تأثیر آلودگی کادمیم در طی زمان بر فعالیت ویژه آنزیم اوره از، تنفس و نیترات‌سازی در یک خاک آهکی غنی شده با ورمی کمپوست

ارمغان صالحیان، علی کسراییان[1] و محمود وصال

دانشجوی سابق کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز؛ **yasgood42@yahoo.com**

استادیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز؛ **alkasra@yahoo.com**

استاد دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز؛ **mahmoodvessal@yahoo.ca**

دریافت: **95/5/13** و پذیرش: **96/4/12**

چکیده

آلودگی خاک با عناصر سنگین به‌ویژه کادمیم به دلیل پراکندگی آن در زمین‌های کشاورزی امروزه مورد توجه زیادی قرار دارد. در پژوهش کنونی، اثر تیمارهای کادمیم (0، 2، 5 میلی‌گرم کادمیم بر کیلوگرم خاک) بر تنفس خاک و معدنی شدن کربن آلی به عنوان شاخص‌های عمومی زیستی خاک و فعالیت ویژه آنزیم اوره‌آز و میزان تجمع نیترات به‌عنوان دو شاخص ویژه زیستی پس از گذشت 3، 7، 31، 62 و 93 روز در یک خاک لومی رسی شنی غنی شده با 2% ورمی‌کمپوست بررسی شد. فاکتورهای آزمایشی (زمان و غلظت کادمیم) به شکل فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار و در شرایط کنترل شده آزمایشگاهی انجام شد که پیش از آغاز آزمایش و آلودگی خاک‌ها، خاک‌ها برای دو هفته با ورمی‌کمپوست برای رسیدن به تعادل زیستی خوابانیده شدند. این پژوهش نشان داد که تیمارهای کادمیم تنها بر تنفس و کربن آلی خاک پیامد داشت اما فعالیت ویژه آنزیم اوره‌آز و میزان نیترات تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت. از سوی دیگر، زمان خوابانیدن پیامد چشم‌گیری بر فعالیت ویژه آنزیم اوره‌آز، تنفس خاک، درصد کربن آلی و ازت نیتراتی خاک در پایه آماری 1 % داشت. ضریب همبستگی میان کادمیم و پارامترهای اندازه‌گیری شده، گذشته از تنفس و معدنی شدن کربن به عنوان شاخص‌های عمومی، به بی اثر بودن تیمارهای این عنصر و احتمالا اثر ویژگی‌های خاک آزمایشی بر شاخص‌های نیترات و فعالیت اوره‌آز دلالت دارد.

واژه‌های کلیدی: کادمیم، اوره‌آز، معدنی شدن کربن، تنفس خاک، نیترات

---

[1]. نویسنده مسئول، آدرس: شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی- دانشکده مهندسی کشاورزی، گروه علوم خاک

مقدمه

مدیریت ماده آلی در خاک نقش عمده‌ای در کشاورزی پایدار بازی می‌کند. با فرآیند بیوشیمیائی معدنی شدن کربن آلی خاک ویژگی‌های حاصلخیزی آن از طریق بهبود شرایط فیزیکی، شیمیائی و تغذیه بهبود می‌یابد. اما، فرآیندهای بیوشیمیائی خاک اصولاً از طریق آنزیم‌ها تحت کنترل موجودات ریز خاک بوده و بنابراین شدت و ضعف این فرآیندها به‌خوبی از شرایط محیطی تأثیر می‌پذیرد. امروزه آلودگی محیط زیست با عناصر سنگین یکی از مهمترین چالش‌های بشری بوده و تجمع عناصر سنگین به ویژه کادمیم در زمین‌های کشاورزی زنگ خطری برای سلامت انسان است که این مسئله بیشتر به استفاده از کودهای فسفر نامرغوب و پساب فاضلاب‌ها مربوط می‌شود (کسرائیان و همکاران، 1391). دانش فراوانی در خصوص سمیت کادمیم بر کارکرد زیستی موجودات خاک وجود دارد (ژانگ و همکاران، 1991؛ بابولا و همکاران، 2009؛ بازینیسکی و همکاران، 1980؛ دبی، 2011) و این عنصر در خاک می‌تواند سبب کاهش فعالیت‌های موجودات زنده ریز و درپی-آن کاهش معدنی شدن کربن و آزاد سازی عناصر غذایی همانند نیترات شود.

