# نقش میکروب‌های خاک در پالایش‌سبز خاک آلوده به کادمیم توسط گیاه خار زن بابا (*Onopordon acanthium* L.)

محسن برین[1]

(تاریخ دریافت: 1393/06/02 تاریخ پذیرش: 1393/10/26)

**چکیده**

مایه‌زنی میکروبی، در بهبود رشد و افزایش تحمل گیاهان به تنش‌های محیطی و پالایش سبز خاک‌های آلوده به فلزات سنگین، موثرند. به منظور بررسی نقش برخی گونه‌های قارچ‌ریشه‌های آربوسکولار (AMF) (ترکیبی از گونه‌های*Glomus* شامل *G. mosseae*، *G. intraradices* و *G. fasciculatum*) و باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) (ترکیبی از گونه‌های *Pseudomonas* شامل برخی سویه‌های *P. fluorescens*، *P.putida* و *P. aeruginosa*) در پالایش آلودگی کادمیم خاک توسط گیاه خارزن بابا (*Onopordon acanthium L*)، آزمایشی گلخانه ای به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با 3 تکرار اجرا شد. فاکتور اول غلظت کادمیم در چهار سطح شامل صفر، 10، 30 و 100 میلی گرم کادمیم بر کیلوگرم و فاکتور دوم تیمار میکروبی در سه سطح شامل AMF، PGPR و شاهد بودند. یک نمونه خاک با نمک نیترات کادمیم به‌طور یکنواخت برای ایجاد غلظت‌های مختلف کادمیم (صفر، 10، 30 و 100 میلی گرم کادمیم بر کیلوگرم) 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 به طور معنی‌داری ($P\leq0/05$) کاهش یافت، اما مقدار پرولین، غلظت کادمیم در شاخساره به‌طور معنی‌داری ($P\leq0/05$) افزایش یافت. میانگین کادمیم استخراج شده در تیمارهای PGPR و AMF به‌ترتیب 3/1 و 2/6 برابر بیش از تیمارهای شاهد بود. از نتایج بدست آمده در این آزمایش می‌توان نتیجه گیری کرد که مایه زنی با AMF و PGPR می‌تواند روشی نوید بخش برای افزایش توان گیاه خارزن‌بابا در استخراج کادمیم از خاک‌های آلوده باشد.

**واژه های کلیدی**: استخراج سبز، باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد ، فلزات سنگین، میکوریز

1- گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه (مکاتبه کننده)
پست الکترونیک: m.barin@urmia.ac.ir

**مقدمه**

فلزات سنگین به دلیل داشتن پیامدهای خطرناک، تهدیدی جدی برای محیط زیست و سلامت انسان به شمار می روند. کادمیوم به عنوان یک فلز سنگین، غیرضروری و به شدت سمّی برای اکثر موجودات شناخته می‌شود (Vassilev & Yordanov, 1997). این عنصر با داشتن سمّیت دو تا 20 برابر بیشتر از دیگر فلزات سنگین، در جایگاه هفتم به عنوان 10 اولویت برتر لیست مواد سمی و خطرناک، در نظر گرفته شده است (Kamnev & Lelie, 2000). علاوه بر فعالیت‌های صنعتی از قبیل ریخته‌گری، تصفیه و ذوب فلزات، معدن‌کاوی، صنایع رنگ و پلاستیک، مصرف غیراصولی کودهای کشاورزی به خصوص کودهای نیتروژنه و فسفره، منجر به ورود این آلاینده به محیط-زیست و متعاقباً زنجیره‌های غذایی خواهد شد (Das *et al*., 1997; Sanita *et al*., 1999).

روش‌های زیادی برای پالایش‌سبز[1] خاک‌های آلوده وجود دارد، امّا بیشتر این روش‌ها هزینه‌بر بوده و اغلب موجب آلودگی بخشی دیگر از محیط‌زیست می‌شوند. پالایش‌سبز با بهره‌گیری از گیاهان، روشی کارآمد و ارزان است تا گیاهان علاوه بر جذب عناصر اصلی مورد نیازشان و یا به جای آن‌ها، فلزات سمّی را نیز از خاک جذب کرده و در خود اندوخته نمایند (Khodaverdiloo, 2006). از این رو، پالایش‌سبز می‌تواند جایگزینی مناسب برای روش‌های انرژی بر و پرهزینه‌ی مهندسی باشد. پالایش سبز به روش‌های گوناگون شامل گیاه برون‌آوری[2]، گیاه پایاسازی[3] و گیاه‌بخارسازی[4] صورت می‌گیرد (Salt *et al*. 1995; Sharifi *et al*. 2012). در فناوری استفاده از گیاهان با عنوان پالایش‌سبز، از گیاهان سبز و ارتباط آن‌ها با ریزسازواره‌های خاک برای کاهش آلودگی خاک و آب‌های سطحی و یا زیرزمینی استفاده می‌شود. بیشتر فلزات سنگین تحرک کمی در خاک دارند و به آسانی به وسیله‌ی ریشه‌ی گیاهان جذب نمی‌شوند. در ریزوسفر انواعی از ریزسازواره‌ها، که عمدتاً باکتری افزاینده رشد گیاه (PGPR[5]) و قارچ‌ریشه آربوسکولار (AMF[6]) هستند، وجود دارند که می‌توانند به طور معنی‌داری زیست‌فراهمی یون‌های مختلف از جمله فلزات سنگین را افزایش داده و در افزایش بردباری گیاهان به فلزات سنگین نقش موثری داشته باشند (Vessey, 2003). همچنین ریزسازواره‌های خاک با ترشح ترکیبات آلی سبب تحریک، زیست‌فراهمی و تسهیل جذب یون‌های مختلف فلزی خاک مانند منگنز ($Mn^{2+}$) و احتمالا کادمیوم ($Cd^{2+}$) می‌شوند Salt *et al*., (1995). باکتری‌های جنس سودوموناس، ازتوباکتر و آزوسپریلیوم از مهمترین باکتری‌های محرک رشد گیاه می‌باشند

AMF از مهمترین ریزجانداران خاک بوده که با داشتن شبکه هیفی گسترده و افزایش سطح و سرعت جذب ریشه‌ای، کارایی گیاهان را در جذب آب و عناصر غذایی به‌ویژه عناصر کم تحرک مانند فسفر، روی و مس افزایش و در همزیستی با گیاهان سبب بهبود رشد و سلامتی گیاهان و یا افزایش بردباری به تنش‌های محیطی می‌شوند (Clark & Zeto, 2000; Marschner & Dell, 1994).

