

## بررسی گونه های مختلف قارچ های میکوریزی بر افزایش کارایی گیاه درمانی خاک های آلوده به فلزات سنگین با استفاده از دو گیاه ذرت و آفتابگردان

فرهاد رجالی<sup>۱\*</sup>، اشرف اسمعیلی زاد<sup>۲</sup>، مهدیه شمشیری پور<sup>۳</sup>، مونا صابری<sup>۴</sup>

۱. عضو هیات علمی، موسسه تحقیقات خاک و آب

۲. کارشناس ارشد، موسسه تحقیقات خاک و آب

۳. کارشناس ارشد، موسسه تحقیقات خاک و آب

۴. دانشجوی کارشناسی ارشد بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، دانشگاه آزاد اسلامی

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱/۱۶ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۱۰/۲۹)

### چکیده

یکی از روش های پاک سازی خاک های آلوده به عناصر سنگین روش گیاه پالایی یعنی کشت گیاهان بیش انباشتگر در این نوع خاک ها می باشد که بسیاری از آن ها میزبان های خوبی برای قارچ های میکوریز آربسکولار می باشند. به منظور بررسی کارایی همزیستی میکوریزی در افزایش جذب عناصر معدنی مورد نیاز گیاه و همچنین جذب عناصر سنگین، آزمایشی گلخانه ای با کشت دو گیاه بیش انباشتگر ذرت و آفتابگردان در خاک حاوی غلظت های بالایی از عناصر آلاینده کروم، نیکل و کادمیوم به انجام رسید که در آن از تیمارهای مختلف قارچی، حاوی قارچ های *Glomus mosseae*، *G intraradices* و *G etunicatum*، *G sp* و همچنین یک تیمار شاهد بدون قارچ در ۵ تکرار استفاده گردید. نتایج حاصله نشان داد که در کشت هردو گیاه ذرت و آفتابگردان، استفاده از قارچ های میکوریزی از طریق افزایش درصد کلنیزاسیون ریشه، رشد اندام هوایی گیاه را افزایش داده اند و در نتیجه جذب عناصر معدنی کم مصرف و پر مصرف در اندام هوایی هر دو گیاه به صورت معنی دار افزایش یافته است. تیمار قارچی (T4) حاوی دو گونه قارچ *Glomus mosseae* و *G intraradices* در همزیستی با گیاه ذرت بالاترین کارایی را برای افزایش جذب سه عنصر آلاینده کادمیوم، نیکل و کروم داشت به گونه ای که جذب این سه عنصر در اندام هوایی گیاه ذرت را به ترتیب به میزان ۱/۵۷، ۳/۷۹ و ۴/۱۸ میکروگرم در هر گلدان افزایش داد؛ و در همزیستی با گیاه آفتابگردان همین تیمار قارچی توانست جذب دو عنصر کادمیوم و نیکل در اندام هوایی گیاه آفتابگردان را به ترتیب به میزان ۰/۲۱ و ۰/۲۳ میکروگرم در گلدان افزایش دهد. در نهایت چنانچه از این دو گیاه برای پاک سازی خاک های آلوده استفاده گردد، تلقیح با دو گونه *G intraradices* و *G mosseae* قابل توصیه می باشد.

**واژه های کلیدی:** گیاه درمانی، همزیستی میکوریزی، ذرت، آفتابگردان و عناصر سنگین

### مقدمه

اهمیت و جایگاه سلامت جامعه و محیط زیست در توسعه پایدار، امروزه در رأس برنامه دولت ها قرار گرفته است. از این جهت تحقیقات هدفمند و کاربردی در این زمینه می تواند گامی در جهت بهبود بهداشت جامعه و پایداری محیط زیست تلقی گردد. فلزات سنگین گروه اصلی آلاینده های غیر آلی هستند که به طور قابل توجهی سطح وسیعی از اراضی را به دلیل استفاده فاضلاب شهری، آفت کش ها، کودهای شیمیایی، دود اتومبیل، بقایای صنایع ذوب فلزات به این مواد آلوده کرده اند (Garbisu, 2003; Halim et al, 2003; and Alkorta, 2003) بدون توجه به منشاء

فلزات خاک، مقدار زیاد این فلزات می توانند منتج به تخریب کیفیت خاک، کاهش عملکرد گیاهان و کاهش کیفیت محصولات کشاورزی شود (Long et al., 2002) و همچنین خطراتی را نیز برای انسان، جانوران و سلامتی اکوسیستم ایجاد کند (Blaylock and Huang, 2000). این مواد شامل آرسنیک، کادمیوم، کروم، مس، سرب، جیوه، نیکل، سلنیم، نقره و روی می باشند. فلزات دیگری مانند آلومینیوم، سزیم، کبالت، منگنز، مولیبدن، استرانسیم و اورانیوم نیز می توانند به عنوان آلاینده ها در نظر گرفته شوند (McIntyre, 2003). سرب یکی از پر دوام ترین فلزاتی است که تخمین زده می شود ۵۰۰-۱۵۰ سال در خاک باقی بماند. همچنین، نیمه عمر متوسط بیولوژیک کادمیم ۱۸ سال (Forstner, 1995) و در بدن انسان ۱۰ سال تخمین زده می شود (Salt et al., 1995). این عناصر با ورود به

\* نویسنده مسئول: frejali@yahoo.com

سرعت فرآیند گیاه‌پالایی به دلیل رشد آهسته گیاهان انباشت‌کننده مضاعف فلزات سنگین کند می‌باشد (Linger *et al.*, 2003; Khan, 2002). اکثر گیاهان انباشت‌کننده مضاعف فلزات سنگین دارای ریشه کم عمق، بیوماس کم و رشد آهسته هستند، بنابراین نیاز به زمان زیادی برای اصلاح نقاط آلوده برای دستیابی به نتیجه مطلوب دارند. روابط میکوریزی سطح جذبی گیاه را به دلیل تولید هیف‌های قارچی افزایش می‌دهد که در نتیجه سبب افزایش جذب آب و مواد معدنی می‌شود. افزایش توانایی جذب مواد معدنی سبب افزایش بیشتر تولید بیوماس می‌شود که پیش‌نیازی جهت پاکسازی محیط می‌باشد (Khan *et al.*, 2000). قارچ‌های میکوریزی مواد تحریک‌کننده رشد گیاه را نیز تولید می‌کنند و سبب تشویق تغذیه معدنی، افزایش رشد بیوماس ضروری برای انباشت می‌شوند. بنابراین، تولید مواد تحریک‌کننده رشد گیاه به وسیله قارچ‌های میکوریزا می‌تواند استراتژی کارآمدی برای پاکسازی خاک‌های آلوده باشد (Khan *et al.*, 2000).