در خصوص اثر عناصر سنگین بر فعالیت میکروارگانیزم‌ها و شکست ساختار مواد آلی در خاک لندی و همکارن (2000) بیان کردند که عناصر سنگین یا از طریق تشکیل کمپلکس با سوبسترا و یا از بین بردن موجودات زنده سبب کاهش تنفس به‌عنوان یک شاخص عمومی از فعالیت موجودات زنده خاک می‌شوند. این مسئله می‌تواند با کاهش سرعت تجزیه مواد آلی و تجمع آن در خاک همراه باشد. آسوس و همکاران (1999) با اشاره به این مطلب به تجمع ماده آلی در خاک‌های آلوده به سرب و روی اشاره کردند و این پدیده را به کاهش و یا توقف معدنی شدن کربن به دلیل کاهش فعالیت موجودات زنده خاک هم‌بسته دانستند. معدنی شدن کربن آلی در خاک همراه با آزاد سازی نیتروژن از ساختار ترکیبات آلی و در پی آن افزایش نیترات در خاک است که این مسئله نیز می‌تواند تحت تأثیر شرایط محیطی به-ویژه سمیت عناصر سنگین قرار گیرد. جین‌لانگ یان و همکاران (2013) نشان دادند که نیترات‌زائی در تیمارهای آلوده به عناصر سنگین نسبت به شاهد کمتر بود. همچنین بیان کردند که بین کاهش فعالیت آنزیم‌آوره‌آز و فرآیند نیترات‌زائی رابطه معنی‌داری وجود دارد. همچنین ماکوئی و همکاران (2008) با مطالعه عوامل تأثیر گذار بر آنزیم-های خاک میزان فعالیت آن‌ها را علاوه بر مقدار و نوع ماده آلی به شرایط محیطی مانند نوع خاک، شدت فعالیت موجودات زنده و فرآیندهای زیستی در خاک وابسته دانست (ماکوئی و همکاران، 2008). بنابراین به‌نظر می‌رسد که عناصر سنگین علاوه بر فعالیت موجودات زنده و درپی‌آن ساخت آنزیم‌ها با تغییر شرایط شیمیائی بر فعالیت آنزیم‌ها نیز مؤثر باشد. با این حال، اثر برانگیختگی ماده آلی در افزایش فعالیت موجودات ریز خاک همراه با اثر بازدارندگی کادمیم در فعالیت موجودات زنده خاک در اثر زمان دگرگون می‌شود. یزدان‌پناه و همکاران (1385) در پژوهش خود با اشاره به اثر زمان و کربنات کلسیم بیان کردند که آلودگی کادمیم و روی سبب ایجاد فاز تأخیری در تنفس حاصل از سوبسترا شد اما پس از آن تنفس در هر دو خاک آهکی و غیر آهکی کاهش پیدا کرد. آنها همچنین بیان کردند که در خاک آهکی میزان تنفس بیشتر از خاک غیر آهکی بوده است که به‌نظر می‌رسد این مسئله به دلیل اثرات آهک بر قابلیت استفاده این عنصر باشد. مفتون و همکاران (2004) در مطالعه آلودگی کادمیم در یک خاک آهکی بیان کردند که این عنصر در بخش‌های مختلف خاک تقسیم شده و تنها بخش محلول کادمیم با قابلیت استفاده این عنصر نزدیک است. آنها در ادامه بیان کردند که کربنات کلسیم عامل تأثیرگذار بر بخش‌های فعال بوده و بخش مهمی از کادمیم به شکل اوکتاویت در این خاک‌ها نگهداری و غیر قابل استفاده می‌شود.

وجود ماده آلی در کنار کادمیم در شرایط حضور کربنات کلسیم محیط پیچیده‌ای را در مقابل رفتار کادمیم و تأثیر آن بر شاخص‌های زیستی بجا می‌گذارد. در این تحقیق برآن هستیم که اثر جزئی کادمیم بر معدنی شدن کربن آلی را به‌عنوان یک شاخص عمومی زیستی و به شکل ویژه‌تر تجمع نیترات در خاک به‌عنوان اثر معدنی شدن کربن آلی بر حاصلخیزی و در نهایت فعالیت یکی از آنزیم‌های مسئول در این فرآیند یعنی اوره‌آز را در یک خاک آهکی در گذر زمان مورد سنجش قرار دهیم. این به آن دلیل است که اثر غلظت زیاد کادمیم بر خاک مورد قبلاً مطالعه قرار گرفته است (کاظم علیلو ورسولی صدقیانی) اما اثر اندک کادمیم که در خاک‌های کشاورزی معمول‌تر است (کسرائیان و همکاران، 1391) کمتر مورد توجه دقیق قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش یک نمونه خاک سطحی (30-0 سانتی‌متری) کشاورزی انتخاب شد و برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آن همانند بافت خاک (جی و بادر، 1986)، ماده آلی (نلسون و سامر، 1996)، pH خاک در گل اشباع (توماس، 1996)، قابلیت هدایت الکتریکی

عصاره اشباع(ECe) (ردز، 1996)، ظرفیت تبادل کاتیونی خاک (CEC) (سامنر و میلر، 1996)، پتاسیم به روش شعله سنجی(کنودسن و همکاران، 1982)، فسفر قابل استفاده (اولسن و همکاران، 1954)، نیتروژن کل (برمنر، 1996) و عناصر کم مصرف و کادمیم با عصاره‌گیری با دی اتیلن تری آمین پنتا استیک اسید (DTPA) (لیندسی و نرول، 1978) و قرائت به وسیله جذب اتمی (مدل Analytik Jena Nova AA350) اندازه‌گیری شد (جدول 1). لازم به ذکر است که غلظت کادمیم عصاره‌گیری شده با DTPA بسیار ناچیز بود.

تیمارهای آزمایشی به گونه فاکتوریل (غلظت‌های صفر، 2 و 5 میلی گرم کادمیم در کیلوگرم خاک و زمان-های 3 ، 7، 31 ، 62 و 93 روز) در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار پیاده‌سازی شد. پیش از پیاده-سازی تیمارها، خاک گلدان‌ها به اندازه 2/20 درصد وزنی با ورمی‌کمپوست (225 گرم خاک و 5 گرم ورمی-کمپوست) آمیخته شده و دو هفته برای رسیدن به تعادل زیستی در شرایط بهینه رطوبتی (70 % رطوبت ظرفیت زراعی) و گرمایی (دمای آزمایشگاه) گذاشته شد. در این زمان به اندازه کاهش رطوبت به گونه وزنی آب داده می‌شد (این کار پس از آلوده شدن خاک‌ها با تیمارهای کادمیم نیز انجام شد).

پس از این دوره، کادمیم برپایه طرح آزمایشی، به هر خاک به گونه محلول از منبع نمک سولفات کادمیم (با هفت مولکول آب) افزوده و زمان آغاز آزمایش بشمار آمد. برای جلوگیری از به هم ریختگی ساختمان خاک این تیمارها با سرنگ در بخش‌های گوناگون خاک تزریق شد و تلاش شد که کادمیم به شکل یکنواختی در همه بخش‌های خاک پراکنده شود.

