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

نجمه یزدان‌پناه - امیر فتوت - امیر لکزیان - غلامحسین حق‌نیا[1]

تاریخ دریافت: ۸۵/۸/۲

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 خاك را آلوده کنند. آلودگی حاصل از فلزات بر ریزجانداران خاك 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 خاك و ۰، ۷۵۰ و ۱۵۰۰ میکروگرم روی در گرم خاك بر فرآیند تنفس میکروبی در حضور و عدم حضور گلوکز (۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم در گرم خاك) در دو خاك 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 کاملا تصادفی اندازه گیری شد. نتایج به دست آمده نشان داد که تنفس در خاك آهکی تیمار شده با کادمیم و روی نسبت به تنفس در تیمارهای مشابه خاك 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 خاك آهکی و غیرآهکی با یک روند کاهشی انجام شد. تاثیر 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 خاك شده و آن را آلوده کند. فلزات سنگین در خاك علاوه بر ایجاد سمیت برای گیاهان، بر ریزجانداران خاك تاثیر داشته و باعث اختلال در فعالیت آن ها می شوند (۱۲). از آنجا که ریزجانداران خاك به سرعت به این عوامل تنش زا پاسخ می دهند و فرآیندهای میکروبیولوژیکی خاك به صورت غیرمستقیم تحت تاثیر اثرات زیانبار فلزات سنگین قرار می گیرد، می توان از فعالیتهای میکروبی به عنوان شاخص تعیین آلودگی خاك به فلزات سنگین استفاده کرد. تنفس یکی از مهمترین فرآیندهای بیولوژیکی خاك است که توسط ریزجانداران خاك صورت می گیرد (۲۲).

تنفس ریزجانداران خاك 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 خاك فرآیندی انرژی زاست که در طی آن ترکیبات آلی با مبادله جفت الکترون ها، اکسایش یافته و دی اکسیدکربن متصاعد می شود. به عبارت ساده تر تنفس خاك با جذب اکسیژن و آزادسازی دی اکسیدکربن توسط سلول های باکتری ها، قارچ ها، آلگ ها و پروتزئرهای خاك 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 خاك تاثیر دارد. به عنوان مثال در تابستان به دلیل دمای بالا و تجزیه موادآلی سرعت تنفس ۱۰ برابر بیشتر از سرعت تنفس در زمستان است (۱۹). در شرایط آزمایشگاه علاوه بر تنفس پایه و طبیعی خاك می توان با افزودن سوبسترا به خاك

۱- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد خاکشناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، استادیاران گروه خاکشناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، استاد گروه خاکشناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

تنفس حاصل از سوبسترا[1] (SIR) را اندازه گیری کرد و از آنجا که تنفس خاك، همان معدنی شدن کربن آلی خاك است بهترین شاخص برای سنجش فعالیت ریز جانداران تجزیه کننده مواد آلی می باشد (۳۰). به نظر می رسد به همین دلیل نیز تنفس خاك بیشترین تعداد موارد مطالعه در رابطه با اثر سمیت فلزات سنگین بر فعالیت میکروبی خاك را به خود اختصاص داده است.

