

تأثیر نیکل و کادمیوم ناشی از آلودگی لجن فاضلاب و کمپوست زباله شهری بر میزان تنفس میکروبی و فعالیت آنزیمی خاک

حمید دهقان منشادی^{۱*}، محمد علی بهمنیار^۲، سیده رحیمی آلاشتی^۳

۱- نویسنده مسؤول: دانشجوی کارشناسی ارشد رشته مهندسی علوم خاک دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری (dehghan63m@yahoo.com)

۲و۳- برترتیب دانشیار و دانشجوی کارشناسی ارشد گروه مهندسی علوم خاک، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

تاریخ دریافت: ۸۹/۶/۲۲ تاریخ پذیرش: ۸۹/۱۲/۱۸

چکیده

به منظور بررسی تأثیر نیکل و کادمیوم ناشی از آلودگی لجن فاضلاب و کمپوست زباله شهری بر میزان تنفس میکروبی و فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی خاک، تحقیقی در قالب طرح اسپلینت پلات با طرح پایه بلوک کامل تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۸۷، اجرا گردید. فاکتور اصلی کودهای آلی (لجن فاضلاب و کمپوست زباله شهری) در سه سطح (صفر، ۲۰ و ۴۰ تن در هکتار) و فاکتور فرعی سال‌های مصرف کود در سه سطح (سال‌های ۸۵، ۸۶ و ۸۷) بوده است. نتایج نشان داد که کاربرد لجن فاضلاب و کمپوست زباله شهری در تیمارهای مختلف بر میزان غلظت فلزات سنگین و فاکتورهای بیولوژیکی تأثیر معنی‌داری داشت. مصرف سه سال مستمر ۴۰ تن لجن فاضلاب در هکتار موجب افزایش تجمع میزان نیکل و کادمیوم کل و قابل جذب خاک گردید که کاهش فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی خاک و افزایش تنفس کربنی خاک را به دنبال داشت؛ غلظت نیکل و کادمیوم کل و قابل جذب خاک همبستگی مثبت و معنی‌داری ($P < 0.05$) با میزان تنفس میکروبی خاک و همبستگی منفی و معنی‌داری با فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی نشان داد، بنابراین کاربرد طولانی مدت لجن فاضلاب و کمپوست زباله شهری علاوه بر تجمع فلزات سنگین در خاک می‌تواند کاهش فعالیت آنزیمی و افزایش تنفس میکروبی خاک را در پی داشته باشد.

کلید واژه ها: لجن فاضلاب، کمپوست زباله شهری، فلزات سنگین، تنفس میکروبی، فسفاتاز اسیدی، فسفاتاز قلیایی.

مقدمه

تأثیر بسزایی دارد (۲۴). با کاربرد کادمیوم میزان تغییر جمعیت میکروبی و فعالیت آنزیمی به دلیل افزایش متابولیسم میکروبی افزایش می‌یابد (۱۸). برخی از شاخص‌های میکروبی خاک از جمله زیئوده میکروبی، تنفس پایه و فعالیت آنزیمی (۱۱ و ۳۱) به عنوان شاخص‌های کیفی خاک پیشنهاد می‌شوند (۱۱ و ۱۵). زیرا به سادگی قابل اندازه‌گیری و حساس به تغییرات محیطی و مدیریتی خاک هستند (۱۷).

با از بین رفتن بسیاری از اکوسیستم‌های زیستی و کمبود دانش در زمینه جوامع میکروبی خاک، افزایش آگاهی درباره میکروارگانیسم‌های خاک امری ضروری است (۳۳). با شناسایی اثرات منفی فلزات سنگین بر رشد گیاهان و زنجیره غذایی و تأکید بر حاصل‌خیزی خاک، تجدید جوامع میکروبی خاک اهمیت یافته است (۸، ۱۰ و ۳۳). کادمیوم از جمله مضرترین فلزات سنگینی است که در تمام محیط پیرامون موجودات زنده وجود دارد و بر آنها

ناشی از کاربرد لجن فاضلاب و کمپوست زباله شهری بر میزان تنفس میکروبی خاک و فعالیت آنزیمی فسفاتاز قلیایی و اسیدی در خاک در شرایط مزرعه، صورت پذیرفت.

مواد و روش ها

این تحقیق به صورت طرح کرت های خرد شده با طرح پایه بلوک کامل تصادفی با سه تکرار در سال زراعی ۱۳۸۷ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری (عرض جغرافیایی ۳۴ درجه و ۳۳ دقیقه شمالی - طول جغرافیایی ۵۲ درجه و ۶ دقیقه شرقی - ارتفاع از سطح دریا ۱۶ متر) اجرا گردید. فاکتور اصلی لجن فاضلاب و کمپوست زباله شهری، در سه سطح (صفر، ۲۰ و ۴۰ تن در هکتار) و فاکتور فرعی سال های مصرف کود در سه سطح (سال های ۸۵، ۸۵ و ۸۶، ۸۵ الی ۸۷) بوده است. قبل از آماده سازی زمین از خاک، نمونه برداری و میزان pH و هدایت الکتریکی نمونه های خاک با روش های معمول اندازه گیری شد (۲۹). همچنین مقادیر نیکل و کادمیوم قابل جذب خاک، لجن فاضلاب و کمپوست زباله شهری به روش DTPA تعیین شد (۲۵). بعلاوه، مقادیر نیکل و کادمیوم کل خاک، لجن فاضلاب و کمپوست زباله شهری پس از عصاره گیری با اسید کلریدریک و اسید نیتریک با دستگاه جذب اتمیک اندازه گیری شد (۵). برخی خصوصیات شیمیایی خاک، لجن فاضلاب و کمپوست زباله شهری مورد استفاده در جدول ۱ آمده است.

