اثر همزمان کرم خاکی و ریزوباکتر بر کلونیزاسیون میکوریزایی ریشه و رشد سه گونه گیاهی در یک خاک آلوده به فلزات سنگین

علی محوحی[۱] و فایز رئیسی[۲]
۱ و ۲- به ترتیب دانشجوی دکتری و استاد خاکشناسی، گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد

چکیده

در این مطالعه، اثرکرم خاکی و باکتری بر کلونیزاسیون میکوریزایی ریشه و رشد گیاه در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین مورد ارزیابی و مقایسه قرار گرفت. سه گونه گیاه تلقیح شده با قارچ میکوریزا به صورت جداگانه یا همزمان با کرم خاکی یا ریزوباکتری تحت شرایط گلخانه تلقیح گردید. به‌طورکلی، تلقیح هر سه گیاه میکوریزایی مورد مطالعه با کرم خاکی و ریزوباکتر، درصد کلونیزاسیون ریشه، فراوانی اسپورها، قابلیت دسترسی فسفر خاک و رشد گیاه را تحت تاثیر قرار داد و بسته به نوع گیاه و موجود زنده کاملاً متفاوت بود. همبستگی منفی معنی‌دار بین فسفر قابل دسترس خاک و درصد کلونیزاسیون ریشه در هر سه گیاه (ذرت: r=-۰/۴۸، P<۰/۰۵؛ مَرغ: r=-۰/۷۴، P<۰/۰۰۱ و گاوپونه: r=-۰/۶۵، P<۰/۰۱) نشان می‌دهد افزایش فسفر قابل دسترس خاک در حضور کرم خاکی یا ریزوباکتر می‌تواند یکی از عوامل کاهش درصد کلونیزاسیون ریشه باشد. همبستگی بین فراوانی اسپورها و کلونیزاسیون ریشه هر سه گیاه (غیرمعنی‌دار در کشت ذرت؛ مَرغ: r=۰/۷۶، P<۰/۰۰۱ و گاوپونه: r=۰/۶۷، P<۰/۰۱) نیز متفاوت بود و نشان داد که فراوانی اسپورها شاخص مناسبی برای وابستگی میکوریزایی نیست و به نوع گیاه و جانداران خاک بستگی دارد. همچنین نتایج این بررسی حاکی است درصد کلونیزاسیون ریشه نیز شاخص مناسبی از رشد این گیاهان نیست و به عوامل دیگری همچون نوع گیاه بستگی دارد.

واژه‌های کلیدی: قارچ میکوریزا، کرم خاکی، باکتری، کلونیزاسیون ریشه، فلزات سمی

مقدمه

نقش موجودات زنده در خاک‌های آلوده اغلب در راستای افزایش رشد گیاه یا افزایش مقاومت گیاه در مقابل سمیت فلزات سمی به منظور بهبود راندمان گیاه‌پالایی است. در میان این قارچ های همزیست میکوریزا، باکتری‌های ریزوسفری و کرم‌های خاکی در اغلب خاک‌ها به‌طور همزمان یافت می‌شوند و قادر هستند با سازوکارهای گوناگون رشد و نمو گیاه و ظرفیت جذب فلزات سمی و در نتیجه راندمان گیاه پالایی را در محیط‌های آلوده تحت تاثیر قرار دهند. این موجودات اغلب با تغییر شرایط محیطی مانند pH خاک، تولید کربن آلی محلول، تولید اسیدهای آلی، فعالیت میکروبی، جذب فلزات سمی، افزایش یا کاهش زیست‌فراهمی فلزات و در پی آن رشد و درجه سازگاری گیاه را در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین تحت تاثیر قرار می‌دهند (ویواس و همکاران، ۲۰۰۳؛ ندیم و همکاران، ۲۰۱۴). قارچ‌های میکوریز آربوسکولار قادر به تعدیل سمیت ایجاد شده توسط فلز سنگین برای گیاه و افزایش مقاومت آن می‌باشند (گنزالز چاوز و همکاران، ۲۰۰۴؛ چن و همکاران، ۲۰۰۵). باکتری‌های ریزوسفری افزاینده رشد گیاه (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria) (PGPR's)، از طریق راه‌کارهای گوناگون باعث تحریک و بهبود رشد گیاهان می‌شوند (بلیمو و همکاران، ۲۰۰۴). انحلال فسفات‌های نامحلول، تشکیل کمپلکس سیدروفور آهن و همچنین تولید تنظیم کننده‌های رشد و هورمون‌های گیاهی مانند ایندول استیک اسید، جیبرلیک اسید، تولید آنزیم ACC- دآمیناز توسط این باکتری‌ها، از جمله راه‌کارهای افزایش رشد و عملکرد گیاه در شرایط تنش فلزات سنگین می‌باشد (داری و همکاران، ۲۰۱۰؛ ما و همکاران، ۲۰۱۱؛ ندیم و همکاران، ۲۰۱۴). کرم‌های خاکی تنوع و عملکرد