برخی محققان نشان دادند که نوع قارچ‌ریشه می‌تواند تاثیرات متفاوتی در جذب و پالایش فلزات سنگین داشته باشد. برای مثال کارآیی قارچ *G. intraradices* در جذب کادمیم توسط گیاه آفتابگردان نسبت به قارچ *G. mosseae* بیشتر بود (Awotoye *et al*., 2009). وجود همزیست‌های قارچی در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین اهمیت زیادی در پالایش قارچ‌ریشه‌ای (Mycorrhizo-remediation) خاک‌های آلوده به فلزات دارد، چون قارچ ریشه‌های آربسکولار به رشد گیاه از طریق افزایش جذب مواد غذایی کمک می‌کند (Khan, 2005).

باکتری افزاینده رشد گیاه (PGPR) گروهی از باکتری‌های خاک هستند که در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین، به‌روش‌های مختلف باعث تحریک و بهبود رشد گیاهان می‌شوند (Belimov *et al*., 2002). از جمله راهکارهای افزایش رشد و عملکرد گیاه در شرایط تنش فلزات سنگین شامل انحلال فسفات‌های نامحلول، تشکیل کمپلکس سیدروفور- آهن، تولید تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه مانند ایندول استیک اسید و جیبرلیک اسید و تولید آنزیم ACC دآمیناز توسط این باکتری‌ها می‌باشد (Arshad *et al*., 2007). PGPR همچنین می‌توانند با افزایش مقاومت گیاهان به تنش فلزات سنگین و افزایش ریشه‌زایی و زیست‌توده گیاهان و همچنین افزایش جذب

1- phytoremediation
2- Phytoextraction
3- Phytostabilization
4- Phytovolatilization
5-Plant growth promoting rhizobacteria
6-Arbuscular mycorrhizal fungi

فلزات سنگین توسط گیاهان، کارآیی پالایش‌سبز را بیفزایند (Khodaverdiloo *et al*., 2013). کریمی و همکاران (Karimi et al., 2011.) با بررسی رشد گیاهان مرتعی خارزن‌بابا در خاکهای آلوده به سرب و با حضور میکروارگانیسم‌های مقاوم به آلودگی نشان دادند که میکروب‌ها با افزایش شکل‌های قابل دسترس سرب برای گیاه سبب افزایش جذب آن توسط گیاه شدند. گیاه خارزن‌بابا با نام علمی *Onopordon acanthium* L یک گیاه دو ساله، علفی، ایستا و به ارتفاع سی تا دویست سانتی‌متر است که توسط بذر تکثیر می‌یابد. این گیاه در سال اول جوانه‌زنی رشد خود را به‌صورت روزت سپری کرده و در این مرحله نیز دارای برگ‌های بزرگی است (Tutin *et al*., 1976). این گیاه از گیاهان غالب مرتعی آذربایجان غربی می‌باشد. هدف از این پژوهش بررسی تاثیر مایه‌زنی AMF (گونه‌های*G. mosseae* ، *G. intraradices* و *G. fasciculatum*) و PGPR (*P. putida*، *P. fluorescens* و *P. aeruginosa*) به‌صورت ترکیب گونه-ای بر عملکرد گیاه، مقدار پرولین، جذب و انتقال کادمیم توسط گیاه خارزن‌بابا در خاک آلوده به کادمیم بود.

## مواد و روش‌ها

### آماده سازی خاک مورد مطالعه

به منظور بررسی نقش برخی گونه‌های قارچ‌ریشه‌های آربوسکولار (AMF) (ترکیبی از گونه‌های*Glomus* شامل *G. mosseae*، *G. intraradices* و *G. fasciculatum*) و باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) (ترکیبی از گونه‌های *Pseudomonas* شامل برخی سویه‌های *P. fluorescens*، *P.putida* و *P. aeruginosa*) در پالایش آلودگی کادمیم خاک توسط گیاه خارزن بابا (*Onopordon acanthium L*)، آزمایشی گلخانه ای به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با 3 تکرار اجرا شد. بدین منظور یک نمونه خاک از مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه نمونه‌برداری گردید. نمونه‌های خاک پس از هوا خشک شدن، به دو بخش تقسیم شدند. یک بخش بعد از عبور از الک 2میلی‌متر، برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آن به روش‌های استاندارد اندازه‌گیری شد (Carter & Gregorich, 2008) (جدول 1) و بخش دیگر نمونه‌های خاک پس از عبور از الک 5 میلیمتری، به گلخانه پژوهشی گروه علوم- خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه جهت کشت گلدانی 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، 10، 30 و 100میلی‌گرم در کیلوگرم خاک انتخاب گردید (Cariny, 1995). ابتدا مقدار لازم نیترات کادمیم $Cd(NO_3)_2$ جهت آلوده کردن جرم مشخصی از خاک محاسبه شد. سپس، جرم محاسبه شده-ی نمک به یک کیلوگرم از خاک افزوده شد و کاملا" با آن مخلوط گردید تا پیش ماده‌ای همگن به دست آید. این پیش ماده‌ی آلوده سپس به طور کامل با توده خاک مخلوط گردید. 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 گردید 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 40 روز به طول انجامید که تا حد امکان بر همکنش‌های آلاینده و خاک تکوین یافته و شرایط آلودگی طبیعی‌تر باشد. سپس، خاک‌های آلوده با غلظت‌های یاد شده در 3 تکرار برای هر غلظت در گلدان‌هایی با ارتفاع 30 سانتی‌متر (عمق ریشه‌دوانی گیاه) ریخته شد (Khodaverdiloo *et al*., 2012).