در زمان‌های یاد شده (تیمار زمان) ویژگی‌های گوناگون شیمیایی و زیستی خاک مانند درصدکربن آلی (والکی و بلک، 1934)، نیتروژن- نیتراتی به روش آلیاژ دواردا (احیایی و بهبهانی‌زاده، 1372)، فعالیت آنزیم اوره آز به روش رنگ‌سنجی در طول موج 690 nm (پالسون و کورتز، 1969)، پروتئین خاک به روش بیوره با اسپکتروفتومتر درطول موج 550 nm (راک و همکاران، 1986)، فعالیت ویژه آنزیم اوره‌آز [1] و نیز تنفس خاک به روش تیتراسیون (اندرسون، 1982) اندازه‌گیری شد. در پایان تجزیه و تحلیل داده‌ها با بسته نرم افزاری SAS انجام گرفت.

[1] فعالیت ویزه آنزیم اوره‌آز حاصل تقسیم فعالیت آنزیم اوره‌آز بر پروتئین خاک است.

نتایج

اثر زمان و تیمار کادمیم بر درصد کربن آلی

نتایج نشان داد که درصد کربن آلی خاک به-ترتیب در پایه آماری 1 % ، 5 % و 1 % تحت تأثیر فاکتورهای زمان و کادمیم و اثرات متقابل قرار گرفت به گونه‌ای‌که بیشترین و کمترین درصد آن به ترتیب در تیمارهای 5 و 0 میلی‌گرم کادمیم بر کیلوگرم خاک با مقادیر 2/14 و 1/78 درصد اندازه‌گیری شد. میانگین درصد کربن آلی در تیمارهای دومیلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک با تیمارهای 5 میلی‌گرم کادمیم بر کیلوگرم خاک نیز در یک گروه آماری بود. از سویی، با گذشت زمان درصد کربن آلی خاک نیز کاهش داشت به گونه‌ای که کمترین مقدار اندازه‌گیری شده در 63 روز پس از آغاز آزمایش و به اندازه 1/14 درصد اندازه‌گیری شد که با 93 روز در یک گروه آماری قرار گرفت. (شکل 1و2، جدول2). اثر متقابل غلظت کادمیم و زمان نشان داد که در کلیه غلظت‌های کادمیم در 3 و 7 روز بیشترین درصد کربن آلی اندازه‌گیری شد و بین این تیمارها از نظر آماری در سطح مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. از سوی، کاهش درصد کربن آلی در تیمار شاهد و پس از 31 روز اندازه‌گیری شد که از نظر آماری با غلظت‌های 2 میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک در 62 و 93 روز و 5 میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم در 62 روز در یک گروه آماری قرار گرفتند(جدول 3).

اثر زمان و تیمار کادمیم بر تنفس خاک

نتایج نشان داد که تنفس خاک در پایه آماری 1 % وابسته به فاکتورهای زمان و کادمیم و اثرات متقابل آنها بود. تنش غلظت کادمیم بر تنفس خاک تنها در بیشترین غلظت کاربردی (5 میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک) دیده شد به‌گونه‌ای که کاهش 40 درصدی در تنفس خاک در برابر تیمارهای قبل از آن اندازه‌گیری شد. با گذشت زمان تنفس خاک از کمترین مقدار خود در تیمار 3 روز، 0/07 ($mg\ CO_2.\ g^{-1}\ dm.\ 24h^{-1}$) که از نظر آماری با 7 روز در یک گروه قرار داشت به بیشترین مقدار در تیمار 93 روز 0/51 ($mg\ CO_2.\ g^{-1}\ dm.\ 24h^{-1}$) که این نیز از نظر آماری با 62 روز در یک گروه قرار داشت رسید (شکل 3و 4، جدول2). زمان خوابانیدن و غلظت کادمیم در خاک نیز در پایه آماری مورد مطالعه اثر معنی-داری داشت. بیشترین تنفس خاک در تیمار شاهد و 62 روز پس از خوابانیدن روی داد که در پایه آماری 1% تنها در غلظت دو میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک در روزهای 62 و 93 روز در یک گروه آماری قرار گرفتند. از سوی، کمترین تنفس خاک در تیمار شاهد و در روز های

3 و 7 اندازه‌گیری شد که در پایه آماری 1% با غلظت 2 میلی‌گرم کادمیم به‌ترتیب در روزهای 3 و 7 و 5 میلی‌گرم کادمیم در روزهای 3، 7، 31، 62 و 93 روز در یک گروه آماری قرار گرفتند (جدول 3).

جدول 1- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک *

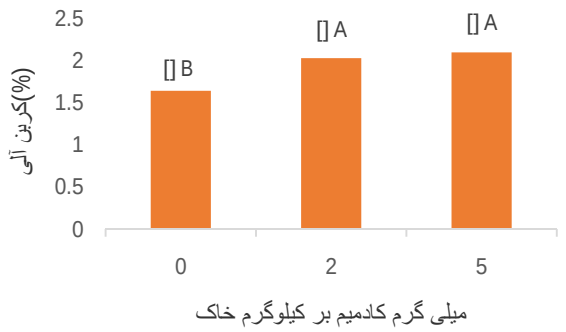
ویژگی	pH	هدایت الکتریکی	رطوبت اشباع	آهک	کربن	ازت	شن	لای	رس	فسفر	پتاسیم	آهن	روی	مس	منگنز
		dSm^{-1}		%						$mgKg^{-1}$					
مقدار	8/21	0/51	43	64/8	0/35	0/04	42/60	46	11/4	2/70	342	12/40	2/20	0/92	10

* مقدار کادمیم عصاره‌گیری شده با DTPA بسیار ناچیز و در حد صفر بود.

