

تأثیر فلزات سنگین روی و کادمیم بر فرآیند تنفس میکروبی در دو خاک آهکی و غیرآهکی

نجمه یزدان پناه* - امیر فتوت - امیر لکزیان - غلامحسین حق نیا^۱

تاریخ دریافت: ۸۵/۸/۲

تاریخ پذیرش: ۸۶/۱۲/۱۴

چکیده

فلزات سنگین گروهی از عناصر می باشند که از نظر کاربرد صنعتی، شیمیایی و بیولوژیکی دارای اهمیت زیادی بوده و در غلظت های زیاد قادر هستند محیط زیست به ویژه خاک را آلوده کنند. آلودگی حاصل از فلزات بر ریزجانداران خاک و در نتیجه بر فرآیندهای زیستی اثر سویی به جای می گذارد. در این تحقیق اثر غلظت های ۰، ۱۵۰ و ۳۰۰ میکروگرم کادمیم در گرم خاک و ۰، ۷۵۰ و ۱۵۰۰ میکروگرم روی در گرم خاک بر فرآیند تنفس میکروبی در حضور و عدم حضور گلوکز (۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم در گرم خاک) در دو خاک آهکی و غیرآهکی در شرایط آزمایشگاهی مورد مطالعه قرار گرفت. میزان تنفس در فواصل زمانی ۰، ۱، ۲، ۳، ۵، ۷، ۱۰، ۱۳، ۱۷، ۲۱، ۲۸، ۳۵، ۴۲ و ۴۹ روز پس از شروع خواباندن به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی اندازه گیری شد. نتایج به دست آمده نشان داد که تنفس در خاک آهکی تیمار شده با کادمیم و روی نسبت به تنفس در تیمارهای مشابه خاک غیرآهکی بیشتر بود. کادمیم و روی باعث ایجاد فاز تاخیر در تنفس حاصل از سوبسترا شده، پس از طی فاز تاخیر، تنفس در هر دو خاک آهکی و غیرآهکی با یک روند کاهشی انجام شد. تأثیر منفی کادمیم بر تنفس بیش از روی بوده و با افزایش غلظت اثرات منفی بارزتر شد. اما تنفس پایه در تیمار کادمیم بدون تاخیر با یک روند کاهشی انجام شد و در تیمار روی بر خلاف انتظار تنفس افزایش یافت.

واژه های کلیدی: تنفس، معدنی شدن گلوکز، فلزات سنگین کادمیم و روی

مقدمه

در دهه های اخیر فعالیت های بشر از جمله توسعه و تکامل شهرها، رشد و تکامل صنایع و فن آوری، استخراج معادن، تخلیه پساب های صنعتی، مصرف مواد سوختی، تخلیه فاضلاب شهری و مصرف لجن حاصل از تصفیه فاضلاب، استفاده از علف کش ها، قارچ کش ها و سموم سبب شده است که مقادیر زیادی از فلزات سنگین وارد خاک شده و آن را آلوده کند. فلزات سنگین در خاک علاوه بر ایجاد سمیت برای گیاهان، بر ریزجانداران خاک تأثیر داشته و باعث اختلال در فعالیت آن ها می شوند (۱۲). از آنجا که ریزجانداران خاک به سرعت به این عوامل تنش زا پاسخ می دهند و فرآیندهای میکروبیولوژیکی خاک به صورت غیر مستقیم تحت تأثیر اثرات زیانبار فلزات سنگین قرار می گیرد، می توان از فعالیتهای میکروبی به عنوان شاخص تعیین آلودگی خاک به فلزات سنگین استفاده کرد. تنفس یکی از مهمترین فرآیندهای بیولوژیکی خاک است که توسط ریزجانداران خاک

صورت می گیرد (۲۲).

تنفس ریزجانداران خاک نیز مانند گیاهان با مصرف اکسیژن و آزادسازی دی اکسیدکربن همراه است. در خاکی که تهویه به خوبی صورت نگیرد برای به دست آوردن اکسیژن بین ریزجانداران و گیاهان رقابت پدید می آید. تنفس ریزجانداران خاک فرآیندی انرژی زا است که در طی آن ترکیبات آلی با مبادله جفت الکترون ها، اکسایش یافته و دی اکسیدکربن متصاعد می شود. به عبارت ساده تر تنفس خاک با جذب اکسیژن و آزادسازی دی اکسیدکربن توسط سلول های باکتری ها، قارچ ها، آنگ ها و پروتوزوئها انجام می گیرد. به طور کلی عواملی نظیر دما، رطوبت، pH، میزان مواد آلی، نوع و وضعیت آن (تازه و پوسیده) بر فعالیت تنفسی ریزجانداران خاک تأثیر دارد. به عنوان مثال در تابستان به دلیل دمای بالا و تجزیه مواد آلی سرعت تنفس ۱۰ برابر بیشتر از سرعت تنفس در زمستان است (۱۹). در شرایط آزمایشگاه علاوه بر تنفس پایه^۲ و طبیعی خاک می توان با افزودن سوبسترا به خاک

۱ - به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، استادیاران و استاد گروه خاکشناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد
* نویسنده مسئول: Email: najmeyazdanpanah@yahoo.com

تنفس حاصل از سوستر^۱ (SIR) را اندازه گیری کرد و از آنجا که تنفس خاک، همان معدنی شدن کربن آلی خاک است بهترین شاخص برای سنجش فعالیت ریزجانداران تجزیه کننده مواد آلی می باشد (۳۰). به نظر می رسد به همین دلیل نیز تنفس خاک بیشترین تعداد موارد مطالعه در رابطه با اثر سمیت فلزات سنگین بر فعالیت میکروبی خاک را به خود اختصاص داده است.