فلزات سنگین از طریق تشکیل کمپلکس با سوبسترا قابلیت فراهمی آن را کاهش داده و یا اینکه ریز جانداران 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 خاك) باعث کاهش تنفس در خاك لوم شنی اسیدی شد (۱۷)، درحالی که در برخی از مطالعات تاثیر کاهشی تنفس در غلظت های خیلی زیاد کادمیم (۱۲۰۰۰ میکروگرم در گرم خاك) دیده شده است (۴). این تفاوتها می تواند به چند دلیل باشد: نوع خاك، بگونه ای که در یک خاك شنی (pH =۰/۷، موادآلی ۱/۶٪) ۱۵۰ میکروگرم کادمیم در گرم خاك و در یک خاك پیت شنی (pH =۴/۴، موادآلی ۲/۸٪) ۴۰۰ میکروگرم کادمیم در گرم خاك باعث ۹٪ کاهش در آزادسازی دی اکسیدکربن شدند (۱۴). اثر متقابل یونها، به عنوان مثال کادمیم در خاك های جنگلی که حاوی کلسیم، منیزیم وپتاسیم بالایی بود، حلالیت آن افزایش و در نتیجه اثر سمیت آن بر تنفس نیز افزایش یافت (۲۱). فرم فلز اضافه شده به خاك، خان و فرانکلند[2] (۲۰)گزارش کردند که در یک خاك لوم شنی آلوده به ۱۰۰ میکروگرم کادمیم در گرم، کادمیم افزوده شده به شکل غیرمحلول کربنات و اکسید اثر سمیت کمتری نسبت به شکل سولفات وکلرید بر فرآیند تجزیه سلولز داشت. هاتوری[3] (۱۸) همبستگی منفی بین میزان کربن معدنی شده و غلظت کادمیم قابل استخراج با آب به دست آورد. درحالیکه مطالعه دیگری اثر سمیت ۱۰۰۰ میکروگرم کادمیم در گرم خاك جنگلی به شکل های کلرید و اکسید را یکسان گزارش کرد (۱۵). نوع سوبسترا، 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[4] (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[5] وهمکاران (۲) متوجه افزایش سرعت تنفس در خاك های آلوده به سرب شدند. محققین دیگری افزایش سرعت معدنی شدن کربن را در خاك 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 خاك 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 وکادمیم با غلظت های مختلف بر تنفس میکروبی دو خاك آهکی و غیرآهکی بود.

مواد و روش

برای انجام این آزمایش دو خاك آهکی و غیر آهکی انتخاب و پس از نمونه برداری از عمق ۳۰-۰ سانتیمتری از دو خاك، بخشی از نمونه ها، برای آماده سازی جهت تجزیه، هوا خشک و از الک ۲ میلی متری عبور داده شد. اطلاعات مربوط به تجزیه خاك ها در جدول ۱ بیان شده است. بخش دیگر خاك جهت اعمال تیمارهای تنفس در محیط تاریک و دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد.

آزمایش اندازه گیری تنفس به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در دو خاك آهکی و غیرآهکی، ۲ سطح گلوکز (۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم در گرم خاك خشک)، ۶ سطح فلز سنگین (کادمیم با غلظت ۰، ۱۵۰ و ۳۰۰ میکروگرم در گرم خاك و روی با غلظت ۰، ۷۵۰ و ۱۵۰۰ میکروگرم در گرم خاك) با ۳ تکرار در محیط آزمایشگاه انجام گرفت.

در این مطالعه ابتدا با استفاده از نمک سولفات کادمیم و

1) Substrate Induced Respiration
2) Khan & Frankland
3) Hattori
4) Aceves
5) Ausmus