جمعیت میکروبی ریزوسفر را از طریق: ۱- تغییر شرایط فیزیکی و شیمیایی محیط با تولید منافذ و فضولات در خاک، ۲- تغذیه که منجر به انتخاب ریزجانداران تند رشد می‌شود و ۳- پراکندگی ریزجانداران در سطح بدن و یا پس از زنده ماندن هنگام عبور از دستگاه گوارش خود تغییر می دهند (راج‌کومار و همکاران، ۲۰۱۲). به‌طور مثال، ما و همکاران (۲۰۰۶) تاثیر سودمند کرم خاکی و قارچ میکوریزا را بر استقرار درختان لگومینوز بر پسماندهای معدن سرب و روی بررسی و گزارش کردند که قارچ میکوریزا بیشترین تاثیر را در بهبود جذب نیتروژن، فسفر و پتاسیم داشته است. همچنین گزارش شده است که حضور PGPRها به استقرار میکوریزا کمک می‌کند. به‌عنوان مثال، تلقیح باکتری *پنی‌باسیلوس برازیلینس* موجب افزایش کلونیزاسیون ریشه توسط قارچ‌های میکوریز *گلوموس موسه‌آ* گیاه شبدر شده است (آرتورنسن، ۲۰۰۶). در این تحقیق، پیامد هم‌کرداری (Synergism) و یا پادکرداری (Antagonism) تلقیح کرم خاکی و ریزوباکتر بر درصد کلونیزاسیون ریشه و رشد سه گیاه مختلف (ذرت رقم سینگل کراس۷۰۴ (*Zea mays* L.)، مَرغ یا برموداگراس (*Cynodon dactylon*) و گاوپونه (*Stachys inflata*)) میکوریزایی در یک خاک آلوده بررسی شد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری خاک از منطقه دارای پوشش گیاهی در معدن سرب باما (غرب شهر اصفهان) از عمق ۰- ۱۵ سانتی‌متری سطح خاک انجام و پس از انتقال به آزمایشگاه، هوا خشک و از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شد. این آزمایش برای هر گیاه به‌طور جداگانه، در قالب طرح کاملا تصادفی در شرایط گلخانه اجرا شد. فاکتورها شامل ۱) قارچ میکوریزا (M)، ۲) قارچ میکوریزا همراه با کرم خاکی (ME)، ۳) قارچ میکوریزا همراه با باکتری(MB) و ۴) قارچ میکوریزا همراه با کرم خاکی و باکتری (MEB) که هر کدام در چهار تکرار بود. خاک آلوده به فلزات سنگین (سرب و روی) از منطقه مورد مطالعه پس استریل شدن در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت دو ساعت در اتوکلاو، در شرایط استریل به گلدان‌هایی با ظرفیت تقریبی ۴ کیلوگرم منتقل شد. تعداد شش بذر جوانه‌دار گیاهان ذرت، مَرغ و گاوپونه در هر گلدان به مدت ۵ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۵ درصد