فلزات سنگین از طریق تشکیل کمپلکس با سوستر قابلیت فراهمی آن را کاهش داده و یا اینکه ریزجانداران را از بین می برند و بدین ترتیب تنفس کاهش می یابد (۲۲). غلظت بحرانی فلزات سنگین بر تنفس دارای گستره وسیعی است بطوری که غلظت کم کادمیم (۱۰ میکروگرم در گرم خاک) باعث کاهش تنفس در خاک لوم شنی اسیدی شد (۱۷)، در حالی که در برخی از مطالعات تاثیر کاهشی تنفس در غلظت های خیلی زیاد کادمیم (۱۲۰۰۰ میکروگرم در گرم خاک) دیده شده است (۴). این تفاوتها می تواند به چند دلیل باشد: نوع خاک، بگونه ای که در یک خاک شنی (pH=۰٫۷، مواد آلی ۱٫۶٪) ۱۵۰ میکروگرم کادمیم در گرم خاک و در یک خاک پیت شنی (pH=۴٫۴، مواد آلی ۲٫۸٪) ۴۰۰ میکروگرم کادمیم در گرم خاک باعث ۹٪ کاهش در آزادسازی دی اکسید کربن شدند (۱۴). اثر متقابل یونها، به عنوان مثال کادمیم در خاک های جنگلی که حاوی کلسیم، منیزیم و پتاسیم بالایی بود، حلالیت آن افزایش و در نتیجه اثر سمیت آن بر تنفس نیز افزایش یافت (۲۱). فرم فلز اضافه شده به خاک، خان و فرانکلند^۲ (۲۰) گزارش کردند که در یک خاک لوم شنی آلوده به ۱۰۰ میکروگرم کادمیم در گرم، کادمیم افزوده شده به شکل غیر محلول کربنات و اکسید اثر سمیت کمتری نسبت به شکل سولفات و کلرید بر فرآیند تجزیه سلولز داشت. هاتوری^۳ (۱۸) همبستگی منفی بین میزان کربن معدنی شده و غلظت کادمیم قابل استخراج با آب به دست آورد. در حالیکه مطالعه دیگری اثر سمیت ۱۰۰۰ میکروگرم کادمیم در گرم خاک جنگلی به شکل های کلرید و اکسید را یکسان گزارش کرد (۱۵). نوع سوستر، برخی از محققین متوجه شدند که فلزات سنگین بر سرعت تجزیه سلولز و نشاسته تاثیر بیشتری نسبت به تجزیه گلوکز و پروتئین دارند (۲۹). نتایج بسیاری از مطالعات نشان می دهد که با افزایش غلظت

فلزات سنگین اثر سمیت آنها بر تنفس نیز افزایش می یابد (۳). اکوس^۴ (۱) نشان داد که کربن آلی در خاکهای آلوده به سرب و روی، تجمع می یابد. نتایج مشابهی در خاکهای آلوده به کادمیم، روی، مس و سرب نیز ارائه شده که نشان می دهد اثر بازدارندگی کادمیم و روی نسبت به مس و سرب بر تنفس بیشتر است (۱۱ و ۱۲)، اما نتایج مغایری در این زمینه نیز به دست آمده است. به عنوان مثال اسموس^۵ و همکاران (۲) متوجه افزایش سرعت تنفس در خاک های آلوده به سرب شدند. محققین دیگری افزایش سرعت معدنی شدن کربن را در خاک های آلوده به مقادیر کم روی و کادمیم گزارش کردند. اما باید به این نکته اشاره کرد که دوره خواباندن آزمایش آنها بسیار کوتاه بوده و نتایج بعد از سترون کردن خاک ارائه شده است، بدین ترتیب افزایش تنفس قابل توجیه می باشد (۷ و ۹).

بررسی منابع نشان داد با توجه به فراوانی خاکهای آهکی در ایران، اطلاعات زیادی در مورد اثر فلزات سنگین بر فعالیت میکروبی در خاکهای کشورمان وجود ندارد. بنابراین هدف از انجام این آزمایش بررسی تاثیر روی و کادمیم با غلظت های مختلف بر تنفس میکروبی دو خاک آهکی و غیر آهکی بود.

مواد و روش ها

برای انجام این آزمایش دو خاک آهکی و غیر آهکی انتخاب و پس از نمونه برداری از عمق ۳۰-۰ سانتیمتری از دو خاک، بخشی از نمونه ها، برای آماده سازی جهت تجزیه، هوا خشک و از الک ۲ میلی متری عبور داده شد. اطلاعات مربوط به تجزیه خاک ها در جدول ۱ بیان شده است. بخش دیگر خاک جهت اعمال تیمارهای تنفس در محیط تاریک و دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد. آزمایش اندازه گیری تنفس به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در دو خاک آهکی و غیر آهکی، ۲ سطح گلوکز (۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم در گرم خاک خشک)، ۶ سطح فلز سنگین (کادمیم با غلظت ۰، ۱۵۰ و ۳۰۰ میکروگرم در گرم خاک و روی با غلظت ۰، ۷۵۰ و ۱۵۰۰ میکروگرم در گرم خاک) با ۳ تکرار در محیط آزمایشگاه انجام گرفت.

در این مطالعه ابتدا با استفاده از نمک سولفات کادمیم و

1) Substrate Induced Respiration

3) Hattori

2) Khan & Frankland

4) Aceves

5) Ausmus

جدول (۱) برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی دو خاک مورد مطالعه