### تیمارهای میکروبی

نمونه‌های خاک آلوده شده 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 قارچ‌ریشه آربوسکولار قبل از کشت، در زیر بذرها مقدار 70 گرم از زاد مایه بصورت لایه‌ای به ضخامت تقریبی 2 سانتی‌متراضافه شد. تیمار قارچ‌ریشه‌ای شامل ترکیبی از زاد مایه قارچ‌ریشه‌های جنس گلوموس (*Glomus*) و از گونه‌های*G. mosseae* ، *G. intraradices* و *G. fasciculatum* بودند. 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 تلقیح گردید. تیمار باکتریایی شامل ترکیبی از باکتری‌های سودوموناس فلورسنت یعنی از سه گونه پوتیدا (*P. putida*)، فلورسنس (*P. fluorescens*) و آئروژینوزا (*P. aeruginosa*) بود که به مدت 48 ساعت در دمای 28 درجه سانتیگراد درانکوباتور در محیط کشت مایع Nutrient Broth رشد کرده بودند. جمعیت این باکتری‌ها حدود ($CFU\ ml^{-1}$) $2/6 \times 10^8$ 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 6 تا 8 بذر (ضد عفونی سطحی شده) گیاه خارزن‌بابا با فواصل منظم در گلدان‌های مورد نظر کشت گردید. پس از جوانه زدن بذرها، 2-3 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 گردد. گلدان‌ها در شرایط گلخانه با دمای حداقل 15 و حداکثر 30 درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند.

جدول 1- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه

Table 1- Physical and chemical properties of soil used in the experiment

| Property | ویژگی | واحد Unit | مقدار Value |
|---|---|---|---|
| Sand | شن | $g\ kg^{-1}$ | 323 |
| Silt | سیلت | $g\ kg^{-1}$ | 403 |
| Clay | رس | $g\ kg^{-1}$ | 274 |
| Soil texure | کلاس بافتی خاک | | لوم |
| Organic mater | مواد آلی | $g\ kg^{-1}$ | 26.9 |
| Cation exchange capacity ( CEC) | ظرفیت تبادل کاتیونی | $cmol_c\ kg^{-1}$ | 22.1 |
| Electrical conductivity (EC) | هدایت الکتریکی عصاره اشباع خاک | $dS\ m^{-1}$ | 2.5 |
| Exchangeable Sodium Percentage (ESP) | درصد سدیم تبادلی | % | 3 |
| Calcium Carbonate Equivalent. (CCE) | کربنات کلسیم معادل | % | 30.5 |
| pH | pH | | 8.1 |
| Soluble $Ca^{2+}$ | کلسیم محلول | $mg\ L^{-1}$ | 1.2 |
| Soluble $Mg^{2+}$ | منیزیم محلول | $mg\ L^{-1}$ | 0.4 |
| Soluble $Na^{+}$ | سدیم محلول | $mg\ L^{-1}$ | 23.8 |
| Soluble $K^{+}$ | پتاسیم محلول | $mg\ L^{-1}$ | 0.0 |
| Soluble $HCO_3^{-}$ | بی‌کربنات محلول | $mg\ L^{-1}$ | 5.6 |
| Soluble $Cl^{-}$ | کلر محلول | $mg\ L^{-1}$ | 15.2 |
| Soluble $SO_4^{2-}$ | سولفات محلول | $mg\ L^{-1}$ | 3.8 |
| Total Pb | کل سرب | $mg\ kg^{-1}$ | 21.42 |
| Total Cd | کل کادمیم | $mg\ kg^{-1}$ | 1.47 |
| Total Fe | کل آهن | $mg\ kg^{-1}$ | 295.5 |
| Total Zn | کل روی | $mg\ kg^{-1}$ | 62 |
| Total Cu | کل مس | $mg\ kg^{-1}$ | 14.11 |

**اندازه‌گیری صفات مورد مطالعه**

در پایان ماه پنجم رشد، بخش هوایی گیاهان از رویه خاک بریده شدند. شاخساره‌های گیاهان پس از شستشو با آب مقطر، به مدت 72 ساعت در آون و در دمای 65 درجه سانتی گراد خشک شدند. سپس، نمونه ها برای تعیین عملکرد ماده خشک توزین و با آسیاب پودر 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 50 درصد نگه‌داری شدند. برای ارزیابی اثرات آلودگی کادمیمی خاک و مایه-زنی میکروبی، ماده خشک گیاه، عملکرد نسبی ماده خشک شاخساره آن از رابطه (1) محاسبه شد:

$$RY=\frac{Y_i}{Y_0} \qquad (1)$$

که در آن RY عملکرد نسبی گیاه ، Yi عملکرد ماده خشک گیاه در هر تیمار و Y0 عملکرد ماده خشک گیاه در شرایط بدون کادمیم و در تیمارشاهد (بدون مایه‌زنی با میکروب‌ها) (Khodaverdiloo *et al*., 2011).

برای بررسی تاثیر آلودگی کادمیمی بر قارچ‌ریشه‌ها، درصد کلنیزاسیون ریشه اندازه‌گیری شد. درصد کلنیزاسیون ریشه با روش رنگ‌آمیزی با محلول رنگی تریپان بلو و شمارش خطوط تلاقی شبکه اندازه‌گیری شد (Giovannetti & Mosse, 1980). برای اندازه‌گیری پرولین از روش بیتز و همکاران (Bates *et al*., 1973) استفاده شد. به این منظور 0/2 گرم بافت تر اندام‌های هوایی با 10 میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک 3 درصد ساییده شد و پس از عبور از کاغذ صافی 2 سی‌سی از محلول را برداشته و با دو میلی‌لیتر از اسید استیک گلاسیال و 2 میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین (حاوی 20 ml اسیدفسفریک M6، 30 ml اسید استیک گلاسیال و 1/25 گرم نین‌هیدرین) مخلوط شد و به مدت یک ساعت در بن‌ماری در حال جوش قرارگرفت تا رنگ آجری تثبیت شود. سپس به منظور جلوگیری از ادامه واکنش لوله‌ها را داخل آب یخ قرار داده و 4 میلی‌لیتر تولوئن به آن اضافه شد. بعد از همزدن، دو فازتشکیل گردید. سرانجام از لایه‌ی رنگی فوقانی که حاوی تولوئن و پرولین بود، در طول موج 520 نانومتر با اسپکتروفتومتر قرائت گردید.

برای ارزیابی توانایی گیاهان و نیز تاثیرAMF وPGPR در پالایش سبز سطوح مختلف آلودگی کادمیمی، در هر سطح آلودگی خاک به کادمیم، کادمیم استخراج شده توسط گیاهان و ضریب تغلیظ زیستی و با استفاده از روابط 2 و 3 تعیین شدند (Karimi *et al*., 2013; Khodaverdiloo *et al*., 2011):

$$ME=C_P^{Shoot}\times Y^{Shoot} \qquad (2)$$

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

برای ارزیابی توانایی گیاه و نیز تاثیر قارچهای گلوموس و باکتریهای سودوموناس در پالایش سطوح مختلف آلودگی کادمیمی، ضریب تغلیظ زیستی کادمیم در گیاه تعیین شد:

$$BCF=\frac{C_P}{C_S} \qquad (3)$$

که در آن BCF، ضریب تغلیظ زیستی برای پالایش سطوح مختلف آلودگی کادمیمی، CP غلظت کادمیم در گیاه و CS غلظت کادمیم در خاک است.