استریل سطحی شده و پس از آن توسط آب مقطر استریل شسته شده و در کاغذ صافی مرطوب درون پتری‌دیش جوانه زده و جوانه‌های همسان در گلدان کشت و پس از رشد، دو گیاه‌چه سالم حفظ و مابقی حذف شدند. برای اعمال تیمارهای میکروبی، قبل از انتقال گلدان‌ها، ریشه‌چه‌ها با اسپورهای جداسازی شده از ۱۰۰ گرم مایه تلقیح قارچ میکوریزا شامل ترکیبی از مایه تلقیح قارچ‌های جنس گلوموس گونه‌های *گلوموس موسه‌آ* و *گلوموس کانستریکتوم* که توسط الک ۴۰۰ مش و محلول شکری جداسازی شده و به مدت ۱۰ دقیقه توسط کلرآمینT ۲٪، استرپتوماسین ۰/۰۲٪ و جنتامایسین ۰/۰۱ ٪ استریل سطحی شده، مایه زنی شدند. تعداد ۴ عدد کرم خاکی بالغ گونه *ایسنیا فتیدا* با طول و وزن یکسان که به مدت ۲۴ ساعت در محلول مشابه بالا جهت استریل سطحی و به حداقل رساندن اسپور و باکتری‌های دستگاه گوارش کرم نیمه شناور شده، به گلدان‌های تیمار ME و همچنین MEB، دو هفته پس از استقرارگیاهان اضافه شدند. در تمامی واحدهای آزمایشی برای تغذیه کرم‌های خاکی ۲ درصد ماده آلی استریل به شکل بقایای آسیاب شده یونجه با اندازه یک میلی‌متر در تیمارهای ME و MEB، به سطح خاک اضافه و در تیمار M به‌طور کامل مخلوط شد. برای تیمار باکتریایی مقدار ۱۵ میلی‌لیتر از محیط کشت مایع (Nutrient Broth, NB) حاوی باکتری‌های *باسیلوس* و *کورینه‌باکتریوم* به گلدان‌ها پس از انتقال جوانه‌ها مایه‌زنی شد. آبیاری گلدان‌ها به وسیله آب‌مقطر استریل، بر اساس نیاز گیاه و نگهداری گلدان‌ها در شرایط گلخانه انجام شد. پس از گذشت حدود ۳ ماه از دوره رشد، شاخساره‌های گیاهان از سطح خاک قطع شدند. ریشه گیاهان نیز به آرامی از خاک گلدان‌ها جدا و بخش‌های زیرزمینی و هوایی به طور جداگانه هواخشک و مجددا توزین شدند. درصد کلونیزاسیون قارچ‌های میکوریزا بر پایه روش بهبود یافته تنانت (۱۹۷۵) انجام گرفت. فراوانی اسپورها بر اساس روش سری الک و محلول شکری جداسازی و شمارش شدند (جنکینز، ۱۹۶۴). غلظت فسفر قابل جذب خاک بر اساس روش اولسن و همکاران (۱۹۵۴) انجام گرفت. پیش از انجام تجزیه‌های آماری، ابتدا پیش‌فرض‌های تجزیه واریانس از قبیل یکنواختی خطای آزمایش و توزیع نرمال داده‌ها یا باقی‌مانده‌ها بررسی شدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از مدل خطی