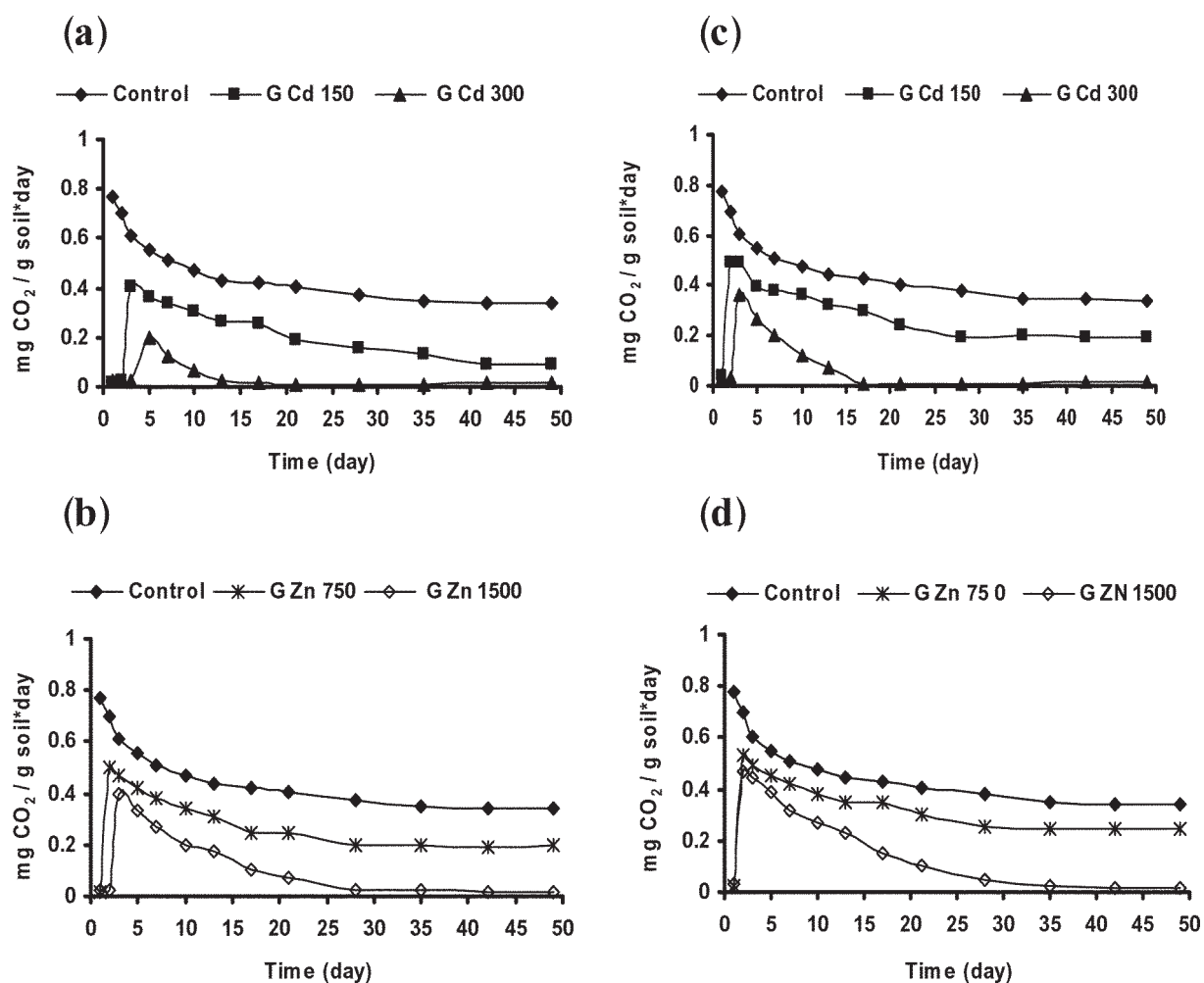
خاصیت	واحد اندازه گیری	خاک آهکی	خاک غیرآهکی
بافت	—	Sandy loam	Sandy loam
رس	%	۱۵/۰	۱۵/۳
pH	—	۷/۸۰	۷/۶۶
EC	dS m ⁻¹	۱/۶۰	۱/۷۲
OM	%	۰/۵	۰/۵
CEC	Cmol ⁽⁺⁾ kg ⁻¹	۱۰/۰	۹/۵
CaCO ₃	%	۲۵	۳
CaCO	%	۰/۰۷	۰/۰۵
نیترژن کل	%	۸/۵	۷/۰
P	mg kg ⁻¹	۲۰/۷۰	۱۷/۲۱
*K	mg L ⁻¹	۱۴۵	۱۳۹
*Na	mg L ⁻¹	۱۵۰	۱۴۲
*Ca	mg L ⁻¹	۲۷۰	۲۵۰
*Mg	mg L ⁻¹		

* شکل محلول در عصاره اشباع

نتایج و بحث

نتایج حاصل از مطالعه اثر کادمیم با غلظت های ۱۵۰ و ۳۰۰ میکروگرم در گرم خاک بر تنفس در دو خاک آهکی و غیرآهکی نشان داد که در هر دو خاک سرعت تنفس حاصل از سوبسترا (SIR) در تیمار شاهد از بقیه تیمارها بیشتر بوده و ماکزیمم مقدار آن در دو روز اول مشاهده شد و غلظت های مختلف کادمیم باعث تاخیر چند روزه در آغاز تنفس شدند. در خاک غیرآهکی آلوده به کادمیم با غلظت ۱۵۰ و ۳۰۰ میکروگرم در گرم خاک آزادسازی دی اکسیدکربن به ترتیب با ۲ و ۳ روز تاخیر آغاز شد (شکل ۱a). در تیمار ۱۵۰ میکروگرم کادمیم در گرم خاک غیرآهکی، پس از طی فاز تاخیر، بیشترین مقدار کربن معدنی شده تولید و به تدریج از میزان آن کاسته شد، تا اینکه سرعت تنفس بعد از ۲۸ روز خواباندن به مقدار ثابت رسید. به طور کلی پس از ۴۹ روز خواباندن سرعت تنفس در این تیمار نسبت به شاهد ۵۸٪ کاهش داشت. در تیمار ۳۰۰ میکروگرم کادمیم در گرم خاک بیشترین مقدار دی اکسیدکربن آزاد شده در روز سوم بوده که این مقدار در

سولفات روی، محلول کادمیم و روی با غلظتهای مورد نظر تهیه و توسط افشانه بطور یکنواخت بر روی خاک پاشیده شد. پس از گذشت چند روز که خاک کاملاً به حالت تعادل رسید خاک را به دو بخش تقسیم کرده و به یک قسمت از آن ۱۰۰۰ میکروگرم گلوکز در گرم خاک بعنوان منبع غذایی لازم برای فعالیت ریزجانداران خاک اضافه و خاک بطور یکنواخت مخلوط شد. در طول زمان آزمایش، تیمارها در دمای آزمایشگاه و رطوبت ۶۰٪ ظرفیت مزرعه نگهداری شد. میزان دی اکسیدکربن حاصله از تنفس میکروبی با استفاده از سود و کلرید باریم و تیتراسیون سود باقیمانده با اسید کلریدریک در فواصل زمانی ۰، ۱، ۲، ۳، ۵، ۷، ۱۰، ۱۳، ۱۷، ۲۱، ۲۸، ۳۵، ۴۲ و ۴۹ روز پس از شروع خواباندن تعیین گردید (۲۲). نتایج به دست آمده با نرم افزار MINITAB به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی تحلیل شد. میانگین ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ مقایسه شدند. برای رسم نمودارها از نرم افزار Microsoft Excel استفاده گردید.



شکل (۱) تأثیر کادمیم و روی بر سرعت تنفس حاصل از سوبسترا خاک غیر آهکی (b,a) و آهکی (c و d)

تاخیر در آزادسازی دی اکسیدکربن در خاک غیر آهکی بیشتر از خاک آهکی بوده و در تیمار ۱۵۰ میکروگرم کادمیم در گرم خاک آهکی نسبت به خاک غیر آهکی مدت زمانی که طول کشید تا سرعت تنفس به میزان ثابت برسد، طولانی تر بود و در تیمار ۳۰۰ میکروگرم کادمیم در گرم خاک غیر آهکی تولید دی اکسیدکربن سریعتر از خاک آهکی متوقف شد.

