

Comparison of Cadmium Toxicity and Absorption from Polymer-Cd and Nitrate-Cd by *Corn* Inoculated with *Glomus caledonium*

MILAD BABADI¹, ROYA ZALAGHI^{2*}, MEHDI TAGHAVI³

1. MSc Student, Department of Soil Sciences, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

2. Assistant Professor, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

3. Assistant Professor, Department of Chemistry, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

(Received: Dec. 15, 2018- Revised: Jan. 16, 2019- Accepted: Jan. 19, 2019)

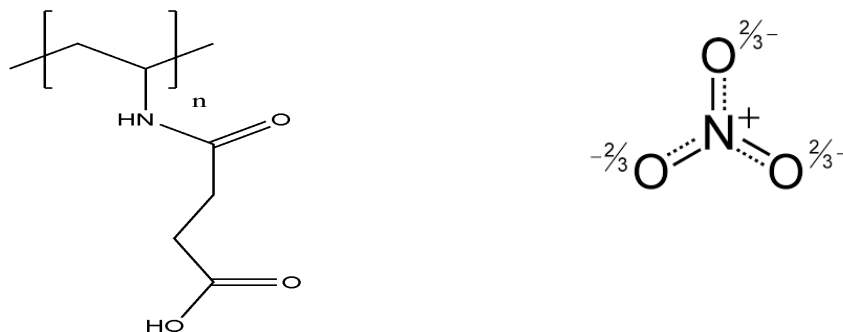
ABSTRACT

In the recent decades, the industrial revolution resulted in contamination of the biosphere by heavy metals and mycorrhizal fungi could affect the metals uptake by the plant. This research was carried out using *Zea mays* with three levels of soil Cd contamination (0, 50 mg kg⁻¹ using Polymer (Poly-hydroxybutanamide) – Cd, and 50 mg kg⁻¹ using Cd-nitrate) and two levels of mycorrhizal (inoculated with *Glomus Caledonium* and non-inoculated) with three replications in a factorial experiment as a completely randomized design in greenhouse conditions. Cadmium pollution caused a significant reduction ($P \leq 0.05$) in shoot dry weight (from 31.05 to 26.34 and 27.10 g pot⁻¹), shoot phosphorus concentration (from 0.37 to 0.36 and 0.36 g kg⁻¹), soil carbohydrate (from 12.67 to 10.40 and 9.81 mg g⁻¹) and also resulted an increases in soil glomalin (from 458.56 to 600.37 and 635 μg g⁻¹) from control to polymer-Cd and nitrate-Cd respectively. Inoculation with mycorrhizal fungi reduced Cd uptake by the *Zea mays*, increased the soil glomalin content and improved the soil biological parameters. The results of this study showed that glomalin is an important protein in response to stress condition of Cd contamination. Poly-hydroxybutanamide polymer (a non-toxic compound) increased Cd availability and Cd uptake by plant (34.91 mg kg⁻¹) compared to nitrate-Cd (19.83 mg kg⁻¹) and it could be recommended to improve phytoremediation.

Keywords: Arbuscular-vesicular mycorrhiza, Cadmium, Carbohydrate, Corn, Glomalin

است بسته به گونه *Arbuscular Mycorrhizal Fungi*، گونه‌های گیاهی میزبان، سطح آلودگی فلز سنگین و ویژگی‌های خاک تغییر کند (Ferrol et al., 2016; Göhre V, Paszkowski, 2006). نتایج پژوهش‌های مختلف نشان داده که جمعیت میکروارگانیزم‌های خاک تحت تأثیر آلودگی فلزات سنگین قرار می‌گیرد (Wang et al., 2010; Zhang et al., 2015). Khan et al. (2010) نیز با انجام پژوهشی کاهش تعداد و فعالیت قارچ‌ها را در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین گزارش کردند. پژوهش‌های گوناگون نشان می‌دهد که ترشحات این قارچ‌ها (گلوکالین و کربوهیدرات) بر پایداری ساختمان خاک و مقاومت در برابر تنش‌ها مؤثر می‌باشد (Hallett et al., 2009). گلوکالین گلیکوپروتئین اختصاصی قارچ‌های شاخه *Glomeromycota*، ترکیبی پایدار، نامحلول در آب و مقاوم به دما می‌باشد که به نظر می‌رسد در غیرپویایی فلزات سنگین نقش داشته باشد (Gonzalez-chavez et al., 2004). به طور کلی، به نظر می‌رسد قارچ‌های میکوریزا آربوسکولار قادر به افزایش مقاومت گیاه و تعدیل سمیت ایجادشده توسط فلز سنگین برای گیاه می‌باشند (Biro and Takacs., 2007). سرنوشت فلزات سنگین موجود در خاک، با توجه به شرایط محیطی خاک، بسیار متفاوت بوده و مناسب‌ترین روش بررسی سمیت فلزات سنگین، برآورد میزان جذب و سمیت آن‌ها برای ریزجانداران خاک و گیاه می‌باشد (Lasat, 2000). در پژوهش‌های پیشین برای بهبود وضعیت آلودگی خاک، بیشتر روش‌های شیمیایی با استفاده از ترکیباتی مانند EDTA برای افزایش تحرک فلزات سنگین در خاک استفاده شده است (Nowack et al., 2006; Li and

Shuma, 1996) که عمدتاً ترکیباتی سمی برای گیاه می‌باشند ولی بهتر است از ترکیباتی با کمترین اثر سوء بر محیط‌زیست و شرایط بیولوژیکی خاک استفاده شود. در تحقیقات گذشته، آلوده کردن خاک به طور مصنوعی با استفاده از نمک‌های کلرید و نیترات کادمیوم انجام گرفته و عموماً پاسخ گیاه و ریزجانداران به سطوح متفاوت عناصر سنگین در خاک بررسی شده است و طبق تحقیقات نویسندگان تاکنون گزارشی درباره استفاده از ترکیبات متفاوت عناصر سنگین (به‌ویژه ترکیبات پلیمری) ارائه نشده است. لذا این تحقیق با هدف بررسی تأثیر مایه‌زنی ذرت با قارچ *Glomus Caledonium* و مقایسه جذب کادمیوم در این گیاه از ترکیب پلیمری هیدروکسی بوتان آمید با فرمول $(C_6H_9NO_3)_n$ که پلیمری غیر سمی برای گیاه می‌باشد در مقایسه با ترکیب معمول نیترات کادمیوم انجام گردید (شکل ۱). این پلیمر در آزمایشگاه به صورت صنعتی ساخته شده و تمایل بسیار بالایی برای جذب عناصر سنگین دارد، لذا می‌توان به‌عنوان جاذب فلزات سنگین از آن استفاده کرد. هر کدام از ترکیبات نیترات کادمیوم و پلیمر کادمیوم در خاک ممکن است به فرم‌های دیگر درآمده و جذب آنها روی سطوح رس، حلالیت آنها و جذب آنها به گیاه تغییر نماید. از طرفی در این پژوهش می‌توان تأثیر قارچ میکوریزا را بر انتقال کادمیوم به گیاه مشاهده نمود. لذا با توجه به نتایج این پژوهش می‌توان تصمیم‌گیری نمود که راهکارهایی مانند استفاده از پلیمر و نیز استفاده از گیاه همراه با قارچ میکوریزا تا چه اندازه می‌تواند به زیست پایایی کادمیوم کمک کند.



شکل ۱. مقایسه شکل نیترات و پلیمر هیدروکسی بوتان آمید، سمت راست نیترات و سمت چپ واحد سازنده پلیمر هیدروکسی بوتان آمید

خشک‌کردن و گذراندن از غربال دو میلی‌متری، برای تعیین ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک به روش‌های استاندارد (Carter and Gregorich., 2008)، به آزمایشگاه منتقل شد (جدول ۱).

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری خاک

خاک مورد استفاده در این آزمایش که از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متری مزرعه کشاورزی دانشگاه شهید چمران تهیه شد، پس از هوا

آماده‌سازی تیمارها

آزمایشی گلخانه‌ای به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار و جمعاً ۱۸ گلدان در گلخانه تحقیقاتی گروه علوم خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز اجرا گردید. دو فاکتور موردبررسی شامل سطوح قارچ (بدون قارچ و با قارچ *Glomus caledonium*، در نام‌گذاری جدید *caledonium Funneliformis* معرفی شده است) و سطوح کادمیوم (شامل صفر، 50 mg kg^{-1} کمپلکس با پلیمر و 50 mg kg^{-1} از نمک نیترات کادمیوم) بودند. برای این پژوهش از پلیمری غیر سمی برای گیاه از جنس پلی آمید (Poly-hydroxybutanamide) که محلول در آب می‌باشد و قابلیت جذب و کمپلکس بالایی با کادمیوم دارد استفاده گردید. این پلیمر در آزمایشگاه با نمک نیترات کادمیوم مخلوط شده تا کمپلکس پلیمر کادمیوم ساخته شود.