میزان تنفس و زیتوده میکروبی در خاک های آلوده به فلزات سنگین نسبت به خاک های شاهد (بدون لجن فاضلاب و عناصر سنگین) افزایش و ضریب متابولیکی کاهش می یابد (۲۱). کاهش ضریب متابولیکی، بیانگر کاهش جمعیت میکروبی بوده و تغییر جمعیت میکروبی در خاک های آلوده به عناصر سنگین را نشان می دهد (۷ و ۱۴). خان و اسکولین^۱ (۲۰) گزارش نمودند که با افزایش غلظت نیکل، کادمیوم و سرب کل خاک، میزان تنفس میکروبی خاک روند صعودی داشته است. یزدان پناه و همکاران (۲) نیز تأثیر فلزات سنگین کادمیوم و روی بر فرآیند تنفس میکروبی در دو خاک آهکی و غیرآهکی را بررسی و مشاهده کردند که تنفس در خاک آهکی تیمار شده با کادمیوم و روی نسبت به تنفس در تیمارهای مشابه خاک غیرآهکی بیشتر بود. کادمیوم و روی باعث ایجاد فاز تأخیر در تنفس حاصل از سوبسترا شده و تنفس در هر دو خاک آهکی و غیرآهکی با یک روند کاهشی انجام شد. تأثیر منفی کادمیوم بر تنفس بیش از عنصر روی بوده و با افزایش غلظت، اثرات منفی بارزتر شد. غلظت بالای فلزات سنگین خاک می تواند در رشد گیاهان، فعالیت های آنزیمی و زیتوده میکروبی خاک، نسبت به مصرف مقادیر پایین تر روند کاهشی ایجاد کنند (۲۱). فعالیت فسفاتاز نقش اساسی در معدنی شدن فسفر آلی دارد و عموماً این آنزیم وقتی مقدار فسفر قابل دسترس کم باشد فعال می گردد (۲۷).

جلوگیری از فعالیت هیدرولاز در خاک های آلوده به عناصر سنگین و لجن فاضلاب می تواند ناشی از رقابت یونی بین کوفاکتورهای آنزیمی فلزی (۶) یا ناشی از برهمکنش مکان های تحریک کننده فعال آنزیمی و یا سوبسترای آنزیمی باشد (۳)؛ بنابراین، این تحقیق با هدف، مطالعه اثرات نیکل و کادمیوم

جدول ۱- برخی ویژگی‌های شیمیایی خاک، لجن فاضلاب و کمپوست زباله شهری مورد استفاده

کادمیوم قابل جذب	کادمیوم کل	نیکل قابل جذب	نیکل کل	هدایت الکتریکی (دسی زیمنس بر متر)	کربن آلی (درصد)	pH	
۰/۰۴	۱/۰۶	۰/۵۰	۳۸/۳۵	۱/۸۴	۱/۹۰	۷/۸	خاک (۲۰-۲۰ سانتیمتر)
۰/۲۱	۲/۶۲	۶/۲۰	۵۹/۵۱	۲/۵۰	۲۲/۶۳	۷/۴۱	کمپوست زباله شهری
۰/۶۱	۲/۹۸	۶۲/۱۹	۲۱۷/۶۰	۳/۱۰	۲۱/۰۰	۷/۵۰	لجن فاضلاب

۷ روزه (۵ بار برداشت NaOH)، ۱۴ روزه (۳ بار برداشت NaOH) و ۲۱ روزه (۱ بار برداشت NaOH)، درون ظروف برداشته شد و با HCl ۰/۲۵ نرمال تیتراسیون انجام شد. با محاسبه اختلاف حجم اسید مصرفی برای نمونه شاهد و خاک در تیتراسیون، مقدار CO₂ تولید شده تعیین شد و بر حسب میلی گرم C- CO₂ آزاد شده بر کیلوگرم خاک بر روز محاسبه گردید (۴). کربن آلی خاک به روش اکسیداسیون تر اندازه گیری شد (۹). در پایان، داده‌های حاصل با استفاده از نرم افزار آماری SPSS و MSTATC تجزیه و تحلیل و اختلاف بین میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح $P \leq 0.05$ محاسبه گردید.

نتایج و بحث

نیکل و کادمیوم

جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که سطوح تیمارهای کودی مذکور، سال‌های مصرف و اثر متقابل بین این دو فاکتور بر میزان نیکل کل، نیکل قابل جذب، کادمیوم کل و کادمیوم قابل جذب خاک در سطح ۱ درصد معنی دار شد بجز اثر متقابل دو فاکتور که در سطح ۵ درصد معنی دار شد. بالاترین غلظت نیکل کل خاک (۵۵/۴۳ میلی‌گرم

