

## پیامد مایه‌زنی خاک با ریزجانداران بردبار به فلزهای سنگین بر رشد گیاه و جذب سرب و کادمیم در سه گیاه مرتعی

محمد رحمانیان<sup>۱</sup>، حبیب خداوردی‌لو<sup>۱\*</sup>، میرحسن رسولی صدقیانی<sup>۱</sup>، یونس رضایی‌دانش<sup>۲</sup>

و محسن برین<sup>۱</sup>

(تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۹/۱۳؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۳/۱)

### چکیده

همزیستی‌های ریشه گیاهان و ریزجانداران خاک بویژه قارچ ریشه‌های آریسکولار (AM) و باکتری‌های افزاینده رشد گیاه (PGPR) بخشی اساسی و کارآمد از سامانه ریشه گیاهان است. این همزیستی‌ها نقش اساسی در کارایی ریشه در جذب و بهبود رشد گیاه در مکان‌های شدیداً تخریب شده مانند مکان‌های آلوده به فلزهای سنگین دارند. هدف از این پژوهش، بررسی تأثیر مایه‌زنی خاک با میکروب‌های بردبار به فلزهای سنگین بر زیست‌فراهمی سرب و کادمیم در خاک، رشد گیاه و جذب فلز به‌وسیله گیاهان ارزن (*Pennisetum glaucum*)، بیدگیاه (*Triticum repens*) و یونجه وحشی (*Medicago sativa*) بود. یک نمونه خاک با غلظت‌های مختلف کادمیم یا سرب آلوده شد (خاک ۱). هم‌چنین، برای تهیه مایه مایه‌زنی دارای سویه‌های بومی مناطق آلوده، از خاک کشتزارهای یونجه پیرامون معادن سرب و روی زنجان نمونه‌برداری (خاک ۲) و با نسبت وزنی یک به پنج به خاک ۱ افزوده شد. گیاهان ارزن، بیدگیاه و یونجه وحشی در گلدان و در شرایط گلخانه کشت شدند. در پایان فصل رشد، کارکرد ماده خشک بخش هوایی و غلظت سرب و کادمیم در گیاه و خاک اندازه‌گیری شد. یافته‌ها نشان داد که عملکرد نسبی گیاهان و غلظت سرب در گیاهان در شرایط عدم مایه‌زنی میکروبی، بیشتر از تیمارهای مشابه در شرایط مایه‌زنی میکروبی بود. با این حال، غلظت کادمیم در گیاهان در شرایط مایه‌زنی میکروبی، بیشتر بود. بیدگیاه بالاترین اندوزش کادمیم و سرب را در میان گیاهان بررسی شده داشت.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های افزاینده رشد گیاه (PGPR)، گیاه بهسازی، قارچ‌ریشه‌ها، سرب، کادمیم

۱. به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی‌ارشد، استادیاران و کارشناس‌ارشد علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

۲. استادیار گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

\* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: h.khodaverdiloo@urmia.ac.ir

## مقدمه

آلودگی خاک می‌تواند اثرات زیانبار بر جانداران خاک و هم‌چنین گیاهان و جانوران بر جای گذارد (۳۵). فلزهای سنگین از جمله سرب و کادمیم از منابعی مانند کودهای شیمیایی فسفاته، کاربرد لجن فاضلاب، پساب‌های شهری و فاضلاب‌خانگی به زمین‌های کشاورزی راه می‌یابند (۲۵). فلزهای سنگین به دلیل عدم تجزیه، دارا بودن آثار زیانبار فیزیولوژیک بر جانداران در غلظت‌های کم، نیز می‌توانند در آلودگی محیط زیست نقش داشته باشند (۴). فلزهای سنگین عموماً پس از ورود به خاک بی‌جنبش شده و در محیط‌زیست انباشته می‌شوند، بنابراین آسیب‌های احتمالی فلزات سنگین بر سلامتی انسان و دام در درازمدت تشدید می‌شود (۱۵). آلودگی خاک با فلزهای سنگین می‌تواند منجر به کاهش کارکرد گیاهان و کیفیت محصولات کشاورزی شود (۴۴). سرب و کادمیم کارکرد زیستی ویژه‌ای ندارند و در غلظت‌های کم برای جانداران بسیار زهری هستند. این عناصر با ورود به زنجیره غذایی، در بدن انسان و جانوران انباشته شده و ممکن است سبب ایجاد سرطان شوند (۲۶).

زدودن فلزات سنگین از خاک‌های آلوده بسیار هزینه‌بر است. بنابراین، تلاش‌هایی برای ایجاد فناوری‌های گوناگون، مؤثر و ارزان برای زنده کردن زمین‌های مرده انجام گرفته است. گیاه به‌سازی (Phytoremediation) یکی از فناوری‌های نویدبخش است که در آن از توانایی گیاهان یا همزیستی گیاهان و میکروب‌ها در جذب، انتقال و انباشتن آلاینده‌های خاک بهره‌گیری می‌شود. بنابراین در گیاه به‌سازی بررسی برهم‌کنش‌های میان فلزات، میکروب‌ها و گیاهان باید توجه شود (۱۲). واکنش‌های میان گیاهان و ریزجانداران سودمند ریزوسفر می‌تواند تولید زیست‌توده و بردباری گیاه به فلزهای سنگین را افزایش دهد. در میان میکروارگانیسم‌های ریزوسفری که در واکنش‌های ریشه گیاهان با خاک پیرامونی دخالت دارند باکتری‌های افزایش‌دهنده رشد گیاه (plant growth promoting rhizobacteria: PGPR) و قارچ ریشه آربوسکولار (arbuscular

mycorrhizal fungi: AMF) بیش‌تر از سایر ریزجانداران ریزوسفری مؤثر در برقراری واکنش با ریشه گیاهان مورد توجه قرار گرفته‌اند (۱۶). همزیستی AMF با ریشه گیاهان یکی از همزیستی‌های سودمند و مؤثر در فناوری گیاه به‌سازی آلاینده‌های خاک می‌باشد. از آنجا که قارچ‌ریشه‌ها پس از برقراری همزیستی ترشحات ریشه‌ای گیاه میزبان را به‌صورت کمی و کیفی تغییر می‌دهند، می‌توانند نقشی مهم در پالایش فلزهای سنگین از خاک توسط گیاهان داشته باشند (۱۶). PGPR گروهی از باکتری‌های خاک هستند که در شرایط مختلف از جمله آلوده بودن خاک‌ها به فلزهای سنگین می‌توانند با راهکارهایی گوناگون مایه افزایش و بهبود رشد گیاهان شوند (۵). توانایی ساخت کمپلکس سیدروفور- آهن و نیز تولید آنزیم ACC دامیناز در این باکتری‌ها از جمله راهکارهای افزایش رشد گیاه در شرایط تنش فلزهای سنگین است (۵). هدف از این پژوهش، بررسی تأثیر مایه زنی خاک با میکروب‌های بردبار به فلزهای سنگین بر زیست‌فراهمی سرب و کادمیم در خاک، رشد گیاه و جذب این فلزات به‌وسیله گیاهان ارزن (*Pennisetum glaucum*)، بیدگیاه (*Triticum repens*) و یونجه وحشی (*Medicago sativa*) بود.