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

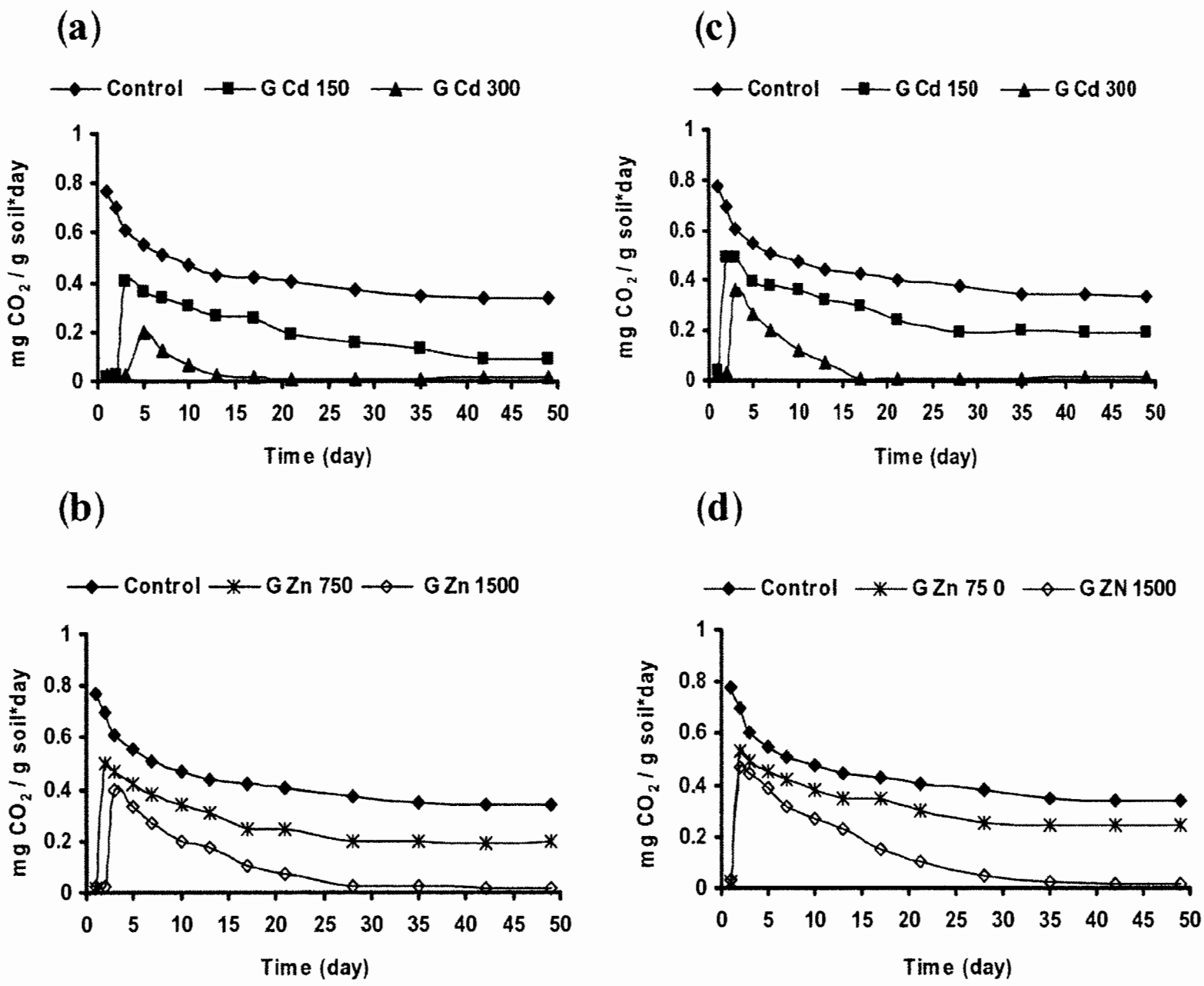
خصوصیت	واحد اندازه‌گیری	خاک آهکی	خاک غیرآهکی
بافت	—	Sandy loam	Sandy loam
رس	%	۱۵/۰	۱۵/۳
pH	—	۷/۸۰	۷/٦٦
EC	$dS\ m^{-1}$	۱/٦۰	۱/۷۲
OM	%	۰/۵	۰/۵
CEC_3	$Cmol_{(+)}\ kg^{-1}$	۱۰/۰	۹/۵
CaCO	%	۲۵	۳
نیتروژن کل	%	۰/۰۷	۰/۰۵
P	$mg\ kg^{-1}$	۸/۵	۷/۰
*K	$mg\ L^{-1}$	۲۰/۷۰	۱۷/۲۱
*Na	$mg\ L^{-1}$	۱٤۵	۱۳۹
*Ca	$mg\ L^{-1}$	۱۵۰	۱٤۲
*Mg	$mg\ L^{-1}$	۲۷۰	۲۵۰