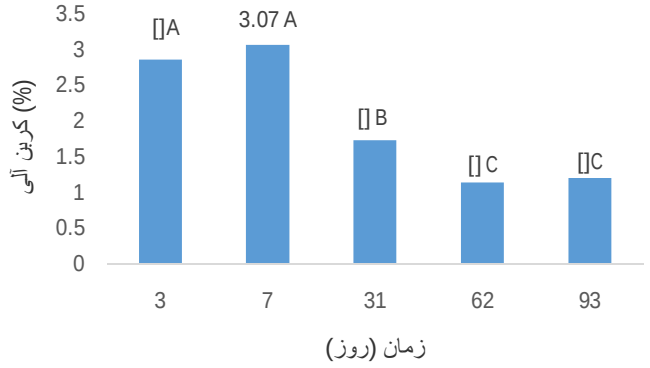
جدول 2- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) پیامد زمان و کادمیم بر فعالیت ویژه اورآز، تنفس، غلظت نیترات و درصد کربن آلی

منابع دگرگونی	درجه آزادی	فعالیت ویژه اوره آز	تنفس	ازت نیترات	کربن آلی
زمان	4	49/73**	0/42**	$9/20\times 10^{-3}$**	6 /69**
کادمیم	2	$18/83^{ns}$	0 /29**	$8\times10^{-4\,ns}$	0/09*
زمان×کادمیم	8	$11 /83^{ns}$	0 /08**	$1\times10^{-3\,ns}$	0/19**
خطا	27	4 /56	0 /01	1×10^{-3}	0/03
انحراف معیار		±3/33	±0/27	±0/50	±0 /88

ns غیرمعنی‌دار، ** معنی‌دار در سطح 1%، * چشم گیر در سطح 5%



شکل 1- اثر تیمارهای کادمیم بر درصدکربن آلی خاک
ارقام داری حروف مشترک، تفاوت معنی‌داری در سطح آماری 1 % ندارند



شکل 2- اثر زمان خوابانیدن بر در صد کربن آلی خاک
ارقام داری حروف مشترک، تفاوت معنی‌داری در سطح آماری 1 % ندارند.

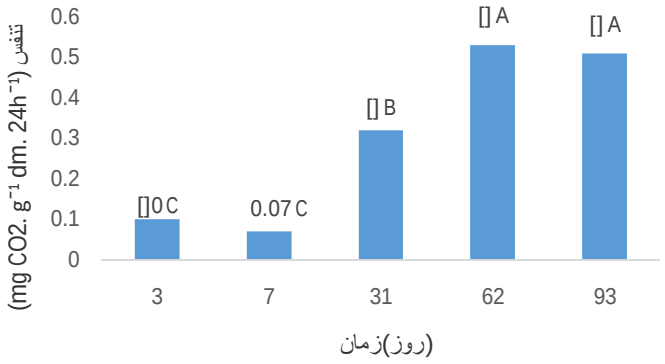
جدول3- اثر متقابل غلظت کادمیم (میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) و زمان (روز) بر میانگین درصد کربن آلی و تنفس خاک ($mg\ CO2.\ g^{-1}\ dm.\ 24\ h^{-1}$)

غلظت کادمیم	زمان	کربن آلی (درصد)	تنفس
	3	2/90 ab	0/26 dcef
	7	3/00 ab	0/08 ef
0	31	1/40 def	0/33 dce
	62	1/03 ef	0/83 a
	93	0/96 f	0/55 bc
	3	2/93 ab	0/02 f
	7	3/40 ab	0/08 ef
2	31	1/66 cd	0/37 cd
	62	1/06 ef	0/76 ab
	93	1/13 def	0/72 ab
	3	2/83 b	0/02 f
	7	2/86 ab	0/06 ef
5	31	2/13 c	0/27 dcef
	62	1/33 def	0/18 def
	93	1/53 de	0/2 def

ارقام داری حروف مشترک، تفاوت معنی‌داری در سطح آماری 1 % ندارند.

شکل3 - اثر آلودگی کادمیم بر تنفس خاک شده ($mg\ CO_2.\ g^{-1}\ dm.\ 24\ h^{-1}$)

ارقام داری حروف مشترک، تفاوت معنی‌داری در سطح آماری 1 % ندارند.



شکل4 - اثر زمان بر تنفس خاک شده ($mg\ CO_2.\ g^{-1}\ dm.\ 24\ h^{-1}$)

ارقام داری حروف مشترک، تفاوت معنی‌داری در سطح آماری 1 % ندارند

اثر زمان خوابانیدن و تیمار کادمیم بر فعالیت ویژه آنزیم اوره‌آز

به رغم عدم تأثیر غلظت‌های کادمیم بر فعالیت ویژه آنزیم اوره‌آز، زمان خوابانیدن در پایه آماری 1 % بر این ویژگی مؤثر بود به گونه‌ای که کمترین اندازه فعالیت ویژه این آنزیم در روز 93 (µg N.2h⁻¹/mg protein) 2/94 اندازه‌گیری شد که از نظر آماری با روز هفتم در یک گروه قرار گرفت و در برابر آن بیشترین اندازه این ویژگی در روز 62 به اندازه 9/80 (µg N.2h⁻¹/mg protein) بود که این نیز از نظر آماری با روزهای 31 و 3 در یک گروه قرار گرفت (شکل5).

شکل 5- اثر زمان بر فعالیت ویژه آنزیم اوره‌آز (µg N. 2h⁻¹/mg protein)

ارقام داری حروف مشترک، تفاوت معنی‌داری در سطح آماری 1 % ندارند.