نتایج حاصل از تاثیر روی با غلظت های ۷۵۰ و ۱۵۰۰ میکروگرم در گرم خاک نشان داد که در خاک غیر آهکی آلوده به روی با غلظت ۷۵۰ میکروگرم در گرم خاک پس از تاخیر یک روزه، بیشترین میزان دی اکسیدکربن آزاد شد و بتدریج سرعت تنفس کاهش یافت (شکل ۱c)، تا اینکه پس از ۲۸ روز به میزان ثابت رسید اما تنفس متوقف نشد و پس از ۴۹ روز خواباندن، تنفس نسبت به شاهد ۴۱٪ کاهش یافت ولی در غلظت ۱۵۰۰ میکروگرم

طی زمان با شیب تندی کاهش یافت و در نهایت پس از ۱۳ روز خواباندن، تنفس کاملاً متوقف گردید.

در تیمار ۱۵۰ میکروگرم کادمیم در گرم خاک آهکی پس از ۱ روز تاخیر، تنفس شروع شد (شکل ۱b) و بتدریج در طی زمان از سرعت آن کاسته شد، بطوری که بعد از ۴۲ روز انکوباسیون به مقدار ثابت رسید. سرعت تنفس در این تیمار نسبت به شاهد پس از ۴۹ روز خواباندن ۴۰٪ کاهش نشان داد. درحالیکه در خاک آلوده به کادمیم با غلظت بیشتر (۳۰۰ میکروگرم در گرم خاک) پس از ۲ روز تاخیر در تنفس در روز سوم بیشترین مقدار دی اکسیدکربن آزاد شد و میزان دی اکسیدکربن متصاعد شده با گذشت زمان با سرعت زیادی کاهش یافت تا اینکه سرانجام پس از ۱۷ روز، تنفس کاملاً متوقف شد.

همانگونه که شکل ۱ نشان می دهد در هر دو تیمار مدت زمان

نوع خاک، غلظت و نوع فلز سنگین می تواند از عوامل موثر بر زمان تاخیر تنفس حاصل از سوپسترا (SIR) به شمار آید. بابیچ^۳ و همکاران (۴) طی آزمایشی به این نتیجه رسیدند که حضور کادمیم در خاک با غلظت های ۱۰۰۰، ۲۰۰۰، ۴۰۰۰، ۵۰۰۰ تا ۸۰۰۰ و ۹۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰ میکروگرم در گرم خاک به ترتیب ۲، ۳، ۳، ۴ و ۵ روز تاخیر در آزادسازی دی اکسیدکربن را سبب شد که این تاخیر برای خاک حاوی روی با غلظت ۲۰۰۰ تا ۴۰۰۰، ۶۰۰۰، ۸۰۰۰ تا ۱۶۰۰۰، ۱۸۰۰۰ تا ۲۲۰۰۰ و ۲۴۰۰۰ میکروگرم در گرم خاک به ترتیب بیش از ۲، بین ۱ تا ۲، ۲، ۳ و ۴ روز می باشد. برخی از پژوهشگران با مطالعه اثرات فلزات سنگین بر زمان تاخیر در طول تجزیه اسید گلو تامیک در خاک های جنگلی به این نتیجه رسیدند که افزایش فاز تاخیر با سطح فلزات سنگین بکار برده شده رابطه مستقیم دارد (۲۶). کاربرد کادمیم و روی با دو غلظت مختلف در مطالعه حاضر نشان داد که با افزایش غلظت فلزات، مدت زمان تاخیر نیز افزایش می یابد. به نظر می رسد که با افزودن سوپسترا به خاک های آلوده به فلزات سنگین و خاک های بدون فلزات، ریز جانداران خاک به صورت ناگهانی رشد کرده و فعالیت تنفسی آنها نیز افزایش می یابد ولی تنفس، در خاک های تیمار شده با کادمیم و روی به اندازه افزایش تنفس در خاک های فاقد این فلزات، افزایش نمی یابد و به علت حساسیت بیشتر تنفس اولیه به فلزات سنگین، فعالیت متابولیسمی سلولهای ریز جانداران به صورت موقتی متوقف و در نتیجه فاز تاخیر قبل از حداکثر رشد ریز جانداران ایجاد می شود (۵، ۱۳ و ۱۴). به همین دلیل در مطالعات کوتاه مدت آزمایشگاهی (۲۴ ساعت) فاز تاخیر تنفس در حضور فلزات سنگین ممکن است نادیده گرفته شده و با توقف تنفس توجیه شود (۱۶).

لندی^۴ و همکاران (۲۲) با کاربرد غلظت ۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم کادمیم در گرم خاک به این نتیجه رسیدند که تنها غلظت ۵۰۰ میکروگرم در گرم خاک سبب کاهش تنفس در اولین روز خواباندن شد و این اثر بازدارندگی پس از دو روز از بین رفت. نتایج بدست آمده از این مطالعه اثرات منفی کادمیم بر تنفس میکروبی خاک را نشان داده که این امر می تواند متأثر از تغییرات ساختار میکروفلور خاک و یا توقف فعالیت میکروبی به علت حضور کادمیم باشد. از آنجایی که پروکاریوتها نسبت به یوکاریوتها سرعت تکثیر بیشتری

روی در گرم خاک، پس از ۲ روز تاخیر، در روز سوم بیشترین مقدار دی اکسیدکربن تولید شد پس از ۲۸ روز تنفس کاملاً متوقف شد.

در تیمارهای ۷۵۰ و ۱۵۰۰ میکروگرم روی در گرم خاک آهکی، همانند خاک غیر آهکی تنفس حاصل از سوپسترا (SIR) با تاخیر آغاز شد (شکل ۱d). در تیمار روی با غلظت ۷۵۰ میکروگرم در گرم خاک، بیشترین میزان دی اکسیدکربن در روز دوم آزاد شد و به تدریج سرعت تنفس کاهش یافت تا اینکه پس از ۲۸ روز به میزان ثابت رسید و پس از ۴۹ روز خواباندن سرعت تنفس در مقایسه با شاهد ۳۱٪ کاهش نشان داد، ولی در غلظت ۱۵۰۰ میکروگرم روی در گرم خاک در روز دوم بیشترین مقدار دی اکسیدکربن تولید شد و با گذشت زمان سرعت تنفس کاهش یافت تا اینکه پس از ۲۸ روز تنفس کاملاً متوقف شد. مقایسه تاثیر روی در دو خاک آهکی و غیر آهکی (شکل ۱) نشان داد که سرعت تنفس حاصل از سوپسترا در تیمار روی با غلظت ۷۵۰ میکروگرم در گرم خاک غیر آهکی نسبت به خاک آهکی زودتر به میزان ثابت رسید و در خاک غیر آهکی در تیمار ۱۵۰۰ میکروگرم روی در گرم خاک نسبت به تیمار مشابه در خاک آهکی، تنفس سریعتر متوقف شد.

