مجله تحقیقات آب و خاک ایران، دوره۴۴، شماره۱، بهار۱۳۹۲، ص۶۸-۵۷

ارزیابی برخی شاخص‌های زیستی خاک در حضور میکروارگانیسم‌های محرک رشد گیاه و آلودگی کادمیومی خاک

سولماز کاظم‌علیلو[۱]، میرحسن رسولی صدقیانی[۲*]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم خاک دانشگاه ارومیه
۲. عضو هیئت علمی گروه علوم خاک دانشگاه ارومیه

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱۰/۱۷ ـ تاریخ تصویب: ۱۳۹۱/۷/۲۹)

چکیده

در این مطالعه اثر کادمیوم بر برخی شاخص‌های میکروبی خاک و برهم‌کنش قارچ‌ریشه‌های آربوسکولار (AMF) و باکتری‌های محرک رشد (PGPR) بررسی شد. این آزمایش به صورت فاکتوریل شامل چهار سطح کادمیوم (۰، ۱۰، ۳۰ ، ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) و تلقیح میکروبی در سه سطح (شاهد، PGPR، AMF) در سه تکرار با استفاده از گیاه تلخه اجرا گردید. نتایج نشان داد آلودگی کادمیومی خاک موجب کاهش معنادار ($P \leq ۰/۰۵$) رشد گیاه، تنفس میکروبی، تنفس برانگیخته با سوبسترا (SIR)، شاخص قابلیت دسترسی کربن (CAI)، کربن زیست‌تودهٔ میکروبی (MBC)، و جمعیت میکروبی می‌شود. در تیمارهای PGPR و AMF مقدار MBC در سطح ۱۰۰ میلی‌گرم کادمیوم در کیلوگرم خاک، به‌ترتیب، ۵۷ و ۶۰ درصد نسبت به شرایط بدون کادمیوم کاهش یافت. کادمیوم موجب افزایش معنادار ضریب متابولیکی (qCO_2) می‌شود. مقدار qCO_2 در تیمار Cd_{100} ۲۲ درصد بیشتر از تیمار Cd_0 بود. نتایج این مطالعه نشان داد کادمیوم حتی در غلظت‌های پایین نیز اثر سمی و بازدارنده بر فعالیت‌های میکروبی خاک دارد. با این حال حضور میکروارگانیسم‌های محرک رشد می‌تواند به‌طور معناداری آثار بازدارندگی کادمیوم بر رشد گیاه و فعالیت بیولوژیکی خاک را کاهش دهد.

کلیدواژگان

خواص بیولوژیک خاک، قارچ‌های میکوریز، کادمیوم، میکروارگانیسم‌های محرک رشد.

* نویسنده مسئول: m.rsadaghiani@urmia.ac.ir

مقدمه

فرآیند میکروبی خاک کنترل کننده فرایندهای اکولوژیک در اکوسیستم و حاصل‌خیزی خاک‌اند. جامعه میکروبی خاک مسئول تنظیم چرخه عناصر غذایی در خاک است و با فراهم ساختن شرایط جذب عناصر غذایی نقشی مهم در رشد گیاه و تولیدات کشاورزی دارد (Ghollarata and Raiesi, 2007). آثار فلزات سنگین بر خواص بیولوژیکی و بیوشیمیایی خاک مکرر گزارش شده است و آلودگی خاک با فلزات سنگین در مناطق صنعتی گسترده است (Baath, 1989). غلظت بالای فلزات سنگین در خاک برای باکتری‌ها و قارچ‌ها سمی است. اما ریشه‌های اکثر گیاهان در مناطق آلوده با قارچ‌ریشهٔ آربوسکولار کلونیزه می‌شوند که نشان‌دهندهٔ توانایی مقاومت قارچ‌ریشه‌ها در برابر آلاینده‌هاست (Shetty et al, 1994). در بین فلزات سنگینْ کادمیوم اهمیت ویژه‌ای دارد؛ زیرا ریشهٔ گیاه به‌راحتی آن را جذب می‌کند و سم آن بیش از بیست برابر سایر فلزات سنگین است. کادمیوم عملکرد بیولوژیکی خاصی ندارد و در غلظت‌های کم سمی است. اما گزینش میکروارگانیسم‌ها (بقای انواع مقاوم) توانایی گیاه در خاک آلوده را به کادمیوم افزایش می‌دهد (Biro et al, 1995).

پارامترهای بیولوژیکی در خاک، نظیر تنفس خاک و تنفس برانگیخته با سوبسترا، (CAI) و qCO_2 شاخص‌های حساسی برای تعیین اثر متغیرهای محیطی بر فعالیت میکروبی خاک‌اند و از این پارامترها برای تجزیه و تحلیل اثر عوامل محیطی و تنش‌های وارده بر جمعیت میکروبی خاک در ارزیابی‌های مرتبط با کیفیت و سلامت خاک استفاده می‌شود (Killham, 1994). تنفس خاک، که به آن تنفس پایه نیز گفته می‌شود، نشان‌دهندهٔ فعالیت‌های بیولوژیکی است؛ اما نمی‌تواند شاخصی مناسب برای بررسی فراوانی نوع موجودات خاک باشد. بزرگی دادوستد گازی (اکسیژن و دی‌اکسید کربن) در خاک به مقدار و نوع مواد آلی افزوده‌شده در خاک، فراوانی و کارکرد ریزجانداران، ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی، و درجهٔ آلودگی آن بستگی دارد (Mirahmadi and Safari, 2003). تنفس برانگیخته با سوبسترا (SIR) می‌تواند شاخصی بسیار مناسب از زیتودهٔ ریزجانداران در خاک باشد (Lewandowski and Zumwinkle, 1999). گزارش شده است وجود عناصر سنگین و سمی در خاک می‌تواند سبب کاهش این فرایندها در خاک شود. هنگامی که جمعیت میکروبی تحت تأثیر تنش‌های محیطی، از جمله حضور آلاینده‌ها، باشد، کربن بیشتر از راه تنفس از دست می‌رود و کمتر وارد فرایندهای بیوسنتزی و رشد میکروبی می‌شود (Killham, 1994).