برای آلوده کردن خاک به کادمیوم، ابتدا مقدار لازم از کمپلکس پلیمر-کادمیوم و نمک نیترات کادمیوم به صورت جداگانه در آب مقطر حل شده و به‌طور یکنواخت به خاک پاشیده شد و پس از رساندن رطوبت آن به حد FC (با استفاده از صفحات فشاری تعیین شد) به‌منظور حصول تعادل فلزات سنگین با خاک گلدان‌ها، به مدت یک ماه در حالت انکوباسیون نگهداری گردید (Karimi and Khodaverdiloo., 2014).

نمونه‌های خاک آلوده شده به گلدان‌هایی با ظرفیت ۵ کیلوگرم منتقل گردید. برای اعمال تیمارهای میکروبی، در تیمارهای مربوط به قارچ، قبل از کشت، در زیر بذرها ۱۵۰ گرم از مایه تلقیح میکوریزایی از گونه *Glomus caledonium* شامل هیف، اسپور و قطعات کلونیزه شده ریشه‌ای گیاه سورگوم (تهیه‌شده از شرکت زیست فناوریان توران) به‌صورت لایه‌ای به ضخامت تقریبی ۲ سانتی‌متر، در عمق ۳ سانتی‌متری خاک، اضافه شد. در آغاز در هر گلدان ۱۲ عدد بذر ضدعفونی شده ذرت (رقم سینگل گراس ۷۰۴) با فواصل منظم در گلدان‌های موردنظر کشت گردید که در مرحله چهار برگی تنک و در هر گلدان ۶ گیاه همسان نگهداری شد. آبیاری گلدان‌ها در طول دوره رشد، با آب تصفیه‌شده به روش وزنی تا ۷۰ درصد ظرفیت زراعی انجام گردید.

اندازه‌گیری‌های گیاه

اندازه‌گیری شاخص کلروفیل برگ‌ها توسط دستگاه کلروفیل سنج Spad-502، یک هفته قبل از برداشت گیاهان انجام شد. پس از گذشت ۱۲ هفته از تاریخ کشت، گیاه برداشت و اندام‌های هوایی و ریشه‌ها تفکیک شده و پس از شستشو در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت در آن خشک، توزین و پودر شده و برای عصاره‌گیری از روش هضم با اسید نیتریک ۴ مولار در

حرارت ۹۵ درجه سانتی‌گراد استفاده شد (Allen et al., 1993). پس از صاف نمودن عصاره‌ها، غلظت فسفر به روش رنگ سنجی وانادات-مولیبدات (Cottenie, 1980) و غلظت فلزات سنگین به‌وسیله دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد.

درصد کلونیزاسیون ریشه

به‌منظور تعیین درصد همزیستی میکوریزایی، ریشه‌های رنگ‌آمیزی شده با تریپان بلو (Phillips and Hayman., 1970)، در سطح پتری شبکه‌بندی شده، قرار داده شد و با استفاده از بینوکولار، درصد همزیستی میکوریزایی به روش تقاطع خطوط شبکه بررسی شد (Giovannetti and Mosse, 1980). در این روش ابتدا یک پتری شبکه‌بندی شده و سپس حدود ۶۰ عدد قطعات ریشه رنگ‌آمیزی شده درون آن پخش شده و تعداد تقاطع ریشه‌ها با خطوط پتری شمارش شده و سپس هر تقاطع زیر بینوکولار مشاهده شد و تعداد تقاطع‌های میکوریزایی مشخص گردید. درصد کلونیزاسیون ریشه از نسبت تعداد تقاطع‌های میکوریزایی شده به تعداد کل تقاطع‌ها به‌صورت درصد محاسبه گردید.

فاکتور انتقال کادمیوم گیاه، از بخش کردن غلظت کادمیوم در بخش هوایی به غلظت کادمیوم در ریشه برآورد شد. فاکتور تغلیظ زیستی از بخش کردن غلظت کادمیوم در بخش هوایی (میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک) به غلظت کادمیوم فراهم خاک (عصاره‌گیری شده با DTPA بر اساس میلی‌گرم بر کیلوگرم) برآورد شد (Barbosa et al., 2015). عصاره‌گیری گلوبالین آزاد و کل در خاک توسط محلول سدیم سترات (Wright and Upadhyaya, 1996) و قرائت پروتئین (گلوبالین) توسط روش بردفورد انجام گردید (Bradford, 1976). غلظت کربوهیدرات در خاک توسط روش فنل - اسید سولفوریک به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Dubois et al., 1956).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از طریق نرم‌افزار SAS 9.4 و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام گرفت.

نتایج و بحث

ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی خاک

جدول (۱) برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه را نشان می‌دهد. این خاک دارای بافتی متوسط (لومی-رسی)، pH آن در محدوده‌ی خاک‌های آهکی، غیر شور،

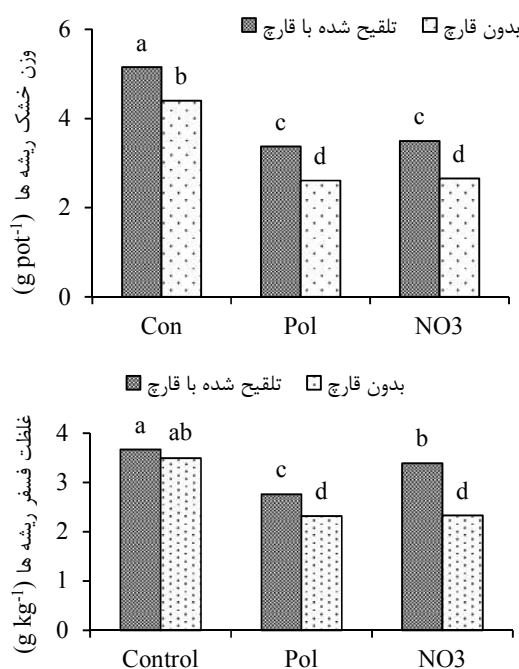
وزن خشک بخش هوایی و ریشه

آلودگی کادمیوم سبب کاهش معنی‌دار وزن خشک بخش هوایی و ریشه گیاه شد و کمترین عملکرد گیاه در تیمارهای حاوی پلیمر-کادمیوم مشاهده گردید (شکل ۲). با توجه به اینکه کادمیوم یک عنصر سمی برای گیاهان است کاهش رشد گیاه در نتیجه سمیت کادمیوم دور از انتظار نبود. سمیت کادمیوم ناشی از اختلالاتی است که کادمیوم در فعالیت آنزیم‌ها ایجاد می‌کند. کادمیوم از تشکیل آنتوسیانین و رنگدانه‌های کلروفیل ممانعت نموده و اثر منفی و مخربی را در گیاه برجای می‌گذارد. همچنین با کاهش میزان تعرق، فتوسنتز، غلظت عناصر غذایی در گیاه و در نهایت کاهش مقاومت گیاه باعث کاهش عملکرد گیاه می‌شود (Rasouli.Sadaghiani *et al.*, 2018).

غیر سدیمی و با توجه به حدود مجاز گزارش‌شده در منابع (Cariny, 1995)، غیرآلوده به فلزات سنگین بود.