* شکل محلول در عصاره اشباع

سولفات روی، محلول کادمیم و روی با غلظتهای مورد نظر تهیه و توسط افشانه بطور یکنواخت بر روی خاك پاشیده شد. پس از گذشت چند روز که خاك کاملا به حالت تعادل رسید خاك را به دو بخش تقسیم کرده و به یک قسمت از آن ۱۰۰۰ میکروگرم گلوکز در گرم خاك بعنوان منبع غذایی لازم برای فعالیت ریزجانداران خاك اضافه و خاك 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 کاملا 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.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از مطالعه اثر کادمیم با غلظت های ۱۵۰ و ۳۰۰ میکروگرم در گرم خاك بر تنفس در دو خاك آهکی و غیرآهکی نشان داد که در هر دو خاك 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. درخاك غیرآهکی آلوده به کادمیم با غلظت ۱۵۰ و ۳۰۰ میکروگرم در گرم خاك آزادسازی دی اکسیدکربن به ترتیب با ۲ و ۳ روز تاخیر آغاز شد (شکل۱a). در تیمار ۱۵۰ میکروگرم کادمیم در گرم خاك 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 طورکلی پس از ۴۹ روز خواباندن سرعت تنفس در این تیمار نسبت به شاهد ۵۸٪ کاهش داشت. در تیمار ۳۰۰ میکروگرم کادمیم در گرم خاك بیشترین مقدار دی اکسیدکربن آزاد شده در روز سوم بوده که این مقدار در



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

طی زمان با شیب تندی کاهش یافت و درنهایت پس از ۱۳ روز خواباندن، تنفس کاملا متوقف گردید.

در تیمار ۱۵۰ میکروگرم کادمیم در گرم خاك آهکی پس از ۱ روز تاخیر، تنفس شروع شد(شکل۱b) 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 خاك آلوده به کادمیم با غلظت بیشتر (۳۰۰ میکروگرم در گرم خاك) 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 کاملا متوقف شد.

همانگونه که شکل۱ نشان می دهد در هر دو تیمار مدت زمان تاخیر در آزادسازی دی اکسیدکربن در خاك غیرآهکی بیشتر از خاك آهکی بوده و در تیمار ۱۵۰ میکروگرم کادمیم در گرم خاك آهکی نسبت به خاك غیرآهکی مدت زمانی که طول کشید تا سرعت تنفس به میزان ثابت برسد، طولانی تر بود و در تیمار ۳۰۰ میکروگرم کادمیم در گرم خاك غیرآهکی تولید دی اکسیدکربن سریعتر از خاك آهکی متوقف شد.

نتایج حاصل از تاثیر روی با غلظت های ۷۵۰ و ۱۵۰۰ میکروگرم در گرم خاك نشان داد که در خاك غیرآهکی آلوده به روی با غلظت ۷۵۰ میکروگرم در گرم خاك پس از تاخیر یک روزه، بیشترین میزان دی اکسیدکربن آزاد شد و بتدریج سرعت تنفس کاهش یافت (شکل۱c)، 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

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

درتیمارهای ۷۵۰ و ۱۵۰۰ میکروگرم روی در گرم خاك آهکی، همانند خاك غیرآهکی تنفس حاصل از سوبسترا (SIR) با تاخیر آغاز شد (شکل ۱d). در تیمار روی با غلظت ۷۵۰ میکروگرم در گرم خاك، 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 خاك در روز دوم بیشترین مقدار دی اکسیدکربن تولید شد و با گذشت زمان سرعت تنفس کاهش یافت تا اینکه پس از ۲۸ روز تنفس کاملا متوقف شد. مقایسه تاثیر روی در دو خاك آهکی و غیرآهکی (شکل ۱) نشان داد که سرعت تنفس حاصل از سوبسترا در تیمار روی با غلظت ۷۵۰ میکروگرم در گرم خاك غیرآهکی نسبت به خاك آهکی زودتر به میزان ثابت رسید و در خاك غیرآهکی در تیمار ۱۵۰۰ میکروگرم روی در گرم خاك نسبت به تیمار مشابه در خاك آهکی، تنفس سریعتر متوقف شد.