اثر زمان و تیمار کادمیم بر درصد نیترات

در این پژوهش دیده شد که غلظت نیترات وابسته به غلظت کادمیم خاک نبود اما زمان خوابانیدن بر غلظت آن اثر داشته و بیشترین غلظت نیترات در 62 و 93 روز پس از آغاز آزمایش اندازه‌گیری شد که از دیدگاه آماری مشابه میانگین‌های غلظت نیترات در روز 31 بود. در دوره خوابانیدن غلظت نیترات خاک از آغاز آزمایش چهار برابر شد و میانگین آن از 0/08 درصد به 33/ 0درصد در بالاترین گروه های آماری رسید (شکل6، جدول2).

شکل 6- اثر زمان بر درصد ازت نیترات خاک

ارقام داری حروف مشترک، تفاوت معنی‌داری در سطح آماری 1 % ندارند.

هم‌بستگی تیمارهای زمان و کادمیم با ویژگی‌های شیمیائی و زیستی خاک

همانطور که از جدول 4 پیدا است میان تغییر فاکتور زمان از یک سوی و کادمیم از سوی دیگر بر فعالیت ویژه آنزیم اوره‌آز هیچگونه هم‌بستگی معنی‌داری دیده نشد. با گذشت زمان تغییر در مقدار نیترات و تنفس خاک هم‌سو و در پایه آماری 1 % معنی‌دار بود درحالی‌که میزان درصد کربن آلی خاک در همین پایه آماری با کاهش روبرو شد. از سوی، تغییر در غلظت کادمیم و با افزایش آن در پایه آماری 5% تنها بر تنفس خاک اثر افزاینده داشت. میان تغییر تنفس خاک و مقدار نیترات در پایه آماری 1% نیز روند افزایشی مشاهده شد اما، میان دگرگونی درصد کربن آلی و تنفس از یک سو و درصد کربن آلی و نیترات از سوی دیگر در پایه آماری 1% اثر کاهنده مشاهده شد.

جدول 4- ضریب همبستگی پیرسون تیمارهای زمان و کادمیم و شناسه های اندازه‌گیری شده در خاک

	زمان	کادمیم	اوره آز	نیترات	تنفس
اوره آز	-0/24^{ns}	0/03^{ns}			
نیترات	0/77**	0/044^{ns}	0/07^{ns}		
تنفس	0/64**	0/34*	0/08^{ns}	0/59**	
ماده آلی	-0/85**	0/19^{ns}	0/01^{ns}	-0/78**	-0/74**

^{ns} غیرمعنی‌دار، **معنی‌دار در سطح 1%، * چشم گیر در سطح 5%

بحث و نتیجه‌گیری

در این پژوهش اثر زمان خوابانیدن بر کلیه شاخص-های انتخابی در سطح 1% معنی‌دار بود. روند کاهش میزان کربن آلی در خاک بسیار مشخص بود و این روند از 31 روز بعد از شروع آزمایش آغاز و با 40 درصد کاهش به کمترین مقدار خود در 62 روز رسید که از نظر آماری با 93 روز تفاوتی معنی‌داری نداشت. وارونه این روند در شاخص تنفس خاک بود بطوری که کمترین میزان تنفس در روزهای 3 و 7 اندازه‌گیری شد اما در روز 62 با یک روند افزایش 16 درصدی به حداکثر خود رسید که از نظر آماری با 93 روز در یک گروه قرار داشت. با معدنی شدن کربن آلی و شکست شدن ساختار ترکیبات آلی افزایش غلظت نیترات خاک عادی بنظر می‌رسد و افزایش 40درصد نیترات در پایان دوره خوابانیدن مؤید این مطلب است. نیترات اندازه‌گیری شده در خاک برآیند معدنی شدن و آلی شدن نیتروژن در خاک بوده و نتایج این پژوهش بیانگر آن است که در طول آزمایش مقدار نیترات روند افزایشی داشت. اما به رغم اثر بخشی آنزیم اوره‌آز در چرخه نیتروژن روند مشخصی از فعالیت این آنزیم در طول آزمایش مشاهده نشد با این حال، کمترین فعالیت اندازه‌گیری شده در پایان دوره آزمایش یا 93 روز بود. همبستگی ویژگی‌های اندازه‌گیری شده نیز به نوعی بیانگر کاهش ماده آلی خاک و در پی آن آزاد شدن نیترات در محیط خاک است در حالی‌که با افزایش روند تنفس ماده آلی نیز کاهش پیدا کرد.

در بین شاخص‌های زیستی اندازه‌گیری شده تیمار کادمیم بر تنفس و درصد کربن آلی خاک در سطح آماری به‌ترتیب 1 و 5 درصد مؤثر بود. اثر متقابل کادمیم و زمان خوابانیدن نیز بر این دو ویژگی در سطح 1 درصد آماری معنی‌دار شد. کمترین درصد کربن آلی، در تیمار شاهد کادمیم اندازه‌گیری شد و در تیمارهای دیگر میزان درصد کربن آلی بیشتر بود که به تفسیری به کمتر معدنی شدن کربن آلی به دلیل سمیت کادمیم دلالت دارد. در اثر متقابل کادمیم و زمان خوابانیدن نیز کمترین درصد کربن آلی در تیمار شاهد کادمیم و پایان آزمایش (93 روز) اندازه‌گیری شد در حالی‌که در همین زمان در تیمار 5 میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک بیشترین درصد کربن آلی در خاک اندازه‌گیری شد. در تفسیر اثر متقابل کادمیم و زمان بر تنفس خاک بیشترین مقدار آن در تیمار شاهد کادمیم و پس از 62 روز خوابانیدن اندازه‌گیری شد و معادل این مقدار در تیمار 2 میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک در روزهای 62 و 93 روز نمایان شد. در تیمار 5 میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک در تمام روزهای اندازه‌گیری میزان تنفس معادل کمترین مقدار این ویژگی در سایر تیمارهای کادمیم بود. این مسئله به‌خوبی مؤید اثر سمیت کادمیم بر تنفس خاک و معدنی شدن کربن آلی است.