## مواد و روش‌ها

## نمونه‌های خاک و آلوده کردن خاک به سرب و کادمیم

یک نمونه خاک از استان آذربایجان غربی نمونه‌برداری و با افزودن مقادیر مناسب نمک‌های نیترات کادمیم و سرب با غلظت‌های ۰، ۵، ۲۰، ۶۰، ۱۰۰ کادمیم و ۰، ۱۵۰، ۴۰۰، ۸۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سرب آلوده شد. مقدار نیترات اضافی در فرایند آلوده کردن خاک با افزودن مقادیر مناسب کود اوره تصحیح شد. خاک‌های آلوده قبل از کاشت گیاهان در جعبه‌های پلاستیکی بدون زهکش به مدت حدود ۱۶۰ روز تحت تیمار تر و خشک شدن قرار گرفتند. از این پس، این خاک را خاک ۱ می‌نامیم. نمونه‌های خاک با پیشینه درازمدت آلودگی برای تهیه مایه دارای میکروب‌های بردبار به فلزهای

اسامی گونه و توصیف‌کنندگان آن نیز بر پایه منابع معتبر (۳۴) و (۴۰) ارایه گردید. روی هم رفته ۱۰ گونه از دو جنس *Glomus* (خانواده Glomeraceae، راسته Glomerales) و *Acaulospora* (خانواده Acaulosporaceae، راسته Diversisporales) از قارچ‌های میکوریز آربوسکولار در ریزوسفر زمین‌های یونجه در منطقه زنجان شناسایی گردید. از ده گونه شناسایی شده ۹ گونه از جنس *Glomus* و شامل گونه‌های *G. fasciculatum*، *G. geosporum*، *G. caledonium*، *G. intraradices*، *G. mosseae*، *G. ambisporum*، *G. etunicatum*، *G. versiforme*، *G. constrictum* و یک گونه از جنس *Acaulospora mellea* شامل *Acaulospora mellea* بودند. از میان گونه‌های شناسایی شده، بیشترین فراوانی جدایه‌ها در گونه *G. fasciculatum* و کمترین تعداد جدایه‌ها در گونه *Acaulospora mellea* دیده شد.

#### جداسازی و شمارش باکتری‌های افزایش‌دهنده رشد گیاه در خاک ۲

برای جداکردن پseudomonas‌ها محیط کشت King B استفاده شد که شامل ترکیبات زیر بود:

آگار ۲۰ گرم، پروتئوز پیتون ۲۰ گرم،  $K_2HPO_4$ , anhydrous ۱/۵ گرم،  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  ۱/۵ گرم و گلیسرول ۱۵ میلی‌لیتر در شرایط pH  $7.2 \pm 0.2$  در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد.

برای جداکردن باسیلوس محیط کشت ویژه استفاده شد که شامل ترکیبات زیر بود:

آگار ۲۵ گرم، پیتون ۶ گرم، کازئین (پانکراتیک) ۳ گرم، عصاره مخمر ۳ گرم و عصاره Beef ۱/۵ گرم و  $MnSO_4 \cdot 4H_2O$  در شرایط pH  $7 \pm 0.2$  در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد.

برای جداکردن استرپتومایسس از دو محیط کشت ویژه بهره‌گیری شد که شامل ترکیبات زیر بود:

آگار ۱۵ گرم، گلیسرول ۵ گرم، Sodium propionate ۴ گرم، Sodium caseinate ۲ گرم،  $K_2HPO_4$  ۰/۵ گرم، آسپارژین ۰/۱ گرم،  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  ۰/۱ گرم و  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  ۱ میلی‌گرم در شرایط pH  $8.1 \pm 0.2$  در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد.

سنگین از خاک ریزوسفری کشتزارهای یونجه پیرامون کارخانه سرب و روی زنجان نمونه‌های خاک با سابقه درازمدت آلودگی گردآوری شد. از آنجا که از میان میکروارگانیزم‌های ریزوسفری، PGPR و AMF دخالت بیشتری در واکنش‌های ریشه گیاهان با خاک پیرامونی دارند (۱۶)، تعداد و گونه‌های این میکروب‌ها در خاک ۲ شمارش و شناسایی شد.

#### جداسازی و شمارش اسپور و شناسایی گونه‌های قارچ‌های میکوریز در خاک ۲

برای تعیین فراوانی جمعیت اسپوری AMF، سه نمونه ۵۰ گرمی از هر کدام از نمونه‌های خاک ۲ انتخاب و اقدام به جداسازی اسپور قارچ‌های میکوریز با بهره‌گیری از روش استاندارد شستشو توسط الک و سانتریفوژ در محلول سوکروز (۱۴ و ۲۱) گردید. پس از جداسازی، فراوانی اسپورها بدون توجه به نوع گونه در زیر استریومیکروسکوپ شمارش شد. فراوانی اسپور قارچ‌های میکوریز ۱۱۱۷ عدد اسپور قارچی در هر ۵۰ گرم از خاک ۲ بود. برای تهیه اسلاید از اسپورهای جدا شده از خاک ۲، نمونه‌های اسپور در مخلوط حجمی ۱:۱ پلی وینیل لاکتوگلیسرول (PVLG) و معرف رنگی ملزر (Melzer's reagent) قرار داده شدند (۱۷). برای شناسایی گونه AMF از ویژگی‌های مختلف مرفولوژیکی (۱- اندازه اسپور ۲- رنگ اسپور ۳- شکل کلی اسپور ۴- تعداد و ضخامت لایه‌های دیواره اسپوری ۴- چگونگی پیوند هیف به اسپور ۵- شکل هیف پیوند یافته به اسپور و اندازه آن ۶- بودن یا نبودن لایه‌های قابل ارتجاع تندشی (Flexible Germinating Walls) ۷- باز یا بسته بودن روزنه ریشه در محل پیوند به اسپور) بهره‌گیری گردید. برای بررسی این ویژگی‌های از میکروسکوپ نوری زمینه روشن بهره‌گیری شد. در مورد هر نمونه، این ویژگی‌های در یک جدول گردآوری و با توصیفات ارایه شده در منابع، مقایسه شد (۳). شناسایی گونه‌ها با بهره‌گیری از کلیدهای شناسایی معتبر (۳۹)، مقالات کلیدی و آگاهی‌های موجود در سایت‌های اینترنتی ([www.invam.caf.wvu.edu](http://www.invam.caf.wvu.edu)) انجام شد.