بررسی منابع نشان داد مطالعات کمی در زمینه تاثیر فلزات سنگین بر تنفس در خاك آهکی انجام شده درحالیکه تاثیر pH بر خصوصیات میکروبی خاکهای آلوده به فلزات، بیشتر مورد بررسی قرار گرفته است. اسپیر[1] و همکاران (۲۸) به منظور بررسی اثر فلزات سنگین بر تنفس میکروبی خاك، با افزودن نمکی از فلزات سنگین که خاصیت اسیدزایی داشت، pH متفاوت در خاك های مورد آزمایش ایجاد کردند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که در خاك های تیمار شده با فلزات سنگین، با کاهش pH تنفس نیز به صورت تقریبا خطی کاهش می یابد. در مطالعه ای که توسط بردلی[2] و همکاران (۸) به منظور بررسی تاثیر نوع کاربری اراضی بر جوامع میکروبی خاك انجام گرفت، مشخص شد که در اثر کاربری اراضی برخی خصوصیات خاك از جمله pH، EC و غلظت فلزات سنگین تغییر می کند که هریک از آنها می تواند به عنوان یک تنش برای فعالیت میکروبی خاك محسوب شود به طوری که با کاهش pH، تنفس حاصل از سوبسترا خاك (SIR) به طور معنی داری کاهش یافت. براساس نتایج به دست آمده از این تحقیق نوع خاك، غلظت و نوع فلز سنگین می تواند از عوامل موثر بر زمان تاخیر تنفس حاصل از سوبسترا (SIR) به شمار آید. بابیچ[3] و همکاران (۴) طی آزمایشی به این نتیجه رسیدند که حضور کادمیم در خاك با غلظت های ۱۰۰۰، ۲۰۰۰، ۴۰۰۰، ۵۰۰۰ تا ۸۰۰۰ و ۹۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰ میکروگرم درگرم خاك به ترتیب ۲، ۳، ۳، ۴ و ۵ روز تاخیر در آزادسازی دی اکسیدکربن را سبب شد که این تاخیر برای خاك حاوی روی با غلظت ۲۰۰۰ تا ۴۰۰۰، ۶۰۰۰، ۸۰۰۰ تا ۱۶۰۰۰، ۱۸۰۰۰ تا ۲۲۰۰۰ و ۲۴۰۰۰ میکروگرم درگرم خاك 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 گلوتامیک در خاك 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 سوبسترا به خاك های آلوده به فلزات سنگین و خاك های بدون فلزات، ریزجانداران خاك به صورت ناگهانی رشد کرده و فعالیت تنفسی آنها نیز افزایش می یابد ولی تنفس، در خاك های تیمار شده با کادمیم و روی به اندازه افزایش تنفس در خاك های فاقد این فلزات، افزایش نمی یابد و به علت حساسیت بیشتر تنفس اولیه به فلزات سنگین، فعالیت متابولیسمی سلولهای ریزجانداران به صورت موقتی متوقف و در نتیجه فاز تاخیر قبل از حداکثر رشد ریزجانداران 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[4] وهمکاران (۲۲) با کاربرد غلظت ۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم کادمیم در گرم خاك به این نتیجه رسیدند که تنها غلظت ۵۰۰ میکروگرم در گرم خاك 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 خاك را نشان داده که این امر می تواند متاثر از تغییرات ساختار میکروفلور خاك و یا توقف فعالیت میکروبی به علت حضور کادمیم باشد. از آنجایی که پروکاریوتها نسبت به یوکاریوتها سرعت تکثیر بیشتری

1) Speir 2) Bradley 3) Babich 4) Landi

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 خاك، جمعیت غالب را تشکیل می دهند، بنابراین کاهش در میزان تنفس و تولید دی اکسیدکربن در خاك 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 خاك 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 خاك 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). بابیچ 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 خاك 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[1] (۲۷) وهمکاران 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[2] و همکاران متناقض می باشد (۱۶). رنلا و همکاران دلیل اصلی این تفاوت را نحوه ورود فلزات سنگین به خاك بیان می کنند. چنانچه در این آزمایش فلزات به صورت تازه اضافه شده درحالیکه نتایج گیلر با فلزاتی است که طی چندین سال به تدریج به خاك افزوده شده است. نتایج حاصل از مطالعه حاضر با نتایج رنلا وهمکاران مغایرت داشته و نشان داد که با وجودیکه کادمیم و روی به صورت تازه به خاك اضافه شد اما اثر سمیت کادمیم بر تنفس بیشتر از روی بود.