وجود ماده آلی در خاک و در پی‌آن افزایش شاخص‌های زیستی خاک در یک دوره زمانی از جمله تنفس، آزاد شدن نیترات همراه با کاهش ماده آلی یک فرآیند طبیعی است اما افزایش کادمیم می‌تواند بر این روند اثر تأخیری یا کلاً بازدارندگی داشته باشد. تجادا (2009) نشان داد که غلظت‌های بالای کادمیم (100 تا 1000 میلی‌گرم کادمیم بر کیلوگرم خاک) اثر بازدارندگی بر زیست توده میکروبی، جمعیت کرم‌های خاکی و شمار نماتدها دارد. ویلیامز و همکاران (1977) همچنین یانگن و همکاران (2006) در آزمایش‌های جداگانه نشان دادند که عناصر روی، کادمیم و مس اثر بازدارندگی بر تنفس و زیست توده خاک دارند. آنها نیز گزارش کردند که کمترین اندازه تنفس در ابتدای آزمایش اندازه‌گیری شد و با گذشت زمان اندازه تنفس نیز افزایش یافت که با یافته-های این پژوهش هم‌خوانی داشت. از سوی دیگر، دیازراوینا و بت (1996) گزارش کردند که در روزهای نخست پس از آلودگی خاک به سرب، برخی از شناسه‌ها، مانند تنفس پایه و تنفس برانگیخته، در غلظت‌های پایین سرب حتی اندکی افزایش یافتند ولی با افزایش اندازه آلودگی این شناسه‌ها نیز کاهش نشان دادند. با گذشت زمان خوابانیدن غلظت‌های پایین‌تر سرب هم سبب کاهش شناسه‌های میکروبی شدند. در این پژوهش همبستگی معنی‌داری بین غلظت نیترات و تیمار کادمیم وجود نداشت و این به‌رغم آن بود که پژوهش‌گران مختلف به اثر بازدارندگی کادمیم بر فرآیند نیترات سازی خاک اشاره نمودند (سینقا و همکاران (1998) و سان و همکاران (2003)). مشاهده متفاوت پاسخ نیترات در این پژوهش می‌تواند به دلیل غلظت کم کادمیم در این تیمارها و جذب همین غلظت کم در بخش‌های مختلف خاک و کم اثر شدن آن باشد. مفتون و همکاران (2004) با اشاره به تأثیر بخش معدنی در کاهش قابلیت استفاده کادمیم اضافه کردند که کربنات کلسیم سبب رسوب کادمیم و کاهش قابلیت استفاده آن در خاک به شکل کربنات کادمیم (اکتاویت) می‌شود. صفری سنجانی و جعفری (2016) نیز به تأثیر بخش معدنی بر کاهش قابلیت استفاده کادمیم اشاره کردند. چادهوری و همکاران (2003) در پژوهش خود نشان دادند که افزودن ماده آلی به خاک اثرهای بد فلزهای سنگین بر فعالیت آنزیم اوره‌آز را می‌کاهد. اگلی و همکاران (2010) نیز نشان دادند که ماده آلی یک عامل استراتژیک خوب در زدودن خاک آلوده به فلزهای سنگین است، به ویژه ماده آلی که دارای اندازه فراوانی از هومیک اسید باشد. رفتار آنزیم اوره‌آز تحت تأثیر تیمار کادمیم قرار نگرفت و این با مشاهده سایر محققین نیز هم‌خوانی داشت. کیزی‌کایا و همکاران (2004) و همچنین وانگ و همکاران (2007) در مطالعه اثر کادمیم بر روی فعالیت آنزیم اوره‌آز بیان کردند که این آنزیم کمتر وابسته به این آلاینده است.

در این پژوهش مشخص شد که تنفس میکروبی خاک به‌عنوان یک شاخص عمومی از فعالیت کلیه موجودات خاک و معدنی شدن کربن آلی تحت تأثیر غلظت‌های کادمیم قرار گرفت اما به‌طور اختصاصی، فرآیند معدنی شدن نیتروژن که در پی آن به افزایش نیترات خاک منتهی می‌شود تحت تأثیر تیمارهای کادمیم قرار نگرفت. همچنین مشخص شد تنها میزان تنفس و معدنی شدن کربن آلی تحت تأثیر تیمار کادمیم در طول زمان قرار داشت. بنابراین به‌نظر می‌رسد تنها شکسته شدن ساختار کربن آلی در خاک تحت تأثیر تیمارهای کادمیم در این پژوهش قرار گرفته باشد. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیائی خاک از جمله ماده آلی و کربنات کلسیم اثرات متفاوتی بر شاخص‌های بیولوژیکی اندازه‌گیری در غلظت-های کم کادمیم در این آزمایش داشته اما برای تشخیص بهتر چگونگی اثر هر یک از این عوامل از جمله کربنات کلسیم بر شاخص‌های بیولوژیکی، مطالعات ویژه‌ای نیاز است.

فهرست منابع:

1. احیایی، م. بهبهانی‌زاده، ع. ا. 1372. شرح روش‌های تجزیه شیمیایی خاک، نشریه فنی شماره893. موسسه تحقیقات خاک و آب، نشر آموزش کشاورزی، کرج، ایران. صفحه 150.
2. کاظم علیلو، س. رسولی صدقیانی، ا. ارزیابی برخی شاخص‌های زیستی خاک در حضور میکروارگانیسم‌های محرک رشد گیاه و آلودگی کادمیمی خاک. مجله تحقیقات آب و خاک ایران. دوره 44 بهار ،1شماره، 68-57.
3. کسرائیان، ع. کریمیان، ن. و غفوری. 1391. ارزیابی توزیع مکانی و تعیین نقاط بحرانی آلودگی کادمیم در بخشی از زمین های کشاورزی غرب شیراز به روش کریجینگ. نشریه آب و فاضلاب. شماره 4، 50-44.