جدول ۱. برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی اندازه‌گیری شده در خاک مورد مطالعه

ویژگی (واحد)	مقدار
هدایت الکتریکی (dS m^{-1})	۲/۱
pH	۷/۲
پتاسیم (mg kg^{-1})	۲۹۰
کربنات کلسیم (درصد)	۳۸
فسفر قابل جذب (mg kg^{-1})	۷/۱
بافت خاک	Clay Loam
کادمیوم کل (mg kg^{-1})	۲/۵۴



شکل ۲. وزن خشک و فسفر بخش هوایی و ریشه گیاه در سطوح مختلف کادمیوم و تیمارهای قارچی اختصارها: con: شاهد، pol: ترکیب پلیمر-کادمیوم و NO₃: ترکیب نترات کادمیوم

سطوح صفر، پلیمر کادمیوم و نترات کادمیوم به ترتیب ۹/۸۰، ۷/۶۰ و ۵/۵۶ درصد و در ریشه به ترتیب، ۱۴/۵۶، ۲۲/۵۵ و ۲۳/۷۸ درصد نسبت به تیمار غیر میکوریزایی افزایش نشان دادند. مکانیسم‌های مختلفی در ارتباط با تأثیر میکوریزا بر رشد ریشی گیاهان ذکر شده است. یکی از مهم‌ترین این مکانیسم‌ها تأثیر میکوریزا بر جذب عناصر غذایی از جمله نیتروژن، فسفر و پتاسیم خاک است (James *et al.*, 2008). بالا بودن وزن خشک گیاهان میکوریزایی در مقایسه با گیاهان غیرمیکوریزایی، عمدتاً به دلیل انتشار میسلیم قارچ‌های میکوریزا و افزایش کارایی و سطح جذب

کاهش عملکرد ریشه گیاهان در اثر سمیت کادمیوم به این دلیل است که کادمیوم از تقسیم سلول‌های مرستمی و رشد سلول‌های ریشه جلوگیری کرده و عملکرد ریشه گیاهان را می‌کاهد (Matraszek *et al.*, 2016; Abdollahi and Golchin, 2018). همزیستی با قارچ در تیمارهای آلوده و غیرآلوده سبب افزایش وزن خشک بخش هوایی و ریشه شد به طوری که در هر سطح از غلظت کادمیوم در خاک، مقادیر وزن خشک شاخساره گیاه و ریشه در تیمارهای قارچی به طور معنی‌داری بیشتر از تیمار غیرقارچی بود. در تیمارهای میکوریزایی، وزن خشک شاخساره

و ترشح آنزیم فسفاتاز توسط ریشه‌های میکوریزا باعث می‌شود که فسفات‌های غیرمحلول و تثبیت‌شده در خاک به فرم محلول درآید و برای ریشه قابل جذب گردد (Song, 2005).

غلظت کادمیوم

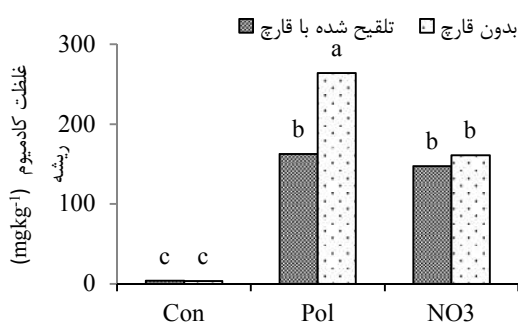
بر اساس این نتایج، کادمیوم جذب‌شده به بخش هوایی و ریشه در گیاهان میکوریزایی به‌طور معنی‌داری کمتر از گیاهان غیرمیکوریزایی بود (شکل ۳). Joner and leyval (2001) گزارش کردند قارچ‌های میکوریزا می‌توانند با غیرمتحرک کردن کادمیوم در ریشه‌ها و زی‌توده قارچی سبب کاهش جذب و سمیت آن برای گیاه شوند. قارچ‌ها می‌توانند تحمل گیاهان به تنش‌های مختلف محیطی از جمله فلزات سمی مانند کادمیوم را افزایش دهند (Wang *et al.*, 2017؛ Joner and Leyval, 2001). این نتایج برخلاف نتایج برخی از پژوهش‌گران بود که گزارش کرده بودند قارچ‌های میکوریزا سبب افزایش جذب فلزات سنگین از طریق کلاته شدن فلزات سنگین می‌شود (Miransari, 2011). در حالی که با نتایج برخی پژوهشگران نیز مشابه بود (Shetty *et al.*, 1994; Zho *et al.*, 2001). نکته قابل توجه این می‌باشد که تیمار پلیمر کادمیوم با اینکه از نظر وزن خشک اندام هوایی و ریشه تفاوت معنی‌داری با تیمار نیترات کادمیوم ندارد (شکل ۲) ولی غلظت کادمیوم بالاتری دارد (شکل ۳). همچنین با توجه به آستانه سمیت کادمیوم در گیاه ($5-30 \text{ mg kg}^{-1}$)، بر اساس سازمان بهداشت جهانی (Lagriffoul *et al.*, 1998) غلظت کادمیوم در بخش هوایی تیمار پلیمر-کادمیوم، بیش از حد آستانه بوده، لذا بیشتر از سایر تیمارها تحت تأثیر آلودگی فلز سنگین قرار گرفته است.

بیشترین مقدار جذب کادمیوم در ریشه و بخش هوایی مربوط به تیمار غیرمیکوریزایی پلیمر-کادمیوم است. از آنجایی که پلیمر مورد استفاده، محلول در آب بوده، به نظر می‌رسد پلیمر حلالیت کادمیوم را افزایش داده و آن را به گونه قابل دسترس برای گیاه تبدیل کرده است. بررسی مقدار عنصر تجمع یافته در بخش هوایی و ریشه گیاه نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم در خاک میزان جذب این عنصر توسط گیاه افزایش می‌یابد.

و تولید هورمون‌های محرک رشد گیاه مانند اکسین و سیتوکینین می‌باشد و همین امر سبب بهبود تغذیه و تقویت رشد گیاهان میکوریزایی می‌گردد. افزایش جذب فسفر به‌عنوان یک عامل مهم، سبب رشد بهتر گیاهان میکوریزایی می‌گردد و به نظر می‌رسد گیاهان میکوریزایی شانس بیشتری برای بقا و رشد در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین داشته باشند (Andrade *et al.*, 2004). همچنین در گیاهان میکوریزایی شده حبس فلزات سنگین در واکوئل از گردش آزاد یون‌های فلزات سنگین در سیتوزول جلوگیری می‌کند و به همین دلیل بردباری گیاهان به تنش فلزات سنگین افزایش می‌یابد (Miransari, 2011; Dary *et al.*, 2010).

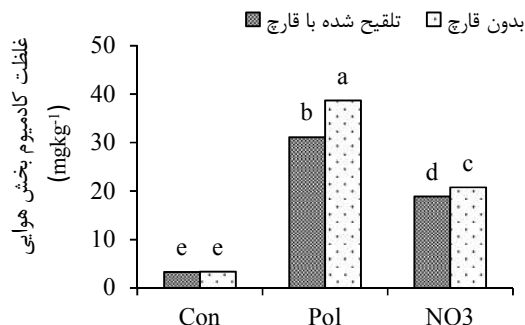
غلظت فسفر

غلظت فسفر ریشه در گیاهان مایه‌زنی شده و گیاهان مایه‌زنی نشده، با افزایش غلظت کادمیوم خاک، کاهش یافت. غلظت فسفر در گیاهان میکوریزایی بیش از غیرمیکوریزایی بود (شکل ۳). این نتایج با یافته‌های Christie *et al.* (2004) و Klironomos (2003) مطابقت دارد. نتایج برخی پژوهشگران نشان می‌دهد که عناصر سمی مانند کادمیوم بر فعالیت‌های میکروبی خاک تأثیر منفی داشته، سبب کاهش کلونیزاسیون و غیرفعال شدن آن‌ها شده و در نهایت منجر به مختل شدن چرخه عناصر غذایی و جذب فسفر می‌شوند (Lorenz *et al.*, 2006; Roy *et al.*, 2004). نتایج آنان نشان داد که کادمیوم از طریق ایجاد اختلال در متابولیسم فسفر در گیاه، منجر به بازدارندگی فعالیت آنزیم‌های فسفاتی شده و در نتیجه مقدار فسفر در گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. تیمار با قارچ باعث جذب فسفر در شرایط غلظت بالای کادمیوم گردید. به نظر می‌رسد قارچ میکوریزا به‌طور غیرمستقیم با افزایش جذب فسفر از یک‌سو و افزایش رشد گیاه از سوی دیگر منجر به کاهش پیامدهای زیان‌بار فلزات سنگین در گیاه میزبان می‌شود (Gaur and Adholeya, 2004). قارچ‌های میکوریزا قادرند با استفاده از گسترش ریشه‌های خارجی و تغییر مورفولوژی ریشه گیاهان، سطح جذب ریشه و انتقال مواد غذایی و از جمله فسفر به ریشه را افزایش دهند (James *et al.*, 2008). همچنین تولید



شکل ۳. غلظت کادمیوم بخش هوایی و ریشه گیاه در سطوح مختلف کادمیوم و تیمارهای قارچی

con شاهد، pol ترکیب پلیمر-کادمیوم و NO₃ ترکیب نیترات کادمیوم



انتقال کادمیوم از ریشه به بخش هوایی همان گونه که شکل (۴) نشان می‌دهد با افزایش غلظت کادمیوم در خاک، شاخص انتقال کاهش یافت. همچنین شاخص انتقال در گیاهان میکوریزایی بیشتر از غیرمیکوریزایی بود اما اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P \leq 0.05$).