بررسی منابع نشان داد مطالعات کمی در زمینه تاثیر فلزات سنگین بر تنفس در خاک آهکی انجام شده در حالیکه تاثیر pH بر خصوصیات میکروبی خاکهای آلوده به فلزات، بیشتر مورد بررسی قرار گرفته است. اسپیر^۱ و همکاران (۲۸) به منظور بررسی اثر فلزات سنگین بر تنفس میکروبی خاک، با افزودن نمکی از فلزات سنگین که خاصیت اسیدزایی داشت، pH متفاوت در خاک های مورد آزمایش ایجاد کردند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که در خاک های تیمار شده با فلزات سنگین، با کاهش pH تنفس نیز به صورت تقریباً خطی کاهش می یابد. در مطالعه ای که توسط بردلی^۲ و همکاران (۸) به منظور بررسی تاثیر نوع کاربری اراضی بر جوامع میکروبی خاک انجام گرفت، مشخص شد که در اثر کاربری اراضی برخی خصوصیات خاک از جمله pH، EC و غلظت فلزات سنگین تغییر می کند که هر یک از آنها می تواند به عنوان یک تنش برای فعالیت میکروبی خاک محسوب شود به طوری که با کاهش pH، تنفس حاصل از سوپسترا خاک (SIR) به طور معنی داری کاهش یافت. بر اساس نتایج به دست آمده از این تحقیق

دارند و در عین حال به فلزات سنگین حساستر می باشند، تحت تاثیر فلزات سنگین قسمت عمده ای از پروکاریوتها از بین رفته و یوکاریوتها در ساختار میکروفلور خاک، جمعیت غالب را تشکیل می دهند، بنابراین کاهش در میزان تنفس و تولید دی اکسیدکربن در خاک آلوده می تواند به علت کاهش در جمعیت پروکاریوتها باشد (۲۲).

همانگونه که نتایج حاصل از بررسیهای متعدد نشان می دهد، غلظت فلزات سنگین در اثر گذاری بر تنفس میکروبی خاک بسیار مهم می باشد. در برخی از مطالعات، تنفس حتی به غلظت های کم کادمیم و روی حساسیت نشان داده، چنانچه کاهش سرعت تنفس در غلظت ۱۰ میکروگرم کادمیم و روی در گرم خاک گزارش شده است (۷، ۹ و ۱۰). باکتری ها نسبت به قارچ ها حساس ترند و توسط غلظت های زیاد فلزات از بین رفته و کربن آلی آنها به آرامی معدنی می شود (۳۰). البته در غلظت های خیلی زیاد کادمیم و روی، تنها گونه های میکروبی که مقاومت بالایی دارند، می توانند فعالیت کنند (۴). بایبچ و همکاران توقف معدنی شدن کربن را تنها تحت تاثیر سطوح بسیار زیاد کادمیم و روی گزارش کرده و دلیل اصلی آن را چنین بیان کردند که خاک های مورد مطالعه ۸ سال پیش نمونه برداری شده و بسیاری از ریزجانداران خود، به ویژه گونه های حساس را از دست داده اند (۴).

نتایجی که توسط رنلا^۱ (۲۷) و همکاران به دست آمد، نشان داد که بین سه فلز روی، کادمیم و مس به کار برده شده، روی بیشترین و کادمیم کمترین اثر سمیت را داشته است. با توجه به اینکه کادمیم ۳ تا ۴ برابر مقدار مجاز به کار رفته است اما اثر بازدارندگی کمتری داشته که با نتایج گیلر^۲ و همکاران متناقض می باشد (۱۶). رنلا و همکاران دلیل اصلی این تفاوت را نحوه ورود فلزات سنگین به خاک بیان می کنند. چنانچه در این آزمایش فلزات به صورت تازه اضافه شده در حالیکه نتایج گیلر با فلزاتی است که طی چندین سال به تدریج به خاک افزوده شده است. نتایج حاصل از مطالعه حاضر با نتایج رنلا و همکاران مغایرت داشته و نشان داد که با وجودیکه کادمیم و روی به صورت تازه به خاک اضافه شد اما اثر سمیت کادمیم بر تنفس بیشتر از روی بود.

مطالعات مختلف نشان می دهد غلظت بحرانی فلزات سنگین بر فرآیند تنفس بسته به نوع خاک، نوع ریزجانداران و شرایط محیطی

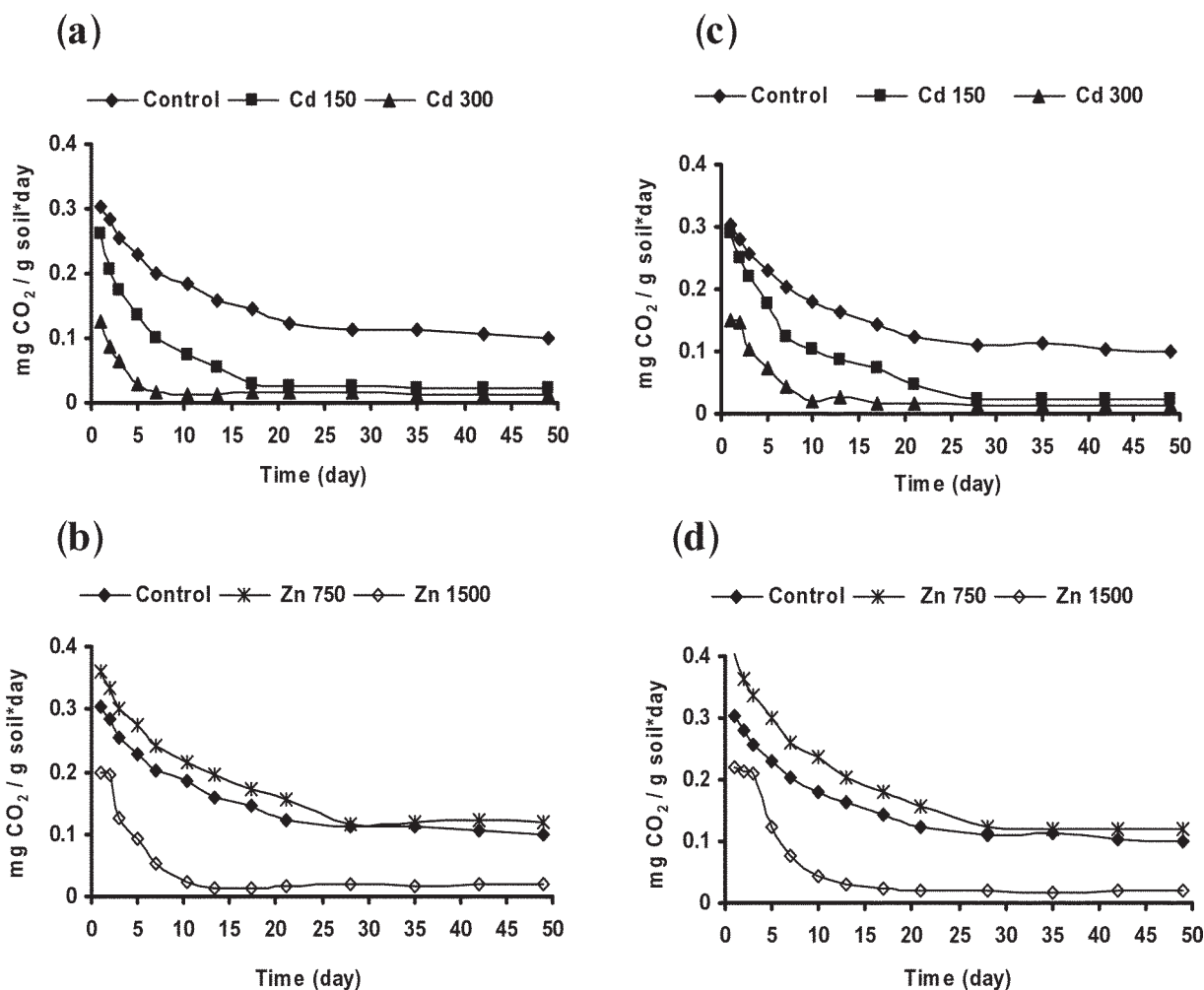
کاملاً متفاوت می باشد (۱۶). نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که غلظت های کادمیم و روی به ترتیب ۳۰۰ و ۱۵۰۰ میکروگرم در گرم خاک باعث توقف فرآیند تنفس در دو خاک آهکی و غیرآهکی مورد مطالعه شد که با تغییر نوع خاک، شرایط محیطی و سایر عوامل موثر، غلظت های بحرانی کادمیم و روی بر فرآیند تنفس تغییر می یابد.