کارایی گیاه‌پالایی در آزمایش‌های گلخانه‌ای و مزرعه‌ای در آمریکا و اروپا مورد بررسی قرار گرفته است (Baker *et al.*, 1995; Kumar *et al.*, 1994). در داخل کشور نیز تحقیقاتی در زمینه گیاه‌پالایی صورت گرفته است، لیکن آنچه کمتر بدان پرداخته شده است بررسی نقش میکروارگانیسم‌های همیار و یا همزیست با گیاهان در فرآیند گیاه‌پالایی می‌باشد. رضوانی ۱۳۸۶ کارایی استفاده از قارچ *Glomus mossea* را در همزیستی با دو گیاه یونجه و جو در خاک آلوده به فلزات سنگین مورد بررسی قرار داد. نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که در هر دو گیاه استفاده از قارچ میکوریزی با افزایش کلونیزاسیون ریشه، جذب فسفر در اندام هوایی هر دو گیاه را افزایش داده است که از آن به عنوان یکی از مکانیسم‌های افزایش تحمل گیاه به غلظت بالای عناصر سنگین در خاک یاد شده است. در گیاه یونجه همزیستی میکوریزی باعث افزایش جذب کبالت، کادمیوم و سرب در اندام هوایی گیاه شده است. در گیاه جو غلظت عناصر سنگین در ریشه بیشتر از اندام هوایی اندازه‌گیری شد که نشان‌دهنده ممانعت همزیستی میکوریزی در انتقال عناصر سنگین از ریشه به اندام هوایی گیاه می‌باشد.

هدف از انجام این تحقیق بررسی توان جذب عناصر سنگین توسط دو گیاه دیگر میزبان قارچ‌های میکوریز آربسکولار یعنی ذرت و آفتابگردان که نسبت به دو گیاه یونجه و جو حجم بیوماس بیشتری تولید می‌نمایند و همچنین بررسی کارایی گونه‌های بیشتری از قارچ‌های میکوریزی در همزیستی با این دو گیاه برای افزایش کارایی فرآیند گیاه‌پالایی بوده است.

زنجیره غذایی، در بدن انسان و حیوانات تجمع یافته و ممکن است سبب ایجاد خسارت به DNA و اثرات سرطان‌زایی به وسیله توانایی در ایجاد جهش شوند (Knasmuller *et al.*, 1998). یکی از روش‌هایی که به عنوان ابزار جدیدی برای اصلاح خاک، آب و هوا در حال ظهور می‌باشد، گیاه‌پالایی است. در این فرآیند گیاه سبز به عنوان پمپ خورشیدی عمل می‌کند و می‌تواند فلزات سنگین را از محیط زیست استخراج و جمع‌آوری نمایند (Raskin *et al.*, 1994). از آنجایی که این فرآیند بیولوژیک به انرژی خورشیدی وابسته است، به طور متوسط تا ۱۰ برابر ارزانتر از روش‌های پاکسازی فیزیکوشیمیایی مانند استخراج خاک، شستشو و سوزاندن خاک می‌باشد (Glass, 1999). گیاه‌پالایی روش دائمی جهت پاکسازی خاک‌های آلوده می‌باشد. این روش به عنوان یک علم و تکنولوژی در حال ظهور در آمریکا، اروپا و استرالیا مورد استفاده قرار می‌گیرد (Pilon-Smits and Pilon, 2000). انجام گیاه‌پالایی خاک‌های آلوده می‌تواند موجب کاهش قرار گرفتن انسان، حیات وحش و محیط زیست در برابر این آلاینده‌ها شود، همچنین گیاه‌پالایی به عنوان تکنولوژی پاکسازی سبز<sup>۱</sup> عمومیت پیدا کرده است. این تکنیک همچنین به دلیل هزینه پایین خود می‌تواند در کشورهای در حال توسعه نیز مورد استفاده قرار گیرد (Pilon-Smits and Pilon, 2000). گیاه‌پالایی با جلوگیری از فرسایش خاک سبب حفظ و بهبود ویژگی‌های فیزیکی و بیولوژیک خاک نیز می‌شود (Pivetz, 2001). علاوه بر خارج‌سازی آلاینده‌ها از خاک، گیاه‌پالایی، کاهش آلودگی، حفظ و بهبود ساختمان و حاصلخیزی و همچنین تنوع زیستی خاک را نیز در پی دارد (Cunningham *et al.*, 1995).

در گزارش‌های متعددی به وجود همزیستی میکوریزی در گیاهان مستقر در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین اشاره شده است (Weissenhorn and Leyval, 1995; Shetty *et al.*, 1999; Chaudhry *et al.*, 1995). در مورد قارچ‌های میکوریز آربسکولار نتایج بدست آمده متفاوت می‌باشد. بعضی از گزارش‌ها نشان می‌دهند که این قارچ‌ها غلظت فلزات سنگین را در گیاهان افزایش می‌دهند (Weissenhorn and Leyval, 2003; Liao, 1995). در حالی که محققین دیگر دریافته‌اند که غلظت فلزاتی مانند مس، روی (Heggo *et al.*, 1990) و منگنز در گیاهان میکوریزی کاهش می‌یابد.

قارچ‌های میکوریزی ممکن است نقش حفاظت از ریشه گیاهان را در برابر سمیت ناشی از فلزات سنگین بر عهده داشته باشند (Marschner, 1995; Leyval *et al.*, 1997).

(Nielsen, 1986) و بافت خاک به روش هیدرومتری (Gee and Bauder, 1986) تعیین گردید.  
 از خصوصیات شیمیایی خاک، pH و EC گل اشباع (Rhoades, 1982)، نیتروژن کل به روش کج‌دال (Nelson and Sommers, 1973)، پتاسیم و منیزیم قابل جذب گیاه با استفاده از روش فلیم فتومتر (Knudsen et al., 1982)، فسفر قابل جذب گیاه با استفاده از روش اولسن (Olsen, 1954)، درصد کربنات کلسیم معادل (CCE%) به روش خنثی کردن توسط اسید کلریدریک و سپس تیتراسیون (Manteghi, 1965)، کربن آلی خاک با استفاده از روش اکسیداسیون در محیط آبی (Nelson and Sommers, 1982) و مقدار آهن، مس، منگنز، روی، نیکل و کادمیوم قابل جذب گیاه از طریق عصاره‌گیری با DTPA و قرائت با دستگاه جذب اتمی (Baker and Amachar, 1982) اندازه‌گیری گردید. برای اندازه‌گیری مقدار کروم قابل جذب نیز از دستگاه ICP استفاده گردید (Ali Ehyaei, 1997).

خاک تهیه شده درون گلدان‌های ۱۰ کیلوگرمی توزیع گردید و در نهایت ۶۰ گلدان آماده شده به گلخانه منتقل گردید. درون هر گلدان ۶ بذر استریل شده و جوانه زده ذرت رقم سینگل کراس یا آفتابگردان رقم رکورد تهیه شده از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر و نهال بر اساس نوع تیمارها کشت گردید. آبیاری گلدان‌ها براساس ۸۰٪ ظرفیت زراعی و با آب معمولی صورت گرفت. پس از استقرار گیاهچه‌ها تعداد آنها به صورت یکنواخت در تمامی گلدان‌ها به ۴ عدد کاهش یافت. در ابتدای دوره رشد گیاهچه‌های ذرت و آفتابگردان به صورت هفته‌ای یک بار با محلول غذایی هوگلند با ۵۰ درصد فسفر آبیاری گردیدند. پس از گذشت چهار ماه از شروع آزمایش و اتمام دوره رشد گیاه، گیاهان از سطح خاک قطع گردیدند. اندام هوایی گیاهان در تیمارهای مختلف پس از شستشو درون آب معمولی و آب مقطر، به مدت ۷۶ ساعت درون آون قرار داده شدند و سپس وزن خشک اندام هوایی گیاهان برداشت شده، اندازه‌گیری گردید. سپس در اندام هوایی گیاهان برداشت شده، غلظت عناصر نیتروژن (Chapman and Pratt, 1961; Cottenie, 1989; Isac, 1990; Jackson, 1967; Waling et al., 1989)، فسفر (Chapman and Pratt, 1961; Jackson, 1967)، پتاسیم (Waling et al., 1989)، آهن، روی، مس و منگنز (Perkin Elmer, 1982; Waling et al., 1989) کادمیوم، کروم و نیکل (Tessier et al., 1979) و محاسبه میزان جذب این عناصر توسط دو گیاه ذرت و آفتابگردان و نیز کارایی همزیستی میکوریزی در انتقال عناصر نامبرده از خاک به اندام هوایی گیاه اندازه‌گیری شد (Emami, 1996).