پس از اعمال تیمارهای کود زیستی، قبل از کشت گیاه، به مقدار لازم از عمق ۲۰-۰ سانتی-متری خاک نمونه برداشته شد و پس از هوا خشک شدن و عبور از الک دو میلی‌متری، حدود یک گرم از آن خاک برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی مورد استفاده قرار گرفت. برای این منظور، نمونه‌ها پس از اضافه کردن یک میلی لیتر محلول پارانیتروفنیل سدیم فسفات به عنوان سوبسترا، در حضور تامپون MUB (Modified Universal Bafer) (pH=۱۱) برای فسفاتاز قلیایی و pH=۶/۵ برای فسفاتاز اسیدی، برای مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری گردیدند. آن گاه یک میلی لیتر CaCl₂ نیم مولار و ۴ میلی لیتر NaOH نیم مولار به آن اضافه و پس از عصاره‌گیری، میزان جذب نوری در ۴۰۰ نانومتر با اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد. پس از کالیبراسیون نتایج بر حسب میزان P- نیتروفنیل ($\mu\text{g PNP gr}^{-1}\text{soil h}^{-1}$) گزارش گردید (۱۲). برای اندازه‌گیری تنفس میکروبی مقدار ۵۰ گرم خاک عبور کرده از الک دو میلی‌متری را به رطوبت ۶۰ درصد ظرفیت زراعی رسانده و در مجاورت ۱۰ سی‌سی NaOH ۰/۲۵ نرمال در دمای ۲۵ درجه در ظروف کاملاً بسته نگهداری شد. پس از یک مدت معین (۱ روزه (۱ بار برداشت NaOH)،

بیشترین میزان کربن آلی (۳/۳۵ درصد) در تیمار ۴۰ تن کمپوست زباله شهری در هکتار به مدت سه سال متوالی حاصل شد، ضمناً بیشترین میزان تنفس میکروبی (۱۸/۷۷ میلی گرم در کیلوگرم) نیز در تیمار ۴۰ تن کمپوست زباله شهری در هکتار به مدت سه سال متوالی حاصل شد و حداکثر فعالیت آنزیمی فسفاتاز قلیایی (۱۵/۴۰ میکروگرم پارا نیتروفنل) و فسفاتاز اسیدی (۱۱/۵۱ میکروگرم پارا نیتروفنل) در تیمار ۲۰ تن کمپوست زباله شهری در هکتار به مدت سه سال متوالی مشاهده شد (جدول ۳) و همچنین، کمترین میزان پارامترهای مذکور نیز مربوط به تیمار شاهد بود که به استثنا فاکتور تنفس میکروبی در کلیه فاکتورها با شاهد اختلاف معنی-داری مشاهده شد.

در کلیه تیمارها افزایش میزان فاکتورها نسبت به تیمار شاهد، می تواند به دلیل افزایش میزان ماده آلی خاک و وجود عناصر تغذیه‌ای در آن باشد که موجب افزایش فعالیت و جمعیت میکرواورگانیزمها گردیده است (۱۷ و ۲۸).

در کیلوگرم)، نیکل قابل جذب (۴/۶۲ میلی گرم در کیلوگرم)، کادمیوم کل خاک (۲/۷۶ میلی گرم در کیلوگرم)، کادمیوم قابل جذب (۰/۲۷ میلی گرم در کیلوگرم) خاک مربوط به مصرف سه ساله لجن فاضلاب ۴۰ تن در هکتار است (جدول ۳). بررسی آثار تجمعی کمپوست زباله شهری حاکی از آن است که با افزایش سطح کود آلی از ۲۰ به ۴۰ تن در هکتار، میزان عناصر سنگین خاک افزایش معنی-داری را نشان نداد؛ ولی در مورد لجن فاضلاب افزایش سطح از ۲۰ به ۴۰ تن در هکتار، معنی دار شد (جدول ۳). نتایج مشابهی در مورد اثر باقیمانده و تجمعی لجن فاضلاب بر افزایش مقدار عناصر سنگین کل و قابل جذب خاک توسط محققین دیگر نیز گزارش شده است (۱۴ و ۲۱).

شاخص‌های میکروبی

کاربرد مقادیر مختلف کودهای مصرفی، سال-های مصرف، اثر متقابل کودهای مصرفی و سال-های مصرف بر میزان کربن آلی، تنفس میکروبی و فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی معنی دار شد، اما سال-های مصرف تأثیر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی نداشت (جدول ۲).

جدول ۲- تجزیه واریانس برخی خصوصیات اندازه‌گیری شده

میانگین مربعات									منابع تغییرات
فسفاتاز قلیایی	فسفاتاز اسیدی	تنفس میکروبی	کربن آلی	کادمیوم قابل جذب	کادمیوم کل	نیکل قابل جذب	نیکل کل	درجه آزادی	
۱/۴۷ ^{ns}	۴/۰۰ ^{ns}	۱۲/۴۰ ^{ns}	۰/۰۰۲ ^{ns}	۰/۰۱۲ ^{ns}	۱/۰۰۲ ^{ns}	۱/۱۸۵ ^{ns}	۰/۵۶۱ ^{ns}	۲	تکرار
۶۵/۳۹ ^{**}	۴۶/۰۵ ^{**}	۲۵۹/۹۰ ^{**}	۲/۴۸ ^{**}	۰/۰۳۹ ^{**}	۳/۰۱۱ ^{**}	۱۰/۸۷۰ ^{**}	۹۵/۰۰۴ ^{**}	۴	کود های مصرفی
۲/۲۰	۱/۸۵	۱۱/۹۸	۰/۰۱	۰/۰۰۳	۰/۲۲۹	۰/۶۷۶	۸/۳۱۵	۸	خطای (a)
۲/۳۲ ^{ns}	۵/۱۹ ^{**}	۸۴/۲۴ [*]	۰/۵۱ ^{**}	۰/۰۲۸ ^{**}	۰/۴۳۴ ^{**}	۳/۹۳۱ ^{**}	۱۱۸/۰۷۲ ^{**}	۲	سالهای مصرف
۴/۸۴ ^{**}	۴/۹۳ ^{**}	۶۷/۷۸ [*]	۰/۰۹ ^{**}	۰/۰۰۳ [*]	۰/۱۶۲ ^{**}	۱/۰۵۰ ^{**}	۱۴/۰۴۹ ^{**}	۸	اثر سال * کود های مصرفی
۰/۶۷	۰/۷۳	۶/۰۰۱	۰/۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۳۳	۰/۲۶۵	۳/۸۱۹	۲۰	خطای (b)
۰/۰۲۴	۰/۰۳	۰/۰۰۷	۰/۱۹	۰/۰۰۵	۰/۳۲	۰/۰۰۷	۰/۰۹	-	CV