## تجزیه آماری داده‌ها

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن 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، غیر سدیمی، با ظرفیت تبادل کاتیونی نسبتاً بالا و با توجه به حدود مجاز گزارش شده در منابع (Cariny, 1995) غیرآلوده به فلزات سنگین بود (جدول1).

## فراوانی باکتری‌های ریزوسفری

مقایسه میانگین نشان داد که فراوانی باکتری‌های ریزوسفری خاک با افزایش شدت آلودگی کادمیم در خاک به طور معنی‌داری ($P\leq0/05$) کاهش یافت. این کاهش بین تیمار 10 و 30 میلی‌گرم بر کیلوگرم و همچنین بین 30 و 100 میلی‌گرم بر کیلوگرم معنی‌دار نبود. بیشینه و کمینه فراوانی باکتری‌های ریزوسفری به‌ترتیب مربوط به کمترین و بیشترین مقدار کادمیم اضافه شده می‌باشد (شکل 1 الف). کاهش فراوانی باکتری‌ها در اثر آلودگی کادمیمی خاک را می‌توان به تخریب DNA و RNA، مهار سنتز پروتئین، جلوگیری از فرآیندهای آنزیمی و مهار تقسیم سلولی توسط فلزات سنگین و نهایتا آسیب‌رسانی به سلول و فرآیندهای سلولی باکتری‌ها نسبت داد (Ma *et al*., 2011). کاظم علیلو و همکاران (Kazemalilou *et*

*al*., 2013) در بررسی کارایی پالایش سبز و نقش PGPR بر کاهش اثرات کادمیمی با استفاده از گیاه بنگدانه[1] نیز به نتایج مشابه دست یافتند.

**درصد کلنیزاسیون ریشه**

درصد کلنیزاسیون ریشه گیاه با افزایش غلظت کادمیم در خاک به طور معنی‌دار (P≤0/05) کاهش یافت بیشینه و کمینه درصد کلنیزاسیون میکوریزی ریشه به‌ترتیب مربوط به کمترین (سطح صفر میلی گرم بر کیلوگرم) و بیشترین (سطح 100 میلی گرم بر کیلوگرم) مقدار کادمیم اضافه شده می‌باشد (شکل 1 ب). کاهش کلنیزاسیون ریشه در شرایط تنش فلزات سنگین احتمالاً به‌عنوان یک راهکار سازگاری در شرایط سمیت فلزات سنگین معرفی شده است (Oudeh *et al*., 2002). برخی پژوهشگران کاهش کلنیزاسیون ریشه را راهکاری برای محدود کردن جذب اضافی برخی از فلزات سنگین از طریق ریسه‌های قارچی گزارش کردند (Hovsepyan & Greipsson S, 2004; Oudeh *et al*., 2002) در حالی‌که برخی دیگر کاهش کلنیزاسیون ریشه‌ها را در نتیجه اثرات سمی فلزات سنگین روی اندام‌های قارچ‌ریشه‌های آربوسکولار بیان نموده‌اند (Arriagada *et al*., 2005). محققان دیگری در مطالعه کارایی پالایش سبز و نقش قارچ‌ریشه‌های آربوسکولار بر کاهش اثرات کادمیمی با استفاده از گیاه بنگدانه نیز به نتایج مشابهی دست یافتند (Kazemalilou *et al*., 2013).

**عملکرد و عملکرد نسبی ماده خشک شاخساره**

جدول 2 میانگین اثر سطوح مختلف کادمیم در خاک و تیمارهای میکروبی بر عملکرد و عملکرد نسبی ماده خشک شاخساره را نشان می‌دهد. با افزایش غلظت کادمیم در خاک، عملکرد و عملکرد نسبی شاخساره در تمامی تیمارها به طور معنی‌داری ($P\leq0/05$) کاهش یافت (جدول 2). در هر سطح از غلظت کادمیم در خاک، مقادیر ماده خشک شاخساره در تیمارهای میکروبی به طور معنی‌داری بیش‌تر از تیمار شاهد بود. همچنین در بین تیمارهای میکروبی مقادیر ماده خشک شاخساره در تیمار قارچ‌ریشه‌های آربوسکولار (AMF) بیش‌تر از تیمار باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) بود. به نظر می‌رسد که کاهش عملکرد شاخساره گیاه، با افزایش سطوح کادمیم در خاک، به دلیل افزایش غلظت کادمیم در شاخساره گیاهان و سمیت ناشی از آن باشد (Das *et al*., 1997). قارچ‌ریشه‌های آربوسکولار به دلیل داشتن شبکه‌ای از هیف‌ها می‌توانند جذب عناصر غذایی به ویژه 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، اما سمیت کادمیم بر فرایندهای اصلی گیاه نظیر فتوسنتز، تکثیر سلولی و جذب آب توسط ریشه‌های گیاهان اثر منفی می‌گذارد (Verma *et al*., 2007).

فرایندهای اصلی گیاه نظیر فتوسنتز، تکثیر سلولی و جذب آب توسط ریشه‌های گیاهان اثر منفی می‌گذارد (Verma *et al*., 2007). قارچ ریشه‌های آربوسکولار با جذب آب و عناصر غذایی برای گیاهان، سبب بهبود رشد و عملکرد گیاهان در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین می شوند. (Clark & Zeto, 2000; Marschner & Dell, 1994).

در آزمایش حاضر احتمالاً تلقیح باکتری‌های محرک رشد گیاه تولید اتیلن ناشی از تنش فلزات سنگین در گیاه را کاهش داده است. در یک تحقیق مشخص گردید که باکتری‌های مانند سودوموناس‌ها که حاوی آنزیم تجزیه کننده پیش ساز اتیلن (ACC[2]) می باشند موجب افزایش زیست‌توده گیاهی و ارتفاع گیاه قدومه شد (Abou-Shanab *et al*., 2006).