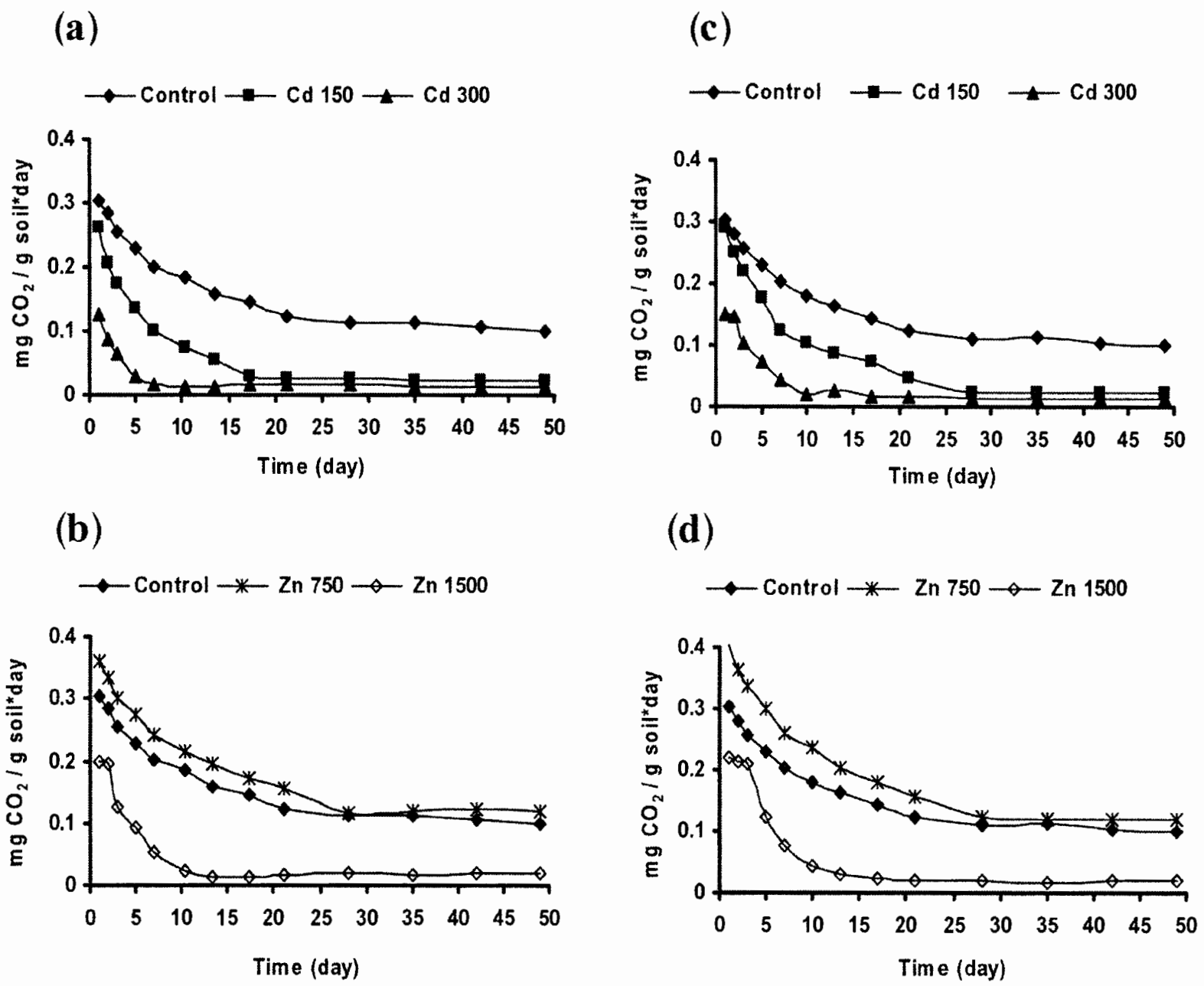
مطالعات مختلف نشان می دهد غلظت بحرانی فلزات سنگین بر فرآیند تنفس بسته به نوع خاك، نوع ریزجانداران و شرایط محیطی کاملا متفاوت می باشد (۱۶). نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که غلظت های کادمیم و روی به ترتیب ۳۰۰ و ۱۵۰۰ میکروگرم در گرم خاك باعث توقف فرآیند تنفس در دو خاك آهکی و غیرآهکی مورد مطالعه شد که با تغییر نوع خاك، 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 خاك غیرآهکی و آهکی نشان داد که در تیمار شاهد هر دو خاك بیشترین مقدار دی اکسیدکربن در دو روز اول متصاعد شد و پس از گذشت ۲۸ روز خواباندن به مقدار ثابت رسید (شکل۲). در آزادسازی دی اکسیدکربن در تیمارهای کادمیم و روی با غلظت های مختلف در خاك آهکی و غیرآهکی هیچ تاخیری مشاهده نشد و مانند خاك شاهد، تنفس از همان روز اول آغاز شد وسرعت تنفس در طی زمان با شیب زیادی کاهش یافت. تنفس در خاك غیرآهکی آلوده به کادمیم با غلظت ۱۵۰ و ۳۰۰ میکروگرم درگرم خاك، به ترتیب بعد از ۱۷ و ۷ روز خواباندن کاملا متوقف شد. درحالیکه مدت زمان لازم برای توقف تنفس در خاك آهکی تیمار شده با ۱۵۰ و ۳۰۰ میکروگرم کادمیم در گرم خاك به ترتیب ۲۸ و ۱۰ روز طول کشید. مقدار تنفس در خاك آهکی و غیرآهکی آلوده به روی با غلظت ۷۵۰ میکروگرم در گرم خاك برخلاف انتظار بیش از مقدار آن در خاك شاهد بود و پس از ۲۸ روز خواباندن به مقدار ثابت رسید غلظت ۷۵۰ میکروگرم روی درگرم خاك نه تنها از معدنی شدن کربن جلوگیری نکرد بلکه سبب تحریک آن در هر دو خاك نیز شد. تنفس در خاك آهکی و غیرآهکی آلوده به روی با غلظت ۱۵۰۰ میکروگرم در گرم خاك، به ترتیب پس از ۱۳ و ۷ روز خواباندن کاملا متوقف شد.