**، * و ns = به ترتیب معنی دار در سطح ۰.۱٪ و ۰.۵٪ و عدم تفاوت معنی دار

جدول ۳- مقایسه میانگین های اثرات تیمارهای مختلف بر غلظت کل و قابل جذب نیکل و کادمیوم خاک (mg/kg)، کربن آلی، تنفس میکروبی و فعالیت آنزیم های فسفاتاز اسیدی و قلیایی

تیمارها	نیکل کل	نیکل قابل جذب	کادمیوم کل	کادمیوم قابل جذب	کربن آلی (%)	تنفس میکروبی (mg C kg ⁻¹ day ⁻¹)	فسفاتاز اسیدی (µg PNP g ⁻¹ h ⁻¹)	فسفاتاز قلیایی (µl g PNP g ⁻¹ h ⁻¹)	
۱۳۸۵									
B	۴۰/۳۲ ^f	۰/۵۰ ^g	۱/۱۷ ^g	۰/۰۵ ^h	۱/۸۸ ^g	۱/۴۶ ^f	۴/۴۳ ^f	۶/۸۰ ^e	
MSW ₂₀	۴۲/۳۷ ^{ef}	۱/۲۸ ^{efg}	۱/۳۵ ^{fg}	۰/۰۹ ^{fg}	۲/۴۹ ^{bcd}	۹/۱۵ ^{bcd}	۷/۷۸ ^{cde}	۱۱/۸۵ ^{bcd}	
MSW ₄₀	۴۴/۶۵ ^{def}	۱/۲۱ ^{efg}	۲/۱۴ ^{cd}	۰/۱۲ ^{efg}	۲/۸۱ ^{cde}	۱۰/۹۸ ^{bc}	۱۱/۲۶ ^a	۱۳/۲۸ ^b	
SS ₂₀	۴۷/۱۲ ^{cd}	۱/۶۰ ^{de}	۱/۶۴ ^{ef}	۰/۱۷ ^{cde}	۲/۳۹ ^f	۴/۳۷ ^{ef}	۷/۴۷ ^{de}	۱۱/۳۹ ^{cd}	
SS ₄₀	۴۶/۴۱ ^{cd}	۱/۸۶ ^{de}	۲/۵۲ ^{ab}	۰/۱۸ ^{bcd}	۲/۷۵ ^{de}	۹/۸۷ ^{bcd}	۶/۶۷ ^e	۱۰/۴۳ ^d	
۱۳۸۶ و ۱۳۸۵									
B	۴۰/۹۸ ^f	۰/۴۸ ^g	۱/۲۶ ^g	۰/۰۶ ^h	۱/۸۶ ^g	۱/۳۲ ^f	۵/۱۴ ^f	۶/۳۳ ^e	
MSW ₂₀	۴۶/۵۹ ^{cd}	۱/۵۲ ^{def}	۲/۰۲ ^d	۰/۱۳ ^{def}	۳/۰۷ ^{bc}	۱۰/۰۶ ^{bc}	۹/۴۹ ^b	۱۲/۵۸ ^{bc}	
MSW ₄₀	۴۴/۸۲ ^{de}	۱/۲۲ ^{efg}	۲/۴۱ ^{bc}	۰/۱۷ ^{d-f}	۳/۲۱ ^{ab}	۱۲/۸ ^b	۱۱/۲۱ ^a	۱۱/۹۹ ^{bc}	
SS ₂₀	۴۶/۱۶ ^{cd}	۲/۳۷ ^{cd}	۲/۲۰ ^{cd}	۰/۲۱ ^{abc}	۳/۰۷ ^{bc}	۵/۲۱ ^{def}	۸/۳۵ ^{bcd}	۱۲/۶۰ ^{bc}	
SS ₄₀	۴۹/۳۹ ^{bc}	۳/۶۲ ^b	۲/۶۷ ^{ab}	۰/۲۵ ^a	۳/۱۰ ^{bc}	۵/۶۱ ^{cde}	۸/۱۴ ^{b-e}	۱۱/۷۸ ^{bcd}	
۱۳۸۵-۱۳۸۷									
B	۴۹/۴۰ ^f	۰/۴۹ ^g	۱/۰۶ ^g	۰/۰۴ ^h	۱/۹۱ ^g	۱/۵۴ ^f	۴/۰۳ ^f	۶/۳۲ ^e	
MSW ₂₀	۵۰/۸۲ ^b	۱/۷۲ ^{de}	۲/۱۴ ^{cd}	۰/۲۳ ^{ab}	۳/۰۵ ^{bc}	۱۱/۱۳ ^{bc}	۱۱/۵۱ ^a	۱۵/۴۰ ^a	
MSW ₄₀	۵۱/۳۹ ^b	۱/۴۹ ^{def}	۲/۶۵ ^{ab}	۰/۲۴ ^a	۳/۳۵ ^a	۱۸/۷۷ ^a	۸/۸۷ ^{bcd}	۱۳/۰۳ ^b	
SS ₂₀	۵۳/۷۴ ^a	۳/۲۵ ^{bc}	۲/۶۹ ^a	۰/۲۵ ^a	۲/۵۸ ^{ef}	۷/۵۹ ^{cde}	۹/۴۴ ^b	۱۳/۰۳ ^b	
SS ₄₀	۵۵/۴۳ ^a	۴/۶۲ ^a	۲/۷۶ ^a	۰/۲۷ ^a	۲/۹۷ ^{bcd}	۱۳/۴۳ ^b	۹/۱۸ ^{bc}	۱۱/۳۴ ^{cd}	
CV(%)	۰/۰۹	۰/۰۰۷	۰/۳۲	۰/۰۰۵	۰/۱۹	۰/۰۰۷	۰/۰۳	۰/۰۲۴	