نتایج حاصل از بررسی اثر کادمیم و روی بر تنفس پایه در خاک غیرآهکی و آهکی نشان داد که در تیمار شاهد هر دو خاک بیشترین مقدار دی اکسیدکربن در دو روز اول متصاعد شد و پس از گذشت ۲۸ روز خواباندن به مقدار ثابت رسید (شکل ۲). در آزادسازی دی اکسیدکربن در تیمارهای کادمیم و روی با غلظت های مختلف در خاک آهکی و غیرآهکی هیچ تاخیری مشاهده نشد و مانند خاک شاهد، تنفس از همان روز اول آغاز شد و سرعت تنفس در طی زمان با شیب زیادی کاهش یافت. تنفس در خاک غیرآهکی آلوده به کادمیم با غلظت ۱۵۰ و ۳۰۰ میکروگرم در گرم خاک، به ترتیب بعد از ۱۷ و ۷ روز خواباندن کاملاً متوقف شد. در حالیکه مدت زمان لازم برای توقف تنفس در خاک آهکی تیمار شده با ۱۵۰ و ۳۰۰ میکروگرم کادمیم در گرم خاک به ترتیب ۲۸ و ۱۰ روز طول کشید. مقدار تنفس در خاک آهکی و غیرآهکی آلوده به روی با غلظت ۷۵۰ میکروگرم در گرم خاک برخلاف انتظار بیش از مقدار آن در خاک شاهد بود و پس از ۲۸ روز خواباندن به مقدار ثابت رسید غلظت ۷۵۰ میکروگرم روی در گرم خاک نه تنها از معدنی شدن کربن جلوگیری نکرد بلکه سبب تحریک آن در هر دو خاک نیز شد. تنفس در خاک آهکی و غیرآهکی آلوده به روی با غلظت ۱۵۰۰ میکروگرم در گرم خاک، به ترتیب پس از ۱۳ و ۷ روز خواباندن کاملاً متوقف شد.

در آزمایشی که توسط بایبچ و همکاران (۴) انجام شد بر اثر افزودن فلزات سنگین، میزان کربن معدنی شده کاهش یافت که کاهش تنفس به علت غلظت بالای سولفات (آنیون همراه فلز) و یا افزایش فشار اسمزی حاصل از افزودن فلزات نبود. آنان نتیجه گیری کردند که دلیل اصلی کاهش، جلوگیری از فعالیت ریزجانداران توسط فلزات می باشد. به عنوان مثال قسمتی از گلوکز اضافه شده در خاک تبدیل به بیومس میکروبی شده و طی تجزیه سلول های مرده ریزجانداران، دی اکسیدکربن آزاد

1) Renella

2) Giller



شکل (۲) تأثیر کادمیم و روی بر تنفس پایه در خاک غیر آهکی (a و b) و آهکی (c و d)

وجود دارد (۱۶). اما گاهی فلزات سنگین بدلیل تشکیل کمپلکس با عناصر باعث افزایش قابلیت فراهمی آنها شده و یا ریزجانداران مضر را از صحنه رقابت حذف می کنند و همین امر سبب افزایش تنفس می شود (۲۲).

سرعت آزادسازی دی اکسیدکربن به خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک بستگی دارد، مطالعات زیادی نشان می دهد که میزان تصاعد دی اکسیدکربن با کربن آلی، DOC، pH، CEC، درصد رس و درصد آهک خاک رابطه معنی داری دارد (۲۱). کمیت ۱ و همکاران (۲۱) pH خاک های مورد مطالعه را با اضافه کردن آهک از ۳/۵ به ۷ افزایش داده و در نهایت رابطه مثبت و معنی داری بین pH و تنفس پایه گزارش کردند، درحالیکه

می شود. این نتایج، مشابه مطالعه حاضر روند کاهشی تنفس در اثر فلزات سنگین را نشان می دهند. اما نکته جالب در مطالعه حاضر افزایش تنفس در تیمار ۷۵۰ میکروگرم روی در گرم خاک بود (شکل ۲). این نتایج توسط برخی محققان دیگر نیز گزارش شده است (۲). به نظر می رسد می توان دلیل آن را چنین بیان کرد که روی در غلظت کم سبب شده است که برخی از ریزجانداران حساس از بین رفته و سایر ریزجانداران از لاشه آنها به عنوان منبع غذایی مناسب استفاده کنند و در نتیجه این فعالیت، دی اکسیدکربن بیشتری آزاد کنند و یا اینکه ممکن است ریزجانداران به مقادیر کم روی مقاوم باشند (۱۶). همچنین احتمال اینکه ریزجانداران از روی به عنوان کوفاکتور فعال کننده آنزیم ها استفاده کرده باشند نیز