خاک تهیه شده با روش‌های استاندارد اندازه‌گیری شد (جدول ۱).

### آزمایش‌های گلخانه‌ای، آماده‌سازی، عصاره‌گیری و تجزیه نمونه‌های گیاهی

بذر یونجه وحشی، بیدگیاه و ارزن با فواصل منظم در گلدان‌های دارای خاک تهیه شده، کشت گردید. پس از کشت گیاهان، گلدان‌ها تا مرز گنجایش زراعی آبیاری و وزن شدند. وزن هر گلدان در رطوبت گنجایش مزرعه روی آن یادداشت شد تا در مراحل بعدی برای جلوگیری از هر گونه تنش رطوبتی آبیاری گردد. برای دوری از تنش رطوبتی، فاصله آبیاری کوتاه در نظر گرفته شد (در آغاز کشت ۴۸ ساعت و پس از بزرگ شدن بوته‌ها ۲۴ ساعت). در پایان فصل رشد، گیاهان برداشت شدند و از خاک گلدان‌ها نیز نمونه‌برداری گردید. نمونه‌های گیاهی پس از برداشت و شستشو با آب مقطر در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت خشک، توزین و آسیاب شدند. عملکرد نسبی به شکل زیر محاسبه شد:

$$RY = \frac{Y_c}{Y_o} \times 100 \quad [1]$$

که در آن  $Y_c$  عملکرد ماده خشک گیاه در سطح آلودگی  $c$  و  $Y_o$  عملکرد گیاه در تیمار شاهد در شرایط بدون مایه‌زنی میکروبی است. از روش اکسیداسیون تر برای اندازه‌گیری کادمیم و سرب کل از گیاه بهره‌گیری شد (۱۷). سرب و کادمیم کل خاک با بهره‌گیری از روش‌های استاندارد اندازه‌گیری شد (۱۷). غلظت سرب یا کادمیم در همه عصاره‌ها با دستگاه جذب اتمی اسپکترومتری (Shimadzu 6300-AAS) اندازه‌گیری شد. برای ارزیابی توانایی گیاهان در پالایش سطوح مختلف آلودگی سرب یا کادمیم، در هر سطح آلودگی خاک به کادمیم یا سرب ضریب تغلیظ زیستی (Bioconcentration factors (BCF)) تعیین شد:

$$BCF = \frac{\text{غلظت کل فلز در خاک}}{\text{غلظت کل فلز در گیاه}} \quad [2]$$

که در آن BCF، ضریب تغلیظ زیستی برای پالایش سطوح مختلف آلودگی سرب یا کادمیم است.

آگار ۱۲ گرم، نشاسته محلول ۱۰ گرم،  $\text{CaCO}_3$  ۲ گرم،  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  ۲ گرم،  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  ۱ گرم،  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  ۱ گرم و  $\text{NaCl}$  ۱ گرم در شرایط  $\text{pH} \pm 0.2/7.2$  در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد.

برای شمارش جمعیت کل باکتری‌ها در خاک ۲، جمعیت کل این عوامل میکروبی در نمونه‌های ریزوسفری با روش MPN (Most Probable Number) اندازه‌گیری شد. سری‌های رقت ده‌تایی از نمونه‌های خاک با آب مقطر استریل تهیه و در محیط کشت‌های مایع مغذی (Nutrient broth) کشت گردید و با مشخص شدن تعداد لوله‌های رشد مثبت و منفی و بهره‌گیری از جدول MPN، جمعیت کل باکتری‌ها محاسبه شد (۲). پس از جداسازی، تعداد باکتری‌ها بدون توجه به نوع گونه در هر یک از تکرارها شمارش شد. شمار PGPR جنس سودوموناس، باسیلوس و استریپتومایسس در ۱۰ گرم خاک آلوده به‌ترتیب  $10^3 \times 0.36$ ،  $10^3 \times 0.15$  و  $10^3 \times 0.23$  عدد بود. یافته‌ها نشان داد که باکتری‌های جنس سودوموناس فراوانی بیشتری نسبت به دو جنس دیگر داشتند. مقایسه مجموع جمعیت سه جنس یاد شده با شمار کل باکتری‌های خاک (اندازه‌گیری شده با روش MPN) نشان داد که ترکیب جمعیتی باکتری‌های خاک عمدتاً از سه جنس فوق تشکیل شده است.

### مایه‌زنی خاک با آلودگی مصنوعی (خاک ۱) با جمعیت میکروبی خاک ۲

خاک ۱ با جمعیت میکروبی خاک ۲ مایه‌زنی شد. برای این کار با توجه به جمعیت میکروبی در خاک ۲ مقدار ۲۰۰ گرم از این خاک به هر کیلوگرم از خاک ۱ افزوده شد. جهت مقایسه تیمارهای مایه‌زنی شده با جمعیت میکروبی با تیمارهای همتای خود که به جمعیت میکروبی آلوده نشده بودند، به همین مقدار نیز از خاک ۲ استریل شد و به تیمارهای مایه‌زنی نشده خاک ۱ افزوده شد. هم‌چنین، برای تیمارهای مختلف، نمونه‌های شاهد نیز تهیه گردید. نهایتاً برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی

جدول ۱. برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک بهره‌گیری شده در پژوهش