B: شاهد MSW₂₀: ۲۰ تن کمپوست زباله شهری در هکتار MSW₄₀: ۴۰ تن کمپوست زباله شهری در هکتار SS₂₀: ۲۰ تن لجن فاضلاب در هکتار SS₄₀: ۴۰ تن لجن فاضلاب در هکتار در هر ستون اعداد مربوط به هر فاکتور دارای حروف مشابه تفاوت معنی داری در سطح ۰.۰۵٪ براساس آزمون دانکن ندارند.

رابطه بین مقادیر نیکل و کادمیوم و پارامترهای میکروبی

با توجه به جدول ۳ افزایش یا کاهش فلزات سنگین از لحاظ آماری تأثیر زیادی بر میزان تنفس میکروبی خاک نداشت؛ ولی در تیمارهای دو و سه سال کاربرد در سطوح بالای مصرف کودهای آلی نسبت به تیمار شاهد معنی دار شد. همچنین میزان

افزایش تنفس میکروبی خاک با مقدار فلزات سنگین خاک در تیمارهای کمپوست زباله شهری بیش از تیمارهای لجن فاضلاب بود. به عنوان مثال، میزان افزایش از یک به سه سال کاربرد در تیمار ۴۰ تن کمپوست زباله شهری ۷۰/۹۴٪ و در تیمار ۴۰ تن لجن فاضلاب ۳۶/۰۶٪ می باشد که می تواند به دلیل حضور کربن آلی بیشتر در تیمارهای کمپوست زباله

شهری نسبت به لجن فاضلاب باشد. بعلاوه، می‌تواند به دلیل وجود مقادیر بالاتر فلزات سنگین در تیمارهای لجن فاضلاب نیز باشد. قربانی و همکاران (۱) در بررسی تنفس میکروبی در برابر افزایش غلظت عناصر سنگین در شرایط آزمایشگاهی به این نتیجه رسیدند که غلظت پایین و در حد متعارف عناصر سنگین تأثیری بر تنفس خاک نخواهد داشت و فقط در غلظت‌های بالای عناصر سنگین مقدار تنفس خاک کاهش نشان می‌دهد که می‌تواند به دلیل تأثیر منفی غلظت‌های بالا بر روی جمعیت میکروبی خاک بوده و تنفس میکروبی خاک را کاهش دهد. نیل و اسپوزیتو^۱ (۲۸) نیز گزارش کردند که لجن فاضلاب مقدار کربن آلی را در خاک افزایش می‌دهد و بطور قابل توجهی سبب کاهش جذب کادمیوم به سطوح خاک می‌شود. تأثیر کربن آلی روی فلزات سنگین از دیدگاه زیست محیطی به دو صورت قابل بحث است. نخست نقش موثر کربن آلی محلول بر رقابت فلزات سنگین و محلول شدن آنها است که سبب حرکت آنها به فاز محلول می‌شوند. و دوم این که کربن آلی محلول می‌تواند اثرات موثری بر خاک پس از کاربرد ماده آلی و گذشت زمان داشته باشد. الگا و همکاران^۲ (۳۰) در پژوهشی که روی خاک‌های آبرفتی کنار رودخانه لیتاواکو که در نزدیکی کارخانه ذوب فلز بود انجام دادند به این نتیجه دست یافتند که با افزایش آلودگی خاک، کاهش چشمگیری در تنفس خاک به وجود آمد که با نتایج بدست آمده از جدول ۳ مغایرت دارد که می‌توان گفت آلودگی به میزانی نبوده است که بتواند اختلال زیادی در این فاکتور ایجاد کند.

همان گونه که در جدول ۳ مشاهده می‌شود در سطوح بالای لجن فاضلاب که از غلظت عناصر سنگین بیشتری برخوردار می‌باشد و میزان فعالیت