بنا به گزارش برخی از محققان تولید سیدروفورهای میکروبی و ترکیبات متابولیت ثانویه، می‌توانند در دستیابی به هدف مورد نظر که همان افزایش تولید و پالایش آلاینده‌هاست، بسیار مفید باشند (Kazemalilou & Rasouli-Sadaghiani, 2012).

**مقدار پرولین در شاخساره**

مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف کادمیم در خاک و تیمارهای میکروبی بر مقدار پرولین نشان داد که با افزایش غلظت کادمیم در خاک مقدار پرولین در همه‌ی تیمارها به‌طور معنی‌داری ($P\leq0/05$) افزایش یافت. به‌طوری که بیشینه (13050 میلی‌گرم بر گرم) و کمینه (719 میلی-گرم بر گرم) مقدار پرولین به‌ترتیب مربوط به بیشترین و کمترین سطح کادمیم در خاک در تیمار PGPR و AMF

1 -*Hyoscyamus niger*

2- 1-aminocyclopropane-1-carboxylate

بود. در حالی‌که در کمترین سطح کادمیم در خاک بین تیمار AMF و شاهد اختلاف معنی داری وجود نداشت (جدول 2). افزایش تولید پرولین یک مکانیسم برای سازگاری با تنش‌های محیطی و شرایط نامناسب رشد، از جمله تنش فلزات سنگین می‌باشد (Metwally *et al.*, 2003). از جمله دلایل بالا بودن مقدار پرولین در تیمار باکتریایی 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 می‌بخشند (Munns *et al.*, 2002). خداوردیلو و همکاران (Khodaverdiloo *et al.*, 2011) نیز در بررسی تأثیر مایه زنی میکروبی یک خاک آلوده به سرب بر رشد، برخی ویژگی های فیزیولوژیک و جذب و انتقال سرب، آهن و روی توسط گیاه گل گندم[1] نیز به نتایج مشابهی دست یافتند.

**غلظت کادمیم و مقدار کادمیم استخراج شده توسط شاخساره**

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با افزایش غلظت کادمیم در خاک، غلظت کادمیم در شاخساره در همه‌ی تیمارها افزایش معنی‌داری ($P\leq0/05$) داشت (جدول 3). استفاده از زادمایه PGPR سبب افزایش غلظت کادمیم در شاخساره نسبت به تیمار شاهد شد ($P \leq0/05$). غلظت کادمیم در شاخساره در تیمار PGPR در همه سطوح کادمیم در خاک، بیش‌تر از تیمارAMF بود. با افزایش غلظت کادمیم در خاک از صفر تا 10 میلی‌گرم بر کیلوگرم، مقدار کادمیم استخراج شده توسط گیاه در شاخساره به‌طور چشمگیری افزایش یافت. اما پس از آن با افزایش غلظت کادمیم خاک از 10 به 100 میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک این مقدار کاهش یافت. که این به‌دلیل کاهش عملکرد گیاه در تیمارهای در غلظت های بالای کادمیم خاک نسبت به سطوح پایین کادمیم در خاک بود (جدول 2). همچنین مقدار کادمیم استخراج شده توسط گیاه خارزن‌بابا در تیمار PGPR و AMF به‌طور قابل ملاحظه‌ای بیشتر از تیمار شاهد بود. در حالی‌که اختلاف معنی‌داری ($P \leq0/05$) بین تیمارهای PGPR و AMF مشاهده نشد. برخی محققان بیان داشتند که افزایش جذب کادمیم در اثر مایه‌زنی قارچ‌های آربوسکولار و باکتری‌های افزاینده رشد گیاه را به دلیل گسترش ریشه‌ها و جذب آب و عناصر غذایی، تولید هورمون ایندول دآمیناز، تولید ACC و تولید آنزیم ($IAA^2$) استیک اسید و سیدروفور نسبت داده‌اند که سبب افزایش عملکرد گیاهان در خاکهای آلوده به فلزات سنگین می‌شود (Joner & Leyval, 1997; Arriagada *et al.*, 2005; Rasoli-sadaghiani *et al.*, 2006; Punamiya *et al.*, 2010; Dary *et al.*, 2010). نوع جمعیت میکروبی (قارچ‌ریشه‌ها و PGPR ها)، غلظت فلزات و نوع گیاه می‌توانند تاثیراتی متفاوت بر جذب و انتقال فلزات سنگین داشته باشد (Malcova *et al.*, 2003; Kaldrof *et al.*, 1999; Diaz *et al.*, 1996).

**غلظت کادمیم در ریشه**

به دلیل کافی نبودن وزن خشک ریشه در تیمارهای شاهد و PGPR امکان اندازه‌گیری غلظت کادمیم وجود نداشت، اما در تیمار AMF با افزایش غلظت کادمیم در خاک، غلظت کادمیم در ریشه به‌طور معنی‌داری ($P\leq0/05$) افزایش یافت (جدول 3). در غلظت 100 میلی‌گرم کادمیم بر کیلوگرم خاک بیشترین مقدار غلظت کادمیم بدست آمد. گزارش شده است که حجم زیادی از فلزات در اسپورها و ساختمان قارچ‌ریشه انباشته می‌شود (Chen *et al.*, 2001). در این راستا، چن و همکاران (2001) اظهار داشتند که در غلظت بیش از 1200 میلی گرم بر کیلو گرم در بافت‌های قارچ *G.mosseae* و بیش از 600 میلی گرم بر کیلوگرم در بافت‌های قارچ *G.versiforme* فلز روی تجمع یافته است.