4. یزدان پناه، ن. فتوت، ا. لکزیان، ا. حق نیا، غ. 1387. تأثیر فلزات سنگین روی و کادمیم بر فر آیند تنفس میکروبی در دو خاک آهکی و غیر آهکی. آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی). دوره 22، 68-59.

5. 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. Biology and Biochemistery. 31: 867-876.
6. Anderson, J.P.E. 1982. Soil respiration. p. 831-871. In: A.L.Page and R.H Miller (eds.) Methods of soil analysis. Part2. Chemical and microbiological properties. American Society of Agronomy, Madison, WI.
7. Babula, P., Ryant, P. and Adam, V. 2009. The role of sulphur in cadmium ions detoxification demonstrated in invitro model: Dionaea muscipula. Environment Chemistry 7: 353-361.
8. Badine, N.N.Y., Chotte, J.L., Pate, E., Masse, D. and Rouland, C. 2001. Use of soil enzyme activities to monitor soil quality in natural and improved fallows in semi-arid tropical regions. Applied Soil Ecology 18:229–238.
9. Baszynski, T., Wajda, L., Krol, M., Wolinska, D., Krupa, Z. and Tukendorf, A. 1980. Photosynthetic activities of cadmium-treated tomato plants. Journal of Plant Physiology. 48: 365–370.
10. Burns, R.G. 1983. Extracellular enzyme-substrate interactions in soil. pp. 249-298. In: Microbes in Their Natural Environment (Slater JH, Wittenbury R and Wimpenny JWT Eds). Cambridge University Press, London.
11. Chaudhuri, D., Tripathy, S., Veeresh, H., Powell, M.A. and Hart, B.R. 2003. Relationship of chemical fractions of heavy metals with microbial and enzyme activities in sludge and ashamended acid lateritic soil from India. Environmental Geology 45: 115-123. DOI: 10.1007/ s00254-003-0864-4.
12. Diaz-Ravina, M. and Bååth, E. 1996. Development of metal tolerance in soil bacterial communities exposed to experimentally increased metal levels. Applied and Environmental Microbiology 62: 2970-2977.
13. Dubey, R. 2011. Metal toxicity, oxidative stress and antioxidative defense system in plants, in Reactive Oxygen Species and Antioxidants in Higher Plants. S. D. Gupta, Ed., pp. 177–203.
14. Efeoglu, B. 2009. Heat shock proteins and heat shock response in plants. Journal Science 22: 67-75.
15. Egli, M., Sartori, G., Mirabella, A., Giaccai, D., Favillli, F., Scherrer, D., Krebs, R. and Delbos, E. 2010. The influence of weathering and organic matter on heavy metals lability in silicatic Alpine soils. Science of the Total Environment 408: 931-946.
16. Gee, G.W. and Bauder, J.W. 1986. Particle size analysis, hydrometer method. In: Methods of Soil Analysis. D. L. Sparks et al. (eds.) part III, 3rd ed. American Society of Agronomy. Inc, Madison, WI. PP: 383- 411.
17. Haanstra, L. and Doelman, P. 1991. An ecological dose-response model approach to short- and long-term effects of heavy metals on arylsul-phatase activity in soil. Biology and Fertility of Soils 11: 18 23.
18. Hinojosa, M.B., Carrerra, J.A., Rodrĭguez –Maroto, J.M. and Garcĭa –Ruĭz, R. 2008. Effects of pyrite sludge pollution on soil enzyme activities: Ecological dose – response model. Science of the Total Environment. 396.
19. Jinlong, Y., Guixiang, Q. and Cheng, D. 2013. Effects of the combined pollution of lead and cadmium on soil urease activity and nitrification. Procedia Enviromental Sciences 18: 78-83.

20. Kizikaya, R., Askýnŋ, T., Bayraklý, B. and Sađlam, M. 2004. Microbiological characteristics of soil contaminated with heavy metals. European Journal of Soil Biology 40: 95-102.
21. Knudsen, D., Peterson, G.A. and Pratt, P.E. 1982. Lithium, sodium and potassium. pp. 225-246.
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. Biology and Fertility of Soils. 32: 8-16.
23. Luo, Y. and Zhou X. 2006. Soil respiration and the Environment. Academic press.
24. Lindsay, W.L. and Norvell, W.A. 1978. Development of a DTPA test for zinc, iron, manganese and copper, Soil Science Society of America Journal 42: 421- 428.
25. Maftoun, M.F., Rassooli, Z. Ali Nejad. and Karimian. 2004. Cadmium sorption behavior in some highly calcareous soils of Iran. Communications in Soil Science and Plant analysis. 35: 1271- 1282.
26. Makoi, H.J.R. and Ndakidemi, P.A. 2008. Selected soil enzymes: Example of their potential roles in the ecosystem. African Journal of Biotechnology 7(3): 181-191.
27. Nelson, D.W. and Sommers, L.E. 1996. Total carbon, organic carbon, and organic matter. In: Methods of Soil Analysis. D. L. Sparks et al. (eds.) part III, 3rd ed. American Society of Agronomy. Inc., Madison, WI. PP: 961–1010.
28. Olsen, S.R., Cole C.V., Watanabe F.S. and Dean L.A. 1954. Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate USDA Circ. No. 939.
29. Paulson, K.N. and Kurtz, L.T .1969.Locus of urease activity in soil. Soil Science Society of America Proceeding 33: 897-901.
30. Rhoades, J.D. 1996. Salinity: Electrical conductivity and total dissolved solids. In: Methods of Soil Analysis. D. L. Sparks et al. (eds.) part III, 3rd ed. American Society of Agronomy. Inc., Madison, WI. PP: 417- 436.
31. Rock, R.C., Walker, W.G. and Jennings, C.D. 1986. Nitrogen Metabolites and Renal Function. In: Textbook of Clinical Chemistry. Edited by NW Titez. WB Saunders. Philadelphia, USA.
32. Safari Sinegani, A.A. and Emtiazi, G. 2006. The relative effects of some elements on the DNS method in cellulose assay. Journal of Applied Sciences and Environmental Managment 10(3): 93-96.
33. Safari Sinegani, A.A. and Mirahamdi Araki, H. 2010. Changes in chemical forms of lead in temperate and semiarid soils in sterile and unsterile conditions. Environmental Chemistry Letters 8:323–330.
34. Safari Sinegani, A.A. and Jafari M. 2016. Chemical speciation and bioavailability of cadmium in the temperate and semiarid soils treated with wheat residue.Environmental Science and Pollution Research.
35. Singha, D.D., Anoop, S. and Gupta, A.P. 1998. Nitrogen transformation in sewage – sludge amended soil as influenced by addition of zinc, cadmium, and nickel. Indian Journal of Agricultural Sciences 68(2): 96-100. DOI: 10.1016/0269-7491(94)90140-6.
36. Sumner, M.E. and Miller, W.P. 1996. Cation exchange capacity and exchange coefficients. In: Methods of Soil Analysis. D. L. Sparks et al. (eds.) part III, 3rd ed. American Society of Agronomy. Inc., Madison, WI. PP: 1201- 1229.
37. Sun, B., Zhou, S.L. and Zhao, Q.G. 2003. Soil heavy metal compositive pollution based on spatial variation. Agriculture Environmental Sciences 22: 248-51
38. Tejada, M. 2009. Application of different organic wastes in a soil polluted by cadium. Effect on soil biological properties. Geoderma, 153: 254 - 268. DOI:10.1016/j. biortech2007.06.002.