آنزیمی کمتری در این تیمارها مشاهده می‌شود به طوری که بیشترین میزان نیکل (۵۵/۴۳ میلی‌گرم در کیلوگرم) و کادمیوم (۲/۷۶ میلی‌گرم در کیلوگرم) در تیمارهای لجن فاضلاب ۴۰ تن در هکتار با سه سال کاربرد مشاهده شد. ولی کمترین میزان فعالیت آنزیمی فسفاتاز اسیدی (۶/۶۷ میکروگرم پارا-نیتروفنل آزاد شده از یک گرم خاک در مدت یک ساعت) و قلیایی (۱۰/۴۳ میکروگرم پارا-نیتروفنل آزاد شده از یک گرم خاک در مدت یک ساعت) بعد از تیمار شاهد در تیمار ۴۰ تن لجن فاضلاب مشاهده شد که می‌تواند به دلیل وجود فلزات سنگین در لجن فاضلاب باشد. با افزایش سال‌های کاربرد در میزان فعالیت آنزیمی، روند افزایشی مشاهده شد (جدول ۳). با افزایش سطوح کودی در هر دوره کاربرد، میزان فعالیت هر دو آنزیم فسفاتاز روند کاهشی دارد که این میزان کاهش در تیمار سه سال کاربرد کمپوست زباله شهری برای آنزیم فسفاتاز اسیدی ۲۹/۷۶٪ و برای آنزیم فسفاتاز قلیایی ۱۸/۱۸٪ و در تیمار لجن فاضلاب برای آنزیم فسفاتاز اسیدی ۲/۸۳٪ و برای آنزیم فسفاتاز قلیایی ۱۴/۹۰٪ مشاهده شد بجز در کاربرد یک ساله کمپوست زباله شهری که روند افزایشی در میزان هر دو آنزیم فسفاتاز دیده شد (جدول ۳)؛ زیرا این عناصر می‌توانند از طریق تغییر شکل و اختلال در ایجاد کمپلکس آنزیم - سوبسترا، تغییر شکل پروتئین آنزیمی و تأثیر بر ساخت آنزیم در درون موجود زنده، موجب کاهش فعالیت آنزیم‌های خاک شوند. همچنین در تیمار کمپوست زباله شهری نیز با افزایش سطوح کودی میزان فعالیت این دو آنزیم کاهش یافته، که می‌تواند به دلیل افزایش فلزات سنگین باشد. در این حالت کادمیوم و نیکل به جایگاه فعال آنزیم فسفاتاز قلیایی و اسیدی متصل شده و فعالیت و متابولیسم این آنزیم‌ها را مختل نموده (۷) و تنوع و فعالیت میکروبی خاک را کاهش دهد (۲۰، ۲۲ و ۲۶). فلزات سنگین با تشکیل

خاک افزایش و یا کاهش نشان داد (۱۳ و ۱۸)، که کادمیوم کل و قابل جذب بیشترین همبستگی مثبت را با کربن آلی و سپس با تنفس میکروبی خاک نشان دادند (جدول ۴). نیکل کل همبستگی منفی و معنی داری در سطح ۱ درصد با آنزیم فسفاتاز اسیدی و قلیایی نشان داد. بین نیکل قابل جذب خاک و آنزیم فسفاتاز اسیدی همبستگی معنی داری مشاهده نشد اما با آنزیم فسفاتاز قلیایی در سطح ۱ درصد همبستگی منفی و معنی داری مشاهده گردید. کادمیوم کل و قابل جذب خاک با هر دو آنزیم فسفاتاز اسیدی و قلیایی همبستگی منفی و معنی داری در سطح ۱ درصد نشان دادند. بیشترین میزان همبستگی ($r = -0.51$) بین آنزیم فسفاتاز اسیدی و کادمیوم و بالاترین میزان همبستگی ($r = -0.56$) بین آنزیم فسفاتاز قلیایی و نیکل کل خاک مشاهده شد (جدول ۴). تعدادی از محققان فرناندس (۱۴)، خان و اسکالین (۲۰) نیز کاهش فعالیت آنزیمی را در نتیجه افزایش غلظت عناصر سنگین را گزارش کردند. همبستگی‌های مثبت می‌تواند نتیجه اثرات مثبت کودهای آلی در افزایش میزان ماده آلی خاک و عناصر تغذیه‌ای باشد (۱۷ و ۲۸) و نتایج همبستگی‌های منفی نیز اثرات منفی فلزات سنگین را بر فعالیت میکروبی خاک نشان می‌دهد (۲۰ و ۳۲).

کمپلکس و یا از بین بردن میکروارگانیسم‌های خاکی، کاهش فعالیت میکروبی خاک را در پی دارد (۲۲). خاک‌های آلوده با عناصر کمیاب و فلزات سنگین بدلائل، کاهش زیتوده خاک و فعالیت میکروبی (۱۶ و ۲۳)، بازدارندگی فعالیت آنزیم هیدرولاز در چرخه عناصر غذایی (۳۲) می‌تواند یک تهدید جدی برای اکوسیستم و محیط رشد گیاهان باشد و فعالیت موجودات زنده خاک را کاهش دهد.

همبستگی بین نیکل و کادمیوم و پارامترهای میکروبی

نیکل و کادمیوم کل و قابل جذب همبستگی مثبت و معنی داری در سطح ۱ درصد با کربن آلی نشان داد. به عبارت دیگر افزایش میزان کربن آلی خاک با افزایش مقدار عناصر نیکل و کادمیوم رابطه مستقیم دارد (جدول ۴). فاکتور تنفس میکروبی خاک با نیکل قابل جذب همبستگی معنی داری نشان نداد. پژوهشگران گزارش نمودند که بین فلزات سنگین و تنفس میکروبی همبستگی معنی داری وجود ندارد. در حالی که تنفس میکروبی خاک با نیکل کل در سطح ۵ درصد، و با کادمیوم کل و قابل جذب در سطح ۱ درصد همبستگی مثبت و معنی دار نشان داد (۳۴). خان و اسکالین (۱۹) گزارش نمودند همبستگی مثبت و معنی داری بین غلظت قابل عصاره‌گیری فلزات سنگین با تنفس میکروبی وجود دارد. بنابراین با افزایش و یا کاهش غلظت عناصر سنگین خاک، میزان تنفس میکروبی