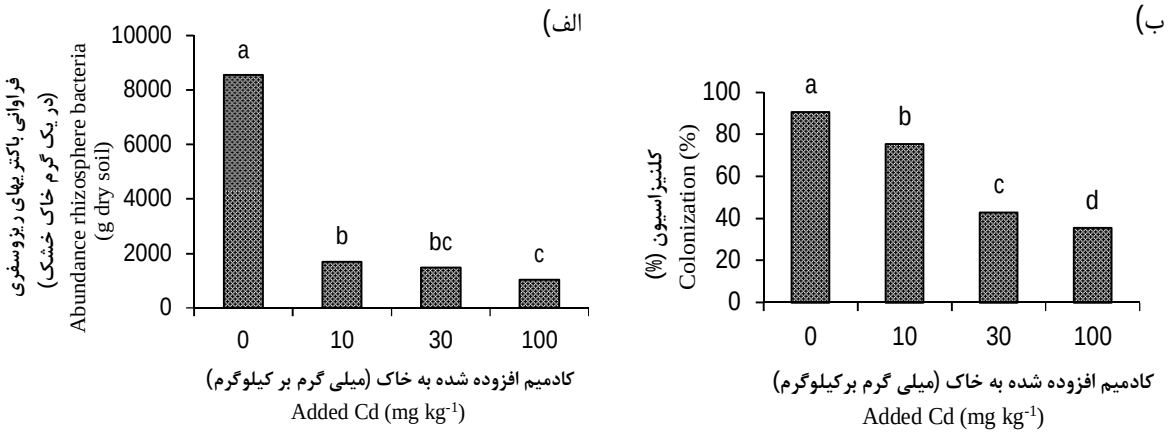
**ضریب تغلیظ زیستی شاخساره و ریشه (BCF)**

مقادیر BCF شاخساره درتمامی تیمارها با افزایش غلظت کادمیم در خاک از صفر تا 10میلی‌گرم بر کیلوگرم افزایش یافت. اما پس از آن با افزایش غلظت کادمیم در خاک (100 میلی گرم کادمیم بر کیلوگرم خاک) BCF به‌طور معنی‌داری ($P\leq0/05$) کاهش یافت (شکل 2). در تمام سطوح کادمیم BCF در تیمار PGPR به‌طور معنی‌داری ($P\leq0/05$) بیشتر از بقیه بود که این موضوع بیانگر آن است که PGPR در تغلیظ کادمیم شاخساره از تیمار

1- *Centaurea cyanus*

2 - Indole-3-acetic acid

AMF موثرتر بود. کریمی و همکاران (Karimi *et al.*, 2013) نیز چنین نتیجه‌ای در گیاه بنگ‌دانه گزارش کردند.




**شکل 1- میانگین فراوانی باکتری‌های ریزوسفری (الف) و میانگین درصد کلنیزاسیون ریشه (ب) در سطوح مختلف کادمیم در خاک**

Fig. 1- Mean of abundance rhizosphere bacteria (a) and mean of root colonization by AMF (b), in different levels of soil cadmium, respectively

**جدول 2- مقایسه میانگین ویژگی های فیزیولوژیکی گیاه در سطوح مختلف کادمیم در خاک در تیمارهای شاهد، PGPR و AMF**

Table 2- Mean comparison of plant physiological properties in different levels of soil cadmium in control, PGPR and AMF treatments, respectively

| AMF | PGPR | شاهد Control | کل کادمیم افزوده شده به خاک (mg kg$^{-1}$) Total Cd addition levels (mg kg$^{-1}$) |
|---|---|---|---|
| | عملکرد شاخساره(g pot$^{-1}$) Shoot dry weight (g pot$^{-1}$) | | |
| 0.93± 0.11 $^{a,a}$ | 0.82± 0.07 $^{a,a}$ | 0.47± 0.05 $^{b,a}$ | 0 |
| 0.79± 0.09 $^{a,a}$ | 0.53± 0.02 $^{b,b}$ | 0.29± 0.07 $^{c,b}$ | 10 |
| 0.58± 0.11 $^{a,b}$ | 0.41± 0.08 $^{a,c}$ | 0.16± 0.03 $^{b,c}$ | 30 |
| 0.30± 0.02 $^{a,c}$ | 0.22± 0.02 $^{b,d}$ | 0.05± 0.02 $^{c,d}$ | 100 |
| | عملکرد نسبی شاخساره گیاه(g pot$^{-1}$) Shoot dry relative weight (g pot$^{-1}$) | | |
| 1.97±0.15 $^{a,a}$ | 1.74± 0.21 $^{a,a}$ | 1.00± 0.00 $^{b,a}$ | 0 |
| 1.67±0.04 $^{a,a}$ | 1.12±0.09 $^{b,b}$ | 0.61± 0.10 $^{c,b}$ | 10 |
| 1.24 ± 0.28 $^{a,b}$ | 0.88± 0.08 $^{a,b}$ | 0.35±0.08 $^{b,c}$ | 30 |
| 0.63± 0.12 $^{a,c}$ | 0.46± 0.02 $^{a,c}$ | 0.13± 0.03 $^{b,d}$ | 100 |
| | پرولین (µM g$^{-1}$ DW) Proline ( µM g$^{-1}$ DW) | | |
| 719± 2.5 $^{b,b}$ | 907± 3.4 $^{a,d}$ | 761.6±5 $^{b,c}$ | 0 |
| 1023± 18 $^{a,b}$ | 5116± 45 $^{a,c}$ | 3544.6± 15 $^{a,b}$ | 10 |
| 1027± 21 $^{c,b}$ | 9267± 22 $^{a,b}$ | 4409± 6 $^{b,ab}$ | 30 |
| 2754± 20 $^{b,a}$ | 13050± 35 $^{a,a}$ | 5279± 8 $^{b,a}$ | 100 |

حروف بالانویس اول و دوم بر روی هر عدد به ترتیب نشان دهنده اختلاف آماری در سطح احتمال 5 درصد در هر ردیف و هر ستون می باشند. میانگین های دارای حروف مشترک براساس آزمون چنددامنه ای دانکن اختلاف معنی‌داری آماری در سطح احتمال 5درصد ندارند.

The first and second superscript letters on each number, indicate significant different at 5% level in each row and column, respectively. Means similar letter(s) are not significantly different at 5% probability level, using Duncan's Multiple Range Test.