39. Thomas, G.W. 1996. Soil pH and soil acidity. In: Methods of Soil Analysis. D. L. Sparks et al. (eds.) part III, 3rd ed. American Society of Agronomy. Inc., Madison, WI. PP: 475- 490.
40. Udawatta, R.P., Kremer, R.J., Garrett, H.E. and Anderson, S.H. 2009. Soil enzyme activities and physical properties in a watershed managed under agroforestry and row-crop systems. Agriculture, Ecosystems and Environment 131: 98-104.
41. Walkley, A. and Black, I.A. 1934. An examination of the Degtjareff method for determining organic carbon in soils: Effect of variations in digestion conditions and of inorganic soil constituents. Soil Science 63: 251-263.
42. Wang, B., Xue, S., Liu, G.B., Zhang, G.H., Li, G. and Ren, Z.P. 2012. Changes in soil nutrient and enzyme activities under different vegetations in the Loess Plateau area, Northwest China. Catena 92: 186-195.
43. Wang, J., Lu, Y. and Shen. G. 2007. Combined effects of cadmium and butachlor on soil enzyme activities and microbial community structure. Environmental Geology 51: 1221-1228.
44. Williams, C.T., Mc-Neilly, T. and Wellington, E.M.H. 1977. The decomposition of vegetation growing on metal mine waste. Soil Biology and Biochemistry 9: 271–275.
45. Yuangen, Y., Campbell, C.D., Clark, L., Cameron, C.M. and Paterson, E. 2006. Microbial indicators of heavy metal contamination in urban and rural soils. Chemosphere 63: 1942-1952.
46. Zalaghi, R. and Safari-Sinegani A.A. 2016. The importance of different forms of Pb on diminishing biological activities in a calcareous soil. Department of Soil Science, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.
47. Zheng, C.R., Tu, C. and Chen, H.M. 1999. Effect of combined heavy metal pollution on nitrogen mineralization potential, urease and phosphatase activities in a typic udic ferrisol. Pedosphere **9**(3), 251.

The effect of cadmium on soil respiration, urease activity and nitrification in a vermicompost-enriched calcareous soil over time

A. Salehian, A. Kasraian[1], and M. Vessal
Former MS Student, Islamic Azad University, Shiraz Branch; E-mail: yasgood42@yahoo.com
Assistant professor, Islamic Azad University, Shiraz Branch; E-mail: alkasra@yahoo.com
Professor, Islamic Azad University, Shiraz Branch; E-mail: mahmoodvessal@yahoo.ca
Received: August, 2016 & Accepted: July, 2017

Abstract

Today soil pollution with heavy metals, especially cadmium due to its abundance in agricultural land has gained much more attention. In the present research, the effects of 0, 2 and 5 mg Cd kg^{-1} soil were studied on soil respiration, mineralization of organic matter, urease activity and nitrification in a sandy clay loam soil containing 2% vermicompost. Cadmium concentrations were examined in a factorial layout with a completely randomized design (CRD) with three replications under laboratory conditions during 3, 7, 31, 62 and 93 days. Before starting the experiment, the soil incubated for two weeks with vermicompost to achieve consistency in biological conditions. The results showed that cadmium had significant effect on the soil respiration and soil organic matter content but it did not have any effect on the specific activity of urease and soil nitrate concentration. On the other hand, the results revealed that incubation time had a significant influence on all determined parameters including specific activity of urease, soil respiration, the organic matter content and the nitrate concentration ($P < 0.01$). The correlation coefficient between cadmium and examined parameters showed that cadmium treatment had no effect on urease activity and nitrification process and probably other soil properties affect the nitrification and urease activity in soil sample. Our results demonstrated that among investigated factors soil respiration and organic carbon percentage are the most sensitive ones in treated cadmium concentrations.

Keywords: Cadmium, Urease, Carbon mineralization, Soil respiration, Nitrate

[1.] Corresponding author: Soil Science Department, Faculty of Agricultural Engineering, Islamic Azad University, Shiraz Branch.