جدول ۴- ضرایب هم بستگی پیرسون بین صفات مورد مطالعه (n=۴۵)

خصوصیات خاک	کربن آلی	تنفس میکروبی	آنزیم فسفاتاز اسیدی	آنزیم فسفاتاز قلیایی
نیکل کل	+۰/۴۵**	+۰/۳۲*	-۰/۴۹**	-۰/۵۶**
نیکل قابل جذب	+۰/۴۹**	۰/۱۸ ^{ns}	۰/۲۵ ^{ns}	-۰/۵۵**
کادمیوم کل	+۰/۷۳**	+۰/۵۲**	-۰/۵۱**	-۰/۴۹**
کادمیوم قابل جذب	+۰/۵۹**	+۰/۴۲**	-۰/۴۳**	-۰/۵۱**

**، * و ns = به ترتیب معنی دار در سطح ۱٪، ۵٪ و عدم تفاوت معنی دار

نتیجه‌گیری

کاربرد مقادیر مختلف لجن فاضلاب و کمپوست زباله شهری موجب افزایش میزان غلظت Ni و Cd خاک، کربن آلی، تنفس میکروبی و فعالیت آنزیم های فسفاتاز اسیدی و قلیایی نسبت به تیمار شاهد گردید؛ ولی با افزایش سطوح کاربرد میزان فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی و قلیایی روند کاهشی و با افزایش سال‌های کاربرد روند افزایشی نشان داد. بیشترین میزان غلظت نیکل و کادمیوم کل و قابل جذب در تیمار مصرف سه سال مستمر ۴۰ تن لجن فاضلاب در هکتار اتفاق افتاد. بعلاوه، با افزایش میزان نیکل کل و قابل جذب خاک، مقدار فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز قلیایی و فسفاتاز اسیدی به طور معنی‌داری کاهش یافت، بنابراین با توجه به اثرات منفی فلزات سنگین بر فعالیت آنزیمی، کمترین مقدار فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی، بعد

از تیمار شاهد، در تیمارهایی که بیشترین میزان لجن فاضلاب را در یک سال دریافت داشتند، مشاهده شد و بیشترین مقدار تنفس میکروبی در بیشترین میزان مصرف (۴۰ تن) کمپوست در هکتار با سه سال کاربرد مشاهده شد؛ همچنین بین میزان تنفس میکروبی خاک با غلظت نیکل و کادمیوم کل و قابل جذب همبستگی مثبت و معنی‌دار اما بین فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی و قلیایی با فلزات سنگین مذکور همبستگی منفی و معنی‌داری مشاهده شد. بنابراین با عنایت به این که بالاترین میزان فعالیت میکروبی و شاخص‌های کیفیت خاک در سطوح پایین مصرف (تیمارهای ۲۰ تن در هکتار) با سه سال کاربرد، مشاهده گردید، مصرف کودهای آلی با مقادیر کم در مدت نسبتاً طولانی قابل توصیه می‌باشد.

منابع

۱. قربانی ف، یونسی ح. ۱۳۸۷. جذب زیستی یون های کادمیم از محلول های آبی با استفاده از بیومس ساکارومایسس سرویسیه، فصلنامه آب و فاضلاب اصفهان، شماره ۶۸، ۱۶۱ ص.
۲. یزدان پناه، ن. ۱۳۸۴. تاثیر فلزات سنگین روی و کادمیم بر فرآیند تنفس میکروبی در دو خاک آهکی و غیرآهکی. ۱۳۸۴. پایان نامه کارشناسی ارشد رشته خاکشناسی. دانشکده کشاورزی. دانشگاه فردوسی مشهد، ۱۱۴ ص.
3. Acosta-Martinez, V., and Tabatabai, M.A. 2001. Arylamidase activity in soil: effect of trace elements and relationships to soil properties and activities of amidohydrolases. *Soil Biology and Biochemistry*, 33, 17–23.
4. Alef, K., and Nannipieri, P. (eds). 1995. *Methods in soil microbiology and biochemistry*. Academic, London, pp: 232–233.
5. Baker, D.E., and Amacher, M.C. 1982. Nickel, copper, zinc and cadmium. In *Methods of soil analysis*, eds. Page, A.L., Miller R.H., and Keeney, D.R., pp: 323–336.