ویژگی‌ها	
۲۸	رس (%)
۲۴	شن (%)
۴۸	سیلت (%)
clay loam	کلاس بافتی
	pH
۷/۵	
۲/۶	ماده آلی (%)
۱/۰	هدایت الکتریکی ( $\text{dSm}^{-1}$ )
۲۴/۷	ظرفیت تبادل کاتیونی ( $\text{cmolckg}^{-1}$ )
۱۰/۱	کربنات کلسیم معادل (%)
۶/۸۲	کادمیم کل ( $\text{mg kg}^{-1}$ )
۲۲/۶۵	سرب کل ( $\text{mg kg}^{-1}$ )
۱۲/۷۵	روی کل ( $\text{mg kg}^{-1}$ )
۳۰/۶۱	مس کل ( $\text{mg kg}^{-1}$ )
۴۲۲/۸۶	منگنز کل ( $\text{mg kg}^{-1}$ )
۳۷۷/۹۴	آهن کل ( $\text{mg kg}^{-1}$ )

## نتایج و بحث

### تجزیه‌های فیزیکی و شیمیایی خاک

برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک بررسی شده (خاکی که از ترکیب خاک ۱ و خاک ۲ به دست آمده است) در جدول ۱ نشان داده شده است.

بر پایه یافته‌های جدول ۱، خاک به‌کار رفته در این پژوهش، خاکی با کلاس بافتی لوم رسی، غیرشور، آهکی و با واکنش قلبایی ضعیف بود که به‌طور طبیعی مقداری کادمیم و سرب در خود داشت. غلظت کل فلزات خاک با استفاده از روش‌های

### تجزیه آماری

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه فاکتور مایه‌زنی میکروبی در دو سطح (تیمارهای آلوده به جمعیت میکروبی و تیمارهای بدون جمعیت میکروبی)، غلظت فلز در پنج سطح و گیاه در سه سطح و در سه تکرار انجام گرفت. تجزیه واریانس داده‌ها از طریق روش GLM نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها از طریق آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد صورت گرفت.

استاندارد اندازه‌گیری شد (۱۷). با توجه به حدود مجاز غلظت فلزات در خاک (۸)، غلظت کادمیم در خاک بهره‌گیری شده در پژوهش از حد مجاز بیشتر بود (جدول ۱).

#### تأثیر سرب و کادمیم بر عملکرد گیاهان در شرایط مایه‌زنی و عدم مایه‌زنی میکروبی خاک

به منظور بررسی تأثیر همزمان مایه‌زنی خاک با جمعیت میکروبی سازگار با تنش آلودگی و سطح آلودگی سرب یا کادمیم خاک بر رشد گیاهان، شاخص عملکرد نسبی محاسبه شد (معادله ۱). جدول‌های (۲ الف و ب) عملکرد نسبی گیاهان را در تیمارهای مختلف نشان می‌دهند. در خاک‌های فاقد کادمیم یا سرب، جمعیت میکروبی خاک باعث کاهش معنی‌دار ( $P \leq 0/05$ ) عملکرد گیاهان شد (جدول‌های ۲ الف و ب)، که این را می‌توان به تأثیر میکروب‌ها بر افزایش دسترسی گیاهان به فلزات ذاتی خاک (جدول ۱) نسبت داد. روی‌هم‌رفته، مقدار ماده خشک بخش هوایی گیاهان بررسی شده با افزایش غلظت سرب در خاک کاهش یافت (جدول ۲ ب). سمیت سرب در گیاهان موجب مسمومیت گیاه، کاهش رشد و مقدار محصول گیاه (۱۳)، زردی برگ‌های جوان، کاهش جذب برخی عناصر مانند آهن و در نتیجه کلروزه شدن برگ‌ها، کاهش فتوسنتز (۳۸) و نیز کاهش فعالیت‌های درون سلولی (۲۷) می‌گردد. سرب با تجمع در ریشه گیاهان، از رشد آنها جلوگیری می‌کند (۴۲). سمیت سرب باعث کاهش وزن تر و خشک ریشه گیاه، کاهش رشد رویشی و کاهش تولید کلروفیل می‌شود (۱۳). سمیت سرب در گیاهان احتمالاً به این دلیل است که سرب بسیاری از رفتارهای متابولیسمی کلسیم را پیروی کرده و بسیاری از آنزیم‌ها را از فعالیت باز می‌دارد (۱). در تیمارهای بدون جمعیت میکروبی عملکرد ماده خشک بخش هوایی یونجه وحشی و بیدگیاه به ترتیب با افزایش غلظت کادمیم در خاک تا ۲۰ و ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم نسبت به شاهد افزایش یافت. این نتیجه نشان‌دهنده پیامدهای شایسته غلظت‌های پایین کادمیم خاک بر عملکرد گیاه می‌باشد (۲۷ و ۲۲). تحرک کادمیم از

سرب در سیستم خاک- گیاه بیشتر از سرب است. این فلز به آسانی به وسیله گیاه جذب می‌شود و تاکنون نقشی اساسی از آن در گیاه شناخته نشده است (۲۹). این عنصر در بسیاری از موارد می‌تواند بدون بروز نشانه‌های زهری بودن در گیاه اندوخته شود (۲۸). با افزایش بیشتر غلظت کادمیم در خاک عملکرد ماده خشک بخش هوایی یونجه وحشی و بیدگیاه نیز رو به کاهش نهاد (جدول ۲ الف). عملکرد ماده خشک بخش هوایی گیاه ارزن با افزایش مقدار کادمیم خاک کاهش یافت (جدول ۲ الف). سمیت کادمیم در گیاهان موجب کلروزه شدن برگ‌ها، نکروزه شدن ریشه و برگ و کاهش رشد می‌شود (۲۰). روی‌هم‌رفته در بیشتر تیمارها با افزایش غلظت سرب یا کادمیم عملکرد نسبی کاهش یافت (جدول ۲ الف و ب). زهری بودن سرب در گیاهان بررسی شده، بیشتر از کادمیم بود. برای هر دو آلودگی سرب و کادمیم، بیدگیاه بردبارترین گیاه با کمترین نرخ کاهش عملکرد و یونجه و ارزن در رده‌های بعدی قرار داشتند. کاهش رشد و عملکرد گیاهان در شرایط تنش آلودگی کادمیم یا سرب احتمالاً به دلیل پتانسیل کم آبی و جلوگیری از جذب مواد غذایی و همچنین ایجاد شرایط اکسایشی و برهم زدن سازمان میکروتوبول در سلول‌های مریستمی است (۱۲). کاهش عملکرد گیاهان زراعی با افزایش غلظت سرب و کادمیم در خاک توسط شمار زیادی از پژوهشگران گزارش شده است (۹، ۱۹ و ۳۶).

