



Fungi Mikoriza Arbuskula: Potensi teknologi mikorizoremediasi logam berat dalam rehabilitasi lahan tambang

SUHARNO^{1*}, RETNO PENI SANCAYANINGSIH²

Suharno, Sancayaningsih RP. 2013. Arbuscular Mycorrhizae Fungi: The potential use of heavy metal mycorrhizo-remediation technology in mined field rehabilitation. Bioteknologi 10: 23-34. The study of arbuscular mycorrhizae fungi (AMF) on several ecosystem varieties has been done worldwide throughout. The role of mycorrhizae in promoting growth and surviving of plants in some critical habitats has also been recognized. In the last decade the ability of mycorrhizae has been used as a heavy metal remediation in the mined field. In fact, mycorrhizae were able to support the growth and survival of plants on the marginal lands. Various species of AMF are able to build symbioses relationship with plants in order to stabilize and bind heavy metals in polluted lands. Previously, Brassicaceae and Carryophyllaceae plants known as heavy metal hyper-accumulator, also Leguminosae plants with nitrogen fixing bacteria in it have been used in waste mined land revegetation and reclamation. Nowadays, beside increasing those plants ability, mycorrhizal fungi become an alternative source to enhance and develop other plant varieties to be plant revegetation in mined field.

♥ Alamat korespondensi:

¹Jurusan Biologi FMIPA
Universitas Cenderawasih, Jayapura
Jln. Kamp Wolker, Kampus Baru
Uncen-Waena, Jayapura 99358 Papua
Tel.: +62-967572115,
email: harn774@yahoo.com.

²Laboratorium Ekologi, Fakultas
Biologi, Universitas Gadjah Mada,
Yogyakarta

Manuskrip diterima: 27 April 2013.
Revisi disetujui: 24 Mei 2013.

Keywords: Arbuscular Mycorrhizae Fungi, heavy metals, remediation, mined field, revegetation

Suharno, Sancayaningsih RP. 2013. Fungi Mikoriza Arbuskula: Potensi teknologi mikorizoremediasi logam berat dalam rehabilitasi lahan tambang. Bioteknologi 10: 23-34. Kajian mengenai fungi mikoriza arbuskula (FMA) di berbagai ekosistem telah dilakukan. Peran mikoriza inipun telah diketahui mampu meningkatkan kemampuan tumbuhan dalam mempertahankan kemampuan hidup, baik pada habitat yang sesuai maupun habitat lahan-lahan marginal. Pada beberapa dekade belakangan ini kemampuan mikoriza dimanfaatkan dalam remediasi logam berat pada lahan bekas tambang. Kinerjanya menunjukkan bahwa mikoriza mampu menyumbangkan peran kemampuan pertahanan tumbuhan pada lahan marginal. Berbagai jenis FMA juga mampu bersimbiosis dan berperan dalam stabilisasi serta penyerapan logam berat pada lahan tercemar. Sebelumnya, tumbuhan Brassicaceae dan Carryophyllaceae yang dikenal sebagai tumbuhan hiperakumulator logam berat, serta kelompok Leguminosae yang bersimbiosis dengan bakteri penambat nitrogen banyak dimanfaatkan sebagai jenis tanaman dalam revegetasi dan reklamasi lahan bekas tambang. Kini, selain meningkatkan kinerja berbagai jenis tumbuhan tersebut, fungi mikoriza juga menjadi salah satu alternatif dalam meningkatkan dan mengembangkan peran berbagai jenis tumbuhan lain dalam usaha revegetasi lahan tambang.

Kata kunci: Fungi mikoriza arbuskula, logam berat, remediasi, lahan tambang, penanaman kembali

PENDAHULUAN

Teknologi pemanfaatan fungi mikoriza arbuskula (FMA) telah lama diusahakan untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman, khususnya pada lahan-lahan tergolong marginal. Lahan tambang merupakan salah satu contoh lahan marginal yang tergolong sulit untuk

direhabilitasi, dan seringkali menimbulkan pengaruh negatif yang tidak kecil (Liang et al. 2009). Pada lahan tambang aktif, pasir sisa tambang (*tailing*) dan bekas tambang sering dihadapkan pada masalah ekstrim, baik secara fisik, kimiawi, maupun biologi (Herman 2006). Secara *fisik*, seringkali ditemukan struktur tanah yang berpasir, dengan permukaan tanah

mempunyai suhu yang tinggi. Secara *kimiawi*, ditemukan beberapa unsur logam berat yang berlebihan dan pH tanah yang terlampau rendah atau tinggi, unsur hara lain yang dibutuhkan kurang tersedia untuk pertumbuhan tanaman. Secara *biologi*, kondisi fisik tanah kurang memenuhi syarat untuk pertumbuhan dan perkembangan bagi kehidupan keragaman mikrobial tanah. Oleh karena itu, lahan seperti ini tergolong tidak subur.

Sebagai mikroorganisme tanah, fungi mikoriza menjadi kunci dalam memfasilitasi penyerapan unsur hara oleh tanaman (Suharno and Sufati 2009; Upadhayaya et al. 2010). Mikoriza merupakan bentuk simbiosis mutualisme antara fungi dan sistem perakaran tumbuhan. Peran mikoriza adalah membantu penyerapan unsur hara tanaman, peningkatan pertumbuhan dan hasil produk tanaman. Sebaliknya, fungi memperoleh energi hasil asimilasi dari tumbuhan. Walaupun simbiosis FMA dengan tumbuhan pada lahan subur tidak banyak berpengaruh positif, namun pada kondisi ekstrim mampu meningkatkan sebagian besar pertumbuhan tanaman (Smith and Read 2008). Mikoriza meningkatkan pertumbuhan tanaman pada tingkat kesuburan tanah yang rendah, lahan terdegradasi dan membantu memperluas fungsi sistem perakaran dalam memperoleh nutrisi (Galii et al. 1993; Garg and Chandel 2010). Secara khusus, fungi mikoriza berperan penting dalam meningkatkan penyerapan ion dengan tingkat mobilitas rendah, seperti fosfat (PO_4^{3-}) dan amonium (NH_4^+) (Suharno and Santosa 2005) dan unsur hara tanah yang relatif immobil lain seperti belerang (S), tembaga (Cu), seng (Zn), dan juga Boron (B). Mikoriza juga meningkatkan luas permukaan kontak dengan tanah, sehingga meningkatkan daerah penyerapan akar hingga 47 kali lipat, yang mempermudah melakukan akses terhadap unsur hara di dalam tanah. Mikoriza tidak hanya meningkatkan laju transfer nutrisi di akar tanaman inang, tetapi juga meningkatkan ketahanan terhadap cekaman biotik dan abiotik (Smith and Read 2008). Mikoriza mampu membantu mempertahankan stabilitas pertumbuhan tanaman pada kondisi tercemar (Khan 2005).

Berbagai bahan pencemar tanah seperti logam berat (*heavy metal*) juga menjadi cekaman terhadap pertumbuhan tanaman. Logam berat (LB) dalam jumlah kecil dimanfaatkan oleh tumbuhan, namun dalam konsentrasi tinggi akan menghambat pertumbuhan. LB dikelompokkan ke dalam satu kategori dari 53 elemen yang

mempunyai masa jenis spesifik lebih dari 5 g/cm³, dengan nomor atom 22 hingga 92. Logam berat dianggap berbahaya bagi kesehatan bila terakumulasi secara berlebihan di dalam tubuh (Oves et al. 2012), beberapa diantaranya bersifat karsinogenik (menstimulasi pembentukan kanker). Beberapa kasus di dunia, bahkan Indonesia sebagian besar diakibatkan oleh pencemaran lingkungan dari berbagai limbah industri, baik pertambangan maupun pertanian. Toksisitas kadar logam berat di lingkungan telah meningkat secara drastis sebagai akibat dari aktivitas manusia (Adewole et al. 2010). Industrialisasi telah menyebabkan peningkatan pelepasan logam berat ke lingkungan, dan menimbulkan ancaman bagi kesehatan manusia jika logam berat masuk ke rantai makanan (Herman 2006; Souza et al. 2013).

Pada dasarnya, *trace elemen* seperti Cu, Fe, Mn, Ni dan Zn merupakan unsur esensial untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Unsur-unsur ini penting digunakan dalam reaksi berbagai katalis enzim atau reaksi redoks, transfer elektron dan fungsi struktural dalam metabolisme asam nukleat (Marschner 1999). Sebaliknya, beberapa logam seperti Cd, Pb, Hg, dan As merupakan unsur non-esensial. Sebagian besar LB ini di kontrol dengan baik oleh tanaman melalui penyerapannya. Namun, tanaman juga mempunyai keterbatasan dalam melakukan homeostatis (Khan 2006).

Logam berat masuk ke tanaman melalui sel akar dengan cara difusi aktif atau melalui transporter non-spesifik, jika konsentrasinya tinggi. Pada konsentrasi ini, logam berat mengganggu aktivitas kerja enzim dengan memodifikasi struktur protein atau mengganti elemen penting yang mengakibatkan gejala defisiensi. Plasma membran sangat rentan terhadap toksisitas logam berat ketika permeabilitas dan fungsi dipengaruhi oleh perubahan protein membran intrinsik seperti H⁺-ATPase. Selain itu, produksi jenis oksigen reaktif menyebabkan kerusakan oksidatif jaringan tanaman yang terjadi akibat respon tingginya tingkat logam berat. Sebagai konsekuensinya, terjadi gejala menyerupai klorosis, pertumbuhan yang lambat, akar kecokelatan yang menurunkan efektivitas, berpengaruh terhadap fotosistem, gangguan terhadap siklus sel, dan lain sebagainya. Tanaman biasanya melakukan mekanisme umum dalam mempertahankan homeostatis di bawah konsentrasi ion logam berat yang tinggi (Leyval et al. 2002).

Teknologi pemanfaatan tumbuhan sebagai pelaku remediasi menjadi prioritas saat ini. Pada proses stabilisasi bahan pencemar akan mencegah penyebaran logam berat ke lingkungan serta perluasannya melalui erosi tanah. Jenis tanaman yang toleran terhadap logam berat dengan sistem akar yang luas dan tanah yang baik untuk mencegah erosi oleh angin atau air, dinilai lebih baik untuk strategi fitostabilisasi (Gamal 2005; Orlowska et al. 2011; David 2012). Teknik fitoremediasi ini merupakan pendekatan yang paling umum dan dapat diterima oleh berbagai kalangan (Wang et al. 2007). Teknologi fitoremediasi dimanfaatkan karena dinilai tidak membutuhkan biaya tinggi dibandingkan dengan teknik non biologi secara konvensional (Leyval et al. 2002).

MIKORIZA ARBUSKULA, TANAMAN DAN FITOREMEDIASI

Hubungan antara tumbuhan dan mikoriza arbuskula sangat erat terhadap proses remediasi logam berat. Jenis tumbuhan yang tumbuh pada lahan tercemar, biasanya ada yang tidak mampu bertahan hidup, ada yang mampu menyesuaikan diri, dan adapula yang mampu mengakumulasi LB dalam jumlah yang berlebih (hiperakumulator) (Khan et al. 2006; Gisbert et al. 2008; Dubey and Fulekar 2011; Oves et al. 2012). Pada lahan tercemar, sebagian besar tumbuhan tidak dapat menyesuaikan diri pada habitat terhampar logam berat (Khan 2006; David 2012). Dalam kondisi seperti ini, mikoriza membantu secara efektif terhadap pertumbuhan dan ketahanan tanaman (Smith and Read 2008; Garg and Chandel 2010).

Bioremediasi merupakan pemanfaatan organisme sebagai perlakuan dalam mengatasi polusi tanah, termasuk logam berat (Leyval et al. 2002). *Fitoremediasi* merupakan upaya pemilihan jenis tumbuhan khusus dan teknik pemanfaatannya dalam akumulasi logam untuk membersihkan lingkungan dari hamparan logam berat yang bersifat toksik. Tiga hal penting yang berkaitan dengan fitoremediasi adalah fitostabilisasi, fitoekstraksi dan rhizofiltrasi. Fitoekstraksi dan rhizofiltrasi sering disebut sebagai fitoakumulasi (Salt et al. 1995). Fitoremediasi telah diketahui potensinya dalam aplikasi logam berat di seluruh dunia. *Fitostabilisasi* merupakan penurunan mobilitas, bioavailabilitas, dan/atau toksisitas pencemar pada rizosfer. Sedangkan proses *fitoakumulasi* merupakan penyerapan oleh akar tanaman dari

daerah terkontaminasi logam berat, yang kemudian di translokasikan dan diakumulasi ke bagian tajuk. Proses ini sering disebut sebagai fitoekstraksi, sedangkan rhizofiltrasi lebih ditekankan pada proses pemblokiran logam berat dalam penyerapannya oleh tanaman dan hanya diakumulasi pada sistem perakaran tumbuhan (Khan 2005).

Pada fitoremediasi, massa kontaminan tidak hancur; akan tetapi diakumulasi pada tajuk tanaman dan daun, yang kemudian dapat dipanen dan dibuang secara aman. Menurut Khan (2006), Wang et al. (2007), dan Gamalero et al. (2009) peran mikoriza sangat penting dalam interaksi antara tumbuhan, mikrobia, dan tanah, namun penelitian mengenai peranannya dalam fitoremediasi masih sedikit. Hal ini karena pengetahuan mengenai potensi mikoriza dalam fitoremediasi masih minim. Awalnya, penelitian fitoremediasi terfokus pada tanaman non-mikoriza seperti Brassicaceae dan Caryophyllaceae. Akan tetapi, saat ini potensi mikoriza sebagai agen untuk meningkatkan fitoremediasi pada lahan tercemar dinilai sangat penting. Menurut Khan (2006), pengetahuan mikoriza dalam proses fitoremediasi lahan tercemar logam disebut sebagai *mikorizoremediasi* yang mulai berkembang sejak tahun 1980-an.

Pada awalnya, tumbuhan dari kelompok famili Brassicaceae dimanfaatkan sebagai bioakumulator logam berat (Leyval et al. 2002; Anjum et al. 2012; Oves et al. 2012), demikian pula dengan tumbuhan kelompok Leguminosae (Shivakumar et al. 2011; Muleta and Woyessa 2012). Tumbuhan dari familia Brassicaceae mampu mengakumulasi logam Zn hingga konsentrasi tinggi mencapai 1% dari berat kering (Leyval et al. 2002). Namun dengan perkembangan teknologi, beberapa penelitian juga telah memanfaatkan jenis tumbuhan lain untuk keperluan fitoremediasi, seperti *Ipomoea aquatica* (Bhaduri and Fulekar 2012), alfalfa (*Medicago sativa*) (Gao et al. 2011; Wang et al. 2012), *Eucalyptus rostrata* (Bafeel 2008), tembakau (Janaouskova et al. 2006), gandum, terung (Rabie 2005), *Populus alba* (Cicatelli et al. 2010), sorghum (Dubey and Fulekar 2011), *Cynodon dactylon* (Babu and Reddy 2011), *Andropogon gerandii* (Pawloska et al. 2000), *Elsholtzia splendens* (Wang et al. 2005), *Trigonella foenum-graceum* (Kelkar and Bhalerao 2013), Jagung, *Zea mays* (Pawloska et al. 2000; Sancayaningsih et al. 2000; Hovsepian and Greipsson 2004; Chen et al. 2004; Wang et al. 2007; Burke et al. 2000; Malekzadeh et al. 2011), dan beberapa jenis tumbuhan lainnya.

Potensi tumbuhan yang mampu menyesuaikan diri pada habitat terhampar logam berat dapat diamati pada lokasi secara langsung (Prasetyo et al. 2010). Pemanfaatan tumbuhan yang berasal dari lokasi tambang atau lahan tercemar akan lebih mudah dalam menyesuaikan habitatnya (Adewole et al. 2010). Prasetyo et al. (2011) menemukan beberapa jenis tumbuhan yang mampu bertahan hidup dan bersimbiosis dengan FMA di lahan tambang daerah Lombok, antara lain adalah *Accasia* sp, *Gmelina arborea*, *Leucaena glauca*, *Tectona grandis*, *Manihot utilissima* dan *Zea mays*. Di lokasi ini, jenis FMA didominasi oleh *Glomus* sp dengan persen infeksi antara 10-40%. Gisbert et al. (2008) menemukan beberapa jenis tumbuhan yang dominan pada lahan tercemar logam berat khususnya As di Valensia, Spanyol, mampu tumbuh dan berkembang dengan baik. Tumbuhan *Bassia scoparia* (Chenopodiaceae) mampu tumbuh pada tanah yang mengandung As sekitar 8375 mg/kg. Di kawasan ini, akumulasi As pada tajuk beragam untuk setiap jenis tumbuhan. Rata-rata berkisar antara 0,1-107 mg/kg. *Bassia scoparia*, *Inula viscosa* (Asteraceae), *Solanum nigrum* (Solanaceae), dan *Hirschfeldia incana* (Brassicaceae) merupakan beberapa contoh tumbuhan yang mengakumulasi As tertinggi.

Jenis tumbuhan toleran LB ini dapat terbantu oleh mikoriza. Mikoriza berkontribusi terhadap imobilisasi logam berat dalam tanah pada rizosfer akar tanaman. Dengan demikian, mikoriza meningkatkan fitostabilisasi yang sama dengan apa yang dilakukan oleh tanaman. FMA juga mampu bersinergi dengan jenis mikroorganisme lain seperti fungi, misalnya *Aspergillus tubingensis* (Babu and Reddy 2011), bakteri (Gamalero et al. 2009; Zimmer et al. 2009; Teng et al. 2010; Malekzadeh et al. 2011), termasuk juga jenis-jenis *mycorrhization helper bacteria* (MHB) dan *plant growth promoting rhizobacteria* (PGPR) (Khan 2006), sehingga mampu bahu membahu mempertahankan tingkat efektivitas dan kelangsungan hidup tanaman secara lebih baik (Janaouskova et al. 2006).

MIKORIZA DAN MEKANISME FITOREMEDIASI

Mikoriza arbuskula dan stabilisasi tanah

Fungi mikoriza pada lahan tambang dapat berfungsi dalam menjaga stabilitas tanah. Fungi mikoriza mampu membuat jaring-jaring

eksternal hifa yang berperan dalam membentuk struktur makro dan mikroagregat tanah (Gamal 2005; Orłowska et al. 2011). Rillig and Mummey (2006) mengungkapkan peran FMA dalam stabilisasi agregat tanah yang melibatkan beberapa senyawa penting seperti glomalin dan hubungan antara glomalin dengan senyawa protein tanah lainnya. Glomalin merupakan salah satu contoh glikoprotein tidak larut yang diproduksi dan dikeluarkan oleh FMA. Selain itu, berbagai senyawa musilage, polisakarida, hidrofobin dan senyawa lain yang berkaitan dengan beberapa senyawa tersebut. Faktor hadirnya mikrobial dan mikrofauna tanah juga berperan dalam proses pembentukan tanah. Rillig dan Mummey (2006) membagi proses tersebut meliputi mekanisme fisik, proses biokimia dan biologi.

Menurut Panwar et al. (2008), kontribusi mikoriza dalam pembentukan agregat tanah berpedoman pada: (i) Pertumbuhan hifa ke dalam matriks tanah membentuk struktur rangka yang memegang partikel tanah utama secara bersama melalui ikatan fisik, (ii) Akar dan hifa bersama-sama menciptakan lingkungan fisik dan kimia untuk menghasilkan bahan organik dan amorf untuk mengikat partikel, (iii) Hifa dan mikroagregat jaringan akar masuk dalam struktur makroagregat, yang mempercepat kapasitas dan penyimpanan nutrisi karbon serta menyediakan habitat mikro bagi mikrobial tanah.

Stabilisasi logam

Proses remediasi yang difasilitasi oleh tumbuhan dan mikoriza didasarkan pada prinsip imobilisasi logam berat pada lahan tercemar (Khan 2005; Dubchak et al. 2010; Souza et al. 2013). Imobilisasi dapat terjadi dengan tanaman, fungi, maupun mikrobial. Agen *khelat* seperti EDTA (Chen et al. 2004) dan Glomalin (Khan 2006) dapat dimanfaatkan dalam imobilisasi logam berat di tanah.

Bioavailabilitas dan toksisitas logam berat dalam tanah tergantung pada bentuk mereka dan bukan jumlah totalnya di lingkungan. Keberadaan delapan fraksi logam dapat dibagi menjadi tiga kelompok, (i). *Mudah diekstrak dan tertukarkan*, termasuk yang larut dalam air, tertukarkan, terikat pada reduksi fraksi oksida Fe dan Mn, (ii) *Berpotensi untuk diekstrak dan tertukarkan*, termasuk terikat kuat pada mineral atau terikat lemah pada bahan organik, ter-*khelasi* kuat oleh bahan organik, terikat oleh karbonat, terikat oleh fraksi sulfida, dan (iii) *Tidak dapat diekstrak dan tertukarkan*, ditemukan dalam fraksi

residu (Ma and Rao 1997; Dinel et al. 2000).

Imobilisasi logam berat pada rizosfer dapat dilakukan dengan pengendapan dalam tanah, adsorpsi ke permukaan akar, atau penyerapan dan akumulasi dalam akar. Salah satu contoh, penelitian yang dilakukan oleh Audet dan Charest (2006) menunjukkan perlakuan logam berat oleh tanaman dapat terakumulasi pada akar dan tajuk. Semakin tinggi konsentrasi logam (misalnya Zn, Mn, dan juga P) maka tanaman mampu menyesuaikan dengan cara menyerapnya. Walaupun demikian, menurut Gamal (2005) kemampuan setiap jenis tanaman dalam merespon logam berbeda-beda. Salah satu peran penting yang dilakukan oleh fungi adalah immobilisasi logam menggunakan senyawa yang diekskresikan oleh fungi, pengendapan granul polifosfat dalam tanah, adsorpsi pada dinding sel fungi, dan *khelasi logam* di dalam fungi.

Logam berada dalam bentuk terlarut dalam tanah dapat diserap oleh mikroorganisme dan tanaman terestrial. Berbagai faktor tanah dan lingkungan yang mempengaruhi tingkat kelarutan logam dan ketersediaannya bagi tanaman, antara lain adalah: (i) sifat jenis tanah, (ii) sifat jenis logam dan interaksinya dengan koloid tanah (proses sorpsi-desorpsi, kompleksasi, difusi, oklusi, curah hujan), (iii) konsentrasi dan bentuk kimia logam yang masuk ke tanah, (iv) komposisi mineralogi (misalnya tanah liat dan mineral aluminosilikat lainnya, oksida dan hidroksida, karbonat, fosfat, sulfida, sulfat, dan klorida), (v) properti serapan tanah atau kapasitas pengikatan, (vi) sifat fisik, kimia dan biologi tanah (misalnya, tekstur tanah, kandungan air tanah dan temperatur, pH tanah, potensial redoks, kapasitas tukar kation, kation tertukar, kandungan garam, jumlah dan jenis tanah liat, bahan organik, oksida dan hidroksida Fe dan Mn, karbonat bebas, dan aktivitas mikrobia), (vii) aktivitas biologi rizosfer, (viii) durasi kontak dengan permukaan pengikat logam, (ix) komposisi kimia larutan tanah, dan (x) tipe dan eksudat tanaman.

Glomalin mampu mengikat logam berat dalam tanah. Senyawa ini dapat diekstrak dari tanah bersama dengan sejumlah besar logam berat yang terikat. Gonzalez-Chavez et al. (2002) menemukan bahwa lebih dari 4,3 mg Cu, 0,08 mg Cd dan 1,12 mg Pb, per gram glomalin dapat diekstraksi dari tanah tercemar yang telah diinokulasi dengan FMA hasil kultur di laboratorium. Dengan pertimbangan korelasi antara jumlah glomalin dan logam berat yang terikat di tanah, maka strain fungi yang cocok

sangat penting dalam usaha biostabilisasi.

Mikorizoremediasi

Fitoremediasi yang melibatkan fungi mikoriza lebih efektif dibanding jika hanya dengan perlakuan tanaman. FMA *Glomus intraradices* mampu meningkatkan kandungan Cd pada miselium hingga 10-20 kali per unit dibandingkan akar tembakau tanpa mikoriza (Janouskova et al. 2006), demikian pula dengan peran *Glomus mosseae* pada jenis tanaman lain (Malekzadeh et al. 2011). Peran *G. intraradices* juga terlihat dengan menyerap berbagai logam lain seperti Zn, As, dan Se (Giasson et al. 2005). Pada tanaman jagung, *Glomus caledonium* mampu menyerap Zn (Chen et al. 2004); sedangkan dengan tanaman *Vigna radiata*, FMA *Glomus* sp mampu memblokir Zn yang terakumulasi pada akar tanaman (Shivakumar et al. 2011). Pada tanaman *Plantago lanceolata*, logam Cr mampu ditranslokasikan ke dalam akar dan tajuk tanaman, sedangkan tumbuhan *Elsholtzia splendens* dengan memanfaatkan *Glomus caledonium* mampu menyerap P, Cu, Zn, dan Pb (Wang et al. 2005). Pada penelitian dengan FMA jenis lain, tanaman *Canavalia gladiata* mampu menyerap Pb yang diakumulasi pada akar tanaman (Souza et al. 2013).

Pengikatan logam berat pada kitin di dinding sel fungi, juga akan menurunkan konsentrasi logam berat di sekitar miselium fungi dalam tanah. Joner et al. (2000) mengungkapkan bahwa adsorpsi pasif pada hifa mampu mengikat hingga 0,5 mg Cd per mg biomasa kering. Dengan luas permukaan yang besar pada hifa fungi di dalam tanah yang mampu mengikat logam berat sehingga dinilai baik untuk "pembersihan" logam berat di lingkungan tercemar. Fungi yang toleran terhadap logam berat mempunyai afinitas tinggi yakni 2-4 kali lebih banyak dari akar, sehingga sangat tepat untuk memperbaiki logam berat di dalam tanah.

Penyerapan Pb dan imobilisasinya pada akar tanaman bermikoriza lebih tinggi dibandingkan dengan non-mikoriza (Chen et al. 2007). Peningkatan masuknya Pb ke dalam akar tanaman umumnya diamati melalui kolonisasi mikoriza. Penyerapan Pb diketahui berkorelasi dengan meningkatnya jumlah vesikel FMA pada jenis tanaman yang terkolonisasi mikoriza. Mirip pada tanaman dan vakuola fungi, vesikel mungkin terlibat dalam menyimpan/mengisolasi senyawa-senyawa toksik. Dengan demikian, tanaman bermikoriza mampu berperan dalam memperkaya mekanisme proses

detoksifikasi logam berat di lingkungan.

Peningkatan toleransi logam pada tanaman bermikoriza telah sering diamati. Sebagai contoh, misalnya *Glomus* isolat BR1 yang diperoleh dari akar *Viola calaminaria* yang ditanam pada tanah terkontaminasi logam berat. Isolat tersebut dapat mengkolonisasi berbagai tanaman seperti jagung, alfalfa, gandum dan *Viola calaminaria*. *Glomus* isolat BR1 dapat memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan tanaman hingga menyelesaikan siklus hidupnya pada tanah yang terkontaminasi logam berat. Pada kasus tanaman tanpa inokulan mikoriza, tanaman mampu tumbuh akan tetapi tidak dapat melanjutkan siklus hidupnya. Hifa FMA yang toleran menunjukkan afinitas yang lebih tinggi terhadap logam berat dibanding dengan sel-sel tanaman. Logam berat mungkin tidak mobil di dalam fungi. Akumulasi logam berat pada jaringan yang terkolonisasi mungkin merupakan salah satu mekanisme utama dari fungi dalam mediasi detoksifikasi intraradikal.

Hiperakumulasi logam

Tumbuhan mampu mengakumulasi logam berat dalam sel/organ dengan jumlah besar (*hiperakumulator*) dan mampu tumbuh secara normal. Terjadi tanggapan tertentu terhadap kondisi tersebut, namun tumbuhan masih dapat menyelesaikan siklus hidupnya dengan baik. Di alam, beberapa jenis tumbuhan mampu berperan sebagai hiperakumulasi logam berat. *Viola calaminaria* dan *Thlaspi calaminare* tumbuh baik pada deposit calamin yang berlebih di Aachen, Jerman. Tanaman tersebut diketahui mengandung lebih dari 1% berat kering seng (Zn) dalam jaringan, sedangkan pada tanaman *Alyssum* seperti *A. bertolinii* yang tumbuh pada tanah-tanah serpentin di Tuscany, Italia mengandung lebih dari 1% berat kering nikel. Tanaman ini masing-masing disebut sebagai tanaman Calamin dan Serpentin. Lebih lanjut, *Thlaspi caerulescens* dari famili *Brassicaceae* dapat melakukan hiperakumulasi sejumlah logam seperti Zn dan Cd (Brooks 1998). Tanaman dikatakan termasuk hiperakumulator Zn dan Cd apabila mengandung logam minimal masing-masing pada level 10.000 and 100 µg/g.

Pada tumbuhan hiperakumulator (*Berkheya coddii*, Asteraceae) yang diinokulasi dengan mikoriza mampu membentuk arbuskula, meningkatkan tidak hanya biomasa tetapi juga terhadap kandungan Ni pada tajuk tanaman. Kandungan Ni pada tajuk tanaman *B. coddii* yang dikolonisasi *Glomus intraradices* adalah 1,3% dibanding tanpa mikoriza yang hanya 0,5%.

Pada percobaan lain, Giasson *et al.* (2005) mempelajari empat jenis FMA yang berasal dari Amerika Utara dan diidentifikasi tumbuh pada tanah yang mengandung banyak logam. Penelitian menggunakan campuran tanaman rumput *Festuca rubra* dan *F. eliator* (70%), *Agropyron repens* (25%), dan *Trifolium repens* (5%). Kelompok tanaman ini dimanfaatkan untuk reklamasi tanah di Kanada dalam proses revegetasi tailing sisa tambang. *Festuca* dianggap sebagai jenis tanaman khas pada tanah berlogam dan mampu mengakumulasi logam dalam jaringan. Hasil pengamatan infeksi mikoriza sangat bervariasi antara 30%-70% untuk semua perlakuan logam berat. Jumlah arbuskel relatif bervariasi pula antara 38%-70%. Mikoriza dapat berkembang dengan baik, sedangkan keberadaan arbuskula terbukti mampu meningkatkan kandungan logam pada tajuk tanaman. Hal yang sama dilaporkan Giasson *et al.* (2005) pada tanaman wortel (*Daucus carota* L.) terhadap logam Zn dan Cd. Penelitian pada tanaman lain seperti kedelai, alfalfa, lentil, dan berbagai jenis rumput-rumputan juga demikian (Bradley *et al.* 1981). Dehn and Schüepp (1990) juga mengungkapkan hal yang sama pada tanaman selada. Pada tanaman selada, akumulasi logam terjadi pada akar tanaman.

Kompleks logam berat pada tanaman hiperakumulator juga berkaitan erat dengan asam karboksilat seperti sitrat, asam malat, dan malonat. Asam organik ini terlibat dalam penyimpanan logam berat dalam vakuola daun. Asam amino lain seperti sistein, asam glutamat, histidin, dan glisin, juga dapat membentuk kompleks logam berat dalam hiperakumulator. Kompleks ini lebih stabil dibanding asam karboksilat, yang sebagian besar terlibat dalam transport logam berat melalui xilem. Selain itu, tanaman hiperakumulator dapat meningkatkan ketersediaan logam seperti Fe, Zn, Cu, dan Mn dengan melepaskan *khelat fitosiderofofor*. Mekanisme hiperakumulator kemungkinan berhubungan dengan proses rizosfer seperti pelepasan agen khelat, fitosiderofofor dan asam organik, dan/atau perbedaan dalam jumlah atau afinitas transporter-transporter logam pada akar.

Mikorizosfer dan fitoekstraksi logam

Logam berat yang terikat oleh karbonat lebih sulit untuk diekstrak oleh tanaman. Dalam suatu studi, fraksi yang mudah diekstrak dan dipertukarkan mewakili kurang dari 27% untuk Zn dan Cd, dalam proses fitoremediasi. Di sisi lain, fraksi yang sulit dan/atau berpotensi

diekstrak, termasuk fraksi karbonat, terkumpul kembali sekitar 86% dari konsentrasi logam Zn dan Cd total. Fungi mikoriza dapat mengasamkan rhizosfer dengan melepaskan asam-asam organik seperti asam sitrat dan oksalat. Asam oksalat merupakan agen pencucian untuk berbagai logam seperti Al, Fe dan Li yang membentuk kompleks logam oksalat terlarut. Mekanisme paling penting untuk mengatur perilaku logam berat dengan karbonat berkaitan dengan variasi pH tanah. Asam karboksilat yang dikeluarkan oleh FMA dapat melarutkan logam berat terikat karbonat dan meningkatkan fitoakumulasi mereka.

Mikoriza dan stabilisasi logam

Proses fitostabilisasi dan mikorizostabilisasi (stabilisasi oleh mikoriza) mampu menurunkan tingkat mobilitas, bioavailabilitas dan/atau toksisitas bahan pencemar pada rizosfer tumbuhan. Fungi mampu memperbaiki struktur tanah dengan mengeluarkan glikoprotein yang disebut glomalin. Glomalin mampu meningkatkan pembentukan agregat tanah dan pori tanah yang lebih baik sehingga dapat dimanfaatkan oleh hifa untuk berkembang. Pada pori-pori tanah berukuran kecil (0,1 mm) ditemukan glomalin yang lebih besar dibanding dengan pori-pori tanah yang berukuran lebih besar. Kemungkinan keberadaannya berhubungan dengan kontak fungi secara tidak langsung dengan tanah. Glomalin dapat menambat logam berat seperti Cu, Cd, Pb dan Mn pada tanah tercemar. Gonzalez-Chavez et al. (2002) menemukan bahwa glomalin dari isolat *Gigaspora rosea* mampu menambat hingga 28 mg Cu/g pada media yang diamati secara in vitro.

Pembentukan simbiosis mikoriza juga mampu meningkatkan ketahanan tanaman terhadap fitotoksitas logam berat melalui biosorpsi. Penyerapan logam seperti cadmium (Cd), titanium (Ti) dan barium (Ba) dengan polifosfat pada struktur fungi mungkin penting dalam meminimalkan transfer ke tanaman inang. Penyerapan logam berat oleh fungi merupakan mekanisme pasif dari immobilisasi ion pada permukaan sel mikrobia termasuk proses seperti adsorpsi, pertukaran ion, kompleksasi, pengendapan, dan kristalisasi (Leyval and Joner 2001). Proses-proses ini melibatkan multilaminasi yang berhubungan dengan pengayaan mikrofibril dinding sel pada ligan bermuatan negatif seperti fosforil, karboksil, sulfidril, hidroksil, dan kelompok fenolik.

Mikoriza dan fitovolatilisasi logam

Sejumlah unsur kimia dalam subgrup II, V dan VI pada tabel periodik seperti Hg, As, dan Se membentuk hibrida volatil atau turunan metil yang dapat dibebaskan ke atmosfer. Hal ini dapat pula terjadi akibat aktivitas bakteri atau fungi tanah (Leyval and Joner 2001). Logam juga dapat diubah bentuknya dengan mekanisme reduksi, metilasi dan dealkilasi. Metaloid dan beberapa logam (seperti As, Se, Hg, Sn, Pb) dapat diubah oleh fungi ke dalam bentuk metilmetal yang dapat menguap di permukaan tanah dan akhirnya ke atmosfer. Se dapat hilang sebagian akibat fitovolatilisasi dalam bentuk dimetil diselenida ($\text{CH}_3\text{SeSeCH}_3$). Dimetil arsenik ($\text{AsO}(\text{CH}_3)_2(\text{OH})$), metil merkuri (CH_3Hg^+) dan tetrametil ($\text{Pb}(\text{CH}_3)_4$) merupakan bentuk alkohol yang paling umum dari As, Hg dan Pb yang juga dapat diuapkan.

PENYERAPAN LOGAM BERAT OLEH FMA

Banyak penelitian yang menunjukkan bahwa peran berbagai mikroorganisme mampu menyerap logam berat seperti fungi, yeast, bacteria, algae dan cyanobacteria. Mobilitas logam oleh mikroorganisme tanah dapat dicapai dengan protonasi, khelasi, dan transformasi kimia. Eksudat-eksudat di tanah hasil ekskresi mikroorganisme dan akar tanaman sangat efektif melarutkan fosfat dan melepaskan logam dari komponen tanah. Mikoriza diketahui mampu menyerap dan mengakumulasi logam dalam biomasa dan akar tanaman inang. Miselium intra dan ekstraseluler baik FMA maupun ektomikoriza (ECM) berpotensi dalam penyerapan logam (Jones et al. 2000) melalui luas permukaan penyerapan dan jangkauannya di dalam tanah. Sebagian besar logam nampak terikat pada komponen dinding sel seperti kitin, selulose, turunan selulose dan melanin fungi ECM maupun FMA (Galli et al. 1993). Akhir-akhir ini banyak bukti yang menunjukkan bahwa aktivitas FMA berperan besar dalam mobilisasi logam yang terikat oleh komponen tanah (Göhre and Paszkowski 2006).

Gonzalez-Chavez et al. (2002) menunjukkan karakteristik penyerapan dan akumulasi Cu oleh miselium ekstraseluler dari *Glomus* yang berbeda, yakni *Glomus caledonium* BEG133, *Glomus claroideum* BEG134, dan *Glomus mosseae* BEG132. *Glomus* tersebut diisolasi dari tanah tambang tercemar Cu dan ditumbuhkan pada tanaman sorgum (*Sorghum vulgare*). Lokalisasi dan akumulasi diamati dengan transmisi dan

mikroskop elektron scanning yang dilengkapi dengan energi dispersif analisis sinar-X. Hasil pengamatan terlihat bahwa miselium ekstraseluler FMA mampu menyerap dan mengakumulasi Cu. Cu diakumulasi di luar dinding miselium zona dinding hifa, di dinding sel, dan di dalam sitoplasma hifa fungi. Akumulasi Cu berkaitan dengan Fe di luar miselium zona dinding hifa dan di dalam dinding sel. Tembaga berkaitan dengan *trace arsenat* di dalam sitoplasma dari ekstraseluler *Glomus mosseae* BEG134. Arsenat sendiri mungkin diakumulasi di dalam sitoplasma dengan cara yang sama sebagai polifosfat. Ada perbedaan penyerapan Cu dan arsenat serta strategi akumulasinya (mekanisme toleransi) antara tiga FMA tersebut yang diisolasi dari tanah tercemar yang sama. Joner et al. (2000) dalam suatu percobaan lain, menggunakan potongan miselium dari empat *Glomus* dengan sumber paparan logam berat yang berbeda (Cd dan Zn) menegaskan bahwa kapasitas hifa ekstraseluler dari *Glomus* spp. meningkatkan penyerapan logam berat.

Tampaknya, filamen FMA mempunyai perilaku yang sama pada ECM dan fungi tanah lainnya. FMA mempunyai lokasi pengikatan logam dan mampu menghasilkan intra dan ekstraseluler dengan afinitas tinggi untuk logam, walaupun lokasi ini berbeda untuk setiap jenis FMA. Mekanisme mikoriza untuk meningkatkan penyerapan memang belum sepenuhnya diketahui. Kemungkinan dapat pula terjadi dengan cara, (i) Transfer logam pada hifa dengan pertukaran kation dan khelasi (ikatan non-metabolik logam pada dinding sel), (ii) berinteraksi dengan produk yang disintesis hifa atau metabolit, (iii). Berinteraksi dengan produk yang disintesis hifa atau metabolit yang bertindak sebagai agen biosorpsi seperti kitin dan glomalin, (iv) khelasi logam di dalam jamur, dan (v) pengendapan intraseluler dengan fosfat (PO_4).

Pada mekanisme lain, penyerapan logam dikontrol oleh berbagai macam faktor yang berbeda diantaranya adalah (Joner et al. 2000; Leyval and Joner 2001): (i) Jenis FMA, (ii) Komposisi metabolit, (iii) Kapasitas tukar kation biomasa fungi, (iv) Kondisi edafik dan lingkungan, (v) Kantung-kantung (*pool*) logam, (vi) Properti elektrokimia logam, (vii) Kompetisi antar logam pada lokasi penyerapan permukaan mikoriza, (viii) Tumbuhan inang alami, dan (ix) Pola eksudasi akar.

Bai et al. (2008) mengemukakan bahwa FMA mempunyai pengaruh terhadap penyerapan logam (translokasi dan akumulasi pada jaringan tanaman) dan pertumbuhan tanaman inang. Sudová et al. (2007) secara khusus mengungkapkan mengenai serapan oleh tanaman jagung yang diinokulasi mikoriza pada konsentrasi Pb yang tinggi. Selain tanaman mampu tumbuh dengan baik, juga mengakumulasi dan mentranspor logam ke akar dan tajuk tanaman.

TOLERANSI DAN ADAPTASI FMA PADA LOGAM BERAT

Prinsip ekologi “klasik” sangat penting untuk menjelaskan mengenai proses peningkatan toleransi dan resistensi dalam suatu komunitas. *Resistensi* mengacu pada kemampuan mikroorganisme menahan pengaruh polutan (pencemar) yang efektif bagi mereka. Sedangkan *toleransi* mengacu pada kemampuan mikroorganisme untuk beradaptasi terhadap kehadiran polutan secara terus menerus. Seperti telah dikemukakan bahwa toleransi dan resistensi dari pengaruh toksik logam berat tergantung pada berbagai mekanisme. Secara singkat, dalam studi epidemiologi, toleransi logam dapat didefinisikan sebagai sebuah fenomena dimana mikroorganisme meningkatkan ketahanan terhadap stres akibat paparan toksisitas logam berat.

Toleransi FMA dan ECM terhadap logam dapat diukur melalui metode observasi, antara lain terhadap jumlah spora (khususnya FMA), kolonisasi akar, kelimpahan tubuh buah ECM dan parameter lainnya. Pertimbangan lain adalah informasi akurat mengenai kondisi dan nilai ambang batas yang menjamin kelangsungan hidup dan pertumbuhan fungi, dasar genetik terhadap resistensi dan toleransi multi-logam. Fungi juga hidup berdampingan dengan komunitas mikrobial lain, sistem perakaran tanaman yang toleran, dan keberadaan logam; sering menjadi permasalahan tersendiri, sehingga untuk mengkaji masalah ini diperlukan penelitian secara komprehensif (Meier et al. 2012).

Untuk mengevaluasi toleransi mikroorganisme pada tanah tercemar logam dapat mengadopsi konsep *pollution induced community tolerance* (PICT) yang dikembangkan oleh beberapa peneliti (Gonzales-Guerrero et al. 2009). Pendekatan ini menjelaskan bahwa dengan waktu, pada suatu ekosistem, paparan

kontaminasi meningkatkan toleransi pada komunitas mikrobial. Metode ini digunakan untuk menilai pengaruh jangka panjang paparan logam terhadap keragaman metabolisme dan toleransi terhadap aktivitas mikrobial tanah. Pada suatu penelitian, paparan jangka panjang untuk Zn akan membebani stres mikrobial tanah yang mengakibatkan meningkatnya toleransi. Pada kasus tersebut disimpulkan bahwa akumulasi jangka panjang Zn dalam tanah menyediakan waktu untuk komunitas mikrobial beradaptasi dengan logam ini.

Adaptasi ini berhubungan dengan dua faktor, *pertama* adalah penurunan secara bertahap logam akibat proses immobilisasi yang terjadi di rizosfer. Faktor *kedua* adalah perubahan secara bertahap struktur komunitas mikrobial, berdasarkan perubahan struktur komunitas secara bertahap atas profil asam lemak fosfolipid yang mempengaruhi organisme lebih toleran. Walaupun logam dapat menyebabkan perubahan dalam komunitas mikrobial, tetapi mikroorganisme lebih resisten terhadap logam. Adewole et al. (2010) mengungkapkan bahwa beberapa jenis *Glomus* seperti *G. mosseae* dan *G. intraradices* mampu meningkatkan toleransi terhadap penyerapan logam berat, khususnya Cd dan Pb.

Untuk stres toksisitas, biasanya dilihat berdasarkan nilai ambang batas. Hal ini akan bervariasi tergantung pada jenis organisme, sifat fisiko-kimia, konsentrasi logam, kondisi edafis dan lingkungan. Fungi mikoriza dari sumber berbeda mampu melakukan kolonisasi tanaman pada berbagai lokasi tercemar dan tanah pertanian yang tercemar logam. Fungi mikoriza juga berhubungan dengan tanaman metalofit pada tanah-tanah tercemar. Walaupun demikian, dalam beberapa kasus logam tertentu FMA juga berperan sebaliknya yakni menghambat. Bagi FMA, meningkatnya jumlah logam akan menurunkan produksi spora. Penggunaan fungi mikoriza dari lokasi tercemar yang telah toleran terhadap toksisitas logam dan mampu beradaptasi dengan baik, dapat dikembangkan sebagai sumber inokulum (Sudová et al. 2007). Lebih lanjut, Sudová et al. (2007), mengemukakan bahwa evolusi toleransi terhadap logam dapat berlangsung secara cepat. Beberapa strain FMA mampu toleran dalam waktu satu atau dua tahun.

Kemampuan organisme untuk melakukan toleransi dan resistensi terhadap logam dapat melibatkan lebih dari satu mekanisme berikut ini (Leyval et al. 2002), yaitu: (i) ekspresi gen fungi,

(ii) mengkarantina logam ekstraseluler dan pengendapannya, (iii) menghasilkan metalotionein (protein pengikat logam), (iv) menghindari logam (mengurangi penyerapan atau meningkatkan *efflux*, pembentukan kompleks di luar sel, pelepasan asam-asam organik, dan lain-lain), (v) *khelasi* intraseluler (sintesis ligan seperti polifosfat dan metalotionein), (vi) kompartementasi dalam vakuola daun, (vii) hilangnya daun selama musim dingin atau kering, (viii) status fosfor tanaman atau interaksi antara P dan logam (peningkatan P oleh tanaman inang), (ix) biosorpsi melalui glomalin, dan (x) volatilisasi (proses penguapan).

Ekspresi gen yang mengkode protein berpotensi terhadap toleransi logam berat. Ekspresinya bervariasi dalam merespon logam berat yang berbeda. Protein tersebut termasuk transporter Zn, metalotionein, protein *heat shock* 90 kD dan glutathione S-transferase (semua fungsi protein merupakan pendugaan). Ekspresi yang terjadi tergantung logam berat yang diekspresikan oleh gen fungi pada miselium intra dan ekstraseluler. Perbedaan induksi gen yang mengkode protein mungkin terlibat dalam mengatasi kerusakan yang disebabkan oleh jenis oksigen reaktif (protein *heat shock* 90 kD dan glutathione S-transferase) yang menjadi perhatian utama fungi sebagai mitra dalam simbiosis.

Berkaitan dengan stres tanaman di kawasan bekas lahan tambang, faktor yang mempengaruhi adalah kondisi fisik, kimia dan lingkungan. Lingkungan yang gersang (suhu permukaan tanah tinggi) dan kering merupakan masalah yang umum dijumpai pada lahan marginal tersebut. Dengan perlindungan bibit dari kondisi suhu tinggi, kolonisasi akar akan meningkatkan pertumbuhan tanaman dengan kemudahannya dalam mengakses jangkauan di rizosfer tanaman (Gregory 2006) dan meningkatkan penyerapan air (Cui and Nobel 1992). Menurut Chen et al. (2007) penggunaan potensi tanaman lokal yang dikombinasikan dengan mikoriza arbuskula dalam proses restorasi ekologi pada lahan tailing juga dinilai lebih baik. Isolasi fungi dari lahan bekas tambang dapat dijadikan sebagai sumber inokulum untuk kegiatan revegetasi lahan (Danielson 1985). Dengan melihat potensi yang ada, mikoriza arbuskula dapat dijadikan sebagai pelaku remediasi terhadap logam berat pada lahan bekas tambang.

DAFTAR PUSTAKA

- Adewole MB, Awotoye OO, Ohiembor MO, Salami AO. 2010. Influence of mycorrhizal fungi on phytoremediating potential and yield of sunflower in Cd and Pb polluted soils. *J Agric Sci* 55 (1): 17-28.
- Alori E, Fawole O. 2012. Phytoremediation of soils contaminated with aluminium and manganese by two arbuscular mycorrhizal fungi. *J Agric Sci* 4 (8): 246-252.
- Anjum NA, Ahmad I, Mahmood I, Pacheco M, Duarte AC, Pereira E, Umar S, Ahmad A, Khan NA, Iqbal M, Prosad MV. 2012. Modulation of glutathione and its related enzymes in plant responses to toxic metals and metalloids - a review. *Environ Exp Bot* 75: 307-324.
- Audet P, Charest C. 2006. Effects of AM colonization on "wild tobacco" plants grown in zinc-contaminated soil. *Mycorrhiza* 16: 277-283.
- Babu AG, Reddy MS. 2011. *Aspergillus tubingensis* improves the growth and native mycorrhizal colonization of bermudagrass in bauxite residue. *Bioremed J* 15 (3): 157-164.
- Bafeel SO. 2008. Contribution of mycorrhizae in phytoremediation of lead contaminated soils by *Eucalyptus rostrata* plants. *World Appl Sci J* 5 (4): 490-498.
- Bai HJ, Zhang ZM, Yang GE, Li BZ. 2008. Bioremediation of cadmium by growing *Rhodobacter sphaeroides*: kinetic characteristic and mechanism studies. *Biores Technol* 99: 7716-7722.
- Bhaduri AM, Fulekar MH. 2012. Assessment of arbuscular mycorrhizal fungi on the phytoremediation potential of *Ipomoea aquatica* on cadmium uptake. *Biotech* 2: 193-198.
- Bhalerao SA. 2013. Arbuscular mycorrhizal fungi: a potential biotechnology tool for phytoremediation of heavy metal contaminated soils. *Intl J Sci Nat* 4 (1): 1-15.
- Bradley R, Burt AJ, Read DJ. 1981. Mycorrhizal infection and resistance to heavy metal toxicity in *Calluna vulgaris*. *Nature* 292 (5821): 335-337.
- Brooks RR. 1998. Phytoremediation by volatilization. In: Brooks RR (ed) Plant that hyperaccumulate heavy metal: their role in phytoremediation, microbiology, archaeology, mineral exploration and phytomining. CAB International, Wallingford, UK.
- Burke SC, Angle JS, Chaney RRL, Cunningham SD. 2000. Arbuscular mycorrhizae effects on heavy metal uptake by corn. *Intl J Phytoremed* 2 (1): 23-29.
- Chen B, Sen H, Li X, Feng G, Christie P. 2004. Effects of EDTA application and arbuscular mycorrhizal colonization on growth and zinc uptake by maize (*Zea mays* L.) in soil experimentally contaminated with zinc. *Pl Soil* 261: 219-229.
- Chen B, Zhu Y, Duan J, Xiao X, Smith S. 2007. Effects of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* on growth and metal uptake by four plant species in copper mine tailings. *Environ Pollut* 147: 374-380.
- Cicatelli A, Lingua G, Todeschini V, Biondi S, Torrigiani P, Castiglione S. 2010. Arbuscular mycorrhizal fungi restore normal in a white poplar clone grown on heavy metal-contaminated soil, and this is associated with upregulation of foliar metallothionein and polyamine biosynthetic gene expression. *Ann Bot* 106: 791-802.
- Cui M, Nobel PS. 1992. Nutrient status, water uptake and gas exchange for threedesert succulents infected with mycorrhizal fungi. *New Phytol* 122: 643-649.
- Danielson RM. 1985. Mycorrhizae and reclamation of stressed terrestrial environments. In: Tate K, Klein DA (eds) Soil Reclamation Processes - Microorganisms, Analyses and Application. Marcel Dekker, New York.
- David F. 2012. Arbuscular mycorrhizal fungi can benefit heavy metal tolerance and phytoremediation. *J Nat Res Life Sci Edu* 41 (1): 23-26.
- Dehn B, Schüepp H. 1990. Influence of VA mycorrhizae on the uptake and distribution of heavy metals in plants. *Agric Ecosyst Environ* 29 (1-4): 79-83.
- Dinel H, Pare T, Schnitzer M, Pelzer N. 2000. Direct land application of cement kiln dust- and lime-sanitized biosolids: extractability of trace metals and organic matter quality. *Geoderma* 96: 307-320.
- Dubchak S, Ogar A, Mietelski JW, Turnau K. 2010. Influence of silver and titanium nanoparticles on arbuscular mycorrhiza colonization and accumulation of radiocaesium in *Helianthus annuus*. *Spanish J Agric Res* 8 (81): 8103-8108.
- Dubey KK, Fulekar MH. 2011. Mycorrhizal development and management: The role of nutrient, micro-organisms and bio-chemical activities. *Agric Biol J North Amer* 2 (2): 315-324.
- Estaun V, Cortes A, Velianos K, Camprubi A, Calvet C. 2010. Effect of chromium contaminated soil on arbuscular mycorrhizal colonization of roots and metal uptake by *Plantago lanceolata*. *Spanish J Agric Res* 8 (81): 8109-8115.
- Galii U, Meier M, Brunold C. 1993. Effect of cadmium on non-mycorrhizal and mycorrhizal fungus (*Laccasaria laccata* Scop.Ex.Fr)Bk and Br.: sulphate reduction, thiols and distribution of the heavy metal. *New Phytol* 125: 837-843.
- Gamal HR. 2005. Role of arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of soil rhizosphere spiked with poly aromatic hydrocarbons. *Mycobiol* 33 (1): 41-50.
- Gamalerio E, Lingua G, Berta G, Glick BR. 2009. Beneficial role of plant growth promoting bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on plant responses to heavy metal stress. *Can J Microbiol* 55 (5): 501-514.
- Gao YG, Li Q, Ling W, Zhu X. 2011. Arbuscular micorrhizal phytoremediation of soils contaminated with phenanthrene and pyrene. *J Hazard Mater* 185 (2-3): 703-709.
- Garg N, Chandel S. 2010. Arbuscular mycorrhizal networks: process and function. A review. *Agron Sustain Dev* 30: 581-599.
- Gaur A, Adholeya A. 2004. Prospects of arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of heavy metal contaminated soils. *Curr Sci* 86 (4): 528 - 534.
- Giasson P, Jauouich A, Gagné S, Moutoglis P. 2005. Arbuscular mycorrhizal fungi involvement in zinc and cadmium speciation change and phytoaccumulation. *Remediation J* 15 (2): 75-81.
- Gisbert C, Almela C, Velez D, Lopez-Moya JR, de Haro A, Serrano R, Montoro R, Navarro-Avino J. 2008. Identification of As accumulation plant species growing on highly contaminated soils. *Intl J Phytoremed* 10: 185-196.
- Gohre V, Paszkowski U. 2006. Contribution of the arbuscular mycorrhizal symbiosis to heavy metal phytoremediation. *Planta* 223: 1115-1122.
- Gonzales-Guerrero M, Benabdellah K, Ferrol N, Azcon-Aguilar C. 2009. Mechanisms underlying heavy metal tolerance in arbuscular mycorrhizas. In: Azcon-Aguilar C, Barea JM, Gianinazzi S, Gianinazzi-Pearson V (eds) Mycorrhizas, functional process and ecological impact. Springer Verlag, Berlin.
- Gonzalez-Chavez C, D'Haen J, Vangronsveld JJ, Dodd JD. 2002. Copper sorption and accumulation by the extraradical mycelium of different *Glomus* spp. (arbuscular mycorrhizal fungi) isolated from the same polluted soil. *Pl Soil* 240 (2): 287-297.
- Gregory PJ. 2006. Plant roots, growth, activity and interaction with soils. Blackwell, Oxford.

- Herman DZ. 2006. Tinjauan terhadap tailing mengandung unsur pencemar Arsen (As), Merkuri (Hg), Timbal (Pb), dan Kadmium (Cd) dari sisa pengolahan bijih logam. *J Geologi Indonesia* 1 (1): 31-36.
- Hernández-Ortega HA, Alarcón A, Ferrera-Cerrato R, Zavaleta-Mancera HA, López-Delgado HA, Mendoza-López MR. 2012. Arbuscular mycorrhizal fungi on growth, nutrient status, and total antioxidant activity of *Melilotus albus* during phytoremediation of a diesel-contaminated substrate. *J Environ Manag* 95: S319-S324.
- Hovsepian A, Greipsson S. 2004. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on phytoextraction by corn (*Zea mays*) of lead-contaminated soil. *Intl J Phytoremed* 6 (4): 305-321.
- Janouskova M, Pavlovkova D, Vosatka M. 2006. Potential contribution of arbuscular mycorrhiza to cadmium immobilization in soil. *Chemosphere* 62: 1959-1965.
- Joner EJ, Briones R, Leyval C. 2000. Metal-binding capacity of arbuscular-mycorrhizal mycelium. *Pl Soil* 226 (2): 227-234.
- Jones R, Sun W, Tang CS, Robert FM. 2004. Phytoremediation of petroleum hydrocarbons in tropical control soils. II. Microbial responses to plant roots and contaminant. *Environ Sci Pollut Res* 11: 340-346.
- Kelkar TS, Bhalero SA. 2013. Beneficiary effect of arbuscular mycorrhiza to *Trigonella foenum-graceum* in contaminated soil by heavy metal. *Res J Recent Sci* 2 (ISC): 29-32.
- Khan AG. 2005. Role of soil microbes in rhizospheres of plants growing on trace metal contaminated soils in phytoremediation. *J Trace Element Med Biol* 18: 355-364.
- Khan AG. 2006. Mycorrhizoremediation - an enhanced form of phytoremediation. *J Zhejiang Univ Science B* 7 (7): 503-514.
- Leung HM, Ye ZH, Wong MH. 2007. Survival strategy of plants associated with arbuscular mycorrhizal fungi on toxic mine tailings. *Chemosphere* 66: 905-915.
- Leyval C, Joner EJ. 2001. Bioavailability of heavy metal in the mycorrhizosphere. In: Gobran GR, Menzel WW, Lombi E (eds). *Trace elements in the rhizosphere*. CRC. Boca Raton, FL.
- Leyval C, Joner EJ, Val C del, Haselwandter K. 2002. Potential of arbuscular mycorrhizal fungi for bioremediation. In: Gianinazzi S, Schuepp H, Barea JM, Haselwandter K (eds) *Mycorrhizal Technology in Agriculture*. Burkhiluser Verlag, Switzerland.
- Liang C-C, Li T, Xiao Y-P, Liu M-J, Zhang H-B, Zhao Z-W. 2009. Effects of inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi on maize grown in multi-metal contaminated soil. *Intl J Phytoremed* 11: 692-703.
- Lingua G, Bona E, Chini VT, Cattaneo C, Marsano F, Berto G, Cavaletto M. 2012. Effect of heavy metals and arbuscular mycorrhiza on the leaf proteome of a selected poplar clone: a time course analysis. *PlosOne* 7 (6): 1-25.
- Ma LQ, Rao GN. 1997. Heavy metals in environment-chemical fractionation of cadmium, copper, nickel, and zinc in contaminated soils. *J Environ Qual* 26: 259-264.
- Malekzadeh E, Alikhani HA, Savaghebi-Firoozabadi GR, Zarei M. 2011. Influence of arbuscular mycorrhizal fungi and improving growth bacterium on Cd uptake and maize growth in Cd-polluted soils. *Spanish J Agric Res* 9 (4): 1213-1223.
- Marschner H. 1999. Mineral nutrition of higher plants. Second edition. Academic Press. California, USA.
- Meier S, Borie F, Bolan N, Cornejo P. 2012. Phytoremediation of metal-polluted soils by mycorrhizal arbuscular fungi. *Crit Rev Environ Sci Technol* 42: 741-775.
- Meier S, Azcón R, Cartes P, Borie F, Cornejo P. 2011. Alleviation of Cu toxicity in *Oenothera picensis* by copper-adapted arbuscular mycorrhizal fungi and treated agrowaste residue. *Appl Soil Ecol* 48 (2): 117-124.
- Muleta D, Woyessa D. 2012. Importance of arbuscular mycorrhizal fungi in legume production under heavy metal-contaminated soils. In: A Zaidi, PA Wani, MS Khan (eds). *Toxicity of heavy metals to legumes and bioremediation*. Springer, New York.
- Orlowska E, Orlowski D, Mesjasz-Przybyłowicz J, Turnau K. 2011. Role of mycorrhizal colonization in plant establishment on an alkaline gold mine tailing. *Intl J Phytoremed* 13: 185-205.
- Oves M, Khan MS, Zaidi A, Ahmad E. 2012. Soil contamination, nutritive value, and human health risk assessment of heavy metals: an overview. In: A Zaidi, PA Wani, MS Khan (eds). *Toxicity of heavy metals to legumes and bioremediation*. Springer, New York.
- Pawlowska TE, Chaney RL, Chin M, Charvat I. 2000. Effects of metal phytoextraction practices on the indigenous community of arbuscular mycorrhizal fungi at a metal-contaminated landfill. *Applied and Environmental Microbiology* 66 (6): 2526-2530.
- Prasetyo B, Krisnayanti BD, Utomo WH, Anderson CWN. 2010. Rehabilitation of artisanal mining gold land in West Lombok, Indonesia. 2. Arbuscular Mycorrhiza status of tailings and surrounding soils. *J Agric Sci* 2 (2): 202-209.
- Rabie GH. 2005. Contribution of arbuscular mycorrhizal fungus to red kidney and wheat plants tolerance grown in heavy metal-polluted soil. *African J Biotechnol* 4 (4): 332-345.
- Rillig MC, Mummey DL. 2006. Mycorrhizas and soil structure. *New Phytol* 171: 41-53.
- Salt DE, Blaylock M, Kumar NPBA, Dushenkov V, Ensley BD, Raskin I. 1995. Phytoremediation: a novel strategy for removal of toxic metals from the environmental using plant. *Biotechnol* 13: 468-474.
- Sancayaningsih RP, Setiadi Y, Moelyopawiro S, Soedarsono J. 2000. Pengaruh densitas propagul dan cara aplikasi inokulum fungi mikoriza arbuskular (FMA) terhadap tingkat infeksi dan berat kering tanaman jagung (*Zea mays*, L). *Berkala Ilmiah Biologi* 2 (10): 567-581.
- Shivakumar CK, Hermavani C, Thippeswamy B, Krishnappa M. 2011. Effect of inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi on green gram grown in soil containing heavy metal zinc. *J Experim Sci* 2 (10): 17-21.
- Smith SE, Read D. 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*. Third Edition. Academic Press, Elsevier, New York.
- Souza LA, Andrade L, Adrián S, Souza R, Caroline S, Schiavinato MA. 2013. Evaluation of mycorrhizal influence on the development and phytoremediation potential of *Canavalia gladiata* in Pb-contaminated soils. *Intl J Phytoremed* 15 (5): 465-476.
- Sudová R, Vosátka M. 2007. Differences in the effects of three arbuscular mycorrhizal fungal on P and Pb accumulation by maize plants. *Plant Soil*. 296: 77-83.
- Sudová R, Pavlikova D, Macek T, Vosatka M. 2007. The effect of EDDS chelate and inoculation with the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* on the efficacy of lead phytoextraction by two tobacco clones. *Appl Soil Ecol* 35 (1): 163-173.
- Suharno, Sufaati S. 2009. Efektivitas pemanfaatan pupuk biologi fungi mikoriza arbuskular (FMA) terhadap pertumbuhan tanaman matoa (*Pometia pinnata* Forst.). *SAINS* 9 (1): 81-36.
- Suharno, Santosa. 2005. Pertumbuhan tanaman kedelai [*Glycine max* (L.) Merr] yang diinokulasi jamur mikoriza, legin dan penambahan seresah daun matoa (*Pometia pinnata* Forst) pada tanah berkapur. *Sains dan Sibernatika* 18 (3): 367-378.
- Teng Y, Luo Y, Sun X, Tu C, Xu L, Liu W, Li Z, Christie P. 2010. Influence of arbuscular mycorrhiza and *Rhizobium* on phytoremediation by alfalfa of an agricultural soil

- contaminated with weathered PCBs: a field study. Intl J Phytoremed 12 (5): 516-533.
- Upadhyaya H, Panda SK, Bhattacharjee MK, S Dutta. 2010. Role arbuscular mycorrhiza in heavy metal tolerance in plants: Prospect for phytoremediation. J Phytol 2 (7): 16-27.
- Wang F, Lin X, Yin R. 2005. Heavy metal uptake by arbuscular mycorrhizas of *Elsholtzia splendens* and the potential for phytoremediation of contaminated soil. Pl Soil 269 (1-2): 225-232.
- Wang FY, Lin XG, Yin R. 2007. Effect of arbuscular mycorrhizal fungal inoculation on heavy metal accumulation of maize grown in a naturally contaminated soil. Intl J Phytoremed 9: 345-353.
- Wang Y, Huang J, Gao Y. 2012. Arbuscular mycorrhizal colonization alters subcellular distribution and chemical forms of cadmium in *Medicago sativa* L. and resists cadmium toxicity. PlosOne 7 (11): 1-7.
- Zimmer D, Baum C, Leinweber P, Hryniewicz K, Meissner R. 2009. Associated bacteria increase the phytoextraction of cadmium and zinc from a metal-contaminated soil by mycorrhizal willows. Intl J Phytoremed 11: 200-213.