جامع (General Linear Model) توسط نرم‌افزار SAS از طریق آنالیز واریانس انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد انجام گرفت.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که مایه زنی جداگانه با میکوریزا و همزمان (ME، MB وMEB) خاک به طور قابل توجهی درصد کلونیزاسیون ریشه، رشد گیاه، قابلیت دسترسی فسفر خاک و همچنین رشد گیاه را در شکل آماری (P<۰/۰۰۱) تحت تاثیر قرار داد (جدول ۱). به‌طورکلی میانگین درصد کلونیزاسیون ریشه در گیاه گاوپونه بیشترین (۶۱٪) و در گیاه مَرغ کمترین (۲۳٪) بود. تلقیح همزمان کرم و میکوریزا (ME) نتایج متفاوتی به‌همراه داشت، به‌طوری‌که در گیاه ذرت افزایش و در گیاهان گاوپونه و مَرغ کاهش درصد کلونیزاسیون نسبت به تیمار میکوریزا به تنهایی (M) مشاهده شد (شکل A۱). احتمالا کاهش درصد کلونیزاسیون ریشه در گیاه مَرغ به دلیل افزایش فسفر قابل دسترس باشد. از سوی دیگر، در هر سه گیاه مورد مطالعه، درصد کلونیزاسیون ریشه در حضور باکتری کمتر از دیگر تیمارها (M و ME) بود. اثر منفی باکتری‌ها بر درصد کلونیزاسیون ریشه احتمالا از طریق افزایش فسفر قابل دسترس و یا افزایش سمیت فلزات سنگین خاک باشد. همبستگی منفی بین فسفر قابل دسترس خاک و درصد کلونیزاسیون ریشه در هر سه گیاه (ذرت: r=-۰/۴۸، P<۰/۰۵؛ مَرغ: r=-۰/۷۴، P<۰/۰۰۱ و گاوپونه: r=-۰/۶۵، P<۰/۰۱) معنی‌دار بود. از سوی دیگر حضور هر سه موجود زنده (MEB)، اثر منفی کرم خاکی و یا باکتری را بر درصد کلونیزاسیون تا اندازه‌ای کاهش داد. احتمالا در حضور همزمان سه موجود زنده، باکتری‌ها به عنوان منبع غذایی ساده‌تر نسبت به هیف قارچی توسط کرم خاکی مصرف شده باشند و به‌دنبال آن از اثر منفی کرم بر درصد کلونیزاسیون کاسته شده است. فراوانی اسپور قارچ میکوریزا روند نسبتا مشابهی با درصد کلونیزاسیون داشت، با این تفاوت که فراوانی اسپوها در تیمارهای MB و MEB در کشت ذرت نسبت به مَرغ و گاوپونه بیشتر بود (شکل B۱). همبستگی بین فراوانی اسپورها و درصد کلونیزاسیون در گیاهان مختلف (غیرمعنی‌دار در کشت ذرت؛ مَرغ: r=۰/۷۶، P<۰/۰۰۱ و گاوپونه: r=۰/۶۷، P<۰/۰۱) نشان داد که فراوانی اسپورها همیشه شاخص مناسبی برای بیان همزیستی میکوریزایی نیست و به نوع گیاه و جانداران خاک بستگی دارد. ملک زاده و همکاران(۱۳۹۰) گزارش کردند که درصد کلونیزه شدن ریشه در سطوح مختلف کادمیوم و در مایه زنی توام با باکتری های محرک رشد گیاه متفاوت بود. به‌طور مثال، در مایه‌زنی توأم *گلوموس موسه* با *باسیلوس میکودیس*، کلونیزه شدن ریشه کاهش یافت و در مایه زنی توأم این قارچ با *میکروکوکوس روزئوس* اختلاف معنی دار آماری در مقایسه با تلقیح جداگانه *گلوموس موسه* مشاهده نگردید. اما دپنوسیس و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که *سودوموناس مونتولی* نه تنها کلونیزه شدن ریشه گیاه سورگوم را افزایش می دهد، بلکه به عنوان باکتری کمک کننده میکوریزی عمل می کند و به میزان قابل ملاحظه ای جذب کادمیوم توسط گیاه را افزایش می دهد. نتایج این مطالعه نشان داد که حضور کرم و باکتری به‌همراه میکوریزا غلظت فسفر قابل جذب خاک را افزایش داد. این افزایش به‌ویژه درتیمار MEB در گیاه ذرت بیشتر بود، اما در گیاهان مَرغ و گاوپونه تفاوت معنی‌داری بین تیماره MB و MEB مشاهده نشد (شکل C۱). ملک زاده و همکاران(۱۳۹۰) گزارش کردند که تلقیح توام باکتری های محرک رشد گیاه با قارچ های میکوریز آربوسکولار منجر به افزایش جذب فسفر به اندام هوایی در مقایسه با گیاهان فقط میکوریزی گردید. تیمار میکوریزا به تنهایی افزایش یافت اما تفاوت معنی دار با تیمار MEB نداشت (شکل D۱). در کشت گاوپونه نیز حضور کرم و باکتری همراه با میکوریزا منجر به افزایش ۱۹ تا ۶۵ درصدی وزن خشک اندام هوایی شد. برخلاف ذرت و گاوپونه، تیمار همزمان میکوریزا با کرم و باکتری منجر به کاهش وزن خشک اندام هوایی نسبت به تیمار میکوریزا به تنهایی شد. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد تلقیح گیاهان با قارچ میکوریزا به تنهایی یا همراه با کرم و باکتری، وزن خشک ریشه و اندام هوایی را تغییر داد. به‌طوری‌که در گیاه ذرت تلقیح شده با ME و MB، وزن خشک اندام هوایی حدود ۳۰ درصد نسبت به وزن خشک ریشه نیز روند مشابهی با وزن خشک اندام هوایی داشت (شکل E۱).