افزایش غلظت سرب یا کادمیم در خاک سبب افزایش معنی‌دار ( $P \leq 0/05$ ) عملکرد نسبی گیاهان در شرایط عدم مایه‌زنی خاک با جمعیت میکروبی نسبت به خاک مایه‌زنی شده با جمعیت میکروبی شد. نوع گیاه و جمعیت میکروبی خاک، نقشی مهم در استقرار و رشد گیاهان در مکان‌های آلوده بازی می‌کنند (۲۵). میکروارگانیزم‌های خاک، با افزایش جذب آب و مواد معدنی توسط گیاه، در پایان سبب افزایش رشد گیاه می‌شوند. ریشه‌های گیاهان، مواد غذایی مورد نیاز میکروب‌های ریزوسفر را فراهم می‌نمایند و بدین ترتیب موجب افزایش فعالیت‌های بیولوژیک را در ریزوسفر افزایش می‌شوند (۲۵).

جدول ۲. عملکرد نسبی ( $Y_e/Y_0$ ) گیاهان در سطوح مختلف آلودگی کادمیم (الف) و سرب (ب) در شرایط عدم مایه‌زنی و با مایه‌زنی خاک با جمعیت میکروبی سازگار با تنش آلودگی

الف: کادمیم

عملکرد نسبی گیاهان (%)						کادمیم کل در خاک (mg kg <sup>-1</sup> )
یونجه وحشی		بید گیاه		ارزن		
-SMA	+SMA	-SMA	+SMA	-SMA	+SMA	
۱۰۰ <sup>a</sup>	۶۸/۹۲ <sup>a</sup>	۱۰۰ <sup>a</sup>	۷۳/۰۳ <sup>a</sup>	۱۰۰ <sup>a</sup>	۷۵/۳۶ <sup>a#</sup>	۸
۱۰۷/۴۰ <sup>a</sup>	۹۲/۰۶ <sup>b</sup>	۱۰۳/۷۸ <sup>a</sup>	۸۴/۰۳ <sup>b</sup>	۷۳/۹۵ <sup>b</sup>	۷۶/۳۰ <sup>a</sup>	۱۳
۱۱۵/۴۲ <sup>b</sup>	۹۳/۵۶ <sup>b</sup>	۷۴/۵۱ <sup>b</sup>	۷۰/۰۲ <sup>c</sup>	۷۳/۸۰ <sup>b</sup>	۶۹/۶۹ <sup>b</sup>	۲۸
۷۶/۹۲ <sup>c</sup>	۵۶/۶۹ <sup>c</sup>	۹۸/۷۷ <sup>ac</sup>	۸۴/۷۳ <sup>d</sup>	۵۸/۵۸ <sup>c</sup>	۶۷/۷۳ <sup>b</sup>	۶۸
۷۴/۲۱ <sup>c</sup>	۳۵/۰۹ <sup>d</sup>	۸۴/۸۲ <sup>d</sup>	۸۶/۳۴ <sup>d</sup>	۶۵/۹۸ <sup>c</sup>	۵۸/۸۳ <sup>c</sup>	۱۰۸

ب: سرب

عملکرد نسبی گیاهان (%)						سرب کل در خاک (mg kg <sup>-1</sup> )
یونجه وحشی		بید گیاه		ارزن		
-SMA	+SMA	-SMA	+SMA	-SMA	+SMA	
۸۰/۷۳ <sup>a</sup>	۵۸/۶۱ <sup>a</sup>	۱۰۰ <sup>a</sup>	۷۳/۰۳ <sup>a</sup>	۱۰۰ <sup>a</sup>	۷۵/۳۶ <sup>a</sup>	۲۲
۳۲/۹۸ <sup>b</sup>	۳۳/۰۶ <sup>b</sup>	۸۳/۱۷ <sup>b</sup>	۷۰/۶۹ <sup>a</sup>	۷۰/۴۳ <sup>b</sup>	۶۵/۱۵ <sup>b</sup>	۱۷۲
۶۵/۶۰ <sup>c</sup>	۳۷/۷۶ <sup>b</sup>	۵۹/۰۹ <sup>c</sup>	۶۲/۱۸ <sup>b</sup>	۷۱/۲۲ <sup>b</sup>	۴۸/۹۰ <sup>c</sup>	۴۲۲
۶۴/۵۹ <sup>c</sup>	۴۰/۱۷ <sup>b</sup>	۸۳ <sup>b</sup>	۶۸/۱۰ <sup>b</sup>	۷۱/۰۸ <sup>b</sup>	۶۰/۱۹ <sup>b</sup>	۸۲۲
۳۰/۰۹ <sup>b</sup>	۴۳/۴۱ <sup>c</sup>	۷۰/۱۶ <sup>d</sup>	۵۴/۸۰ <sup>c</sup>	۵۳/۴۱ <sup>c</sup>	۴۰/۱۲ <sup>c</sup>	۱۵۲۲

+SMA (Soil Microbial Activity): دارای جمعیت میکروبی، -SMA: بدون جمعیت میکروبی، # حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد است.

جذب سرب و کادمیم از خاک در شرایط مایه‌زنی و عدم مایه‌زنی میکروبی خاک

جدول‌های (۳ الف و ب) تغییرات جذب سرب و کادمیم توسط گیاهان را در تیمارهای مختلف نشان می‌دهد. غلظت سرب موجود در گیاهان در شرایط عدم مایه‌زنی میکروبی خاک

افزایش غلظت سرب یا کادمیم در خاک، احتمالاً با افزایش زیست‌فراهمی (Bioavailability) فلزات در خاک توسط میکروارگانیزم‌های خاک (قارچ ریشه‌ها و باکتری‌ها)، جذب این عناصر توسط گیاهان افزایش یافته و باعث بروز سمیت و کاهش بیشتر عملکرد می‌شود.