انتقال کادمیوم از ریشه به بخش هوایی بالاترین شاخص انتقال گیاهی کادمیوم در سطح صفر کادمیوم بود و با افزایش غلظت کادمیوم از میزان آن به‌طور معنی‌دار کاسته شد. کاهش کارایی انتقال گیاهی کادمیوم از ریشه به بخش هوایی در سطوح آلودگی کادمیوم در مقایسه با سطح شاهد نشان می‌دهد که گیاه، سازوکار تجمع کادمیوم بیشتر در ریشه را در مقابل انتقال آن به بخش هوایی برگزیده است. بدین معنا که با افزایش آلودگی کادمیوم خاک، اندام هوایی و ریشه گیاه به یک نسبت کادمیوم را برداشت نمی‌کنند بلکه بیشتر در ریشه گیاه ذخیره می‌گردد. در واقع میکوریزا تأثیر بزرگی در کاهش غلظت کادمیوم ریشه و اندام هوایی گیاه داشت اما بر شاخص انتقال تأثیر معنی‌داری نداشت. Becerril et al. (2002) در بررسی اثر قارچ‌های میکوریزایی در خاک‌های آلوده به عنصر کادمیوم نشان دادند، غلظت کادمیوم ریشه گیاهان میکوریزایی ۲۰-۵۰ برابر غلظت آن در ساقه بود. Bradley و Gonzalez et al. (2005) و (1982) اظهار نمودند که قارچ‌های میکوریزایی انتقال سرب و کادمیوم را به بخش هوایی گیاه کاهش می‌دهند. با توجه به نتایج این پژوهش احتمالاً کادمیوم در ریشه‌های گیاه و در هیف‌ها و میسلیوم‌ها ذخیره می‌گردد و از انتقال آن به بخش هوایی تا حدود زیادی جلوگیری به عمل می‌آید که نوعی مکانیسم برای کاهش اثرات سمی کادمیوم در بخش هوایی می‌باشد. Kapoor and Viraraghavan (1995) نشان دادند که قارچ‌های میکوریزا آربسکولار توانایی جذب کادمیوم را دارند. ترکیبات دیواره سلولی قارچ‌ها حاوی گروه‌های آمین آزاد، هیدروکسیل، کربوکسیل و سایر گروه‌ها هستند که می‌توانند مکان اتصال برای یون‌های Cd^{2+} باشند.

شاخص تغلیظ زیستی
شاخص تغلیظ زیستی شاخصی برای توانایی گیاه در تجمع یک فلز خاص نسبت به غلظت آن فلز در بستر خاک می‌باشد (Barbosa et al., 2015). تغییر در میزان شاخص تغلیظ زیستی به‌زی‌توده هر گیاه و غلظت عنصر بستگی دارد. با افزایش آلودگی خاک، شاخص تغلیظ زیستی شاخصاره به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0.05$) کاهش یافت. بیشترین شاخص تغلیظ زیستی کادمیوم شاخصاره را می‌توان در تیمار سطح صفر کادمیوم مشاهده کرد (شکل ۴). مقادیر این شاخص نشان می‌دهد نسبت به مقدار کادمیوم زیست فراهم خاک، ذرت (با میانگین تغلیظ زیستی شاخصاره ۲/۷۹) توانایی بالایی در تغلیظ کادمیوم در شاخصاره داشت؛ اگرچه که با افزایش آلودگی، مقدار این شاخص کاهش یافت.

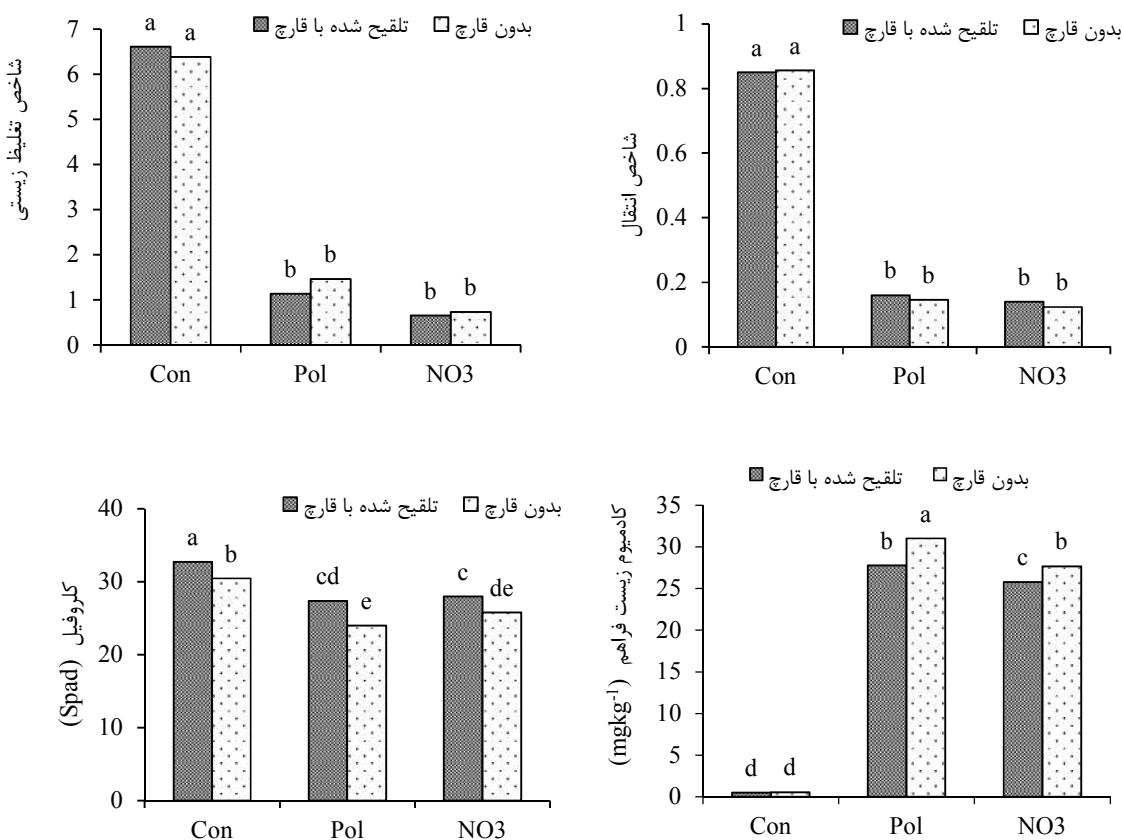
شاخص کلروفیل
همان‌طور که در شکل (۴) مشاهده می‌شود، شاخص کلروفیل در همه تیمارهای آلوده به کادمیوم نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($P \leq 0.05$). این شاخص با افزایش سطوح آلودگی از صفر به ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در تیمارهای قارچی و غیر قارچی به ترتیب ۱۴/۴۸ و ۱۵/۲۱ درصد کاهش یافت. افت شدید شاخص کلروفیل می‌تواند در نتیجه افزایش غلظت کادمیوم گیاه و اختلال در جذب عناصری نظیر آهن، منیزیم، منگنز و به‌طور کلی اختلال در تغذیه معدنی گیاه، از طریق ممانعت در جذب به ریشه‌ها (به دلیل رقابت کادمیوم با این عناصر در جذب یا اختلال در نفوذپذیری غشاها و ناقلین یون‌ها) یا انتقال آن‌ها به بخش هوایی (از طریق تأثیر بر پتانسیل آبی آوندهای چوبی به دلیل اختلال در تعرق) گیاهان باشد (Patra et al., 2004). غلظت بالای کادمیوم در گیاهان، فعالیت‌های متابولیکی از جمله فتوسنتز، عملکرد آنزیم‌ها و هورمون‌ها (به‌ویژه هورمون‌های رشد) را مختل می‌سازد (Kuper et al., 2005).

کادمیوم فراهم خاک
مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد با افزایش غلظت کادمیوم در خاک، غلظت کادمیوم زیست فراهم خاک، در همه $?$ $?$ $?$ ی‌داری ($P \leq 0.05$) افزایش یافت. غلظت کادمیوم زیست فراهم در خاک (در دسترس گیاه) در تیمارهای مایه‌زنی شده، در تیمارهای آلوده به کادمیوم معنی‌دار بود (شکل ۴). Zhang et al. (2018) در پژوهشی بیان نمودند که مایه‌زنی با قارچ میکوریزا می‌تواند سبب تثبیت فلز سنگین و تعدیل اثر سمی آن برای رشد گیاه باشد. این نتایج با نتایج برخی از پژوهش‌ها مشابه بود (Liu

نتایج بدست آمده نشان داد مایه‌زنی قارچ باعث افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی و میزان کلروفیل نسبت به شاهد شد. Chen et al., 2005 گزارش کردند که یکی از دلایل افزایش میزان

کلروفیل در گیاهان باشد زیرا گزارش‌های زیادی از افزایش جذب فسفر به گیاه میزبان میکوریزا ارائه گردیده است. با توجه به نتایج بدست آمده مشخص شد که این شاخص همبستگی مثبت و بالایی با وزن خشک ریشه و اندام هوایی، کربوهیدرات، فسفر ریشه و اندام هوایی و همبستگی منفی و متوسطی (جدول ۲) با غلظت کادمیوم ریشه و اندام هوایی داشت.