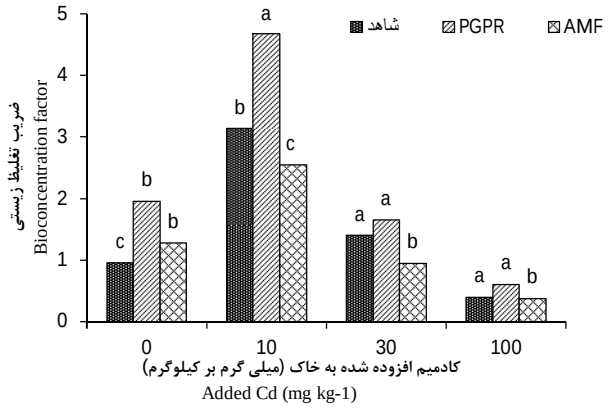
**جدول 3- مقایسه میانگین مقادیر غلظت کادمیم شاخساره، کادمیم استخراج شده و غلظت کادمیم در ریشه گیاه در سطوح مختلف کادمیم در خاک در تیمارهای شاهد، PGPR و AMF**

Table 3- Mean comparison of concentration of shoot Cd, extracted Cd and root Cd in different levels of soil Cd in control, PGPR and AMF treatments

| AMF | PGPR | شاهد Control | کل کادمیم افزوده شده به خاک ($mg\ kg^{-1}$) Total Cd addition levels ($mg\ kg^{-1}$) |
|---|---|---|---|
| غلظت کادمیم شاخساره گیاه ($mg\ kg^{-1}$) Shoot Cd concentration ($mg\ pot^{-1}$) | | | |
| 1.9± 0.2 $^{b,c}$ | 2.9± 0.3 $^{a,b}$ | 1.4± 0.2 $^{c,b}$ | 0 |
| 29.2± 3.9 $^{c,b}$ | 53.6±20. 8 $^{a,a}$ | 36.0± 5.7 $^{b,a}$ | 10 |
| 30.0± 1.5 $^{a,b}$ | 51.9± 6.8 $^{a,a}$ | 43.9± 13.3 $^{a,a}$ | 30 |
| 38.6± 2.2 $^{a,a}$ | 61.6± 6.9 $^{a,a}$ | 40.2± 7.7 $^{a,a}$ | 100 |
| کادمیم استخراج شده ($mg\ pot^{-1}$) Extracted Cd ($mg\ pot^{-1}$) | | | |
| 1.9± 0.30 $^{a,c}$ | 2.4± 0.08 $^{a,b}$ | 0.7± 0.06 $^{b,c}$ | 0 |
| 21.8± 0.86 $^{a,a}$ | 22.7± 10.0 $^{a,a}$ | 9.0± 0.91 $^{b,a}$ | 10 |
| 16.8± 3.6 $^{a,ab}$ | 22.1± 3.86 $^{a,a}$ | 7.4± 3.89 $^{b,ab}$ | 30 |
| 10.8± 0.62 $^{a,b}$ | 13.3± 2.8 $^{a,ab}$ | 2.2± 0.71 $^{b,bc}$ | 100 |
| غلظت کادمیم در ریشه ($mg\ pot^{-1}$) Root Cd concentration ($mg\ pot^{-1}$) | | | |
| 5.7±0.5 $^{c}$ | - | - | 0 |
| 16.8± 0.3 $^{b}$ | - | - | 10 |
| 27.9± 4 $^{a}$ | - | - | 30 |
| 34.6± 5.1 $^{a}$ | - | - | 100 |

حروف بالانویس اول و دوم بر روی هر عدد به ترتیب نشان دهنده اختلاف آماری در سطح احتمال 5درصد در هر ردیف و هر ستون می باشند. میانگین های دارای حروف مشترک براساس آزمون چنددامنه ای دانکن اختلاف معنی داری آماری در سطح احتمال 5درصد ندارند. (-) به معنی عدم کفایت وزن خشک ریشه‌ها جهت تعیین غلظت فلز

The first and second superscript letters on each number, indicate significant different at 5% level in each row and column, respectively. Means similar letter(s) are not significantly different at 5% probability level, using Duncan's Multiple Range Test. (-) Means the inadequacy of the dry weight of the roots to determine the concentration of the metal.




**شکل 2- ضریب تغلیظ زیستی (BCF) شاخساره در تیمارهای شاهد، PGPR و AMF در سطوح مختلف کادمیم**

Fig. 2- Shoot bioconcentration factor (BCF) in different levels of soil Cd in control, PGPR and AMF treatments

## نتیجه‌گیری کلی

به طورکلی نتایج این تحقیق نشان داد هر چند با افزایش غلظت کادمیم در خاک مقادیر عملکرد، عملکرد نسبی شاخساره، درصد کلنیزاسیون، فراوانی باکتری‌های ریزوسفری کاهش و مقدار پرولین و غلظت کادمیم در شاخساره افزایش یافت،

اما مایه زنی با گونه‌های قارچ‌ریشه و باکتری‌های محرک رشد سبب شد که اثرات سمیت کادمیم بر این گیاه به طور چشم‌گیری کاهش یافته و آستانه تحمل گیاه افزایش یابد. میتوان نتیجه‌گیری کرد که میکروبهای مورد مطالعه عواملی نوید بخش برای کاهش سمیت کادمیم در گیاه خارزن‌بابا و افزایش کارآیی پالایش سبز کادمیم توسط گیاه هستند.

**References**


Abou-Shanab RA Angle JS and Ghaney RL. 2006. Bacterial inoculants affecting nickel uptake by *Alyssum murale* from low, moderate and high Ni soils. Soil Biology and Biochemistry, 38: 2886-2889.

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 and Soil Pollution, 166: 31-47.

Arshad M, Saleem M and Hussain S. 2007. Perspectives of bacterial ACC deaminase in phytoremediation. Trends in 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 *Helianthus annuus* LINN in pot culture. African Journal Environment Science and Technology, 3: 157-163.

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

Belimov AA, Sarfronova VI and Mimura T. 2002. Response of spring rape to inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria containing 1-aminocyclipropane-1-carboxylate deaminase depends on nutrient status of the plant . Candian Journal of Microbiology, 48: 189-199.

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

Carter MR and Gregorich EG. 2008. Soil sampling and methods of analysis ($2^{nd}$ ed). CRC Press Boca Raton, Florida, 1204 p.

Chen SK, Edwards CA and Subler S. 2001. Effects of the fungicides benomyl, captan, chlorothalonil on soil microbial activity and nitrogen dynamics in laboratory incubations. Soil Biology and Biochemistry, 33: 1971-1980.

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

Dary M, Chamber-Perez 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. Journal of Hazardous Material, 177: 323-330.

Das P, Samantaray S, Routm GR. 1997. Studies on cadmium toxicity in plants: A review. Environmental Pollution, 98: 29–36.

Diaz G, Azcon-Aguilar C and Honrubia M. 1996. Influence of arbuscular mycorrihza on heavy metal (Zn and Pb) uptake and growth of *Lygedum spartum* and *Anthyllis cytisoides*. Plant and Soil, 180: 241-249.

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

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

Joner EJ and Leyval C. 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 Phytologist, 135: 353 – 360.