6. Blum, U., and Schwedt, G. 1998. Inhibition behaviour of acid phosphatase, phosphodiesterase I and adenosine deaminase as a tool analysis and speciation. *Analytica Chimica Acta*, 360: 101–108.
7. Brookes, P.C. 1995. The use of microbial parameters in monitoring soil pollution by heavy metals. *Biology and Fertility of Soils*, 19: 269–279.
8. Brun, L.A., Maillet, J., and Hinsinger, Pepin, P.M. 2001. Evaluation of copper availability to plants in copper-contaminated vineyard soils. *Environmental Pollution*, 111: 293–302.
9. Chapman, H.D., and Praff, P.F. 1961. *Methods of analysis for soil, plant and water*. University of California. Division of Agricultural Science, 29: 142-149.
10. Cornelia, L., and Franz, R. 2004. Evaluation of heavy metal tolerance in *Calamagrostis epigejos* and *Elymus repens* revealed copper tolerance in a copper smelter population of *C. epigejos*. *Environmental and Experimental Botany*, 51 (3), 199–213.
11. Doran, J.W., and Parkin, T.B. 1994. Defining and assessing soil quality. In: Doran, J.W., Coleman, D.C., Bezdicek, D.F., Stewart, B.A. (eds.), *Defining Soil Quality for a Sustainable Environment*. Soil Science Society of America, Madison, WI, pp: 3–21.
12. Eivazi, F., and Tabatabai M.A. 1977. Phosphates in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 9: 167-172.
13. Elsgaard, L., Petersen, S.O., and Debosz, K. 2001. Effects and risk assessment of linear alkylbenzene sulfonates in agricultural soil. 1. Short-term effects on soil microbiology. *Environmental Toxicology & Chemistry*, 20 (8): 1656–1663.
14. Fernandes, S.A.P., Bettiol, W., and Cerri, C.C. 2005. Effect of sewage sludge on microbial biomass, basal respiration, metabolic quotient and soil enzymatic activity. *Application Soil Ecology*, 30: 65–77.
15. Filip, Z. 2002. International approach to assessing soil quality by ecologically related biological parameters. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 88 (2): 169–174.
16. Giller, K.E., Witter, E., and McGrath, S.P. 1998. Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soils: a review. *Soil Biology and Biochemistry*, 30: 1389–1414.
17. Jimenez, M., Horra, A.M., Pruzzo, L., and Palma, R.M. 2002. Soil quality: a new index based on microbiological and biochemical parameters. *Biology and Fertility of Soils*, 35: 302– 306.
18. Junior, E.F.F., Melo, W.J., Mouta, E.R., Guedes, A.C.T.P., and Melo, G.M.P. 2007. Enzyme activities in a cadmium-contaminated sewage sludge. *Geophysical Research Abstracts*, 9.

19. Khan, M., and Scullion, J. 2000 .Effect of soil on microbial responses to metal contamination. *Environmental Pollution*, 110: 115-125.
20. Khan, M., and Scullion, J. 2002. Effect of metal (Cd, Cu, Ni, Pb or Zn) enrichment of sewage-sludge on soil micro-organisms and their activities. *Application Soil Ecology*, 20: 145–155.
21. Kumpiene, J., Guerri, G., Landi, L., Pietramellara, G., Nannipieri, P., and Renella G. 2009. Microbial biomass, respiration and enzyme activities after in situ aided phytostabilization of a Pb and Cu-contaminated soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72: 115–119.
22. Landi, L., Renella, G., Moreno, J.L., Falchini, L., and Nannipieri, P. 2000. Influence of cadmium on the metabolic quotient, L-D-glutamic acid respiration ratio and enzyme activity, microbial biomass ratio under laboratory conditions. *Biology and Fertility of Soils*, 32: 8–16.
23. Lasat, M.M. 2002. Phytoextraction of toxic metals: a review of biological mechanisms. *Journal of Environmental Quality*, 31: 109–120.
24. Liao, M., Luo, Y.K., Zhao, X.M., and Huang, C.Y. 2005. Toxicity of cadmium to soil microbial biomass and its activity: Effect of incubation time on cadmium ecological dose in a paddy soil. *Journal of Zhejiang University Science*, 6B: 324-330.
25. Lindsay, W.L., and Norvell, W.A. 1978. Development of a DTPA test for Zinc, Iron, manganese and copper. *Soil Science Society of American Journal*, 42: 421- 428.
26. McGrath, S.P., Zhao, F.J., and Lombi, E. 2001. Plant and rhizosphere processes involved in phytoremediation of metal-contaminated soils. *Plant Soil*, 232: 207–214.
27. Nannipieri, P., Pedrazzini, F., Arcara, P.G., and Piovaneli, C. 1979. Changes in amino acids, enzyme activities, and biomass during soil microbial growth. *Soil Science*, 127: 26–34.
28. Neil, R.H., and Sposito, G. 1986. Effect of soluble organic matter and sludge amendment on cadmium sorption by soils at low cadmium concentration. *Soil Science*, 142: 164-172.
29. Nelson, D.W., and sommers, L.P. 1986. Total carbon, organic carbon and organic matter. In : Page, A.L. Ed. *Methods of Analysis*. American Society of Agronomy, 2: 539-579.
30. Olga, M., Jaromir, K., and Jitka, N. 2002. Some microbiological characteristics and enzymatic activities in soil polluted with heavy metals. 17 th WCSS, Ban Kook Thailand, 792: 1-7.
31. Sparling, G.P. 1997. Soil microbial biomass, activity and nutrient cycling as indicators of soil health. In: Pankhurst, C.E., Doube, B.M., Gupta, V.S.R. (Eds.), *Biological Indicators of Soil Health*. CAB International, Wallingford, UK, pp: 97–119.

32. Tyler, G., Balsberg-Pahlsson, A.M., Bengtsson, G., Baath, E., and Tranvik, L. 1998. Heavy-metal ecology of terrestrial plants, microorganisms and invertebrates: a review. *Water Air Soil Pollution*, 47: 189–215.
33. Yao, H.Y., Xu, J.M., and Huang, C.Y. 2003. Substrate utilization pattern, biomass and activity of microbial communities in a sequence of heavy metal-polluted paddy soils. *Geoderma*, 115: 139–148.
34. Yan, Z., Hui-Wen, Z., Zhen-Cheng, S., and Cheng-Gang, Z. 2008. Soil Microbial Characteristics Under Long-Term Heavy Metal Stress: A Case Study in Zhangshi Wastewater Irrigation Area, Shenyang. *Pedosphere*, 18(1): 1–10.