کلروفیل در گیاهان مایه‌زنی شده با قارچ، جذب بیشتر عناصر معدنی می‌باشد. همچنین Karimi *et al.* (2015) بیان نمودند که قارچ‌ها با تأثیر بر روی پروتئین‌های درگیر در فرآیند فتوسنتز و چرخه کالوین و افزایش بیان آن‌ها، نقش مؤثرتری در حفظ و پایداری فتوسنتز ایفا می‌کنند. Zarea *et al.*, 2012 گزارش دادند که بالا بودن میزان کلروفیل در گیاهان مایه‌زنی شده با قارچ، می‌تواند به علت وجود رابطه مثبت بین غلظت فسفر و مقدار

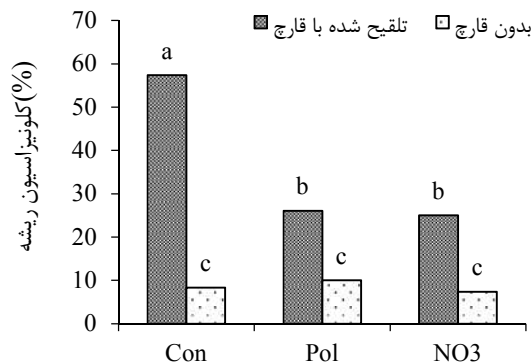


شکل ۴. شاخص انتقال، شاخص تغلیظ زیستی و کلروفیل در سطوح مختلف کادمیوم و تیمارهای قارچی con شاهد، pol ترکیب پلیمر-کادمیوم و NO₃ ترکیب نیترات کادمیوم

کلونیزاسیون ریشه در خاک‌های آلوده به دلیل سمیت ناشی از فلزات سنگین برای اندام‌های قارچی می‌باشد. همچنین در مطالعات دیگر با بررسی تأثیر همزیستی میکوریزایی بر رشد گیاه در شرایط آلودگی کادمیوم نشان داده شد که با افزایش غلظت کادمیوم درصد همزیستی کاهش یافت و کادمیوم رشد و گسترش هیف‌های قارچی و طول ریشه‌های آلوده را محدود نمود (Yang *et al.*, 2008; Sara *et al.*, 2017). نتایج پژوهش‌های مختلف نشان داده که جمعیت قارچ‌ها و باکتری‌های خاک تحت تأثیر آلودگی فلزات سنگین قرار می‌گیرد (Wang *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2015; Karimi *et al.*, 2018)

درصد کلونیزاسیون ریشه‌ها

درصد کلونیزاسیون ریشه با افزایش غلظت کادمیوم کاهش یافت. بیشترین و کمترین درصد کلونیزاسیون به ترتیب در غلظت‌های صفر و ۵۰ میلی‌گرم نیترات کادمیوم مشاهده شد (شکل ۵). به-عبارت دیگر، درصد همزیستی در بالاترین غلظت کادمیوم به مقدار ۵۸/۳۹ درصد نسبت به شرایط بدون کادمیوم کاهش یافت و می‌توان گفت به تبع آن بهره‌مندی گیاه از منافع همزیستی با قارچ میکوریزا محدود شده است. مطالعات نشان می‌دهد عناصر سنگین بر کلونیزاسیون میکوریزایی ریشه تأثیر منفی می‌گذارد (Liao *et al.*, 2003; De andrade *et al.*, 2008) کاهش درصد



شکل ۵. اثر برهمکنش سطوح کادمیوم و قارچ بر درصد کلونیزاسیون ریشه و نمایی از ریشه رنگ آمیزی شده با میکروسکوپ نوری Olympus CX31P-5
con شاهد، pol ترکیب پلیمر-کادمیوم و NO₃ ترکیب نیترات کادمیوم

دلیلی بر تأثیر مثبت این قارچ‌ها بر غلظت کربوهیدرات در خاک باشد (Wu et al., 2012).

گلوالمین ساده و کل

با افزایش غلظت کادمیوم در خاک آلوده‌شده، غلظت گلوالمین افزایش یافت (شکل ۶). به طوری که بیشترین گلوالمین تولیدشده در تیمار قارچی نیترات کادمیوم بود. همچنین مشاهده شد که در تیمارهای میکوریزایی مقادیر گلوالمین در تمامی سطوح کادمیوم بیشتر از تیمارهای غیر میکوریزایی بود ($P \leq 0.05$). در تیمارهای مایه‌زنی‌شده با قارچ، با افزایش سطوح کادمیوم از صفر به ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک، در مقایسه با تیمار شاهد ۱۹/۲ درصد افزایش در غلظت گلوالمین خاک مشاهده شد (شکل ۶)؛ و این افزایش در تیمار نیترات کادمیوم ۹/۲۴ درصد بیشتر از تیمار پلیمری بود. تأثیر سطوح مختلف کادمیوم و قارچ بر تولید گلوالمین کل معنی‌دار بود. در تیمارهای قارچی در مقایسه با شاهد بدون قارچ، با افزایش سطوح کادمیوم، گلوالمین خاک افزایش یافت (شکل ۶). به طوری که بیشترین مقدار گلوالمین به ترتیب مربوط به تیمار مایه‌زنی‌شده نیترات کادمیوم و بعد از آن تیمار مایه‌زنی‌شده پلیمر کادمیوم بود. همچنین نتایج نشان داد که مایه‌زنی با قارچ سبب افزایش ۹/۵۲ درصدی نسبت به تیمار مایه‌زنی نشده بود.

به عنوان مزایای ارتباط هم‌زیستی بین گیاهان و قارچ‌ها، می‌توان به هیف‌ها اشاره کرد که حجم بیشتری از خاک را تحت تأثیر قرار می‌دهند و امکان جذب و تثبیت فلزات سنگین را نیز فراهم می‌کنند. به علاوه، این قارچ‌ها گلوالمین را آزاد می‌کنند که به تشکیل کمپلکس فلزات سنگین در خاک کمک می‌کند. اگرچه درصد کلونیزاسیون ریشه در تنش آلودگی کادمیوم (در تیمارهای نیترات کادمیوم و پلیمر-کادمیوم) کاهش یافت ولی تولید