Kaldorf M, Kuhn AJ,. Schroder WH, Hildebrandt U and Bothe H. 1999. Selective element deposits in maize colonized by a heavy metal tolerance conferring arbuscular mycorrhizal fungus. Journal of Plant Physiology, 154: 718-728.

Kamnev AA and Lelie DV. 2000. Chemical and biological parameters as tools to evaluate and improve heavy metal phytoremediation. Bioscience Reports, 20: 239-258.

Karimi A, Khodaverdiloo H. and Rasoli-sadaghiani MH. 2013. Induction effect of some species of *Glomus* and *Pseudomonas* in phytoremediation of soil Pb by *Hyoscyamus niger*. Journal of Soil and Water Science, 23: 227-243. (In Persian).

Karimi A, Khodaverdiloo H and Rasouli-Sadaghiani MH. 2011. Effect of plant growth-promoting organisms on growth and yield 0f pasture plant (*Onopordon acanthium*) in a lead contaminated soil. $12^{th}$ Iranian Soil Science Congress, 3-5 September 2011, Tabriz, Iran.

Kazemalilou S, Rasouli-Sadaghiani MH. 2012. Effect of soil cadmium pollution on some physiological parameters of Hyoscyamus plant in presence/absence of growth-promoting microorganisms. Water and Soil Sciences, 22: 17-30. (In Persian).

Kazemalilou S, Rasouli-Sadaghiani MH, Khodaverdiloo H and Barin M. 2013. Soil Cd contamination and evaluation of its effects on soil biological quality and plant growth. Applied Soil Research, 1: 24-40. (In Persian).

Khan AG. 2005. Mycorrhizas and phytoremediation. *In*: Willey N, (ed.). Method in biotechnology phytoremediation: Methods and reviews. Totowa, USA, Humana Press, 494p.

Khodaverdiloo H. 2006. Modeling phytoremediation soils polluted with cadmium and lead. PhD thesis. Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. 131p. (In Persian).

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.

Khodaverdiloo H, Rasouli-Sadaghiani MH and Karimi A. 2013. Influence of microbial inoculation of a Pb-contaminated soil on growth, some physiological properties, and uptake and translocation of Pb, Fe, and Zn by Centaurea (*Centaurea cyanus*). Journal of Soil Management and Sustainable Production, 3: 75-93. (In Persian).

Khodaverdiloo HS, Ghorbani h, 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.). International Journal of Plant Production, 5: 275-281.

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

Malcova R, Rydlova J and Vosatka M. 2003. Metal-free cultivation of *Glomus sp.* BEG 140 isolated from Mn-contaminated soil reduces tolerance to Mn. Mycorrhiza, 13: 151-157.

Marschner H and Dell B, 1994. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. Plant and Soil, 159: 89-102.

Metwally A, Finkemeier I, George M, and Dietz KJ. 2003. Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in barley seedlings. Plant Physiology, 132: 272-281.

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 and 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. Environmental Pollution, 6: 293–300.

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.). Journal of Hazardous Materials, 177: 465-474.

Rasouli-Sadaghiani MH, Khavazi K, Rahimian H, Malekoti MJ and Asadi Rahmani H. 2006. Evaluation of potential of native strains of *Pseudomonas* in wheat rhizosphere for sidrophore production. Journal of Water and Soil Science, 20:133-143. (In Persian).

Salt DE, Blaylock M, Kumar NP, Dushenkov V, Ensley BD, Chet I and Raskin I. 1995. Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. Nature Biotechnology, 13: 468 - 474.

Sanita di, Toppi L and Gabbrielli, R. 1999. Response to cadmium in higher plants: A review. Environmental and Experimental Botany, 4: 105–130.

Sharifi Z, Safari Sinegani AA and Shariati S. 2012. Potential of indigenous plant species for the phytoremediation of arsenic contaminated land in Kurdistan (Iran). Soil and Sediment Contamination an International Journal, 21: 557-573.

Tutin TG, Heywood VH, Burges NA, Moore DM, Burges NA, Valentine DH, Walters SM and Webb DA. 1976. Flora Europaea, vol 4, Cambridge University Press, 629p.

Vassilev A and Yordanov I. 1997. Reductive analysis of factors limiting growth of cadmium treated plants review. Plant Physiology, 23: 114-133.

Verma P, George KV and Singh HV. 2007. Modeling cadmium accumulation in radish, carrot, spinach and cabbage. Applied Mathematical Modeling, 31(8): 1652–1661.

Vessey JK. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizer. Plant and Soil, 255: 271- 586.

# Role of Soil Microbes in Phytoremediation of Cadmium Contaminated Soils by onopordon (*Onopordon acanthium* L.)

**Mohsen Barin**[1]

**(**Received: August 2014 Accepted: December 2014**)**

## ABSTRACT

Microbial inoculation improves plants growth and increases their tolerance to environmental stresses and induces phytoremediation of heavy metals contaminated soils. In order to evaluate the role of some strains of AMF (a mixture of *Glomus* species including *G. intraradices*, *G. mosseae* and *G. fasciculatum*) and PGPR (a mixture of *Pseudomonas* species includeing *P. putida*, *P. fluorescens*, and *P. aeruginosa*) in reclamation of cadmium (Cd) contaminated soils by Onopordon (*Onopordon acanthium L*) a factorial experiment based on a randomized complete block design and in three replications was carried out in greenhouse condition. The first factor was Cd concentration in four levels including 0, 10, 30 and 100 mg $kg^{-1}$ and the second factor was microbial treatment in three levels including non-inoculation, and AMF or PGPR inoculation. A 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. Results showed that with increasing soil Cd concentration, colonization percent, and abundance of rhizobacteria, shoot biomass and shoot relative biomass significantly decreased, while proline content and the shoot Cd concentration significantly increased ($P \leq 0.05$). Mean Cd extracted in AMF and PGPR treatments were respectively 3.1 and 2.6 order of magnitude higher compared to the corresponding blank treatments. Therefore, it could be concluded that inoculation with species of AMF and PGPR can be a promising technique for enhancing the potential of onopordon plant in extraction of Cd from contaminated soils.

**Keywords:** Phytoextraction, Growth promoting rhizobacteria, Heavy metals, Mycorrhiza

1- Department of Soil Science, Urmia University, Iran (Corresponding author)
Email: m.barin@urmia.ac.ir