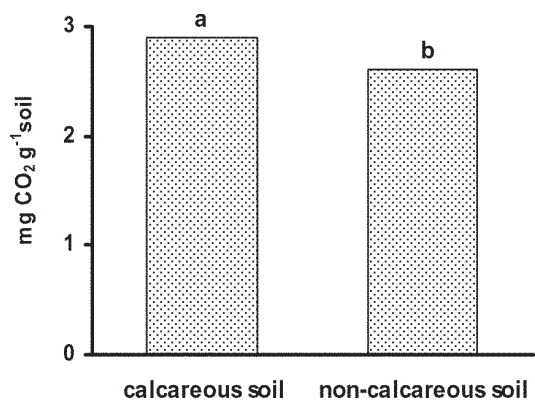
می شود که به تبع اثرات سمیت آن ها بر تنفس نیز احتمالاً می تواند کاهش یابد.

عامل مهم دیگر این است که برخی از ریزجانداران خاک دارای خصوصیات کلونیدی و بار منفی می باشند که پس از بهمکنش با بخش جامد خاک، واحدهای پایدار با مواد آلی و معدنی تشکیل می دهند که ریزجانداران در واحد ریز جاندار - مواد آلی، کمتر در معرض تنش های زیست محیطی قرار می گیرند. بنابراین حتی اگر فعالیت فلزات سنگین در دو خاک یکسان باشد، اثرات آن ها بر ریزجانداران خاک به میزان ارتباط بین ریزجانداران و بخش جامد خاک بستگی دارد. بنابراین کاربرد چندین غلظت از فلزات سنگین اثرات آن ها را در خاک های مختلف بهتر نشان می دهد (۲۳).

نتیجه گیری

نتایج به دست آمده نشان می دهد که روی و کادمیم بر تنفس اثر سویی داشته و با افزایش غلظت این عناصر، اثرات منفی آنها بیشتر می شود. کادمیم و روی باعث ایجاد فاز تاخیر در تنفس حاصل از سوستر شده، پس از طی فاز تاخیر تنفس در هر دو خاک آهکی و غیر آهکی با یک روند کاهشی انجام و در نهایت تنفس در خاک تیمار شده با غلظت بیشتر هر یک از این فلزات کاملاً متوقف شد. به طور کلی تاثیر منفی کادمیم بر تنفس نسبت به روی در غلظت کمتر، شدیدتر بود. اما تنفس پایه در تیمار کادمیم بدون تاخیر با یک روند کاهشی انجام شد و در تیمار روی بر خلاف انتظار تنفس افزایش یافت. تنفس حاصل از سوستر (SIR) و تنفس پایه (BR) در تیمارهای کادمیم و روی در خاک آهکی بیش از خاک غیر آهکی بود. بنابراین پژوهش حاضر می تواند به صورت مبنایی برای تحقیقات بعدی مطرح شده و پیشنهاد می شود که برای مطالعات آینده بررسی های متعددی با تعداد خاک های آهکی و غیر آهکی بیشتری صورت پذیرد تا بتوان به ارایه تصویر واقعی تری از اثرات آهک در بهمکنش فلزات سنگین و تنفس میکروبی خاک دست یافت. علاوه بر این پیشنهاد می شود اثرات فوق الذکر با سایر فرآیندهای بیولوژیکی خاک مانند نیتروژن کاسیون، فعالیت آنزیمی خاک و غیره نیز مورد مطالعه قرار گیرد.

افزایش pH بر تنفس حاصل از گلوکز اثری نداشت. این محققین علت این امر را کاهش قابلیت فراهمی کربن خاک در اثر جذب سطحی توسط ریزترین بخش جامد خاک بیان کردند. در تحقیق حاضر به منظور بررسی نقش آهک در اثرگذاری فلزات سنگین بر تنفس سعی شده است که دو خاک با خصوصیات فیزیکوشیمیایی یکسان و درصد آهک مختلف مورد مطالعه و ارزیابی قرار گیرد. همانطور که در شکل ۳ مشاهده می شود به طور کلی تنفس در خاک آهکی بیش از خاک غیر آهکی است.



شکل (۳) تنفس در دو خاک آهکی و غیر آهکی (a و b معیار آماری بر اساس آزمون دانکن)

افزایش تنفس در خاک آهکی نسبت به خاک غیر آهکی را می توان به چند دلیل توجیه کرد. با توجه به اینکه رفتار شیمیایی فلزات به خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک بستگی دارد و از آنجا که بارزترین تفاوت در خاک های مورد مطالعه در این تحقیق، درصد آهک است می توان چنین احتمال داد که آهک سبب کاهش فراهمی کادمیم و روی در محلول خاک شده است، چنانچه لیندزی^۱ (۲۴) بیان می کند که در pH بیشتر از ۷/۵ بسته به فشار دی اکسید کربن، Cd⁺² و Zn⁺² به ترتیب به صورت اکتوایت (CdCO₃) و کربنات روی (ZnCO₃) در خاک رسوب می کنند که این ترکیبات در خاک های آهکی به مراتب پایدارتر از سایر ترکیبات غیر محلول می باشد. همچنین بر اساس مطالعات مک براید^۲ (۲۵) فلزات سنگین کاتیونی به وسیله ذرات کربنات کلسیم خاک جذب سطحی شده و گاهی اوقات رسوب^۳ می شوند. لذا به نظر می رسد پدیده رسوب باعث کاهش حلالیت و قابلیت دسترسی روی و کادمیم