جدول ۳. غلظت فلز در گیاه در غلظت‌های مختلف کادمیم (الف) و سرب (ب) در خاک در شرایط مایه‌زنی و عدم مایه‌زنی خاک با جمعیت میکروبی سازگار با تنش آلودگی

الف: کادمیم

غلظت کادمیم در گیاه (mg kg <sup>-1</sup> )						کادمیم کل در خاک (mg kg <sup>-1</sup> )
یونجه وحشی		بیدگیاه		ارزن		
-SMA	+SMA	-SMA	+SMA	-SMA	+SMA	
۱۰/۲۱ <sup>a</sup>	۱۲/۰۲ <sup>a</sup>	۶/۴۳ <sup>a</sup>	۴/۲۸ <sup>a</sup>	۱/۸۲ <sup>a</sup>	۱/۹۹ <sup>a#</sup>	۸
۱۲/۴۲ <sup>b</sup>	۱۲/۴۶ <sup>a</sup>	۷/۴۹ <sup>a</sup>	۸/۶۵ <sup>b</sup>	۴/۳۰ <sup>b</sup>	۵/۰۵ <sup>b</sup>	۱۳
۱۲/۴۲ <sup>b</sup>	۱۲/۵۸ <sup>a</sup>	۱۰/۶۳ <sup>b</sup>	۱۱/۳۶ <sup>c</sup>	۵/۹۶ <sup>b</sup>	۶/۴۳ <sup>b</sup>	۲۸
۱۳/۱۱ <sup>c</sup>	۱۳/۲۹ <sup>b</sup>	۱۲/۳۲ <sup>b</sup>	۱۳/۳۶ <sup>d</sup>	۱۲/۵۷ <sup>c</sup>	۱۲/۳۶ <sup>c</sup>	۶۸
۱۳/۴۰ <sup>c</sup>	۱۳/۳۹ <sup>b</sup>	۲۰/۲۰ <sup>c</sup>	۲۳/۶۹ <sup>c</sup>	۱۲/۰۸ <sup>c</sup>	۱۴/۵۱ <sup>d</sup>	۱۰۸

ب: سرب

غلظت سرب در گیاه (mg kg <sup>-1</sup> )						سرب کل در خاک (mg kg <sup>-1</sup> )
یونجه وحشی		بیدگیاه		ارزن		
-SMA	+SMA	-SMA	+SMA	-SMA	+SMA	
۷۶/۲۶ <sup>a</sup>	۵۶/۹۸ <sup>a</sup>	۷۱/۸۴ <sup>a</sup>	۷۱/۸۲ <sup>a</sup>	۷۹/۰۴ <sup>a</sup>	۸۶/۹۷ <sup>a</sup>	۲۲
۸۶/۹۷ <sup>b</sup>	۷۲/۰۹ <sup>b</sup>	۷۸/۳۶ <sup>b</sup>	۷۹/۷۵ <sup>b</sup>	۱۰۵/۸۶ <sup>b</sup>	۶۶/۶۹ <sup>b</sup>	۱۷۲
۶۵/۵۸ <sup>c</sup>	۴۲/۱۰ <sup>c</sup>	۸۸/۷۵ <sup>c</sup>	۸۲/۱۲ <sup>b</sup>	۴۳/۶۶ <sup>c</sup>	۵۹/۹۳ <sup>c</sup>	۴۲۲
۵۴/۵۱ <sup>d</sup>	۵۰/۴۲ <sup>d</sup>	۸۶/۹۷ <sup>c</sup>	۹۵/۲۹ <sup>c</sup>	۴۹/۹۱ <sup>c</sup>	۴۸/۰۵ <sup>d</sup>	۸۲۲
۵۶/۵۸ <sup>d</sup>	۳۴/۴۹ <sup>c</sup>	۱۰۸/۹۳ <sup>d</sup>	۱۰۶/۸۶ <sup>d</sup>	۴۸/۰۵ <sup>c</sup>	۴۶/۷۸ <sup>d</sup>	۱۵۲۲

+SMA: دارای جمعیت میکروبی، -SMA: بدون جمعیت میکروبی، # حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد است.

(۱۰). دیاز و همکاران جذب فلزهای سرب و روی توسط گیاه *Legeum spartum* L. را در سطوح مختلف آلودگی این فلزها در خاک بررسی کردند. یافته‌های این بررسی نشان داد که در غلظت‌های پایین فلز در خاک گیاهان همزیست با قارچ ریشه‌ها، دارای غلظت بیشتری از سرب و روی بودند، درحالی‌که در غلظت‌های بالا، غلظت این فلزها در گیاهان مایه‌زنی شده با *G. mosseae*، کمتر از تیمارهای شاهد بود (۱۰). در این بررسی گیاهان مایه‌زنی شده با *G. macrocarpum* تیمارهای آزمایشی غلظت‌هایی یکسان و یا حتی بیشتر از

به صورت معنی‌دار ( $P \leq 0/05$ ) بیشتر از تیمارهای مایه زنی شده بود (جدول ۳ب). با این حال، غلظت کادمیم در گیاهان در شرایط مایه‌زنی میکروبی خاک بیشتر از تیمارهای مایه‌زنی نشده بود (جدول ۳ الف). بر پایه بررسی‌های پیشین جمعیت میکروبی خاک‌داری آثار متفاوتی بر جذب و انتقال فلزهای سنگین می‌باشد. نوع جمعیت میکروبی نیز می‌تواند تأثیراتی متفاوت بر جذب و انتقال فلزها سنگین داشته باشد (۲۴). غلظت فلزها در خاک نیز می‌تواند تأثیراتی متفاوت بر جذب فلزها توسط گیاهان همزیست با قارچ ریشه‌ها داشته باشد



جدول ۴. ضریب تغلیظ‌زیستی (BCF) سرب و کادمیم توسط ارزن، بیدگیاه و یونجه وحشی در سطوح مختلف آلودگی خاک با فلز

یونجه وحشی		بیدگیاه		ارزن		غلظت محاسبه شده فلز در خاک (mg kg <sup>-1</sup> )	
BCF(-)		BCF(-)		BCF(-)		BCF(-)	
کادمیم	سرب	کادمیم	سرب	کادمیم	سرب	کادمیم	سرب
۱/۲۷	۳/۴۶	۰/۸	۳/۵۹	۰/۲۲	۳/۴۶	۸	۲۲
۰/۹۵	۰/۴۵	۰/۵۷	۰/۶	۰/۳۳	۰/۵	۱۳	۱۷۲
۰/۴۴	۰/۲۱	۰/۳۷	۰/۱	۰/۲۱	۰/۱۵	۲۸	۴۲۲
۰/۱۹	۰/۱	۰/۱۸	۰/۰۶	۰/۱۸	۰/۰۶	۶۸	۸۲۲
۰/۱۲	۰/۰۷	۰/۱۸	۰/۰۳	۰/۱۳	۰/۰۳	۱۰۸	۱۵۲۲

در آلودگی سربی خاک کمتر از ۳/۵ بود. مقادیر BCF برای گیاهان در همه غلظت‌های سرب تقریباً کمتر از ۴ بود که با افزایش غلظت سرب در خاک کاهش یافت. بیدگیاه تمایل نسبتاً بیشتری برای انباشت سرب در خاک از خود نشان داد (جدول ۴). با این حال، یونجه وحشی توانایی بالاتری در اندوزش کادمیم داشت (جدول ۴).

### نتیجه‌گیری

جذب آلاینده توسط گیاهان و تحمل آنها، به نوع گیاه، جامعه میکروبی خاک و سایر عوامل خاکی بستگی دارد. اما آگاهی‌های ما درباره جوامع میکروبی خاک مؤثر بر تجمع گیاه به‌سازی اندک می‌باشد. یافته‌ها این بررسی نشان داد که عملکرد نسبی و غلظت سرب در گیاهان در شرایط عدم مایه‌زنی خاک با جمعیت میکروبی بیشتر از تیمارهای مشابه با مایه‌زنی جمعیت میکروبی بود. با این حال گیاهان در شرایط مایه‌زنی خاک با جمعیت میکروبی کادمیم بیشتری جذب کردند. بیدگیاه بالاترین اندوزش کادمیم و بالاترین انباشت سرب را تحت هر دو شرایط داشت.

تیمارهای شاهد داشتند. نوع گیاه نیز می‌تواند تاثیراتی متفاوت بر جذب و انتقال فلزها سنگین داشته باشد (۳۱). برای نمونه، مایه‌زنی با *G. intrradices* غلظت سرب را در گیاه ذرت کاهش داد، حال آنکه غلظت سرب در گیاه *Agrostis* تغییری نکرد (۳۱). تغییرات تجمع فلزها و جابجایی آنها در گیاه به نوع قارچ‌ریشه آربوسکولار، ژنوتیپ گیاه میزبان، تراکم ریشه، ویژگی‌های خاک، نوع فلزها و زیست‌فراهمی آنها بستگی دارد (۲۳، ۳۰ و ۳۲). تخریب شیمیایی و یا مکانیکی خاک می‌تواند توانایی و فعالیت قارچ ریشه‌های آربوسکولار را در استقرار و زنده مانگی گیاهان کاهش دهد (۳۷). جدول ۴ ضریب تغلیظ‌زیستی (BCF) فلز را توسط گیاهان ارزن، بیدگیاه و یونجه وحشی در سطوح مختلف آلودگی خاک با کادمیم یا سرب نشان می‌دهد. با توجه به جدول (۴) برای ارزن، مقادیر BCF در آلودگی کادمیم خاک کمتر از ۰/۳۳ بود. برای همه غلظت‌های کادمیم، مقادیر BCF در خاک برای گیاهان کمتر از ۱/۲۷ بود. هم‌چنین در گیاه ارزن مقادیر BCF در خاک با افزایش غلظت کادمیم تغییر محسوسی نداشت (جدول ۴) که بیانگر توانایی ارزن در اندوزش کادمیم است. زیاده و همکاران (۴۳) اظهار داشتند که BCF شاخصی مناسب برای گروه‌بندی گیاهان بیش‌اندوز است. با توجه به جدول ۴ برای ارزن، مقادیر BCF

## منابع مورد استفاده

۱. پارسادوست، ف.، ب. بحرینی نژاد، ع. ا. صفری سنجانی و م. م. کابلی. ۱۳۸۶. گیاه‌پالایی عنصر سرب توسط گیاهان مرتعی و بومی در خاک‌های آلوده منطقه ایرانکوه (اصفهان). مجله پژوهش و سازندگی در علوم کشاورزی. ۷۵: ۵۴-۵۶.
۲. علی‌اصغرزاده، ن. ۱۳۸۵. روش‌های آزمایشگاهی در بیولوژی خاک (ترجمه). انتشارات دانشگاه تبریز.
۳. رضایی دانش، ی.، ا. محمدی گل تپه، ع. علیزاده و آ. وارما. ۱۳۸۶. بررسی تاکسونومیکی و امکان کشت درون شیشه‌ای قارچ‌های میکوریز آربوسکولار همراه ریشه سویا و یونجه در ایران. رساله دکتری، گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس. صفحه: ۳۴۶.
4. Alloway, B. J. 1990. Soil processes and behavior of cadmium. *In*: B. J. Alloway (Ed.), Heavy Metals in Soils. Blackie, Glasgow.
5. Arshad, M., M. Saleem and S. Hussain. 2007. Perspectives of bacterial ACC deaminase in phytoremediation. *Trends Biotechnol.* 25: 356-362.
6. Belimov, A. A., A. M. Kunakova, V. I. Safronova, V. V. Stepanok, LY. Yudkin, YV. Akleseev and A. P. Kozhemyakov. 2004. Employment of rhizobacteria for the inoculation of barley plants cultivated in soil contaminated with lead and cadmium. *Microbiol.* 73: 99-106
7. Bosiacki, M. 2008. Accumulation of cadmium in selected species of ornamental plants, *Acta Sci. Pol., Hortorum. Cultus.* 7 (2): 21-31.
8. Cariny, T. 1995. The Re-Use of Contaminated Land. John Wiley and Sons Ltd. Pub., USA.
9. Clemens, S. 2001. Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. *Planta* 212: 475-486.
10. Diaz, G., C. Azcon-Aguilar and M. Honrubia. 1996. Influence of arbuscular mycorrhiza on heavy metal (Zn and Pb) uptake and growth of *Lygедum spartum* and *Anthyllis cytisoides*. *Plant Soil* 180: 241-249.
11. Eun, S. O., H. S. Youn and Y. Lee. 2000. Lead disturbs microtubule organization in the root meristem of *Zea mays*. *Physiol. Plant* 103: 695-702.
12. Gadd, G. M. 2004. Microbial influence on metal mobility and application to bioremediation. *Geoderma* 122: 109-119.
13. Georgieva, V. and C. Tasev. 1997. Growth yield, lead, zinc and cadmium content of radish, pea, and pepper plants as influenced by level of single and multiple contamination of soil. *Bul. G. J. Plant Physiol.* 23 (1-2): 12-23.
14. Gerdemann, G. W. and T. H. Nicolson. 1963. Spore of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans. British Mycol. Soc.* 46: 235-244.
15. Gisbert, C., R. Ros, A. De Haro, D. J. Walker, M. P. Bernal, R. Serrano and J. A. Navarro-Avino. 2003. Plant genetically modified that accumulates Pb is specially promising for phytoremediation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 5: 303-440.
16. Glick, B. R. 2003. Phytoremediation: Synergistic Use of Plants and Bacteria to Clean Up the Environment. *Biotechnol. Adv.* 21: 383-393.
17. Gupta, P. K. 2000. Soil, Plant, Water and Fertilizer Analysis. Agrobios, New Delhi, India.
18. Hall, I. R. and L. K. Abbott. 1984. Some *Endogonaceae* from south Western Australia. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 83: 203-208.
19. Hall, J. L. 2002. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *J. Exp. Bot.* 53: 1-11.
20. Hernandez, L. E. and D. T. Cooke. 1997. Modifications of root plasma membrane lipid composition of cadmium treated *Pisum sativum*. *J. Exp. Bot.* 48: 1375-1381.
21. Jenkins, W. R. 1964. A rapid centrifugal technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Reporter.* pp: 692.
22. John, R., P. Ahmad, K. Gadgil and S. Sharma. 2009. Heavy metal toxicity: Effect on plant growth, biochemical parameters and metal accumulation by *Brassica juncea* L. *Int. J. Plant Prod.* 3 (3):65-76.
23. Joner, E. J. and C. Leyval. 2001. Time-course of heavy metal uptake in maize and clover as affected by root density and different mycorrhizal inoculation regimes. *Biol. Fertil. Soils* 33: 351-357.
24. Kaldorf, M., A. J., Kuhn, W. H., Schroder, U. Hildebrandt and H. Bothe. 1999. Selective element deposits in maize colonized by a heavy metal tolerance conferring arbuscular mycorrhizal fungus. *J. Plant Physiol.* 154: 718-728.
25. Khan, A. G. 2005. Role of soil microbes in the rhizospheres of plants growing on trace element contaminated soils in phytoremediation. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 18(4): 355-364.
26. Knasmuller, S., E. Gottmann, H. Steinkellner, A. Fomin, A. Paschke, R. God and M. Kundi. 1998. Detection of genotoxic effects of heavy metal contaminated soil with plant bioassay. *Mutal Res.* 420: 37-48.

27. Larbi, A., F. Morales and A. Abadia. 2003. Effects of Cd and Pb in sugar beat plants grown in nutrient solution: induced Fe deficiency and growth inhibition. *Func. Plant Biol.* 20(12): 1453-1464.
28. Lehoczky, E., L. Szabo and S. Horvath. 1998. Cadmium uptake by plants in different soils. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 29: 1903-1912.
29. Lehoczky, E., P. Marth, I. Szabados, M. Palkovics and P. Lukacs. 2000. Influence of soil factors on the accumulation of cadmium by lettuce. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 31: 2425-2431.
30. Leyval, C., K. Turnau and K. Haselwandter. 1997. Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization and function. Physiological, ecological and applied aspects. *Mycorrhizae* 7: 139-153.
31. Malcova, R., M. Vosatka and M. Gryndler. 2003. Effects of inoculation with *Glomus intraradices* on lead uptake by *Zea mays* L. and *Agrostis capillaris* L. *Appl. Soil Ecol.* 23: 55-67.
32. Marschner, H. and V. Romheld. 1995. Strategies of plants for acquisition of iron. *Plant Soil* 165: 262-274.
33. McGrath, S. P. and J. Cegarra. 1992. Chemical extractability of heavy metals during and after long-term applications of sewage sludge to soil. *J. Soil Sci.* 43: 313-321.
34. Morton, J. B. and D. Redecker. 2001. Two new families of Glomales, Archaeosporaceae and Paraglomaceae, with two new genera Archaeospora and Paraglomus, based on concordant molecular and morphological characters. *Mycologia* 93: 181-195.
35. Nies, D. H. and S. Silver. 1999. Microbial heavy Metal resistance. *Appl. Microbiol Biotechnol.* 6: 123-129.
36. Obbard, J. P., Sauerbeck, D. R. and K. C. Jones. 1993. Rhizobium leguminosarum bv. trifolii in soils amended with heavy metal contaminated sewage yield parameters. sludges. *Soil Biol. Biochem.* 22: 227-231.
37. Pflieger, F. L., E. L. Stewart and R. K. Noyd. 1994. Role of VAM fungi in mine land revegetation. PP. 47-82. *In: F. L. and Linderman, R. G (Eds.), Mycorrhizae and Plant Health Pflieger. The Amer. Phytopathol. Soc. MN, USA,*
38. Prasad, M. N. V. and K. Strzalka. 1999. Impact of heavy metals on photosynthesis in heavy metal stress in plants. *In: Prasad, M. N. V. and J. Hagemeyer. (Eds), Springer Heidelberg Pub., USA.*
39. Schenck, N. C. and Y. Perez. 1990. Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi. pp: 241.
40. Walker, C. and J. M. Trappe. 1993. Names and epithets in the Glomales and Endogonales. *Mycol. Res.* 97: 339-344.
41. Yang, X. E., X. X. Long, W. Z. Ni and C. X. Fu. 2002. Seduim alfredii H: A new Zn hyperaccumulating plant first found in china. *China Sci Bull.* 47(19): 1634-1637.
42. Yell, Y. Y., J. J. Young, S. W. Yong, S. H. Soo and Y. S. Lee. 2000. Identification of rice varieties with high tolerance or sensitivity to lead and characterization of the mechanism of to tolerance. *Plant Physiol.* 124: 1019-1026.
43. Zayed, A., S. Gowthaman and N. Terry. 1998. Phytoaccumulation of trace elements by wetland plants: I. Duckweed. *J. Environ. Qual.* 27: 715-721.