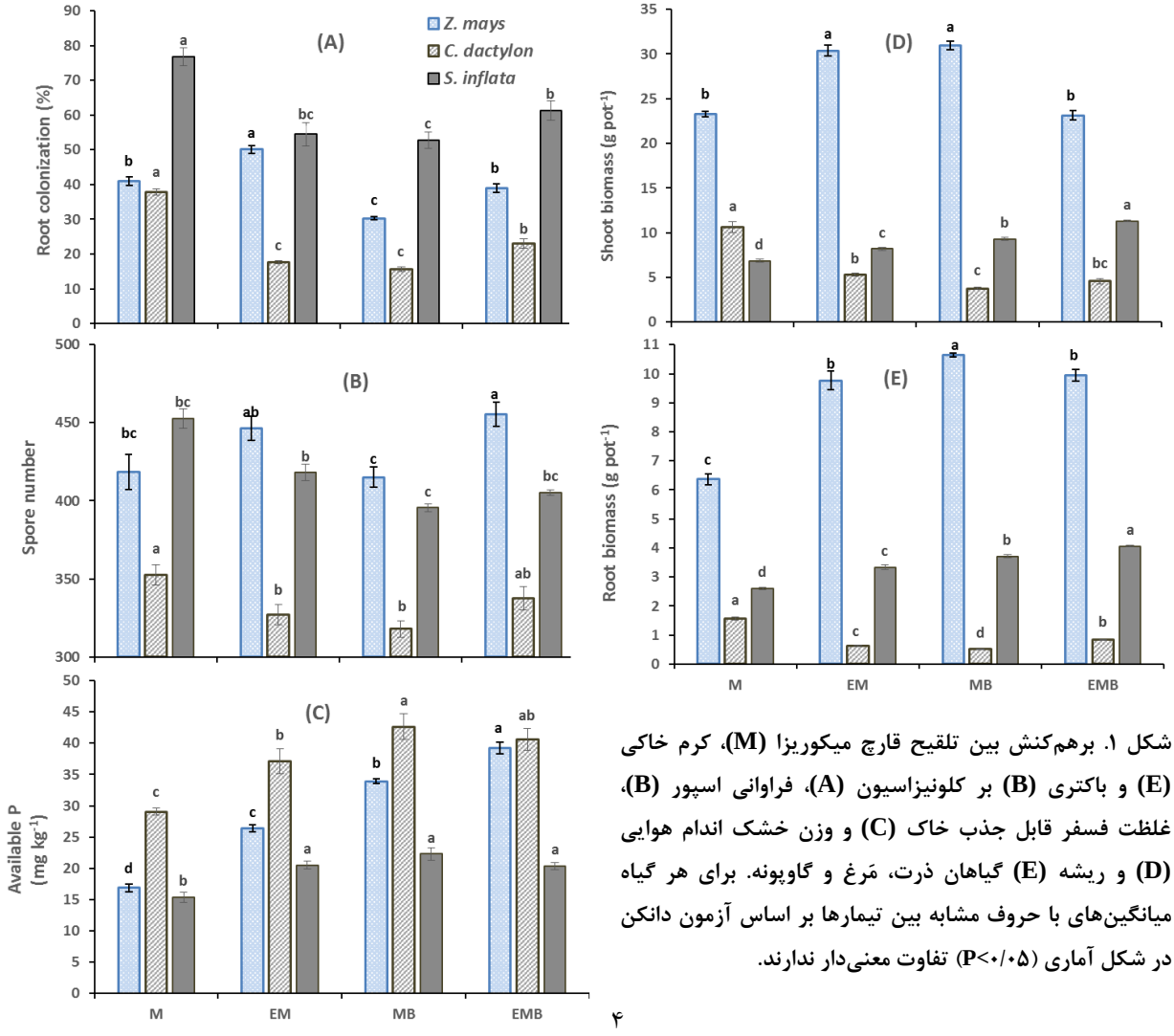
کرم‌های خاکی می‌توانند موجب بهبود رشد و تولید گیاه از طریق افزایش تجزیه مواد آلی و معدنی شدن عناصر که موجب افزایش قابلیت دسترسی عناصر غذایی (سوبلر و همکاران، ۱۹۹۷) و تولید تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه از طریق تحریک فعالیت

میکروبی (ناردی و همکاران، ۲۰۰۲) می‌شود، گردند. داری و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند مایه زنی PGPRها به گیاه لوبیا، سبب افزایش زیست‌توده این گیاه در خاک‌های آلوده به سرب می‌شود.

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس (آماره F) اثر کرم خاکی (E)، قارچ میکوریزا (M) و باکتری (B) بر کلونیزاسیون، فراوانی اسپور، غلظت فسفر در خاک و گیاه و رشد گیاهان ذرت، مَرغ و گاوپونه

منبع تغییر	تیمار			MSe			C.V. (%)		
	ذرت	مَرغ	گاوپونه	ذرت	مَرغ	گاوپونه	ذرت	مَرغ	گاوپونه
درجه آزادی	۳	۳	۳	۱۵	۱۵	۱۵	–	–	–
درصد کلونیزاسیون	۶۵***	۱۰۸***	۱۹***	۴/۱۱	۳/۷۳	۲۶	۵/۰۷	۸/۱۹	۸/۲۵
فراوانی اسپور	۴/۶۸**	۴/۷۴*	۳۱***	۳۴۵	۱۸۵	۷۹	۴/۲۸	۴/۰۷	۲/۱۲
فسفر قابل دسترس	۲۰۰***	۱۴***	۱۴***	۱/۸۸	۱۰/۳	۳/۵۶	۴/۷۱	۸/۶۱	۸/۱۵
وزن خشک اندام هوایی	۶۹***	۶۹***	۱۳۷***	۱/۰۸	۰/۵۵۱	۰/۱۰۳	۳/۸۶	۱۲/۲	۳/۵۹
وزن خشک ریشه	۸۰***	۲۹۹***	۱۲۰***	۰/۱۸۳	۰/۰۰۳	۰/۰۱۳	۴/۶۷	۶/۲۵	۳/۳۲

ns: غیر معنی‌دار در شکل آماری پنج درصد (P<۰/۰۵)، * معنی دار در شکل آماری پنج درصد (P<۰/۰۵)، **: معنی دار در شکل آماری یک درصد (P<۰/۰۱) و ***: معنی دار در شکل آماری یک‌دهم درصد (P<۰/۰۰۱).



شکل ۱. برهم‌کنش بین تلقیح قارچ میکوریزا (M)، کرم خاکی (E) و باکتری (B) بر کلونیزاسیون (A)، فراوانی اسپور (B)، غلظت فسفر قابل جذب خاک (C) و وزن خشک اندام هوایی (D) و ریشه (E) گیاهان ذرت، مَرغ و گاوپونه. برای هر گیاه میانگین‌های با حروف مشابه بین تیمارها بر اساس آزمون دانکن در شکل آماری (P<۰/۰۵) تفاوت معنی‌دار ندارند.

به‌طورکلی همبستگی بین رشد گیاه (مَرغ (r=۰/۸۶، P<۰/۰۰۱) و غیرمعنی‌دار در کشت ذرت و گاوپونه) با درصد کلونیزاسیون متفاوت بود که نشان می‌دهد که درصد کلونیزاسیون ریشه نیز شاخص مناسبی از رشد گیاه نیست و به عوامل دیگری همچون نوع گیاه بستگی دارد. به‌طورخلاصه، حضور جداگانه یا همزمان قارچ های میکوریزا، باکتری و کرم خاکی در خاک به طور قابل توجهی درصد کلونیزاسیون ریشه، فراوانی اسپورها، قابلیت دسترسی فسفر خاک و همچنین رشد گیاه را تحت تاثیر قرار می‌دهد که با توجه به نوع گیاه و همچنین نوع موجود زنده همراه با میکوریزا نتایج متفاوت خواهد بود. همبستگی منفی قوی بین فسفر قابل دسترس و درصد کلونیزاسیون در گیاهان مَرغ و گاوپونه وجود داشت. علاوه بر این، همبستگی بین فراوانی اسپورها و درصد کلونیزاسیون در گیاهان مختلف نشان داد که فراوانی اسپورها همیشه شاخص مناسبی برای بیان همزیستی میکوریزایی نیست و به نوع گیاه و جانداران خاک بستگی دارد. همچنین کلونیزاسیون ریشه نیز شاخص مناسبی از رشد گیاه نیست و به عوامل دیگری همچون نوع گیاه بستگی دارد.

منابع

ملک زاده، ا.، علیخانی ، ح.، ثواقبی فیروزآبادی، غ.، زارعی، م. ۱۳۹۰. برهم کنش قارچ های میکوریز آربوسکولار و باکتری ها PGPR مقاوم به کادمیوم در گیاه پالایی کادمیوم. نشریه آب و خاک، جلد ۲۵، شماره‌ی ۲، صفحه‌های ۲۶۶ تا ۲۷۴.

Artursson V., Finlay R.D. and Jansson J.K. 2006. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth. Environmental Microbiology. 8: 1-10.

Belimov A.A., Kunakova A.M., Safronova V.I., Stepanok V.V., Yudkin L.Y., Akleseev Y.V. and Kozhemyakov, A. P. (2004) Employment of rhizobacteria for the inoculation of barley plants cultivated in soil contaminated with lead and cadmium. Microbiology. 73: 99-106.