در آزمایشی که توسط بابیچ 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 خاك تبدیل به بیومس میکروبی شده و طی تجزیه سلول های مرده ریزجانداران، دی اکسیدکربن آزاد

1) Renella

2) Giller



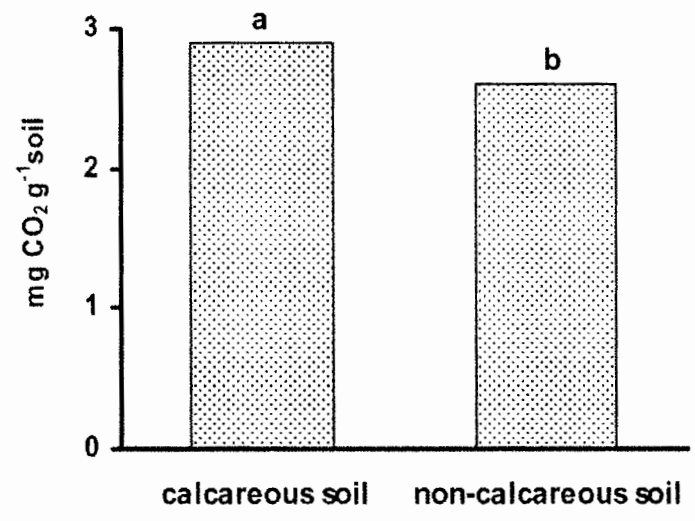
شکل(۲) تأثیر کادمیم و روی بر تنفس پایه در خاك غیرآهکی (a و b) و آهکی (c و d)

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 خاك بود (شکل۲). 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 وجود دارد (۱۶). اما گاهی فلزات سنگین بدلیل تشکیل کمپلکس با عناصر باعث افزاش 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 خاك بستگی دارد، مطالعات زیادی نشان می دهد که میزان تصاعد دی اکسیدکربن با کربن آلی، DOC، pH، CEC، درصد رس و درصد آهک خاك رابطه معنی داری دارد (۲۱). کمیت۱ و همکاران (۲۱) pH خاك های مورد مطالعه را با اضافه کردن آهک از ۳/۵به ۷ افزایش داده و درنهایت رابطه مثبت و معنی داری بین pH و تنفس پایه گزارش کردند، درحالیکه