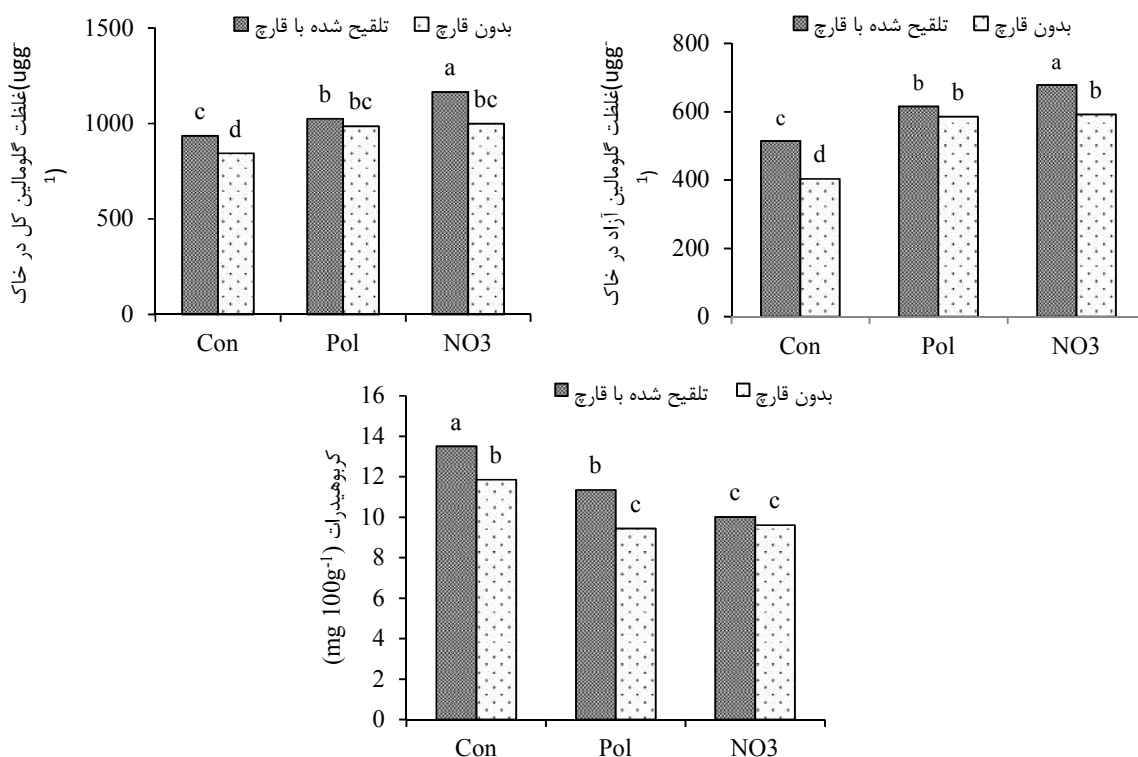
کربوهیدرات

کربوهیدرات‌ها از جمله اجزاء مهم چرخه کربن بوده و حضور آن‌ها در خاک به عنوان یک منبع غذایی برای برخی موجودات زنده حائز اهمیت می‌باشد. بر اساس نتایج بدست آمده مشخص شد که کربوهیدرات خاک در سطوح آلودگی کادمیوم به طور معنی‌داری ($P \leq 0.05$) کاهش یافت (شکل ۶). بیشترین و کمترین مقدار این شاخص به ترتیب در تیمار قارچ سطح صفر ($13/15 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$) و در تیمار بدون قارچ در سطح ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم پلیمر کادمیوم ($9/45 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$) مشاهده شد. در تیمارهای آلوده به کادمیوم مقادیر کربوهیدرات در تیمارهای قارچی ۱۰/۷۶ درصد بیشتر از تیمارهای غیرقارچی بود.

بیشترین غلظت کربوهیدرات در حضور قارچ و در تیمار بدون کادمیوم مشاهده شد. قارچ‌های میکوریزا می‌توانند با کاهش اثر سمیت کادمیوم و تغییر در ترشحات ریشه و نفوذپذیری غشاء سلولی، باعث افزایش ترشح کربوهیدرات‌ها به داخل ریزوسفر گیاه شوند (Hooker et al., 2007). همچنین هیف‌های قارچی به طور مستقیم نیز بر غلظت کربوهیدرات‌ها در خاک مؤثر می‌باشند. به گونه‌ای که کربوهیدرات‌ها به طور مستقیم از طریق هیف‌های قارچی به درون خاک ترشح شده و یا پس از مرگ هیف‌ها و تجزیه آن‌ها در خاک آزاد می‌شوند (Mechri et al., 2014). از سوی دیگر همبستگی مثبت معنی‌دار در سطح یک درصد بین درصد کلونیزاسیون و کربوهیدرات نشان‌دهنده تأثیر مثبت قارچ در کاهش اثرات منفی کادمیوم و افزایش غلظت کربوهیدرات در خاک می‌باشد. وجود این همبستگی مثبت در مطالعات دیگر (Wu et al., 2012) نیز گزارش شده است (جدول ۲). پژوهش‌ها نشان داده است که پنج درصد از کربن خاک ناشی از تجزیه هیف‌ها در خاک و آزادسازی گلوالمین در خاک می‌باشد؛ بنابراین افزایش غلظت گلوالمین در حضور قارچ‌های میکوریزا می‌تواند

افزایش می‌یابد. در مطالعه انجام شده توسط Rillig and Steinberg (2002)، بیان شده که شرایط نامناسب برای رشد گیاه در تیمارهای قارچی می‌تواند تولید گلومالین را در این خاک‌ها افزایش دهد. نتایج این مطالعه تأیید کننده این فرضیه بوده که تولید گلومالین در گونه قارچ میکوریزا مورد مطالعه (*G. Caledoniom*) نوعی پاسخ در شرایط تنش می‌باشد. Hammer and Rillig (2011) نشان دادند که تولید گلومالین در هیف‌های قارچ *C. claroideum* با افزایش تنش افزایش می‌یابد. افزایش غلظت گلومالین در خاک در حضور قارچ‌های میکوریزا در پژوهش‌های انجام شده توسط Wu et al., 2012 و Rilling et al., 2010 گزارش شده است.

گلومالین به ازای واحد درصد کلونیزاسیون افزایش یافت که دلیلی بر این مدعا است که قارچ این گلیکوپروتئین را در برابر تنش‌ها برای حفاظت از خود تولید می‌کند (Rishcefid et al., 2017). Joner and Leyval (2001) نشان دادند که فلزات به‌وسیله لیگاندهای داخل سلولی سنتز شده توسط قارچ‌های میکوریزایی نظیر متالوتیونین‌ها و پلی‌فسفات‌ها کلیت شده و در داخل واکوئل‌ها تجمع می‌یابند. یکی از این مواد کلیت‌کننده می‌تواند گلومالین باشد که این امر می‌تواند دلیل تولید فراوان گلومالین توسط گونه‌های قارچ‌های میکوریزا و در نتیجه افزایش کارایی این قارچ‌ها در استخراج فلزات سنگین از خاک شود. در تحقیقات دیگری که توسط Corenjo et al. (2008) انجام شد نیز مشاهده گردید که با افزایش غلظت مس در خاک مقدار گلومالین نیز



شکل ۶. غلظت کربوهیدرات، گلومالین آزاد و کل در سطوح مختلف کادمیوم و تیمارهای قارچی con شاهد، pol ترکیب پلیمر-کادمیوم و NO₃ ترکیب نیترات کادمیوم

همبستگی بین تغییرات شاخص‌های اندازه‌گیری شده در سطوح مختلف آلودگی کادمیوم

ضرایب همبستگی بین کادمیوم قابل‌دسترس، کادمیوم گیاه و ریشه و شاخص‌های اندازه‌گیری شده در جدول (۲) آمده است. تمامی شاخص‌های بررسی شده به‌جز گلومالین، کادمیوم ریشه و اندام هوایی، همبستگی منفی معنی‌داری با غلظت کادمیوم فراهم و غلظت کادمیوم ریشه و اندام هوایی گیاه نشان دادند. از میان شاخص‌های اندازه‌گیری شده وزن خشک ریشه ($r = -0.90$)، گیاه ($r = -0.86$) و کلروفیل ($r = -0.86$) بالاترین مقدار ضریب همبستگی منفی را با غلظت کادمیوم فراهم خاک و کادمیوم ریشه و گیاه نشان دادند. با توجه به این نتایج می‌توان با اندازه‌گیری تغییرات هر یک از شاخص‌ها، تغییرات سایر شاخص‌ها را نیز پیش‌بینی کرد.

جدول ۲. ضرایب همبستگی پیرسون (r) بین کادمیوم فراهم خاک و گیاه با شاخص‌های بررسی‌شده

شاخص	کادمیوم فراهم خاک	کادمیوم بخش هوایی	کادمیوم ریشه
کادمیوم فراهم خاک	۱/۰۰	۰/۹۱***	۰/۹۴***
کادمیوم بخش هوایی	۰/۹۱***	۱/۰۰	۰/۹۵***
کادمیوم ریشه	۰/۹۴***	۰/۹۵***	۱/۰۰
کلروفیل	-۰/۸۶***	-۰/۸۵***	-۰/۸۸***
وزن خشک گیاه	-۰/۸۶***	-۰/۸۲***	-۰/۸۸***
وزن خشک ریشه	-۰/۹۰***	-۰/۸۳***	-۰/۸۹***
کربوهیدرات	-۰/۸۳***	-۰/۶۹**	-۰/۸۰***
فسفر اندام هوایی گیاه	-۰/۶۷**	-۰/۶۵**	-۰/۶۷**
فسفر ریشه	-۰/۸۲***	-۰/۷۵***	-۰/۷۸***
گلومالین ساده	۰/۷۹***	۰/۶۱**	۰/۶۶**
گلومالین کل	۰/۶۴***	۰/۴۳ ^{ns}	۰/۵۰*

ns, **, *** به ترتیب غیر معنادار، معنادار در سطح احتمال ۰/۱ درصد، ۱ و ۵ درصد

نتیجه‌گیری کلی

دیواره اسپورها و هیف‌های قارچ میکوریزا می‌باشد نیز افزایش یافته که به‌عنوان سازوکار محافظتی گیاه (پروتئین شوک القایی تنش) عمل می‌نماید. همچنین گلومالین نقش کلیدی و مهمی را در تثبیت ریشه‌ای کادمیوم توسط گیاهان میکوریزایی ایفا می‌کند. استفاده از ترکیب پلیمر-کادمیوم باعث افزایش قابلیت دسترسی فلز سنگین و جذب بیشتر آن (نسبت به تیمار کادمیوم) توسط گیاه شد. این افزایش جذب فلزات سنگین، در افزایش توان گیاه‌پالایی بسیار مفید می‌باشد و می‌تواند به‌عنوان راهکاری مؤثر در افزایش کارایی گیاه‌پالایی خاک‌های آلوده به فلزات سنگین مورد استفاده قرار گیرد. لذا پیشنهاد می‌شود مایه‌زنی با سایر گونه‌های میکوریزایی و بررسی دیگر پلیمرهای کادمیوم و استفاده از گیاهان بیش‌اندوز در پژوهش‌های بعدی مورد بررسی قرار گیرد.

به‌طور کلی نتایج این مطالعه نشان داد که در شرایط آلودگی کادمیومی خاک، مایه‌زنی با قارچ سبب افزایش مقاومت ذرت نسبت به آلودگی کادمیومی و افزایش عملکرد آن می‌شود. علی‌رغم اینکه ذرت در شرایط آلوده به کادمیوم مقادیر بیشتری از فلز را در بافت‌های خود ذخیره نمود، اما مایه‌زنی با قارچ *Glomus caledonium*، سبب کاهش جذب این فلز توسط گیاه گردید. هیف‌های قارچی با افزایش نگهداشت کادمیوم به داخل ریشه و تثبیت آن در اندام‌های قارچی، انتقال آن به بخش هوایی را می‌کاهد. همچنین از طریق بهبود تغذیه فسفوری و رشد گیاه، باعث کاهش اثرات منفی آن بر رشد گیاه می‌گردند. به دنبال افزایش غلظت کادمیوم، تولید گلومالین که ترکیب مهم و مؤثر

REFERENCES

- Abdollahi, S. and Golchin, A. (2018). Biomass Production and Cadmium Accumulation and Translocation in Three Varieties of Cabbage. *Iranian Journal of Soil and Water Research*, 49(2), 243-259. (In Farsi).
- Allen, H. E., Perdue, E. M. and Brown, D. (1993) Metals in Ground Water. *Lewis Publishers*, Boca Raton, Florida.
- Barbosa, B., Boléo, S., Sidella, S., Costa, J., Duarte, M. P., Mendes, B. and Fernando, A. L. (2015). Phytoremediation of heavy metal-contaminated soils using the perennial energy crops *Miscanthus* spp. and *Arundo donax* L. *BioEnergy Research*, 8(4), 1500-1511.
- Becerril, F., Calantzis, C., Turnau, K., Caussanel, J. P., Belimov, A. A., Gianinazzi, S. and Gianinazzi-Pearson, V. (2002). Cadmium accumulation and buffering of cadmium-induced stress by arbuscular mycorrhiza in three *Pisum sativum* L. genotypes. *Journal of Experimental Botany*, 53(371), 1177-1185.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
- Bradley, R., Burt, A. J., and Read, D. J. (1982). The biology of mycorrhiza in the *Ericaceae*. *New Phytologist*, 91(2), 197-209.
- Cariny, T. (1995). The reuse of contaminated land. John Wiley and Sons Ltd. Publisher. 219p.
- Cao, J., Feng, Y., Lin, X., Wang, J. and Xie, X. (2017). Iron oxide magnetic nanoparticles deteriorate the mutual interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and plant. *Journal of Soils and Sediments*, 17(3), 841-851.
- Carter, M. R. and Gregorich, E. G. (2008) Soil sampling and methods of analysis (2nd ed). *CRC Press*. Boca Raton. FL. 1204p.

- Chen, X., Wu, C., Tang, J. and Hu, S. (2005). Arbuscular mycorrhizae enhance metal lead uptake and growth of host plants under a sand culture experiment. *Chemosphere*, 60(5), 665-671.
- Christie, P., Li, X., and Chen, B. (2004). Arbuscular mycorrhiza can depress translocation of zinc to shoots of host plants in soils moderately polluted with zinc. *Plant and Soil*, 261(1-2), 209-217.
- Cottenie, A. (1980). Soil and plant testing as a basis of fertilizer recommendations (No. 38/2).
- Dary, M., Chamber-Pérez, M. A., Palomares, A. J. 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 Materials*, 177(1-3), 323-330.
- De Andrade, S. A. L., da Silveira, A. P. D., Jorge, R. A. and de Abreu, M. F. (2008). Cadmium accumulation in sunflower plants influenced by arbuscular mycorrhiza. *International journal of Phytoremediation*, 10(1), 1-13.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. T. and Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry*, 28(3), 350-356.
- Ferrol, N., Tamayo, E., and Vargas, P. (2016). The heavy metal paradox in arbuscular mycorrhizas: from mechanisms to biotechnological applications. *Journal of experimental botany*, erw403.
- Gaur, A., and Adholeya, A. (2004). Prospects of arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of heavy metal contaminated soils. *Current Science*, 528-534.
- Giovannetti, M. and B. Mosse. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol*, 84, 489-500.
- Göhre, V. and Paszkowski, U. (2006). Contribution of the arbuscular mycorrhizal symbiosis to heavy metal phytoremediation. *Planta*, 223(6), 1115-1122.
- Gonzalez-Chavez, M. C., Carrillo-Gonzalez, R., Wright, S. F. and Nichols, K. A. (2004). The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potentially toxic elements. *Environmental pollution*, 130(3), 317-323.
- Hallett, P. D., Feeney, D. S., Bengough, A. G., Rillig, M. C., Scrimgeour, C. M. and Young, I. M. (2009). Disentangling the impact of AM fungi versus roots on soil structure and water transport. *Plant and Soil*, 314(1-2), 183-196.
- Hammer, E. C. and Rillig, M. C. (2011). The influence of different stresses on glomalin levels in an arbuscular mycorrhizal fungus salinity increases glomalin content. *PLoS one*, 6(12), e28426.
- Hooker, J. E., Piatti, P., Cheshire, M. V. and Watson, C. A. (2007). Polysaccharides and monosaccharides in the hyphosphere of the arbuscular mycorrhizal fungi *Glomus E3* and *Glomus tenue*. *Soil Biology and Biochemistry*, 39(2), 680-683.
- Hu, J., Wu, F., Wu, S., Lam, C. L., Lin, X. and Wong, M. H. (2014). Biochar and *Glomus caledonium* influence Cd accumulation of upland kangkong (*Ipomoea aquatica* Forsk.) intercropped with Alfred stonecrop (*Sedum alfredii* Hance). *Scientific reports*, 4, 4671.
- James, B., Rode, D., Loretta, U., Reynaldo, E. and Tariq, H. (2008). Effect of vesicular arbuscular mycorrhiza (VAM) Fungi inoculation on coppicing ability and drought resistance of *Sienna Spectabilis*. *Pak. J. Bot.* 40(5), 2217-2224.
- Joner, E. and Leyval, C. (2001). Time-course of heavy metal uptake in *maize* and *clover* as affected by root density and different mycorrhizal inoculation regimes. *Biology and Fertility of Soils*, 33(5), 351-357.
- Kabata-Pendias, A. (2010). Trace elements in soils and plants. *CRC press*.
- Kapoor, A. and Viraraghavan, T. (1995). Fungal biosorption—an alternative treatment option for heavy metal bearing wastewaters: a review. *Bioresource technology*, 53(3), 195-206.
- Karimi, A. and Khodaverdiloo, H. (2014). Soil Biological Quality as Influenced by Lead (Pb) Contamination under *Centaurea (Centaurea cyanus)* Vegetation. *Soil Management and Sustainable Production*, 4(1), 127-143.
- Karimi, A., Khodaverdiloo, H., Rasooli Sadaghiani, M., Khajavi, S. (2018). Changes of Microbial Indices of Inoculated Fungi and Bacteria at *Hyoscyamus niger* L. Rhizosphere at Different Levels of Soil Lead (Pb) Pollution. *Iran Water and Soil Research*, 49 (1), 59-69. (in Farsi).
- Karimi, F., Sepehri, M., Afuni, M. and Hajabbasi, M. A. (2015). Effect of Endophytic Fungus, *Piriformospora Indica*, on Barley Resistance to Lead. *JWSS-Isfahan University of Technology*, 19(71), 311-321. (in Farsi).
- Khade, S. W. and Adholeya, A. (2009). Arbuscular mycorrhizal association in plants growing on metal-contaminated and noncontaminated soils adjoining Kanpur tanneries, Uttar Pradesh, India. *Water, air, and soil pollution*, 202(1-4), 45-56.
- Khan, A. G., Kuek, C., Chaudhry, T. M., Khoo, C. S. and Hayes, W. J. (2000). Role of plants, mycorrhizae and phytochelators in heavy metal contaminated land remediation. *Chemosphere*, 41(1-2), 197-207.
- Khan, S., Hesham, A. E. L., Qiao, M., Rehman, S. and He, J. Z. (2010). Effects of Cd and Pb on soil microbial community structure and activities. *Environmental Science and Pollution Research*, 17(2), 288-296.
- Klironomos, J. N. (2003). Variation in plant response to native and exotic arbuscular mycorrhizal fungi. *Ecology*, 84(9), 2292-2301.
- Lagriffoul, A., Mocquot, B., Mench, M. and Vangronsveld, J. (1998). Cadmium toxicity effects on growth, mineral and chlorophyll contents, and activities of stress related enzymes in young maize plants (*Zea mays* L.). *Plant and soil*, 200(2), 241-250.

- Lasat, M. M. (2000). The use of plants for the removal of toxic metals from contaminated soils. *US Environmental Protection Agency*.
- Li, Z. and Shuman, L. M. (1996). Extractability of zinc, cadmium, and nickel in soils amended with EDTA. *Soil Science*, 161(4), 226-232.
- Liao, J. P., Lin, X. G., Cao, Z. H., Shi, Y. Q. and Wong, M. H. (2003). Interactions between arbuscular mycorrhizae and heavy metals under sand culture experiment. *Chemosphere*, 50(6), 847-853.
- Liu, L., Li, J., Yue, F., Yan, X., Wang, F., Bloszies, S. and Wang, Y. (2018). Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation and biochar amendment on maize growth, cadmium uptake and soil cadmium speciation in Cd-contaminated soil. *Chemosphere*, 194, 495-503.
- Lorenz, N., Hintemann, T., Kramarewa, T., Katayama, A., Yasuta, T., Marschner, P. and Kandeler, E. (2006). Response of microbial activity and microbial community composition in soils to long-term arsenic and cadmium exposure. *Soil Biology and Biochemistry*, 38(6), 1430-1437.
- Matraszek, R., Hawrylak-Nowak, B., Chwil, S. and Chwil, M. (2016). Macroelemental composition of cadmium stressed lettuce plants grown under conditions of intensive sulphur nutrition. *Journal of environmental management*, 180, 24-34.
- Mechri, B., Manga, A. G., Tekaya, M., Attia, F., Cheheb, H., Meriem, F. B. and Hammami, M. (2014). Changes in microbial communities and carbohydrate profiles induced by the mycorrhizal fungus (*Glomus intraradices*) in rhizosphere of olive trees (*Olea europaea* L.). *Applied soil ecology*, 75, 124-133.
- Miransari, M. (2011). Hyperaccumulators, arbuscular mycorrhizal fungi and stress of heavy metals. *Biotechnology Advances*, 29(6), 645-653.
- Nowack, B., Schulin, R. and Robinson, B. H. (2006). Critical assessment of chelant-enhanced metal phytoextraction. *Journal of Environmental science and technology*. 40(17): 5225-5232.
- Ogar, A., Sobczyk, L. and Turnau, K. (2015). Effect of combined microbes on plant tolerance to Zn-Pb contaminations. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(23), 19142-19156.
- Patra, M., Bhowmik, N., Bandopadhyay, B. and Sharma, A. (2004). Comparison of mercury, lead and arsenic with respect to genotoxic effects on plant systems and the development of genetic tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, 52(3), 199-223.
- Phillips, J. M. and Hayman, D. S. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British mycological Society*, 55(1), 158-161.
- Rasouli-Sadaghiani, M. H., Barin, M., Khodaverdiloo, H., Moghaddam, S. S., Damalas, C. A. and Kazemalilou, S. (2018). Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Rhizobacteria Promote Growth of Russian Knapweed (*Acroptilon repens* L.) in a Cd-Contaminated Soil. *Journal of Plant Growth Regulation*, 1-9.
- Rillig, M. C., Mardatin, N. F., Leifheit, E. F. and Antunes, P. M. (2010). Mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi increases soil water repellency and is sufficient to maintain water-stable soil aggregates. *Soil Biology and Biochemistry*, 42(7), 1189-1191.
- Rillig, M. C. and Steinberg, P. D. (2002). Glomalin production by an arbuscular mycorrhizal fungus: a mechanism of habitat modification. *Soil Biology and Biochemistry*, 34(9), 1371-1374.
- Rishcefid, M., Aliasgharzad, N. and Neyshabouri, M. (2017). Effects of Water Deficit Stress on Glomalin Secretion by Glomerales in Symbiosis with *Zea mays* Plant. *JWSS-Isfahan University of Technology*, 21(1), 229-238.
- Roy, S., Bhattacharyya, P. and Ghosh, A. K. (2004). Influence of toxic metals on activity of acid and alkaline phosphatase enzymes in metal-contaminated landfill soils. *Soil Research*, 42(3), 339-344.
- Shah, K., Mankad, A. U. and Reddy, M. N. (2017). Cadmium accumulation and its effects on growth and biochemical parameters in *Tagetes erecta* L. *J Pharmacogn Phytochem*, 6, 111-115.
- Sharma, R. K. and Archana, G. (2016). Cadmium minimization in food crops by cadmium resistant plant growth promoting rhizobacteria. *Applied soil ecology*, 107, 66-78.
- Shetty, K. G., Hetrick, B. A. D., Figge, D. A. H. and Schwab, A. P. (1994). Effects of mycorrhizae and other soil microbes on revegetation of heavy metal contaminated mine spoil. *Environmental Pollution*, 86(2), 181-188.
- Song, H. (2005). Effects of VAM on host plant in the condition of drought stress and its mechanisms. *Electronic Journal of Biology*, 1(3), 44-48.
- Wang, F., Yao, J., Si, Y., Chen, H., Russel, M., Chen, K. and Bramanti, E. (2010). Short-time effect of heavy metals upon microbial community activity. *Journal of Hazardous Materials*, 173(1-3), 510-516.
- Wang, L., Ji, B., Hu, Y., Liu, R. and Sun, W. (2017). A review on in situ phytoremediation of mine tailings. *Chemosphere*, 184, 594-600.
- Wright, S. F. and Upadhyaya, A. (1996). Extraction of an abundant and unusual protein from soil and comparison with hyphal protein of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil science*, 161(9), 575-586.
- Wu, Q. S., He, X. H., Zou, Y. N., He, K. P., Sun, Y. H. and Cao, M. Q. (2012). Spatial distribution of glomalin-related soil protein and its relationships with root mycorrhization, soil aggregates, carbohydrates, activity of protease and β -glucosidase in the rhizosphere of Citrus unshiu. *Soil Biology and Biochemistry*, 45, 181-183.
- Wu, Q. T., Xu, Z., Meng, Q., Gerard, E. and Morel, J. L. (2004). Characterization of cadmium desorption in soils and its relationship to plant uptake and cadmium leaching. *Plant and soil*, 258(1), 217-226.
- Wu, Q. S., He, X. H., Zou, Y. N., He, K. P., Sun, Y. H.

- and Cao, M. Q. (2012). Spatial distribution of glomalin-related soil protein and its relationships with root mycorrhization, soil aggregates, carbohydrates, activity of protease and β -glucosidase in the rhizosphere of Citrus unshiu. *Soil Biology and Biochemistry*, 45, 181-183.
- Yang, Y., He, C., Huang, L., Ban, Y. and Tang, M. (2017). The effects of arbuscular mycorrhizal fungi on glomalin-related soil protein distribution, aggregate stability and their relationships with soil properties at different soil depths in lead-zinc contaminated area. *PloS one*, 12(8), e0182264.
- Zarea, M. J., Hajinia, S., Karimi, N., Goltapeh, E. M., Rejali, F. and Varma, A. (2012). Effect of Piriformospora indica and Azospirillum strains from saline or non-saline soil on mitigation of the effects of NaCl. *Soil Biology and Biochemistry*, 45, 139-146.
- Zhang, C., Nie, S., Liang, J., Zeng, G., Wu, H., Hua, S. and Xiang, H. (2016). Effects of heavy metals and soil physicochemical properties on wetland soil microbial biomass and bacterial community structure. *Science of the Total Environment*, 557, 785-790.
- Zhang, F., Liu, M., Li, Y., Che, Y. and Xiao, Y. (2018). Effects of arbuscular mycorrhizal fungi, biochar and cadmium on the yield and element uptake of *Medicago sativa*. *Science of The Total Environment*.
- Zhang, J., Wang, L. H., Yang, J. C., Liu, H. and Dai, J. L. (2015). Health risk to residents and stimulation to inherent bacteria of various heavy metals in soil. *Science of the Total Environment*, 508, 29-36.