Chen X., Wu C., Tang J. and Hu S. 2005. Arbuscular mycorrhizae enhance metal lead uptake and growth of host plants under sand culture experiment. Chemosphere. 60: 665-671.

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: 323-330.

Duponnois R., Kisa M., Assigbetse K., Prin Y., Thioulouse J., Issartel M., Moulin P. and Lepage M. 2006. *Fluorescent pseudomonads* occurring in *Macrotermes subhyalinus* mound structures decrease Cd toxicity and improve its accumulation in sorghum plants. Science of the Total Environment. 370: 391-400.

Gonzalez-Chavez M., Carrillo-Gonzalez R., Wright S. and Nichols K. 2004. The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potentially toxic elements. Environmental Pollution. 130: 317-323.

Jenkins W.R. 1964. A rapid centrifugal technique for separating nematodes from soil. Plant Disease Reporter, 48: 692-701.

Ma Y., Dickinson N.M. and Wong M.H. 2006. Beneficial effects of earthworms and arbuscular mycorrhizal fungi on establishment of leguminous trees on Pb/Zn mine tailings. Soil Biology and Biochemistry. 38: 1403-1412.

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

Nadeem S.M., Ahmad M., Zahir Z.A., Javaid A. and Ashraf M. 2014. The role of mycorrhizae and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in improving crop productivity under stressful environments. Biotechnology Advances. 32: 429-448.

Nardi S., Pizzeghello D., Muscolo A. and Vianello A. 2002. Physiological effects of humic substances on higher plants. Soil Biology and Biochemistry. 34: 1527-1536.

Olsen S.R., Cole C.V., Watanabe F.S. and Dean L.A. 1954. Estimation of available phosphorus in soil by extraction with sodium bicarbonate. USDA. Circ. 939. U. S. GOV. Print Office, Washington, DC.

Rajkumar M., Sandhya S., Prasad M.N.V. and Freitas H. 2012. Perspectives of plant-associated microbes in heavy metal phytoremediation. Biotechnology Advances. 30: 1562-1573.

Subler S., Baranski C.M. and Edwards C.A. 1997. Earthworm additions increased short-term nitrogen availability and leaching in two grain crop agroecosystems. Soil Biology and Biochemistry. 29: 413-421.

Tennant D. 1975. A test of a modified line intersect method of estimating root length. Journal of Ecology. 63: 995-1001.

Vivas A., Voros I., Biro B., Barea J.M., Ruiz-Lozano J.M., and Azcon R. 2003. Beneficial effects of indigenous Cd-tolerant and Cd sensitive *Glomus mosseae* associated with a Cd-adapted strain of *Brevibacillus brevis* in improving plant tolerance to Cd contamination. Applied Soil Ecology, 24:177-186.

The combined effects of earthworms and rhizobacteria on root colonization and growth of three plant species in a soil contaminated with heavy metals

A. Mahohi[1], F. Raiesi[2]

1 and 2- PhD Student and Professor of Soil Science, Department of Soil Science and Engineering, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran, Respectively

Abstract

In this study, we have evaluated and compared the combined effects of earthworms and bacteria on root colonization and plant growth in a contaminated soil. Three plant species inoculated with arbuscular mycorrhizal (AM) fungi co-inoculated further with earthworms or rhizobacteria under greenhouse conditions. In general, inoculation of these organisms differently affected root colonization, spore abundance, soil phosphorus (P) availability and plant growth, and showed variable results depending upon plant species and soil organisms involved. The significant and negative correlations between soil P availability and root colonization for all the plants (*maize*: r=-0.48, P<0.05; *bermudagrass*: r=-0.74, P<0.001 and *Stachys inflata*: r=-0.65, P<0.01) suggests that the increased P availability would mainly be responsible for the decreases of root colonization in the presence of earthworms or rhizobacteria. The correlations between spore abundance and root colonization were also different for the three plant species (*maize*: ns; *bermudagrass*: r=-0.76, P<0.001 and *S. inflata*: r=-0.67, P<0.01), showing that spore abundance could not be a suitable index for mycorrhizal dependency, and that it depends on plant species and soil organisms considered. This study showed that root colonization may not be a suitable index for plant growth and could be different with plant species.

Key words: AM fungi, earthworms, rhizobacteria, root colonization, metal pollution