1) Kemmitt

افزایش pH بر تنفس حاصل از گلوکز اثری نداشت. این محققین علت این امر را کاهش قابلیت فراهمی کربن خاك در اثر جذب سطحی توسط ریزترین بخش جامد خاك بیان کردند. در تحقیق حاضر به منظور بررسی نقش آهک در اثر گذاری فلزات سنگین بر تنفس سعی شده است که دو خاك 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 خاك آهکی بیش از خاك غیرآهکی است.



شکل(۳) تنفس در دو خاك آهکی و غیرآهکی (a و b معیار آماری براساس آزمون دانکن)

افزایش تنفس در خاك آهکی نسبت به خاك غیرآهکی را می توان به چند دلیل توجیه کرد. با توجه به اینکه رفتار شیمیایی فلزات به خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاك بستگی دارد و از آنجا که بارزترین تفاوت در خاك های مورد مطالعه در این تحقیق، درصد آهک است می توان چنین احتمال داد که آهک سبب کاهش فراهمی کادمیم و روی در محلول خاك شده است، چنانچه لیندزی[1] (۲۴) بیان می کند که در pH بیشتر از ۷/۵ بسته به فشار دی اکسیدکربن، Cd^{+2} و Zn^{+2} به ترتیب به صورت اکتوایت ($CdCO_3$) و کربنات روی ($ZnCO_3$) در خاك رسوب می کنند که این ترکیبات در خاك های آهکی به مراتب پایدارتر از سایر ترکیبات غیرمحلول می باشد. همچنین بر اساس مطالعات مک برایید[2] (۲۵) فلزات سنگین کاتیونی به وسیله ذرات کربنات کلسیم خاك جذب سطحی شده و گاهی اوقات رسوب[3] می شوند. لذا به نظر می رسد پدیده رسوب باعث کاهش حلالیت و قابلیت دسترسی روی و کادمیم می شود که به تبع اثرات سمیت آن ها بر تنفس نیز احتمالا می تواند کاهش یابد.

عامل مهم دیگر این است که برخی از ریزجانداران خاك دارای خصوصیات کلوئیدی و بار منفی می باشند که پس از برهمکنش با بخش جامد خاك، واحدهای پایدار با مواد آلی و معدنی تشکیل می دهند که ریزجانداران در واحد ریزجاندار - مواد آلی، کمتر در معرض تنش های زیست محیطی قرار می گیرند. بنابراین حتی اگر فعالیت فلزات سنگین در دو خاك یکسان باشد، اثرات آن ها بر ریزجانداران خاك به میزان ارتباط بین ریزجانداران و بخش جامد خاك بستگی دارد. بنابراین کاربرد چندین غلظت از فلزات سنگین اثرات آن ها را در خاك 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 سوبسترا شده، پس از طی فاز تاخیر تنفس در هر دو خاك آهکی و غیرآهکی با یک روند کاهشی انجام و در نهایت تنفس در خاك تیمار شده با غلظت بیشتر هر یک از این فلزات کاملا 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 سوبسترا (SIR) و تنفس پایه (BR) در تیمارهای کادمیم و روی در خاك آهکی بیش از خاك غیرآهکی 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 خاك های آهکی و غیرآهکی بیشتری صورت پذیرد تا بتوان به ارایه تصویر واقعی تری از اثرات آهک در برهمکنش فلزات سنگین و تنفس میکروبی خاك دست یافت. علاوه براین پیشنهاد می شود اثرات فوق الذکر با سایر فرآیندهای بیولوژیکی خاك مانند نیتریفیکاسیون، فعالیت آنزیمی خاك و غیره نیز مورد مطالعه قرار گیرد.

1) Lindsay
2) Mc Bride
3) Co- precipitation

منابع

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 dyhidrogenase 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. Hagniya[1]

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)

1- Contribution from Ferdowsi University of agricultural College resources.