## مواد و روش‌ها

در این آزمایش از چهارگونه قارچی، تهیه شده از کلکسیون میکروبی بخش تحقیقات بیولوژی خاک موسسه تحقیقات خاک و آب (Rejali, 2004) در غالب شش تیمار به شرح زیر استفاده گردید:

شاهد بدون قارچ میکوریز آریسکولار (T1)، گونه *Glomus intraradices* (Shenk and Smith) (T2)، گونه *Glomus mosseae* (سویه ۱) (Nicol. and Gerd.; Gerdmann (T3) and Trappe)، مخلوط تیمارهای T2 و T3 (T4)، گونه *Glomus etunicatum* (Beker and Gerdmann) (T5)، گونه *Glomus sp* (T6).

### تهیه مایه تلقیح‌های قارچی

برای تهیه مایه تلقیح‌های مورد نظر از کشت گلدانی حاوی ماسه استریل و بذور سورگوم استریل و جوانه‌دار شده استفاده شد در هر گلدان حاوی ماسه استریل حفره‌ای در وسط گلدان حفر شد. ۵۰ گرم از مایه تلقیح‌های حاوی ۴ گونه قارچ میکوریز ذکر شده را داخل حفره ریخته و پس از پوشاندن آن، در هر گلدان ۱۵ بذر جوانه زده کاشته شد. گلدان‌ها با آب مقطر استریل در حد اشباع به آرامی آبیاری شدند. گلدان‌ها در گلخانه نگهداری و یک روز در میان با آب مقطر استریل آبیاری شدند. در دو ماه اول دوره رشد، یک بار در هفته به جای آبیاری از محلول غذایی هوگلند استریل با نصف میزان فسفر استفاده گردید. از ماه دوم برای تأمین نیاز غذایی گیاه‌های سورگوم دو بار در هفته از محلول غذایی استفاده گردید. بعد از گذشت حدود سه ماه و نیم دوره رشد سورگوم تکمیل گردید، پس از قطع آبیاری و خشک شدن اندام‌های هوایی، گیاه‌ها از سطح خاک قطع و محتوای هر گلدان که شامل ماسه، ریشه‌های کلونیزه شده و اسپور بود به صورت کامل با یکدیگر مخلوط شدند که برای آزمون گلخانه‌ای مورد استفاده قرار گرفت. شمارش اسپور به روش غربال مرطوب نشان داد که در مایه تلقیح‌های تهیه شده حدود ۱۰-۸ اسپور در هر گرم ماسه تشکیل شده است.

### تهیه نمونه خاک برای آزمون گلخانه‌ای و اندازه‌گیری خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن

خاک مورد استفاده در آزمون گلخانه‌ای به میزان ۳۰۰ کیلوگرم از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متری زمین‌های اطراف پالایشگاه شهر ری واقع در باقرشهر که بر اساس اطلاعات جمع‌آوری شده حاوی هیدروکربن‌های آلوده‌کننده محیطی و عناصر سنگین می‌باشند تهیه گردید. پس از غربال کردن با الک ۴ میلی‌متری هوا خشک گردید. از خصوصیات فیزیکی ظرفیت زراعی (Cassel and

(Mosse, 1980).

### نتایج

اندازه‌گیری خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک استفاده شده در جدول شماره (۱) نشان داده شده است. بافت خاک به دلیل فلوکوله بودن شدید قابل اندازه‌گیری نبود.

برای اندازه‌گیری درصد کلنیزاسیون ریشه یک‌صد قطعه یک سانتی‌متری از ریشه‌های رنگ‌آمیزی شده را بر روی ظروف پتری شبکه‌بندی شده به ابعاد یک سانتی‌متر ریخته و با استفاده از روش تقاطع قطعات ریشه با خطوط شبکه درصد کلنیزاسیون تعیین و میانگین درصد کلنیزاسیون برای هر تیمار محاسبه گردید (Newman 1966, Tennant 1975, Giovannetti &

جدول ۱- برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمون

Cr	Cd	Ni	Cu	Mn	Zn	Fe	K	P	N	O.C	EC	pH شعبه	SP	CCE
$\mu\text{g.kg}^{-1}$			$\text{mg.kg}^{-1}$						%	%	$\text{dS.m}^{-1}$		%	%
۱۱/۵	۲۷/۲۲	۱۳۲/۵	۳/۹۴	۲۷/۴	۲۱/۴	۲۴/۷۸	۱۳۵	۶/۲	۰/۷	۷/۳۱	۱۳/۷	۶/۸۲	۴۵	۱۱/۴۹

(T6) در سطح ۵ درصد آماری افزایش معنی‌دار و در مورد تیمارهای (T2، T3 و T5) فاقد اثر معنی‌دار بود. در مورد عنصر آلاینده کادمیوم تمامی تیمارهای قارچی جذب آن را در سطح ۵ درصد آماری به صورت معنی‌داری در گیاه افزایش دادند. بیشترین میزان جذب کادمیوم مربوط به تیمار (T4) و کمترین میزان مربوط به تیمار (T6) بود. در جذب عنصر آلاینده کروم تیمارهای قارچی تأثیر مثبتی از خود برجای نگذاشتند و تأثیر آنها به جز در تیمار (T2) در سطح ۵ درصد آماری یک تأثیر کاهشی بوده که آن هم در سطح ۵ درصد آماری معنی‌دار می‌باشد. تیمارهای میکوریزی جذب عنصر آلاینده نیکل را نیز در سطح ۵ درصد آماری و تنها در تیمار (T4) به صورت معنی‌دار افزایش دادند (جدول شماره ۳).

در مورد نتایج به دست آمده در کشت گیاه ذرت و با توجه به جدول‌های شماره (۴ و ۵)، صفات مورد ارزیابی مشخص گردید که تیمارهای تلقیح با قارچ‌های میکوریزی تمامی این صفات را به صورت معنی‌داری تحت تأثیر خود قرار داده است. پارامترهای وزن خشک اندام هوایی، کلونیزاسیون ریشه، جذب نیتروژن و جذب فسفر در سطح یک درصد آماری و پارامترهای جذب عناصر پتاسیم، آهن، روی، مس، منگنز، کادمیوم، کروم و نیکل در سطح ۵ درصد آماری تحت تأثیر قرار گرفته‌اند. تمامی تیمارهای قارچ‌های میکوریزی وزن خشک اندام هوایی گیاه ذرت را افزایش دادند که این افزایش در تیمارهای (T3، T4 و T5) معنی‌دار گردید. تلقیح با قارچ‌های میکوریزی در تمام تیمارها، کلونیزاسیون ریشه را افزایش داده است که این افزایش در تمام تیمارها معنی‌دار می‌باشد. بیشترین درصد کلونیزاسیون ریشه مربوط به تیمار (T4) و کمترین میزان کلونیزاسیون ریشه در گیاهان تلقیح شده است که مربوط به تیمار (T6) بوده است.

در مورد گیاه آفتابگردان تلقیح با قارچ‌های میکوریزی، تمامی صفات مورد ارزیابی به جز جذب آهن و کروم را به صورت معنی‌داری تحت تأثیر قرار داد. استفاده از قارچ‌های میکوریزی وزن خشک اندام هوایی، کلنیزاسیون ریشه، جذب نیتروژن و جذب پتاسیم را در سطح ۱ درصد آماری و جذب عناصر فسفر، روی، مس، منگنز، کادمیوم و نیکل را در سطح ۵ درصد آماری تحت تأثیر قرار داد (جدول شماره ۲). تمام تیمارهای قارچی به جز تیمار (T6) وزن خشک اندام هوایی گیاه را افزایش دادند که این افزایش فقط در دو تیمار (T2 و T4) معنی‌دار گردید. تمامی تیمارهای قارچی درصد کلنیزاسیون ریشه گیاه آفتابگردان را افزایش دادند که این افزایش تنها در مورد تیمارهای (T2 و T4) معنی‌دار گردید. استفاده از تیمارهای قارچی، جذب نیتروژن را در تمامی تیمارها بجز تیمار (T6) به طور معنی‌دار در سطح ۱ درصد آماری و همچنین جذب فسفر را در سطح ۵ درصد آماری به جز افزایش در تیمار (T6) که معنی‌دار نبود، افزایش داد. تمامی تیمارهای تلقیحی، جذب پتاسیم را در سطح یک درصد آماری افزایش دادند که بیشترین میزان جذب پتاسیم مربوط به تیمار (T4) و کمترین افزایش نسبت به تیمار شاهد تلقیح نشده، مربوط به تیمار (T6) بود. آهن از جمله عناصر کم مصرف است که هیچ یک از قارچ‌های بکار گرفته شده در این آزمون نتوانسته است جذب آن را در گیاه در سطوح آماری در نظر گرفته شده به صورت معنی‌دار افزایش دهد. جذب روی در گیاه آفتابگردان در سطح ۵ درصد آماری نسبت به شاهد تلقیح نشده افزایش یافت. بیشترین میزان جذب روی در تیمار (T4) بود. تمامی تیمارهای میکوریزی، جذب مس در گیاه آفتابگردان را به جز تیمار (T6) به طور معنی‌داری در سطح ۵ درصد آماری افزایش دادند. جذب منگنز در گیاه آفتابگردان در مورد تیمارهای (T4 و

کشت گیاه آفتابگردان حدود نیم گرم در گلدان و در گیاه ذرت ۱٫۶۵ گرم در گلدان اندازه‌گیری گردید؛ به عبارت دیگر با برقراری رابطه همزیستی مؤثر بین قارچ‌های میکوریزی و دو گیاه ذرت و آفتابگردان، توانایی گیاه میزبان در جذب عناصر پر مصرف مثل نیتروژن، فسفر و پتاسیم و همچنین عناصر کم مصرف مثل، آهن، روی، مس و منگنز افزایش یافته که در نهایت افزایش وزن خشک گیاه را در پی داشته است. در مطالعات زیادی به هم سویی روند تغییرات کلونیزاسیون ریشه و جذب عناصر معدنی اشاره شده است. به عنوان مثال در گیاه گندم نیز دیده شده است که در تیمارهای تلقیح شده با قارچ‌های میکوریزی و متعاقب افزایش درصد کلونیزاسیون ریشه، جذب عناصر معدنی در گیاه نیز افزایش یافته است (AL-karaki and AL-Raddad, 1997; AL-karaki et al., 1998). این توانایی سیستم همزیستی میکوریزی در خاک‌های آلوده به عناصر سنگین از اهمیت بیشتری برخوردار می‌باشد چراکه خصوصیات شیمیایی حاکم بر این نوع خاک‌ها و غلظت بیش از حد عناصر سنگین، باعث عدم جذب سایر عناصر مورد نیاز گیاه شده و این امر کاهش رشد و عملکرد گیاه را در بر خواهد داشت.

بنابر هدف در نظر گرفته شده برای این پروژه که پاک‌سازی خاک‌های آلوده با استفاده از سیستم همزیستی میکوریزی است، مشخص می‌گردد که هر چه گیاه رشد بیشتری داشته باشد و توسعه اندام هوایی در آن بیشتر باشد بالطبع مقادیر بیشتری از عناصر آلاینده را می‌تواند در اندام هوایی خود جذب کرده و از زمین خارج نماید. البته آنچه که برای تحقق این هدف می‌بایستی مدنظر قرار گیرد، کارایی گونه قارچ استفاده شده می‌باشد. نتایج این آزمون نشان داد که اگر چه تمامی تیمارهای قارچی در جذب عناصر معدنی مورد نیاز گیاه تا اندازه‌ای مؤثر بوده‌اند، لیکن بهترین کارایی مربوط به تیمار (T4) بود که مخلوط دو گونه قارچ میکوریزی بود کمترین کارایی نیز مربوط به تیمار (T6) یعنی استفاده از قارچ *G. sp* بود. در واقع کارایی سیستم همزیستی میکوریزی متأثر از سه عامل خصوصیات خاک، نوع گیاه میزبان و نوع گونه قارچ استفاده شده است. نتایج محققین مختلف که قارچ‌های میکوریزی را برای اهداف مختلفی مورد استفاده قرار داده‌اند نشان می‌دهد که در هر مورد معمولاً برخی از گونه‌ها نسبت به سایرین در همزیستی با گیاه میزبان از کارایی بیشتری برخوردار می‌باشند که نتیجه سازگاری بهتر آن گونه با خصوصیات خاک استفاده شده و گیاه میزبان خاص می‌باشد. به تعدادی از این نتایج اشاره می‌شود. گونه‌های مختلف قارچ‌های میکوریز آربسکولار توانایی متفاوتی در جذب نیتروژن دارند. نشان

در تمامی تیمارهای تلقیح شده، بجز تیمار (T6) افزایش معنی‌دار جذب نیتروژن در گیاه ذرت مشاهده گردید. تمامی تیمارهای قارچ‌های میکوریزی بجز تیمار (T6)، جذب فسفر در گیاه ذرت را به صورت معنی‌داری تحت تأثیر خود قرار داده‌اند. در تمامی تیمارهای تلقیح شده، جذب پتاسیم افزایش و فقط در تیمارهای (T4 و T5) معنی‌دار بود. بر خلاف گیاه آفتابگردان قارچ‌های میکوریزی، افزایش جذب آهن را در گیاه ذرت نسبت به تیمار شاهد تلقیح نشده افزایش، ولی تنها در مورد تیمارهای (T4 و T5) معنی‌دار نمودند. اکثر تیمارهای قارچی جذب روی را نسبت به گیاه شاهد به غیر از تیمار (T6)، افزایش معنی‌دار دادند. سه تیمار (T3، T4 و T5) جذب مس گیاه ذرت را به صورت معنی‌دار در گیاهان تلقیح شده افزایش دادند. در مورد جذب منگنز تیمارهای (T3 و T4) باعث افزایش معنی‌دار و استفاده از تیمار (T6) باعث کاهش معنی‌دار جذب منگنز در گیاه ذرت گردید. قارچ‌های میکوریزی تأثیر متفاوتی در جذب کادمیوم به عنوان یک عنصر آلاینده محیط زیست توسط گیاه ذرت از خود بروز دادند. تیمارهای (T3 و T4) به صورت معنی‌داری باعث افزایش و دو تیمار (T2 و T6) باعث کاهش معنی‌دار این پارامتر در گیاه ذرت تلقیح شده نسبت به گیاهان شاهد گردیدند. جذب دومین عنصر آلاینده یعنی کروم متأثر از قارچ‌های میکوریزی بررسی شد. دو تیمار (T3 و T4) جذب این عنصر توسط گیاه ذرت را به صورت معنی‌داری افزایش دادند. جذب آخرین عنصر آلاینده تحت بررسی، یعنی نیکل توسط گیاه ذرت در دو تیمار میکوریزی (T4 و T5) افزایش معنی‌داری نسبت به گیاهان ذرت تلقیح نشده نشان داد.

## بحث

نتایج حاصل از تعیین درصد کلونیزاسیون ریشه در کشت دو گیاه ذرت و آفتابگردان نشان داد که در تیمارهای تلقیح شده با قارچ‌های میکوریزی، این شاخص نسبت به گیاه شاهد تلقیح نشده افزایش یافته است. بیشترین میزان کلونیزاسیون ریشه در گیاه آفتابگردان ۳۶ درصد بود که نسبت به شاهد تلقیح نشده ۳۱ درصد افزایش نشان می‌دهد. در گیاه ذرت نیز بالاترین میزان کلونیزاسیون ریشه حدود ۴۵ درصد اندازه‌گیری شد که نسبت به شاهد تلقیح نشده ۳۵ درصد افزایش یافته است. این امر نشان می‌دهد که جمعیت قارچ‌های میکوریز-آربسکولار در خاک تحت بررسی کافی نبوده و به همین دلیل هر دو گیاه به تلقیح پاسخ مثبت داده‌اند. از طرف دیگر با افزایش درصد کلونیزاسیون ریشه، وزن خشک اندام هوایی در هر دو گیاه نیز افزایش یافته است. این افزایش در بهترین تیمار قارچی در

داده شده است که در همزیستی با گیاه ذرت و سویا گونه *Gigaspora margarita* نسبت به گونه *Glomus sp* کارایی بیشتری دارد (Khalil et al., 1994). از بین هفت گونه مختلف قارچ‌های میکوریزی، گونه *Glomus occultum* در همزیستی با گیاه *Cassava* بیشترین تأثیر را در جذب پتاسیم داشته است (Sieverding (and Toro, 1988) در همزیستی ایجاد شده بین سه گونه قارچ *G. diaphanum*، *G. etunicatum* و *G. intraradices* با گیاه قهوه مشاهده شده است که در خاک‌های اسیدی جذب پتاسیم توسط گیاه میزبان افزایش یافته است ولی در خاک‌های قلیایی چنین افزایشی مشاهده نشده است (Saggin and Siqueira, 1995).

گونه‌های مختلف قارچ‌های میکوریز آربسکولار نیز توانایی متفاوتی در جذب روی در گیاه میزبان کشت شده در خاک‌های مختلف از خود نشان می‌دهند. به عنوان مثال دیده شده است که در گیاه ذرت کشت شده در خاک‌های اسیدی گونه *Glomus diaphanum* بیشتر از دو گونه دیگر *G. etunicatum* و *G. intraradices* جذب روی را افزایش می‌دهد در حالی که در گیاه ذرت کشت شده در خاک‌های قلیایی گونه *G. intraradices* توانایی بیشتری در جذب روی دارد (Clark, 1997). تأثیر رابطه همزیستی میکوریزی در جذب آهن به شدت تحت تأثیر عواملی از قبیل نوع گیاه میزبان، گونه قارچ میکوریزی، pH خاک (Clark and Zeto, 1996) و همچنین میزان فسفر اضافه شده به خاک و درجه حرارت (Raju et al., 1990) قرار می‌گیرد. بنابراین تفاوت بین گیاهان میکوریزی و غیرمیکوریزی از لحاظ غلظت آهن و کل آهن جذب شده نتیجه تأثیر مستقیم هیف قارچ‌های میکوریزی در جذب بیشتر آهن و انتقال آن به گیاه میزبان نمی‌باشد و عوامل دیگری از قبیل تغییر شکل ظاهری ریشه به صورت غیر مستقیم در جذب آهن مؤثر می‌باشد (Sharma and Johri, 2002).

قارچ‌های میکوریزی در جذب عناصر سنگین کارایی متفاوتی از خود نشان دادند. در گیاه ذرت که به دلیل توسعه بیشتر اندام هوایی، توانایی بیشتری برای جذب و خارج سازی عناصر سنگین را داشت، تیمار (T4) یعنی مخلوط دو گونه قارچ کارایی بهتری نسبت به سایر تیمارهای قارچی از خود نشان داد، به گونه‌ای که تفاوت آن در جذب عناصر سنگین کادمیوم، کروم و نیکل نسبت به سایر تیمارهای قارچی در سطح ۵ درصد آماری معنی‌دار گردید. و توانست مقدار جذب این سه عنصر در

اندام هوایی گیاه ذرت را به ترتیب به میزان ۱،۵۷، ۴،۱۸ و ۳،۷۹ میکروگرم در گلدان افزایش دهد. بنابراین چنانچه در روند پاکسازی خاک‌های آلوده به این سه عنصر سنگین از کشت گیاه ذرت استفاده گردد، توصیه می‌شود برای افزایش کارایی، از تلقیح گیاه ذرت با دو گونه قارچ میکوریزی *G. mosseae* و *G. intraradices* استفاده شود. در گیاه آفتابگردان نتایج حاصله تا اندازه‌ای متفاوت بود. در مورد جذب عناصر آلاینده کادمیوم و نیکل مشخص گردید که دو گونه‌ی قارچ *G. mosseae* و *G. intraradices*، هر یک به تنهایی و یا به صورت ترکیب با هم، کارایی خوبی برای جذب کادمیوم نشان دادند به گونه‌ای که توانستند جذب این عنصر در اندام هوایی گیاه آفتابگردان را به میزان ۰،۲۱ میکرو گرم در گلدان افزایش دهند. در مورد جذب کروم هیچ یک از تیمارهای قارچی کارایی بیشتری نسبت به تیمار شاهد تلقیح نشده از خود نشان ندادند و تفاوت‌های مشاهده شده در سطوح آماری در نظر گرفته شده معنی‌دار نگردید. با این تفاوت که گونه‌ی *G. sp* در جذب کروم کارایی کمتری نسبت به تیمار شاهد تلقیح نشده از خود نشان داد. در مورد جذب نیکل در گیاه آفتابگردان، تنها گونه *G. intraradices* باعث کاهش جذب عنصر در گیاه میزبان گردید که آن هم در سطوح آماری در نظر گرفته شده معنی‌دار نبود. سایر تیمارهای قارچی جذب این عنصر را افزایش دادند که این افزایش در تیمار (T4) نسبت به شاهد تلقیح نشده معادل ۰،۲۳ میکروگرم در گلدان اندازه‌گیری گردید نتایج حاصل از کارهای صورت گرفته توسط سایر محققین نیز نشان می‌دهد که در برخی موارد قارچ‌های میکوریزی غلظت فلزات سنگین را در گیاهان افزایش می‌دهند (Liao et al., 2003) و در برخی از موارد نیز کاهش در جذب عناصر سنگین در گیاهان میکوریزی مشاهده می‌گردد (Xiong, 1993) در چنین مواردی برای همزیستی میکوریزی نقش تثبیت‌کنندگی عناصر سنگین در بافت ریشه و عدم انتقال آن به اندام هوایی در نظر گرفته شده است که در واقع یکی از مکانیسم‌هایی است که از طریق آن قارچ‌های میکوریزی توانایی گیاه را برای رشد در خاک‌های آلوده افزایش می‌دهند. بنابراین گیاه آفتابگردان نیز همانند گیاه ذرت چنانچه در فرآیند پاکسازی خاک‌های آلوده با عناصر سنگین مورد استفاده قرار گیرد، بهتر است به منظور افزایش کارایی در کشت آن از دو گونه قارچ *G. mosseae* و *G. intraradices* استفاده گردد.

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات مورد ارزیابی در کشت گیاه آفتابگردان

میانگین مربعات													
منابع تغییرات	df	وزن خشک اندام هوایی	کلونیزاسیون ریشه	ازت	فسفر	پتاسیم	آهن	روی	مس	منگنز	کادمیوم	کروم	نیکل
تلقیح با میکورایزا	۵	0.209**	2647**	97.58**	7.86*	421.6**	0.02 <sup>ns</sup>	0.03*	0.03*	0.07*	0.06*	0.045 <sup>ns</sup>	0.07*
تکرار	۴	0.036	59.24	17.76	0.39	43.25	0.014	0.003	0.02	0.03	0.01	0.05	0.04
خطا	۲۰	0.033	37.19	8.44	0.23	33.8	0.032	0.008	0.01	0.04	0.02	0.014	0.018
ضریب تغییرات		17.7	15.4	10.65	14.43	7.83	15.5	12.53	14.4	13.35	16.21	15.82	13.28

\* و \*\* به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ و ns معنی دار نیست.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر تیمارهای آزمایشی برای صفات مورد ارزیابی در کشت گیاه آفتابگردان

تیمارهای میکوریزی	وزن خشک اندام هوایی	کلونیزاسیون ریشه	ازت	فسفر	پتاسیم	آهن	روی	مس	منگنز	کادمیوم	کروم	نیکل
میکروگرم در گلدان	گرم در گلدان	درصد	میلی گرم در گلدان	میکروگرم در گلدان								
T <sub>1</sub>	0.85 <sup>c</sup>	5 <sup>d</sup>	8.77 <sup>d</sup>	1.02 <sup>c</sup>	21.2 <sup>c</sup>	--	0.038 <sup>d</sup>	0.005 <sup>c</sup>	0.022 <sup>c</sup>	0.091 <sup>c</sup>	0.6 <sup>a</sup>	0.6 <sup>bc</sup>
T <sub>2</sub>	1.21 <sup>ab</sup>	36 <sup>a</sup>	13.96 <sup>bc</sup>	3.32 <sup>b</sup>	30.36 <sup>b</sup>	--	0.117 <sup>b</sup>	0.019 <sup>b</sup>	0.024 <sup>c</sup>	0.28 <sup>a</sup>	0.67 <sup>a</sup>	0.51 <sup>c</sup>
T <sub>3</sub>	0.98 <sup>bc</sup>	30 <sup>d</sup>	17.88 <sup>ab</sup>	3.53 <sup>ab</sup>	36.8 <sup>b</sup>	--	0.098 <sup>bc</sup>	0.019 <sup>b</sup>	0.029 <sup>c</sup>	0.24 <sup>a</sup>	0.52 <sup>ab</sup>	0.67 <sup>abc</sup>
T <sub>4</sub>	1.34 <sup>a</sup>	15 <sup>c</sup>	21.0 <sup>a</sup>	4.01 <sup>a</sup>	48.38 <sup>a</sup>	--	0.249 <sup>a</sup>	0.025 <sup>a</sup>	0.053 <sup>a</sup>	0.3 <sup>a</sup>	0.58 <sup>a</sup>	0.832 <sup>a</sup>
T <sub>5</sub>	1.04 <sup>bc</sup>	9 <sup>cd</sup>	15.6 <sup>b</sup>	3.38 <sup>ab</sup>	29.7 <sup>b</sup>	--	0.067 <sup>cd</sup>	0.02 <sup>b</sup>	0.03 <sup>c</sup>	0.13 <sup>b</sup>	0.502 <sup>ab</sup>	0.66 <sup>abc</sup>
T <sub>6</sub>	0.82 <sup>c</sup>	10 <sup>cd</sup>	11.42 <sup>cd</sup>	1.36 <sup>c</sup>	29.2 <sup>b</sup>	--	0.071 <sup>cd</sup>	0.01 <sup>c</sup>	0.042 <sup>b</sup>	0.12 <sup>b</sup>	0.4 <sup>b</sup>	0.78 <sup>ab</sup>

T4:T2+T3, T5: *Glomus etunicatum* T6: *Glomus* T1: Blank T2: *Glomus intraradices* T3: *Glomus mosseae*

جدول ۴ - تجزیه واریانس صفات مورد ارزیابی در کشت گیاه ذرت

میانگین مربعات													
منابع تغییرات	df	وزن خشک اندام هوایی	کلونیزاسیون ریشه	ازت	فسفر	پتاسیم	آهن	روی	مس	منگنز	کادمیوم	کروم	نیکل
تلقیح با میکورایزا	5	1.67**	3146.9**	540.15**	26.8**	881.3*	0.016*	0.165*	0.001*	0.004*	2.159*	11.017*	10.55*
تکرار	4	0.27	102.3	32.39	0.2	255.4	0.005	0.001	0.003	0.001	0.005	0.547	0.526
خطا	20	0.3	36.66	79.16	1.23	189.22	0.002	0.004	0.001	0.007	0.007	0.495	0.287
ضریب تغییرات		15.42	14.87	13.4	15.14	17.51	15.47	16.17	18.45	9.26	18.26	18.2	17.7

\* و \*\* به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ و ns معنی دار نیست.

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر تیمارهای آزمایشی برای صفات مورد ارزیابی در کشت گیاه ذرت

تیمارهای میکوریزی	وزن خشک اندام هوایی	کلونیزاسیون ریشه	ازت	فسفر	پتاسیم	آهن	روی	مس	منگنز	کادمیوم	کروم	نیکل
گرم در گلدان	درصد	میلی گرم در گلدان	میکروگرم در گلدان									
T <sub>1</sub>	2.12 <sup>c</sup>	10 <sup>d</sup>	22.18 <sup>d</sup>	1.77 <sup>c</sup>	64.18 <sup>c</sup>	0.153 <sup>d</sup>	0.08 <sup>c</sup>	0.015 <sup>b</sup>	0.116 <sup>c</sup>	0.23 <sup>c</sup>	2.6 <sup>c</sup>	0.7 <sup>cd</sup>
T <sub>2</sub>	2.42 <sup>bc</sup>	25 <sup>c</sup>	37.06 <sup>bc</sup>	4.26 <sup>b</sup>	70.4 <sup>bc</sup>	0.18 <sup>cd</sup>	0.239 <sup>b</sup>	0.019 <sup>b</sup>	0.082 <sup>c</sup>	0.094 <sup>d</sup>	3.05 <sup>bc</sup>	0.64 <sup>d</sup>
T <sub>3</sub>	2.93 <sup>b</sup>	36 <sup>b</sup>	40.94 <sup>abc</sup>	5.06 <sup>b</sup>	77.93 <sup>bc</sup>	0.233 <sup>cd</sup>	0.256 <sup>b</sup>	0.025 <sup>a</sup>	0.164 <sup>b</sup>	0.392 <sup>b</sup>	3.66 <sup>b</sup>	1.41 <sup>c</sup>
T <sub>4</sub>	3.77 <sup>a</sup>	45.4 <sup>a</sup>	51.38 <sup>a</sup>	7.73 <sup>a</sup>	99.93 <sup>a</sup>	0.309 <sup>a</sup>	0.599 <sup>a</sup>	0.027 <sup>a</sup>	0.458 <sup>a</sup>	1.798 <sup>a</sup>	6.78 <sup>a</sup>	4.49 <sup>a</sup>
T <sub>5</sub>	3/09 <sup>ab</sup>	39 <sup>b</sup>	45.37 <sup>ab</sup>	5.77 <sup>b</sup>	88.08 <sup>ab</sup>	0.268 <sup>ab</sup>	0.236 <sup>b</sup>	0.024 <sup>a</sup>	0.112 <sup>c</sup>	0.298 <sup>bc</sup>	3.57 <sup>bc</sup>	2.34 <sup>b</sup>
T <sub>6</sub>	2/61 <sup>bc</sup>	20 <sup>c</sup>	31.128 <sup>cd</sup>	1.85 <sup>c</sup>	70.81 <sup>bc</sup>	0.211 <sup>bcd</sup>	0.129 <sup>c</sup>	0.017 <sup>b</sup>	0.045 <sup>d</sup>	0.114 <sup>d</sup>	3.52 <sup>bc</sup>	1.23 <sup>cd</sup>

T4:T2+T3, T5: *Glomus etunicatum* T6: *Glomus* T1: Blank T2: *Glomus intraradices* T3: *Glomus mosseae*

## REFERENCES

Ali -Ehyaiee, M. (1997). Methods of chemical analysis of soil. Technical publication, No. 1024, (Vol.2),

Soil and Water Research Institute, Tehran. (In Farsi).

- Al-Karaki, G. N. and Al-Raddad, A. (1997). Effects of arbuscular mycorrhizal fungi and drought stress on growth and nutrient uptake of two wheat genotypes differing in drought resistance, *Mycorrhiza*, 7, 83-88.
- Al-Karaki, G. N., Al-Raddad, A. and Clark, R. B. (1998). Water stress and mycorrhizal isolates effects on growth and nutrient acquisition of wheat, *Journal of Plant Nutrition*, 21, 891-902.
- Baker, A. J. M. Reeves, R. D. Hajar, A. S. M. (1994). Heavy metal accumulation and tolerance in British populations of the metallophyte *Thlaspi caerulescens* J.&C. Presl (Brassicaceae). *New Phytol*, 127, 61-68.
- Baker, D. E., Amachar, M. C. (1982). Nickel, copper, zinc and cadmium. In: Page A. L., Miller, R. H., Keeney, D. R., editors. Methods of soil analysis, part 2. *American Society of Agronomy*, Madison, 323-338.
- Blaylock, M. Huang, J. (2000). Phytoextraction of Metals. In: Raskin I, Ensley B (eds) *Phytoremediation of toxic metals: Using plants to clean up the environment*. Wiley Interscience, New York, pp 53-70.
- Cassel, D. K., and Nielsen, D. R. (1986). Field capacity and available water capacity, Pp. 901-926. In: Klute A (ed). *Methods of Soil Analysis. Part 1: Physical and Mineralogical Methods*, 2nd. *American Society of Agronomy and Soil Science Society of America*, Madison, WI.
- Chapman, H. D., and Pratt, P. F. (1961). *Methods of analysis for soils, plants and waters*. Division of Agricultural Sciences, *University of California*, Riverside.
- Chaudhry, T. M. Hill, L. Khan, A. G. Kuek, C. (1999). Colonization of iron and zinc-contaminated dumped @ltercake waste by microbes, plants and associated mycorrhizae. In: Wong, M.H. Wong, J.W.C. Baker, A.J.M. (Eds.), *Remediation and Management of Degraded Land*. *CRC Press LLC*, Boca Raton. pp. 275-283.
- Clark, R. B. (1997). Arbuscular mycorrhizal adaptation, spore germination, root colonization, and host plant growth and mineral acquisition at low pH. *Plant and Soil*, 192, 15-22.
- Clark, R. B., and Zeto, S. K. (1996). Mineral acquisition by mycorrhizal maize grown on acid and alkaline soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 28, 1405-1503.
- Cottenie, A. (1998). Soil and plant testing as a basis of fertilizer recommendations *F.A.O soil Bulletin*, 38/2.
- Cunningham, S. D. Berti, W. R., Huang, J. W. (1995). Phytoremediation of contaminated soils. *Tibitech*. 13, 393-397.
- Emami, A. (1996). *Methods of chemical analysis of plant*. Technical publication, No. 982, (Vol.1), *Soil and Water Research Institute*, Tehran. (In Farsi).
- Forstner, U. (1995). Land contamination by metals: global scope and magnitude of problem. In: Allen, H.E. Huang, C.P. Bailey, G.W. Bowers, A.R. editors. *Metal speciation and contamination of soil*. Boca Raton, FL: *CRC Press*, p. 1-33.
- Garbisu, C. Alkorta, I. (2003). Basic concepts on heavy metal soil bioremediation. *Eur J. Min Proc. Environ. Protect.* 13, 58-66.
- Gee, G. W., and Bauder, J. W. (1986). Particle-size analysis. In: Klute A(ed) *Methods of soil Analysis, Part 1*. 2 ed., *Agronomy Monographs. American Society of Agronomy and Soil science Society*, Madison, 9: 383-411
- Giovannetti, M., Mosse, B. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular infection in roots. *New Phytologist*, 84, 489-500.
- Glass, D. J. (1999). *U.S. and International Markets for Phytoremediation*, 1999-2000. Needham, MA: D. Glass A.
- Halim, M. Conte, P. Piccolo, A. (2003). Potential availability of heavy metals to phytoextraction from contaminated soils induced by exogenous humic substance, *Chemosphere*, 52(1), 265-75.
- Heggo, A., Angle, J. S., Chaney, R. L. (1990). Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on heavy metal uptake by soybeans. *Soil Biology & Biochemistry*, 22, 865-869.
- Isac, A. (1990). Associate chapter editor, *Methods of plant analysis, official Methods of Analysis of the A.O.A.C.*
- Jackson, M. L. (1967). *Soil Chemical analysis*. Prentice Hall of India, Private limited, New Delhi, p. 498.
- Khan, A. G. (2003). Vetiver grass as an ideal phytosymbiont for Glomalian fungi for ecological restoration of derelict land. In: Truong, P. Hanping, X. editors. *Proceedings of the third international conference on vetiver and exhibition: vetiver and water*, Guangzhou, China, p.466-74.
- Khan, A. G. Kuek, C. Chaudhry, T. M. Khoo, C. S. Hayes, W. J. (2000). Role of plants, mycorrhizae and phytochelators in heavy metal contaminated land remediation. *Chemosphere*, 41, 197- 207.
- Knasmuller, S., Gottmann, E., Steinkellner, H., Fomin, A., Pickl, C., God, R. and Kundi, M. (1998). Detection of genotoxic effects of heavy metal contaminated soils with plant bioassays. *Mutation Research*. 420, 37-48.
- Knudsen, D., Peterson, G. A., and Pratt, P. F. (1982). Lithium, sodium, and potassium. In A. L. Page, R. H. Miller, and D. R. Keeney, editors. *Methods of soil analysis, part 2. Chemical and microbiological properties*. *American Society of Agronomy*, Madison, Wisconsin, USA. 225-246
- Kumar, P. B., Nanda, A., Dushenkov, V., Motto, H., Raskin, I. (1995). Phytoextraction: The use of plants to remove heavy metals from soils. *Environ. Sci. Technol*, 29(5), 1232-1238.
- Leyval, C., Turnau, L. C., Haselwandter, K. (1997). Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization and function: physiological, ecological and applied aspects, *Mycorrhiza*, 7, 139-53.
- Liao, J. P., Lin, X. G., Cao, Z. H., Shi, Y. Q. and Wong, M. H. (2003). Interaction between



