction from contaminated soils. Soil Sci 41: 149-162.

Khodaverdiloo H, Ghorbani Dashtaki Sh and Rezapour S, 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.

Khodaverdiloo H., Rahmanian M, Rezapour S, Ghorbani Dashtaki Sh, Hadi H and Han FX, 2012. Effect of wetting-drying cycles on redistribution of lead in some semi-arid zone soils spiked with a lead salt. Pedosphere 22: 304–313.

Langer I, Krpata D, Fitz WJ, Wenzel WW and Schweiger PF, 2009. Zinc accumulation potential and toxicity threshold determined for a metal-accumulating Populus canescens clone in a dose–response study. Environ Pollut 157: 2871–2877.

Ma Y, Prasad MNV, Rajkumar M and Freitas H, 2011. Plant growth promoting rhizobacteria and endophytes accelerate phytoremediation of metalliferous soils. Biotechnol Adv 29: 248–258.

Marquez APGC, Oliveira RS, Samardjieva KA, Pissarra J, Rangel AOSS and Castro PML, 2008. EDDS and EDTA-enhanced zinc accumulation by *Solanum nigrum* inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi grown in contaminated soil. Chemosphere 70: 1002-1014.

Miransari M, 2011. Hyperaccumulators, arbuscular mycorrhizal fungi and stress of heavy metals. Biotechnol Adv 6: 645-653.

Mulligan CN, Yong RN and Gibbs BF, 2001. Remediation techniques for metal contaminated soils and groundwater: an evaluation. Engin Geol 60: 193 -207.

Munns R, Husain S, Rivelli AR, James RA, Condon AG, Lindsay MP, Lagudah ES, Schachtman DP and Hare RA, 2002. Avenues for increasing salt tolerance of crops and the role of physiologically based selection traits. Plant Soil 247: 93-105.

Oudeh M, Khan M and Scullion J, 2002. Plant accumulation of potentially toxic elements in sewage sludge as affected by soil organic matter level and mycorrhizal fungi. Environ Pollut 6: 293–300.

Peng J, Song Y, Yuan P, Cui X and Qiu G, 2009. The remediation of heavy metals contaminated sediment. J Hazard Mater 161: 633–640.

Punamiya P, Datta R, Sarkar D, Barber S, Patel M and Da P, 2010. Symbiotic role of *Glomus mosseae* in phytoextraction of lead in vetiver grass [*Chrysopogon zizanioides (L.)*]. J Hazard Mater 177: 465-474.

Ryan NA, Deliopoulis T, Jones P and Haydock PP. 2003. Effects of mixed-isolate mycorrhizal inoculum on the potato-potato cyst nematode interaction. Ann App Biol 143: 111-119.

Schaller H, 2003. The role of sterolsin plant growth and development.Progrss in Lipid Res. Planta 42: 63-175.

Sharma A, Johri BN, Sharma AK and Glick BR. 2003. Plant growth-promoting bacterium *Pseudomonas sp*. Strain GRP3 influences iron acquisition in mung bean. Soil Biol Biochem 35: 887-894.

Sheng XF, Xia JJ, Jiang CY, He LY and Qian M, 2008. Characterization of heavy metal-resistant endophytic bacteria from rape (*Brassica napus*) roots and their potential in promoting the growth and lead accumulation of rape. Environ Pollut 156: 1164-1170.

Shetty KG, Hetrick BAD, Figge DAH and Schwab AP, 1994. Effects of mycorrhizae and other soil microbes on revegetation of heavy metal contaminated mine spoil. Environ Pollut 86: 181–188.

Sudova R, Jurkiewicz A, Turnau K and Vosatka M, 2007. Persistence of heavy metal tolerance of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* under different cultivation regimes. Symbiosis 43: 71–81.

Zhang HH, Tang M and Zheng C, 2010. Effect of inoculation with AM fungi on lead uptake, translocation and stress alleviation of *Zea mays* L. seedlings planting in soil with increasing lead concentrations. Euro J Soil Biol 46: 306-311.

Zhu YG, Christie P and Laidlaw AS, 2001. Uptake of Zn by arbuscular mycorrhizal white clover from Zn-contaminated soil. Chemosphere 42: 193–199.