نکتهٔ دیگری که باید به آن توجه داشت این است که برای تعیین پاسخ فعالیت میکروبی خاک نسبت به کادمیوم باید گیاه و خاک و همهٔ اجزای آن را پیکره‌ای واحد در نظر گرفت تا نحوهٔ اثر اجزای مختلف بر یک‌دیگر بهتر درک شود (Lynch and Whipps, 1990). مثلاً هر گونه تغییر در ترکیب تراوش‌های ریشه‌ای باعث ایجاد تغییراتی در فعالیت میکروبی خاک ریزوسفری می‌شود (Bowen and Rovira, 1976). اثر کادمیوم بر فعالیت باکتری‌های محرک رشد گیاه و قارچ ریشه‌های آربوسکولار بررسی نشده است. به‌نظر می‌رسد میکروارگانیزم‌ها از طریق محیط خاک ریزوسفری و تولید متابولیت‌های خاص شرایط لازم را برای تعدیل یا کاهش اثر کادمیوم بر میکروب‌های خاک فراهم می‌کنند. تلقیح گیاهان با قارچ ریشه‌های آربوسکولار و باکتری‌های محرک رشد گیاه بر جامعهٔ میکروبی ریزوسفر، با تولید ترکیبات

آلی غنی از انرژی و کاهش pH ریزوسفر، تأثیر می‌گذارد (Johansson et al, 2004).

در مناطق آلوده تلقیح گیاهان با باکتری‌ها و قارچ ریشه‌های مناسب در بهبود رشد گیاهان و برهمکنش میکروبی نقشی مهم در پاکسازی خاک دارد (Brudrett, 2002؛ Entry et al, 1996). در خاک‌های بسیار آلوده، که محتوای فلزات آن‌ها از حد تحمل گیاه فراتر است، امکان دارد تیمار گیاهان با عوامل میکروبی ریزوسفر سبب افزایش زیست‌تودهٔ گیاه و تثبیت و بازسازی پوشش گیاهی و همچنین اصلاح خاک آلوده به فلزات شود (Brud et al, 1998). Siqueira et al (1989) در تحقیقی بیان کردند قارچ‌های میکوریزی جهت اصلاح بیولوژیک مکان‌های آلوده به فلزات سنگین اهمیت بسیار زیادی دارند. همچنین اظهار کردند رشد گیاه در خاک‌های آلوده به عنصر کادمیوم کاهش می‌یابد. کاهش زیست‌توده و ارتفاع اندام هوایی در نتیجهٔ حضور فلزات سنگین می‌تواند به‌دلیل تأثیر بازدارندهٔ این فلزات بر رشد طولی ریشه و کاهش جذب مواد معدنی باشد (Vassilev and Yordanov, 1997).

هدف این پژوهش بررسی تأثیر میکروارگانیسم‌های محرک رشد، از جمله قارچ ریشه‌های آربوسکولار و باکتری‌های محرک رشد، در رشد گیاه تلخه (از گیاهان مرتعی بومی و غالب استان آذربایجان‌غربی) و برخی شاخص‌های زیستی ـــ مانند تنفس میکروبی پایه، میزان تنفس برانگیخته با سوبسترا، شاخص قابلیت دسترسی کربن (CAI)، کربن زیست‌تودهٔ میکروبی (MBC)، ضریب یا سهم متابولیکی (qCO_2)، فراوانی جمعیت کل باکتریایی، و درصد کلونیزاسیون قارچ‌ریشه‌های آربوسکولار در سطوح مختلف آلودگی کادمیوم ـ بود.

مواد و روش

یک نمونه خاک از منطقهٔ نازلو انتخاب و پس از هواخشک‌کردن و گذراندن از غربال ۲ میلی‌متری، برای تعیین ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک، به آزمایشگاه منتقل شد. خاک مورد مطالعه دارای pH برابر ۸/۱، EC برابر ۲/۵، O.C(%) برابر ۲/۶۹، و CEC برابر ۲۲/۱ (سانتی‌مول بر کیلوگرم خاک) و مقادیر Fe، Zn، Cd، و Pb به‌ترتیب برابر ۲۹۵/۵، ۶۲، ۱/۴۷، و ۲۱/۴ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک بود. کلاس بافتی خاک لوم و فراوانی رس و شن و سیلت آن، به‌ترتیب، ۲۷/۴، ۴۰/۳، و ۳۲/۳ درصد بود. خاک با غلظت‌های ۰، ۱۰، ۳۰، و ۱۰۰ میلی‌گرم کادمیوم بر کیلوگرم خاک از منبع نیترات کادمیوم آلوده شد. غلظت کادمیوم به‌گونه‌ای انتخاب شد که دامنه‌ای از غلظت صفر آن فلز تا چندین برابر غلظت مجاز را بپوشاند. غلظت مجاز کادمیوم از ۱ تا ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک است (Cariny, 1995). برای آلوده‌کردن خاک، ابتدا مقدار لازم نمک نیترات کادمیوم $Cd(NO_3)_2$ برای آلوده‌کردن جرم مشخصی از خاک محاسبه شد. سپس، مقدار محاسبه‌شدهٔ نمک به یک کیلوگرم خاک افزوده شد و کاملاً با آن مخلوط گردید تا پیش‌ماده‌ای همگن به‌دست آمد. این پیش‌مادهٔ آلوده با تودهٔ خاک مخلوط شد. نیتروژن افزوده‌شده به خاک، توسط نمک نیترات کادمیوم، با افزودن مقادیر محاسبه‌شدهٔ اوره به تیمارهای مختلف، تصحیح شد. سپس خاک‌های آلوده در جعبه‌های پلاستیکی بدون زهکش در معرض دوره‌های متناوب تر و خشک شدن قرار گرفتند.

در هر چرخه، خاک از آب اشباع شد و سپس تا هواخشک‌شدن در دمای اتاق ماند. خاک‌ها در چهار چرخه به همین روش تر و خشک شدند. هر چرخه حدود چهل روز به درازا انجامید که تا حد امکان برهمکنش‌های آلاینده و خاک تکوین‌یافته و شرایط

آلودگی طبیعی‌تر باشد. نمونه‌های خاک‌آلوده‌شده در اتوکلاو در دو نوبت سترون شدند. گلدان‌ها نیز با الکل به‌صورت سطحی استریل شدند. تیمار میکروبی AMF شامل ترکیبی از زادمایهٔ قارچ ریشه‌های جنس Glomus و از گونه‌های intraradices، mosseae، و fasciculatum و تیمار PGPR شامل ترکیبی از زادمایهٔ باکتری‌های Pseudomonas و از سه گونهٔ putida، fluorescence ، و aeruginosa (تهیه‌شده از بانک میکروبی مؤسسهٔ تحقیقات خاک و آب کرج) بودند. در تیمارهای AMF، قبل از کشت، زیر بذرها ۴۰ گرم زادمایه، با پتانسیل در حدود ۲۵۰ پروپاگول در سانتی‌متر مکعب، به‌صورت لایه‌ای به‌ضخامت تقریبی ۲ سانتی‌متر اضافه شد. در تیمار باکتریایی به هر یک از گلدان‌ها ۱۵ میلی‌لیتر از کشت مایع باکتری‌ها در محیط Nutrient Broth و با جمعیت حدود 10^8 باکتری در میلی‌لیتر اطراف بذرها مایه‌زنی انجام شد. سپس، خاک آلوده در سه تکرار برای هر تیمار در گلدان‌هایی با ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر (عمق ریشه‌دوانی گیاه) ریخته شد. پس از اعمال تیمارها، کشت گیاه مرتعی تلخه (Russian kanapweed) در گلدان‌های حاوی خاک آلوده به کادمیوم در گلخانه انجام شد.

پس از پنج ماه از زمان کشت، اندام‌های هوایی گیاه از رویهٔ خاک بریده شدند. سپس، به‌آرامی از خاک گلدان‌ها جدا و پس از شستن با آب مقطر و خشک‌کردن، برای اندازه‌گیری وزن خشک آن‌ها، به پاکت‌های کاغذی منتقل و به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۷۰ درجهٔ سانتی‌گراد آون گذاشته شدند. گفتنی است خاکی که برای اندازه‌گیری شاخص‌های میکروبی استفاده شد، به‌آرامی و با استفاده از قلم‌مو، از اطراف ریشه‌ها جدا شد.

برای اندازه‌گیری تنفس میکروبی از روش اندرسون(Anderson, 1982)، برای اندازه‌گیری تنفس برانگیخته با سوبسترا از Anderson and Domsch, (1990)، و برای اندازه‌گیری کربن زیست‌تودهٔ میکروبی از روش گازدهی با کلروفرم (تدخین ـــ استخراج) (Jenkinson and Powlson, 1976; Vance et al, 1987) بهره‌گیری شد. برای برآورد سهم متابولیکی (qCO_2)، تنفس پایه (مقدار CO_2-C به‌دست‌آمده از یک روز تنفس میکروبی بر حسب میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) بر مقدار کربن موجود در زیست‌تودهٔ میکروبی تقسیم و بر حسب $mgCO_2$-C g^{-1} MBC day^{-1} بیان شد (Anderson and Domsch, 1990). برای برآورد شاخص قابلیت دسترسی به کربن (CAI)، تنفس پایه (مقدار CO_2-C به‌دست‌آمده از یک روز تنفس میکروبی بر حسب میلی‌گرم در کیلوگرم خاک در روز) بر مقدار CO_2-C به‌دست‌آمده از تنفس برانگیخته با سوبسترا بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک در روز تقسیم شد (Cheng et al, 1993).

برای شمارش باکتری‌های محرک رشد گیاه از خاک با آلودگی درازمدتْ جمعیت کل این عوامل میکروبی در نمونه‌های ریزوسفری با روش شمارش کلونی محاسبه شد. به‌منظور تعیین درصد همزیستی میکوریزی، ریشه‌ها به‌روش رنگ‌آمیزی با تریپان بلو رنگ شدند (Noris et al, 1992) و درصد همزیستی طول ریشه با روش McGonigle et al (1990) تعیین شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از طریق نرم‌افزار SAS و مقایسهٔ تیمارها با استفاده از آزمون دانکن انجام گرفت.

یافته‌ها و بحث

مادۀ خشک شاخسارۀ گیاه

جدول ۱ مقادیر عملکرد مادۀ خشک شاخسارۀ گیاه تلخه را در تیمارهای شاهد، PGPR، و AMF در سطوح مختلف کادمیوم در خاک نشان می‌دهد. با افزایش غلظت کادمیوم در خاک، عملکرد مادۀ خشک شاخسارۀ این گیاه در تیمارهای شاهد و AMF به‌طور معناداری (P≤۰/۰۵) کاهش یافت. کاهش عملکرد مادۀ خشک در تیمار PGPR در غلظت ۱۰،۳۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم گیاه تلخه معنادار (P≤۰/۰۵) نبود. در هر سطح از غلظت کادمیوم در خاک مقادیر مادۀ خشک شاخسارۀ تلخه در تیمارهای AMF و PGPR به‌طور معناداری (P≤۰/۰۵) بیشتر از تیمار شاهد بود. به‌طور کلی ترتیب عملکرد گیاه به‌صورت AMF>PGPR> شاهد بود.

کادمیوم در گیاهان سبب توقف رشد و کلروزه‌شدن برگ‌ها، کاهش و توقف رشد ریشه، چوب‌پنبه‌ای‌شدن و صدمه به ساختمان خارجی و داخلی ریشه، و کاهش هدایت هیدرولیکی آب در ریشه می‌شود (Malakooti and Homaee, 2000). همچنین سمیت کادمیوم بر فرایندهای اصلی گیاه، نظیر فتوسنتز و تکثیر سلولی و جذب آب به‌وسیلۀ ریشه‌های گیاهان، اثر می‌گذارد (Verma and Dubey, 2001). تنش‌های محیطی، مثل فلزات سنگین، سبب افزایش تولید اتیلن در گیاه و به‌ویژه تجمع آن در ریشه می‌شود که به اتیلن تنشی مشهور است. افزایش بیش از حد اتیلن اثری بازدارنده بر رشد و نمو گیاه دارد. درنتیجه، با پایین‌آوردن سطح اتیلن در گیاه می‌توان رشد گیاه را بهبود بخشید. احتمالاً تلقیح باکتری‌های محرک رشد گیاه تولید اتیلن ناشی از تنش فلزات سنگین در گیاه را کاهش می‌دهد و موجب افزایش زیست‌تودۀ گیاهی و ارتفاع گیاه می‌شود (Abou-Shanab et al, 2006). همچنین گزارش شده است که قارچ ریشه‌های آربوسکولار به‌دلیل داشتن شبکه‌ای از هیف‌ها می‌توانند جذب عناصر غذایی به‌ویژه فسفر را به‌وسیلۀ گیاه افزایش دهند که درنتیجه، با بهبود شرایط تغذیه‌ای گیاه، وزن خشک اندام‌های هوایی و برخی پارامترهای رشد افزایش می‌یابد (Sharifi et al, 2006). Liao et al (2003) در مطالعه‌ای نشان دادند تلقیح میکوریزی با افزایش سطوح کادمیوم در خاک سبب افزایش مادۀ خشک ریشۀ گیاه در مقایسه با گیاهان شاهد و با افزایش غلظت مس و کادمیوم موجب افزایش جذب آن‌ها در اندام هوایی و ریشۀ گیاه نسبت به شاهد می‌شود.

تنفس پایه و تنفس برانگیخته با سوبسترا (SIR)

جدول ۲ مقدار تنفس میکروبی پایه را در خاک تحت کشت گیاه تلخه در سطوح مختلف کادمیوم نشان می‌دهد. با افزایش غلظت کادمیوم در خاک تنفس میکروبی پایه در ریزوسفر گیاه تلخه به‌طور معناداری (P≤۰/۰۵) کاهش یافت. کاهش تنفس میکروبی در تیمار PGPR و AMF گیاه تلخه با افزایش سطوح مختلف کادمیوم در خاک تقریباً یکسان بود. جدول ۳ تنفس برانگیخته با سوبسترا (SIR) را در خاک تحت کشت گیاه تلخه در سطوح مختلف کادمیوم نشان می‌دهد. با افزایش غلظت کادمیوم از ۰ به ۱۰ (میلی‌گرم کادمیوم بر کیلوگرم خاک)، SIR در ریزوسفر گیاه تلخه کاهش معناداری (P≤۰/۰۵) نداشت. ولی در غلظت‌های بالاتر SIR به‌طور معناداری (P≤۰/۰۵) کاهش یافت. همچنین بین SIR در تیمارهای AMF و PGPR در ریزوسفر تلخه، در همۀ سطوح کادمیوم ، اختلاف معناداری (P≤۰/۰۵) وجود نداشت.

آلودگی کادمیومی خاک بر فعالیت بیولوژیکی خاک تأثیر می‌گذارد و باعث کاهش فعالیت تنفسی و CO_2 آزادشده در خاک می‌شود؛ به‌گونه‌ای که در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک مقدار میانگین تنفس پایه و تنفس برانگیخته در ریزوسفر تلخه، به‌ترتیب، ۲۲ و ۳۹۶۳ میلی‌گرم دی‌اکسید کربن در هر کیلوگرم خاک ریزوسفر است (جدول‌های ۲ و ۳). شاید بتوان علت کاهش بیشتر تنفس میکروبی در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم گیاه تلخه را به کاهش بیشتر زیست‌تودهٔ ریشهٔ این گیاه نسبت داد. Li et al (1993) گزارش کردند فراوانی جمعیت میکروبی در خاک‌های دارای گیاه و سیستم ریشه‌ای بیشتر از خاک‌های فاقد گیاه و سیستم ریشه‌ای است که نشان می‌دهد در خاک‌های آلوده ریشهٔ گیاه با ترشحات خود (کربوهیدرات‌ها، آمینواسیدها، ویتامین‌های ضروری، وغیره) جمعیت میکروبی را جهت تجزیه یا تغییر شکل آلاینده‌ها افزایش می‌دهد.

کاهش فعالیت میکروبی خاک بر اثر آلودگی کادمیوم با نتایج مطالعات دیگر پژوهشگران نیز همخوانی داشت. در تحقیقی که روی خاک‌های آبرفتی کنار رودخانهٔ لیتاوکاو، در نزدیکی کارخانهٔ ذوب فلز، انجام گرفت، معلوم شد با افزایش آلودگی خاک کاهش چشمگیری در تنفس خاک ایجاد می‌شود (Olga et al, 2002). همچنین، پژوهشی دیگری که دربارهٔ تنفس میکروبی در شرایط افزودن عناصر سنگین انجام گرفت، نشان داد غلظت‌های پایین و در حد متعارف عناصر سنگین تأثیری بر تنفس خاک ندارد و فقط در غلظت‌های بالا مقدار تنفس خاک کاهش می‌یابد (Ghorbani et al, 2002). پژوهشKhalighi and Khara (2006) در زمینهٔ اثر شوری بر فعالیت میکروبی خاک، در حضور و عدم حضور ریشه‌های گیاه، نیز نشان داد افزایش شوری موجب کاهش معنادار تنفس میکروبی خاک می‌شود.

جدول ۱. عملکرد مادهٔ خشک شاخسارهٔ گیاه تلخه در تیمارهای شاهد ،PGPR و AMFدر سطوح مختلف کادمیوم

کل کادمیوم افزوده‌شده به خاک ($mg\ kg^{-1}$)	عملکرد شاخساره ($g\ pot^{-1}$)		
	شاهد	PGPR	AMF
۰	۱/۰۵±۰/۳^{b,a}	۱/۷۴±۰/۲^{b,a}	۲/۲۳±۰/۰۳^{a,a}
۱۰	۰/۹۱±۰/۰۳^{b,ab}	۱/۵۳±۰/۳^{a,a}	۱/۶۷±۰/۱۸ ^{a,ab}
۳۰	۰/۶۴±۰/۲۵^{b,b}	۱/۴۴±۰/۰۱^{a,a}	۱/۶۳±۰/۲۴^{a,ab}
۱۰۰	۰/۲۲±۰/۰۳^{b,c}	۱/۲۷±۰/۱^{a,a}	۱/۵۲±۰/۵۳ ^{a,b}

حروف بالانویس اول و دوم روی هر عدد، به‌ترتیب، نشان‌دهندهٔ اختلاف آماری ($P\leq$۰/۰۵) در هر ستون و هر ردیف است.
میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن اختلاف معناداری ($P\leq$۰/۰۵) ندارد.

جدول ۲. تنفس میکروبی پایه در خاک تحت کشت گیاه تلخه در تیمارهای PGPR و AMF در سطوح مختلف کادمیوم

کل کادمیوم افزوده‌شده به خاک ($mg\ kg^{-1}$)	میانگین تنفس پایه ($mg\ CO_2\text{-}C\ day^{-1}/kg\ soil$)	
	PGPR	AMF
۰	۱۷۶/۸±۲^{a,a}	۱۶۵/۵±۷^{a,a}
۱۰	۱۶۰±۱۲^{a,b}	۱۴۹±۱۱^{a,b}
۳۰	۱۲۸ ±۶^{a,c}	۱۲۴/۵±۴^{a,c}
۱۰۰	۸۸±۱^{a,d}	۸۴±۳^{a,d}

حروف بالانویس اول و دوم روی هر عدد، به‌ترتیب، نشان‌دهندهٔ اختلاف آماری ($P\leq$۰/۰۵)در هر ستون و هر ردیف است.
میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن اختلاف معناداری ($P\leq$۰/۰۵) ندارد.

جدول ۳. شاخص SIR در خاک تحت کشت گیاه تلخه درتیمارهای PGPR و AMF در سطوح مختلف کادمیوم

کل کادمیوم افزوده‌شده به خاک ($mg\ kg^{-1}$)	میانگین تنفس بر انگیخته (SIR) ($mg\ CO_2\text{-}C\ day^{-1}/kg\ soil$)	
	PGPR	AMF
۰	۵۶۷۳±۱۵۹^{a,a}	۵۵۷۸±۱۴۷^{a}
۱۰	۵۳۲۴±۳۳^{a,a}	۵۱۷۶±۳۳^{a,a}
۳۰	۴۵۲۴±۸۹^{a,b}	۴۴۳۹±۴۹^{a,b}
۱۰۰	۳۷۹۸±۶۳۸^{a,c}	۳۹۶۳±۱۰۵^{a,c}

حروف بالانویس اول و دوم روی هر عدد، به‌ترتیب، نشان‌دهندهٔ اختلاف آماری ($P\leq$۰/۰۵) در هر ستون و هر ردیف است. میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن اختلاف معناداری ($P\leq$۰/۰۵) ندارد.

کربن زیست‌تودهٔ میکروبی (MBC)

جدول ۴ کربن زیست‌تودهٔ میکروبی (MBC) را در خاک تحت کشت گیاه تلخه در سطوح مختلف کادمیوم نشان می‌دهد. کربن زیست‌تودهٔ میکروبی با افزایش سطوح کادمیوم در خاک تحت کشت تلخه با افزایش غلظت کادمیوم در خاک به‌طور معناداری ($P\leq$۰/۰۵) کاهش یافت. در غلظت ۰ و ۱۰ میلی‌گرم کادمیوم در خاک، کربن زیست‌تودهٔ میکروبی در تیمار AMF به‌طور معناداری ($P\leq$۰/۰۵) بیشتر از PGPR تیمار بود؛ درحالی‌که در غلظت ۳۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم کادمیوم اختلاف بین تیمارهای AMF و PGPR گیاه کادمیوم اختلاف بین تیمارهای AMF و PGPR گیاه تلخه در همهٔ سطوح کادمیوم در خاک معنادار($P\leq$۰/۰۵) نبود. کاهش زیست‌تودهٔ میکروبی و تنفس خاک در غلظت‌های بالای کادمیوم را دیگر پژوهشگران(Brookes and McGrath, 1984; José et al, 2002; Fortes Neto, 2000) نیز گزارش کرده‌اند. همچنین گزارش شده است زیست‌تودهٔ میکروبی در خاک‌های تیمارشده با لجن فاضلاب آلوده به فلزات سنگین کاهش می‌یابد (Chander and Brookes, 1991). پژوهشگران علت کاهش کمتر میزان زیست‌تودهٔ میکروبی در تیمارهای باکتریایی و میکوریزی را به تولید ترکیبات و متابولیت‌های خاص این میکروارگانیزم‌ها و گیاهان همزیست با آن‌ها و بهبود وضعیت حاصلخیزی خاک نسبت دادند (Lopes, 2001).

جدول ۴. مقادیر کربن زیست‌تودهٔ میکروبی (MBC) در خاک تحت کشت گیاه تلخه در تیمارهای PGPR و AMF در سطوح مختلف کادمیوم در خاک

کل کادمیوم افزوده‌شده به خاک ($mg\ kg^{-1}$)	کربن زیست‌توده میکروبی ($mg\ CO_2\text{-}C\ kg^{-1}$)	
	PGPR	AMF
۰	۱۷۸۲/۳±۶۰^{b,a}	۱۹۳۹±۶۵^{a,a}
۱۰	۱۵۸۷±۳۳^{b,b}	۱۷۰۸±۷۸^{a,b}
۳۰	۱۲۶۰±۱۱^{a,c}	۱۲۷۷±۳۱^{a,c}
۱۰۰	۷۵۶/۷±۳۱^{a,d}	۷۸۳/۳±۸۰^{a,d}

حروف بالانویس اول و دوم روی هر عدد، به‌ترتیب، نشان‌دهندهٔ اختلاف آماری ($P\leq$۰/۰۵) در هر ستون و هر ردیف است. میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن اختلاف معناداری ($P\leq$۰/۰۵) ندارند.

شاخص قابلیت دسترسی به کربن (CAI) و شاخص ضریب متابولیکی (qCO_2)

جدول ۵ مقادیر شاخص قابلیت دسترسی به کربن (CAI) را در خاک تحت کشت گیاه تلخه در سطوح مختلف کادمیوم نشان می‌دهد. مقادیر شاخص قابلیت دسترسی به کربن در خاک تحت کشت تلخه با افزایش غلظت کادمیوم در خاک در همهٔ تیمارها کاهش یافت. هرچند این کاهش در تیمارهای PGPR و AMF معنادار ($P\leq$۰/۰۵) نبود. اختلاف مقادیر این

شـاخص در تیمارهای AMF و PGPR در خاک تحت کشت تلخه معنادار (P≤۰/۰۵) نبود.

CAI شـــاخص مهمی برای پی‌بردن بـه درجـهٔ محدودیت سوبسترا، به‌ویژه در خاک‌های تحت کشت، اســـت. با افزایش غلظت کادمیوم در خاک، شـــاخص قابلیت دسـترسی به کربن به صفر نزدیک می‌شود که بیان‌کنندهٔ وجود محدودیت کربن در محیط اســـت. با توجه به اینکه ریشـــه مهم‌ترین منبع تولید کربن برای جانداران هتروتروف خاک اســـت (Dai et al, 2004)، کـاهش بیشـــتر شـــاخص CAI را می‌توان به کاهش

جدول ۵. شاخص CAI در خاک تحت کشت گیاه تلخه در تیمارهای PGPR و AMFدر سطوح مختلف کادمیوم

کل کادمیوم افزوده‌شده به خاک ($mg\ kg^{-1}$)	قابلیت دسترسی به کربن(CAI)	
	PGPR	AMF
۰	۰/۰۳۱^{a,a}	۰/۰۳۰^{a,a}
۱۰	۰/۰۳۰^{a,a}	۰/۰۲۹^{a,a}
۳۰	۰/۰۲۸^{a,a}	۰/۰۲۸^{a,a}
۱۰۰	۰/۰۲۳^{a,a}	۰/۰۲۱^{a,a}

حروف بالانویس اول و دوم روی هر عدد، به‌ترتیب، نشان‌دهندهٔ اختلاف آماری (P≤۰/۰۵) در هر ستون و هر ردیف است.
میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن اختلاف معناداری (P≤۰/۰۵) ندارد.

جدول ۶ مقادیر شـاخص ضـریب متابولیکی (qCO_2) را در خاک تحت کشت گیاه تلخه در سطوح مختلف کادمیوم نشـــان می‌دهد. شـــاخص ضـــریب متابولیکی با افزایش ســـطوح کادمیوم در خاک تحت کشت تلخه افزایش یافت. هرچند این افزایش تا غلظت ۳۰ میلی‌گرم کـادمیوم در تیمـارهای AMF و PGPR گیـاه تلخـه معنـادار (P≤۰/۰۵) نبود، این اختلاف در غلظت ۱۰۰ میلی گرم کادمیوم معنادار (P≤۰/۰۵) بود. اختلاف مقادیر این شاخص نیز در تیمارهای AMF و بیشـــتر بیوماس ریشـــه در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم نســـبت داد. نتایج پژوهشـــی مقدار کادمیوم در بخش‌های مختلف گیاه سـویا را به‌صـورت ریشـهٔ شاخسارهٔ دانه نشان می‌دهد. این ناتساوی ثابت می‌کند در سـویا اندوزش کادمیوم به‌وسـیلهٔ ریشـه‌ها بسـیار بیشـتر از سـایر بخش‌های گیاه اسـت و ممکن اسـت ریشهٔ گیاه بیشتر از سایر بخش‌های گیاه آسیب ببیند (Chen et al, 2003)

جدول ۶. شاخص qCO_2 در خاک تحت کشت گیاه تلخه در تیمارهای PGPR و AMFدر سطوح مختلف کادمیوم

کل کادمیوم افزوده‌شده به خاک($mg\ kg^{-1}$)	qCO_2	
	PGPR	AMF
۰	۰/۰۹±۰/۰۰۲ ^{a,b}	۰/۰۹±۰/۰۰۴ ^{a,b}
۱۰	۰/۰۹±۰/۰۱ ^{a,b}	۰/۰۹۴±۰/۰۱ ^{a,b}
۳۰	۰/۱۰±۰/۰۱ ^{a,b}	۰/۱۰±۰/۰۱^{a,ab}
۱۰۰	۰/۱۱±۰/۰۱^{a,a}	۰/۱۱۲±۰/۰۱^{a,a}

حروف بالانویس اول و دوم روی هر عدد، به‌ترتیب، نشان‌دهندهٔ اختلاف آماری (P≤۰/۰۵)در هر ستون و هر ردیف است.
میانگین‌های دارای حروف مشترک براساسآزمون چنددامنه‌ای دانکن اختلاف معناداری (P≤۰/۰۵) ندارد.

PGPR در خـاک تحـت کشـــت تلخـه تقریباً معنادار (P≤۰/۰۵) نبود.

شـــاخص qCO_2، که از تقســـیم تنفس پایه بر کربن زیست‌تودهٔ میکروبی به‌دست می‌آید(Anderson and Domsch, 1990)، در شـرایط تنش‌های محیطی افزایش می‌یـابـد (Bunemann et al, 2006). در این تحقیق نیز، با افزایش غلظت کادمیوم در خاک، ضریب متـابولیـک خاک در ریزوســـفر گیاهان افزایش یافت (جدول ۶).

محققـان دربـارۀ افزایش مقـدار qCO_2 در اثر اســـتفاده از لجن فاضـــلاب آلوده به فلزات ســـنگین درخـاک نتـایجی مشـــابـه گزارش کرده‌اند (Fortes Neto, 2000; Carmo, 2001; Lopes, 2001). در تحقیق Khalighi and Khara (2006) دربـارۀ تـأثیر تنش شـوری بر شاخص‌های بیولوژیک خاک ثابت شد شـــوری به افزایش qCO_2 منجر می‌شـــود. همچنین، مشـاهده شد در حضور ریشه‌های گیاهی مقدار qCO_2 کمتر از زمانی است که گیاه حضور نداشته باشد.

جدول ۷. فراوانی باکتری‌های ریزوسفری خاک و همزیستی میکوریزی ریشۀ گیاه تلخه در سطوح مختلف کادمیوم در خاک

کل کادمیوم افزوده‌شده به خاک($mg\ kg^{-1}$)	فراوانی باکتری‌های ریزوسفری (در گرم خاک خشک)	کلونیزاسیون میکوریزی ریشه(٪)
۰	۲۷۵۰^{a}	۸۷/۵±۱/۶^{a}
۱۰	۳۲۳^{b}	۴۷/۵±۲/۱^{b}
۳۰	۱۷۲^{c}	۳۷±۱/۳^{c}
۱۰۱۲۱/۰^{d}	۱۲۱/۰^{d}	۱۲۱/۰^{d}±۰/۲۰^{d}

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن اختلاف معناداری (P≤۰/۰۵) ندارد.

فراوانی باکتری‌های ریزوسفری خاک و کلونیزاسیون میکوریزی

جدول ۷ تغییرات میانگین جمعیت باکتری‌های موجود در ریزوسفر تلخه را در سطوح مختلف کادمیوم در

نتایج بررسی درصد همزیستی طول ریشه نشان داد با افزایش غلظت کادمیوم این شاخص به‌طور معناداری کاهش می‌یابد (جدول ۷). در غلظت‌های بالای کادمیوم، درصد همزیستی میکوریزی از ۸۷/۵ شرایط تلقیح خاک با باکتری‌های محرک رشد گیاه نشان می‌دهد. با افزایش شدت آلودگی کادمیوم در خاک فراوانی باکتری‌های ریزوسفری خاک به‌طور معناداری (P≤۰/۰۵) کاهش می‌یابد (جدول ۷). همان‌طور که قبلاً اشاره شد، فراوانی جمعیت میکروبی در خاک‌های دارای گیاه و سیستم ریشه‌ای بیشتر از خاک‌های فاقد گیاه و سیستم ریشه‌ای است که نشان می‌دهد در خاک‌های آلوده ترشحات ریشه‌ای گیاهان کشت‌شده افزایش می‌یابد (Lee and Banks, 1993). ریشه‌های گیاهان آنزیم‌هایی ترشح می‌کنند که انواع و فعالیت میکروبی را افزایش می‌دهد (Abedi-koupai et al, 2007). همچنین، کاهش فراوانی باکتری‌ها دراثر آلودگی کادمیومی خاک را می‌توان به تخریب DNA و RNA ، مهار سنتز پروتئین، جلوگیری از فرایندهای آنزیمی، مهار تقسیم سلولی به‌وسیلۀ فلزات سنگین، و نهایتاً آسیب‌رسانی به سلول و فرایندهای سلولی باکتری‌ها نسبت داد (Maier et al, 2000).

با توجه به اینکه در غلظت‌های بالای آلودگی عملکرد شاخسارۀ گیاهان مورد مطالعه کاهش یافت (جدول ۱)، می‌توان علت کاهش جمعیت میکروبی خاک بر اثر آلودگی را به کاهش ترشحات ریشه‌ای ناشی از کاهش بخش فتوسنتزکنندۀ گیاه نسبت داد. در پژوهشی که روی گیاه ذرت در خاکی آلوده به کادمیوم انجام گرفت معلوم شد PGPRها و AMFها رشد گیاه را درنتیجۀ افزایش فعالیت‌های میکروبی در خاک ریزوسفری بهبود می‌بخشند (Vivas et al, 2003).

درصد در شرایط بدون کادمیوم به حدود ۱۱/۱ درصد در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک کاهش پیدا کرد.

به‌عبارت دیگر، درصد همزیستی در بالاترین غلظت کادمیوم به مقدار ۸۷ درصد نسبت به شرایط بدون کادمیوم کاهش یافت و می‌توان گفت که به‌تبع آن بهره‌مندی گیاه از منافع همزیستی با قارچ میکوریز محدود شده است. مطالعات نشان می‌دهد عناصر سنگین بر کلونیزاسیون میکوریزی ریشه تأثیر منفی می‌گذارد (Liao et al, 2003; Andrade et al, 2008). Kim et al (2004) در گزارشی نشان دادند در حضور کادمیوم میزان آلودگی میکوریزی درختان کاج کاهش می‌یابد. در مطالعه‌ای دیگر با بررسی تأثیر همزیستی میکوریزی بر رشد گیاه ذرت در شرایط آلودگی کادمیوم و فسفر بالا ثابت شد با افزایش غلظت کادمیوم کاهش می‌یابد و کادمیوم رشد و گسترش هیف‌های قارچی و طول ریشه‌های آلوده را محدود می‌کند (Sara et al, 2008).

نتیجه‌گیری

به‌طور خلاصه، نتایج این مطالعه نشان داد کادمیوم با غلظت کم و در حدود ۱۰ میلی‌گرم نقش سمی و بازدارنده بر فعالیت‌های میکروبی خاک دارد. نتایج نشان داد افزایش جمعیت و فعالیت میکروبی خاک و نیز استفاده از پتانسیل ارتباط مثبت بین میکروارگانیزم‌های محرک رشد گیاه و گیاهان در شرایط تنش‌های محیطی به‌ویژه آلودگی ناشی از فلزات سنگین یکی از راهکارهای مدیریتی ارزان‌قیمت، موفق، و مؤثر در جهت کنترل آثار مخرب این‌گونه آلاینده‌هاست. بنابراین، پیشنهاد می‌شود در خاک‌های آلوده به کادمیوم، با استفاده از میکروارگانیسم‌های محرک رشد، امکان کاهش تأثیرات نامطلوب کادمیوم بر فعالیت میکروبی خاک و درنتیجه چرخهٔ عناصر غذایی وجود دارد.

REFERENCES

Abedi-koupai, J. M. Vossoughi-Shavari, S. Yaghmaei, M. Ezzatian, R. (2007), Effects of Microbial Population on Phytoremediation of Petroleum Contaminated Soils Using Tall Fescue', *International: Journal of Agriculture and Biology*, 242-246.

Abou-Shanab, R. A. Angle, J. S. and Ghaney, R. L. (2006), Bacterial inoculants affecting nickel uptake by Alyssum murale from low, moderate and high Ni soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 38, 2886-2889.

Anderson, J. P. E. (1982), Soil respiration, 831-871, In: *Methods of soil analysis*, Part 2: Chemical and Microbiological Propertiese, Page A.L. and Miller, R.H. (Eds.), American Society of Agronomy, Madison, 831-871.

Anderson, T. H. and Domsch, K. H. (1990), Application of eco-physiological quociente (qCO2 and Dq) on microbial biomasses from soils of different cropping histories, *Soil Biology and Biochemistry*, 22, 251–255.

Andrade, S. A. Silveira, A. P. 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.

Baath, E. (1989), Effect of heavy metals in soil on microbial process and populations (a review), *Water, Air and Soil Pollution*, 47, 335–379.

Bardgett, G. D. and Saggar, S. (1994), Effect of heavy metal contamination on the short-term decomposition of labelled (14C) in a pasture soil, *Soil Biology and Biochemistry*, 26, 727–733.

Biro, B. Bayoumi, H. E. Balazsy, S. and Kecskes, M. (1995), Metal sensitivity of some symbiotic N_2-fixing bacteria and Pseudomonas strains. *Acta Biology Hungria*, 46, 9-16.

Bowen, G. D. and Rovira, A. D. (1976), Microbial colonization of plant roots, *Annual Review Phytopathologic*, 14, 121-144.

Brookes, P. C. and McGrath, S.P. (1984), Effects of metal toxicity on the size of the soil microbial biomass, *Journal of Soil Science*, 35, 341–346.

Brud, G. I. Dixon, D. G. and Glick, B. R. A. (1998), Plant growth promoting bacterium that decreases nikel toxicity in seedlings, *Appl Environ Microbiol*, 64 (10), 3663-8.

Bunemann, E. K. Schwenke, G. D. and Van Zwieten, L. (2006), Impact of agricultural inputs on soil organisms, *A paper rewiew*, 44, 379-406.

Cariny, T. (1995), *There-use of contaminated land*, John Wiley and Sons Ltd, Publisher, P, 219.

Carmo, J. B. (2001), *Impacto da aplicação de biossólidos nas atividades microbianado solo, M.Sc. Dissertation*, Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, Brasil, 105 pp.

Chander, K. and Brookes, P. C. (1991), Microbial biomass dynamics during the decomposition of glucose and maize in metal-contaminated and non-contaminated soils, *Soil Biology and Biochemistry*, 23, 917–925.

Cheng, W. Coleman, D .C. Carroll, C. R. and Hoffman, C. A. (1993), In situ measurements of root respiration and soluble carbon concentrations in the rhizosphere, *Soil Biology and Biochemistry*, 25, 1189-1196.

Chen, Y.X. He, Y. F. Yang, Y. Yu, Y. L. Zheng, S. J. Tian, G. M. Luo, Y.M. and Wong, M.H. (2003), *Effect of cadmium on nodulation and N_2-fixation of soybean in contaminated soils*, Chemosphere, 50, 781–787.

Dai, J. Becquer, T. Rouiller, J. H. Reversat, G. Bernhard, F. Reversat, J, Ahmani, N. and Lavelle, P. (2004), Influence of heavy metals on C and N mineralization and microbial biomass in Zn, Pb, Cu and Cd contaminated soils, *Applied Soil Ecology*, 25, 99-109.

Entry, J. A. (1996), Phytoremediation of Soil Contaminated with Low Concentrations of Radionuclides, *Water, Air and Soil Pollution*, 88, 167-176.

Fortes Neto, P. (2000), *Degradação de biossólido incorporado ao solo avaliada através de medidas microbiológicas*, Ph.D. Thesis, Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, Brasil, 113 pp.

Ghollarata, M. and Raiesi, F. (2007), The adverse effect of soil salinization on the growth of Trifolium alexandrinum L. and associated microbial and biological properties in a soil from Iran, *Soil Biology and Biochemistry*, 39, 1699-1702.

Ghorbani, N. R. Salehrastin, N. and Moeini, A. (2002), Heavy metals affect the microbial populations and their activities, *17th WCSS. Thailand, Symposium no.* 54, paper no, 223, 1-11.

Jenkinson, D. S. and D. S. Powlson, (1976), The effects of biocidal treatments on metabolism in soil, V. A method for measuring soil biomass, *Soil Biology and Biochemistry*, 8, 209-213.

José, L. M. Hernández, T. Pérez, A. and Garcıa, C. (2002), Toxicity of cadmium to soil microbial activity: effect of sewage sludge addition to soil on the ecological dose, *Soil Ecology*, 21, 149–158.

Johansson, J. F. Paul, L. R. and Finlay, R. D. (2004), Microbial interaction in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture, FEMS Microbiol, *Soil Ecology*, 48, 1-13.

Kim, C. G. Power, S. A. and Bell, J. N. (2004), Effects of host plant exposure to cadmium on mycorrhizal infection and soluble carbohydrate levels of Pinus sylvestris seedlings, *Environmental Pollution*, 131 (2), 287-94.

Khalighi, A. and Khara, J. (2006), The effect of arbuscular mycorrhizal fungus Glomus intraradices on some growth and physiological parameters in wheat (cv. Azar 2) plants under cadmium toxicity, *Journal of Biology Department*, 2 (21), 216-230 (In Persian).

Killham, K. (1994), *Soil Ecology*, Cambridge University Press, UK.

Lee, E. and Banks, M. K. (1993), Bioremediation of petroleum contaminated soil using vegetation: A microbial study, *Journal of Environmental Science*, 28 (10), 2187.

Lewandowski, A. and Zumwinkle, M. (1999), Assessing the soil system a review of soil quality litrature, Minnesota Department of Agriculture, *Energy and Sustainable Agriculture Program*.

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, 847-853.

Lopes, E. B. M. (2001), Diversidade metabólica em solo tratado com biossólidos, M.Sc. Dissertation, Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, Brasil, 65 pp.

Lynch, J. M. and Whipps, J. M. (1990), Substrate flow in the rhizosphere, *Plant and Soil*, 129, 1-10.

Maier, R. M. Papper, L. L. and Gebra, C. P. (2000), *Environmental Microbiology*, Academic Press. Chapter, 17, 403-423.

Malakooti, M. J. and Homaee, M. (2000), *Fertility of arid and semi-arid soils*, Tarbiat Modares University publications.

McGonigle T. P. Miller M. H. Evans DG. Fairchild G. L. and Swan J. A. (1990), A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi, *New Phytology*, 115, 495-501.

Mirahmadi, H. and Safari, A. A. (2003), The effect of lead contamination on basal and Subestrat Induced respiration soil, In: Proceedings of *Congress on Soil and stable environment in Karaj*, Buali-Sina University, Hamedan, Iran, (In Farsi).

Norris, J. R., Read, D. J. and Varma, AK. (1992), Methods in Microbiology, Volume 24, Techniques for the Study of Mycorrhiza, Academic Press, London.

Olga, M. Jaromir, K. and Jitka, N. (2002), Some microbiological characteristics and enzymatic activities in soil polluted with heavy metals, 17 th WCSS, Thailand, Symposium no, 792, 1-7.

Sara, A. L. de Andrade S. A. and Adriana, P. D. da Silveira, (2008), Mycorrhiza influence on maize development under Cd stress and P supply, Braz. *Journal of Plant Physiology*, 20 (1), 39-50.

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, 181–188.

Siqueira, J. O. Colozzi-Filho, A. and Oliverira, E. (1989), *Occurencia de micorrizas vesiculo arbusculares em agro ecossistemas naturais do estado de minas gerais*, Pasquisa Agropecuaria Brasileira, 24, 1499-1506.

Vance, E. D. Brookes, P. C. and Jenkinson, D. S. (1987), An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry*, 19, 703–707.

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

Verma, S. and Dubey, R. S. (2001), Effect of cadmium on soluble sugars and enzymes of their metabolism in rice. *Biology Plant*, 44, 117-123.

Vivas, A. Marulanda, A. Ruiz-Lozana, J. M. Barea, J. M. and Azcon, R. (2003), Influence of a Bacillus sp. on physio-logical activities of two arbuscular mycorrhizal fungi and on plant responses to PEG-induced drought stress. *Mycorrhiza*, 13 (5), 249-256.