- arbuscular mycorrhizae and heavy metals under sand culture experiment. *Chemosphere*, 50, 847-853.
- Liao, J. P., Lin, X. G., Cao, Z. H., Shi, Y. Q., Wong, M. H. (2003). Interaction between arbuscular mycorrhizae and heavy metals under sand culture experiment, *Chemosphere*, 50, 847-853.
- Linger, P., Mussing, J., Fischer, H., Kobert, J. (2002). Industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) growing on heavy metal contaminated soil: fibre quality and phytoremediation potential, *Ind Crops Prod*, 16, 33-42.
- Long, X. X., Yang, X. E., Ni, W. Z. (2002). current status and perspective on phytoremediation of heavy metal polluted soils. *Journal of Applied Ecology*, 13, 757-62.
- Manteghi, N. (1365). Describe methods and laboratory studies on soil and water samples, No. 168, *Soil and Water Research Institute*, Tehran. (In Farsi).
- Marschner, H. (1995). Mineral nutrition of higher plants. San Diego, CA: *Academic Press*.
- McIntyre, T. (2003). Phytoremediation of heavy metals from soils. *Adv Biochem Eng Biotechnol*, 78, 97-123.
- Nelson, D. W., and Sommers. L. E. (1982). Total carbon, organic carbon and organic matter. In: page AL, Miller RH, Keenney DR (eds) *Methods of soil analysis*, part 2, 2nd edn. *American Society of Agronomy*, Madison, Wisconsin, 539-573.
- Nelson, D. W., Sommers, L. E. (1973). Determination of total nitrogen in plant material. *Agron. J.*, 65: 109- 112.
- Newman E. I. (1966). A method of estimating the total length of root in a sample. *Journal of Applied Ecology*, 3, 139-145.
- Olsen, R. S. (1954). Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. *US Department of Agriculture*, p. 939.
- Perkin, E. (1982). *Analytical Methods for Atomic Absorption Spectrophotometry*, Norwalk, CT, January.
- Pilon-Smits, E., Pilon, M. (2000). Breeding mercury-breathing plants for environmental clean-up, *Trends Plant Sci.*, 5, 235-236.
- Pivetz, B. (2001). Phytoremediation of Contaminated Soil and Ground Water at Hazardous Waste Sites. Ground Water Issue. *United States Environmental Protection Agency*.
- Raskin, I., Kumar, P. B. A. N., Dushenkov, V., Salt, D. E. (1994). Bioconcentration of heavy metals by plants. *Current Opin. Biotech*, 5, 285-290.
- Rejali, F. (2004). Identification of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi and determination of their ability to colonize dry land wheat. Final report, no. 1515. *Soil and Water Research Institute*, Karaj. (In Farsi).
- Rhoades, J. D. (1982). Cation exchange capacity. in A. L. Page, R. H. Miller, and D. R. Keeney(ed), *Methods of soil analysis*, part 2. Chemical and microbiological properties. *American Society of Agronomy*, Madison, Wisconsin, USA. 149-158.
- Saggin, O. J., and Siqueira, J. O. (1995). Evaluation of the symbiotic effectiveness of endomycorrhizal fungi for coffee tree. *Brazil Journal of Soil Science*, 19, 221-228.
- Salt, D. E., Blaylock, M., KumarNanda, P. B. A., Dushenkov, V., Ensley, B. D., Chet, I., Raskin, I. (1995). Phytoremediation: A novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. *Biotechnol*, 13, 468-474.
- Sharma, A. K. and Johri, B. N. (eds.). (2002). *Arbuscular Mycorrhizae, Interaction in Plants, Rhizosphere and Soils*. *Oxford and IBH Publishing*, New Delhi, p. 308.
- Shetty, K. G., Bank, M. K., Hertrik, B. A., Schwab, A. P. (1995). Effects of mycorrhizae and fertilizer amendments on Zinc tolerance of plants. *Environmental Pollution*, 88, 307-314.
- Sieverding, E., and Toro, T. S. (1988). Influence of soil water regimes on VA mycorrhiza. V. Performance of different VAM fungal species with cassava. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 161, 322-332.
- Tennant, D. (1975). A test of a modified line intersection method of measuring root length. *Journal of Ecology*, 63, 995-1001.
- Tessier, A. P. G., Campbell, C. and Bisson, M. (1979). Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Anal. Chemosphere*, 51, 844-850.
- Waling, I., Van Vark, W., Houba, V. J. G., and Van der lee, J. J. (1989). *Soil and plant analysis, a series of syllabi part7. Plant Analysis procedures. Wageningen Agriculture University*.
- Weissenhorn, I., Leyval, C. (1995). Root colonization of maize by a Cd-sensitive and a Cd-tolerant *Glomus mosseae* and cadmium uptake in sand culture. *Plant Soil*, 175, 233-238.
- Xiong, L. M. (1993). Vesicular- arbuscular mycorrhizae decrease cadmium uptake by plant. *Journal of plant Resources and Environment*, 2 (3), 58-60.