1) Lindsay

2) Mc Bride

3) Co-precipitation

1. Aceves, M., C., Grace, J., Ansorena, L., Dendooven, P.C., Brookes, 1999. Soil microbial biomass and organic C in gradient of zinc concentrations in soil around a mine spoil tip. *Soil. Biol. Biochem.* 31, 867-876.
2. Ausmus, B.S., G.J., Dadson, D.R., Jacson, 1978. Behavior of heavy metals in forest microcosms. *Water, Air and Soil Pollution.* 10, 19-26.
3. Baath, E., 1989. Effects of heavy metals in soil on microbial processes and populations (a review). *Water Air Soil Pollut.* 47, 335-379.
4. Babich, R.J., F., Bewley, G. Stotzky, 1983. Application of the ecological dose concept to the impact of heavy metals on some microbe- mediated ecologic processes in soil. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 12, 421- 426.
5. Bewley, R.J.F., G. Stptzky. 1983. effects of cadmium and zinc on microbial- activity in soil; influence clay minerals. Part 1. Metals added individually. *The Science of the Total Environment.* 31, 41- 55.
6. Bewley, R.J.F., G. Stptzky. 1983. effects of cadmium and zinc on microbial- activity in soil; influence clay minerals. Part 2. Metals added simultaneously. *The Science of the Total Environment.* 31, 57- 69.
7. Bond, H., R., Lighthart, R., Shimabuku, L., Russel, 1976. Some effects of cadmium on coniferous forest soil and litter microcosms. *Soil Sci.* 121, 278.
8. Bradley, P.D., L.A., Schipper, P. Graham, L.C., Sparling, 2001. Is the microbial community in a soil with reduced catabolic diversity less resistant to stress or disturbance. *Soil. Biol. Biochem.* 33, 1143- 115.
9. Chaney, W.R., J.M., Kelly, R.C., Strickland, 1978. Influence of cadmium and zinc on carbon dioxide evolution from litter and soil from a black oak forest. *J. Environ. Qual.* 7, 115.
10. Cornfield, A.H., 1977. Effects of addition of 12 metals on carbon dioxide release during incubation of an acid sandy soil. *Geoderma,* 19, 199.
11. Coughtrey, P.J., C.H., Jones, M.H., Martin, S.W., Shales, 1979. Litter accumulation in wood lands contaminated by Pb, Zn, Cd and Cu. *Oecologia.* 39, 51-60.
12. Dai, J., T., Becquer, J.H., Rouiller, G., Reversat, F., Bernhard- Reversat, J., Nahmani, P., Lavelle, 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.
13. Doelman, P., L., Haanstra, 1979. Effects of lead on soil respiration and dyhydrogenase activity. *Soil Biology and Biochemistry.* 11, 475- 479.
14. Doelman, P., L., Haanstra, 1984. Short term and long term effects of cadmium, chromium, copper, nickle, lead and zinc on soil microbial respiration in relation to abiotic soil factors. *Plant Soil.* 79, 317-327.

15. Fritze, H., Perkiomaki, J., Saarela, U., et al., 2000. Effect of Cd-containing wood ash on the microflora of coniferous forest humus. *FEMS Microbiol.Ecol.*32, 43-51.
16. Giller, K.E., E., Witter, S.P., McGrath, 1998. Toxicity of heavy metals to micro- organisms and microbial processes in agricultural soils (a review). *Soil. Biol. Biochem.* 30, 1389-1414.
17. Gupta, S.K., F.X., Stadelmann, H., Hani, A., Rudaz, 1984. Interrelation of Cd-ion concentrations and the growth and activities of microorganisms in two growth media. *Toxicol.Environ.Chem.* 8, 173-184.
18. Hattori, H., 1989. Influence of cadmium on decomposition of sewage-sludge and microbial activities in soils.*Soil Sci. Plant Nutr.*35, 289-299.
19. Hillel, D., 1980. Environmental soil physics. Academic press. 281- 284.
20. Khan, D.H., Frankland, B., 1984. Cellulolytic activity and root biomass production in some metal-contaminated soils.*Environ. Pollut.A* 33, 63-74.
21. Kemmitt, S.J., D., wright. K.W.T., Goulding, D.L., Jones, 2006. pH regulation of carbon and nitrogen dynamics in two agricultural soils. *Soil Biology and Biochemistry.* 38, 898- 911.
22. Landi, L., G., Renella, J.L., Moreno, L., Falchini, P., Nannipieri, 2000. Influence of cadmium on the metabolic quotient, L-, D- glutamic acid respiration ratio and enzyme activity, microbial biomass ratio under laboratory conditions. *Biol. Fertil. Soils.* 32, 8-16.
23. Laskowski, R., M., Maryanski, M., Niklinska, 1994. Effect of heavy metals and mineral nutrients on forest litter respiration rate.*Envir on.Pollut.*84, 97-102
24. Lindsay, W.L. 1979. Chemical Equilibria in Soils. John Wiley and Sons, New York.
25. McBride, M.B. 1994. Environmental chemistry of soils. Oxford University Press, New York. 406p
26. Nordgren, A., E., Baath, B.E., Soderstorm, 1988. Evolution of soil respiration characteristics to assess heavy metal effects on soil microorganism using glutamic acid as a substrate. *Soil Biology and Biochemistry.* 20, 949- 954.
27. Renella, G., A.M., Chaudri, P.C., Brookes, 2002. Fresh additions of heavy metals do not model long- term effects on microbial biomass and activity. *Soil biology and Biochemistry.* 34, 121-124.
28. Speir, T.W., H.A., Kettles, H.J., Percival, A., Parshotam, 1999. Is soil acidification the cause of biochemical responses when soils are amended with heavy metal salts. *Soil. Biol. Biochem.* 31, 1953- 1961.
29. Tyler, G., 1975. In proceedings of the 1st international conference on heavy metals in the environment. Toronto, Canada, p. 217-226.
30. Vig, K., M., Megharaj, N., Sethunathan, R., Naidu, 2003. Bioavailability and toxicity of cadmium to microorganisms and their activities in soil (a review). *Advances in Environ. Research.* 8, 121-135.

The effect of heavy metals (Cd and Zn) on microbial respiration in calcareous and non-calcareous soils

N. YazdanPanah* – A. Fotovat – A. Lakzian – Gh.h. Hagniya¹

Abstract

Heavy metals are well known to be toxic to environment particularly agricultural soils when present in excessive concentrations. Microbial activity is one of the soil properties that may be influenced by heavy metals. However little attention has been paid to the impact of heavy metals on soil microbial activity in calcareous soils of Iran. The aim of this study was to investigate the effect of 0, 150 and 300 ppm of cadmium (Cd) and 0, 750 and 1500 ppm zinc (Zn) on microbial respiration in the presence and absence of glucose in calcareous and non-calcareous soils. Soil respiration was measured for 1, 2, 3, 5, 7, 10, 13, 17, 21, 28, 35, 42 and 49 days. Cd and Zn caused the lag phase during substrate induced respiration (SIR), after lag time, respiration decreased in two soils. Toxic effect of Cd and Zn intensified with increase of metal concentration. Toxicity of Cd on soil respiration, compared to Zn, occurred at lower concentrations. Comparing base respiration (BS) with SIR, it was observed that Cd decreased BS without lag time, whereas Zn stimulated base respiration. Results of this study showed that the toxic effect of Cd and Zn was more pronounced in non-calcareous soil.

Key words: Microbial Respiration, Glucose Mineralization, Heavy Metals (Cadmium and Zinc)

* corresponding author Email: najmeyazdanpanah@yahoo.com

1- Contribution from College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad