تأثیر کرم خاکی گونه *Eisenia fetida* در حضور ماده آلی برای زیست پالایی و فراهمی زیستی خاک‌های آلوده به کادمیوم

قاسم رحیمی[1*]، فیروزه نوروزی گلدره[2]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۸/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۶/۲۶)

چکیده

در زمینه ارزیابی خطرات زیست‌محیطی، کرم‌های خاکی جزء مهمی از خاک بوده که از لحاظ اکولوژیکی به‌عنوان یک شاخص زیستی برای حفظ سلامت و کیفیت خاک در نظر گرفته می‌شوند. مطالعه حاضر با هدف کارایی کرم‌های خاکی *Eisenia fetida* در پالایش زیستی خاک‌های آلوده به کادمیوم در حضور ماده آلی انجام شد. بدین منظور این تحقیق روی یک خاک آلوده نمونه‌برداری شده از معدن آهنگران در ۲۶ کیلومتری شهرستان ملایر و زمین‌های اطراف آن ، انجام شد. در این مطالعه شش نمونه خاک از عمق صفر تا ۱۵ سانتی‌متری در فواصل متفاوت اطراف معدن و یک نمونه خاک (نمونه شاهد) از منطقه غیرآلوده جمع‌آوری شد. این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با عامل اول نوع کودهای آلی (کود گاوی، پوره‌ی هویج، ورمی کمپوست و شاهد) و عامل دوم وجود یا عدم وجود کرم خاکی مورد بررسی قرار گرفت. ۱۲ عدد کرم خاکی با وزن بین ۰/۳ تا ۰/۶ گرم برای هر نمونه خاک (۳۰۰ گرم)، انتخاب شدند. کرم‌ها به مدت ۴۲ روز در معرض خاک‌های آلوده به کادمیوم با غلظت ۱/۱۶ تا ۶/۶۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم قرار گرفتند. در پایان آزمایش غلظت کادمیوم در خاک و بدن کرم‌های خاکی اندازه‌گیری شد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که کرم‌های خاکی، ظرفیت‌های متفاوتی برای جذب و تجمع کادمیوم دارند که این رفتار کرم‌های خاکی حاصل از نوع رژیم غذایی کرم‌های خاکی می‌باشد. بیش‌ترین غلظت کادمیوم در بافت کرم‌های خاکی در تمام تیمارها در نقطه S3 (نمونه خاک نمونه‌برداری شده از نقطه‌ی سوم) یافت شد که این نقطه نسبت به سایر نقاط به این فلز آلوده‌تر بود. هم‌چنین افزودن کود گاوی نسبت به سایر تیمارها باعث افزایش کادمیوم تجمعی در بافت کرم خاکی شد. غلظت کم کادمیوم در خاک منجر به بالا بودن فاکتور تجمع زیستی این فلز برای کرم خاکی شد که در این پژوهش مقدار فاکتور تجمع زیستی برای کادمیوم بیش‌تر از یک بدست آمد. کاربرد تیمارهای کود گاوی، ورمی کمپوست، پوره هویج به همراه کرم خاکی به‌ترتیب باعث افزایش معنی‌دار ۱/۵۴، ۱/۰۳ و ۱/۳۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم در بخش آلی و افزایش ۳/۰۲، ۲/۷۹ و ۲/۶۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم در بخش کربناته شد. بخش قابل استخراج که شامل اشکال قابل تبادل و کربناته و بخش آلی است، می‌تواند به عنوان یک شاخص خوب از لحاظ جذب قوی کادمیوم در خاک برای کرم‌های خاکی باشد. به‌طور کلی، کاربرد کودهای آلی به همراه کرم خاکی باعث افزایش کادمیوم در بخش آلی شد.

واژه‌های کلیدی: بخش‌بندی، جذب کادمیوم، فاکتور تجمع زیستی، *Eisenia foetida*

رحیمی ق.، نوروزی گلدره ف. ۱۴۰۰. تأثیر کرم خاکی گونه *Eisenia fetida* در حضور ماده آلی برای زیست پالایی و فراهمی زیستی خاک‌های آلوده به کادمیوم. تحقیقات کاربردی خاک. جلد ۹، شماره ۲. صفحه: ۱۱۶-۱۲۹.

۱- دانشیار گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا، همدان

۲- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

* پست الکترونیک: g.rahimi@basu.ac.ir

مقدمه

فلزات سنگین که در نقاط مختلف دنیا به شکل‌های گوناگون از لحاظ فیزیکی و شیمیایی و در عین حال در غلظت‌های مختلف به‌عنوان آلوده‌کننده محیط‌زیست وارد اکوسیستم می‌شوند تاکنون اثرات زیان‌باری را بوجود آورده‌اند. این فلزات سمّی معمولاً در فرآیند ضایعات حاصل از استخراج معدن، آبکاری فلزات، تجهیزات تولید برق، دستگاه‌های الکترونیکی واحدهای تولیدی و دباغ خانه‌ها وجود دارند (Wang, 2009) . صنعتی شدن جوامع بشر منجر به آزادسازی مقادیر قابل توجهی از عناصر فلزی به زیست‌کره گردیده است (Lasat *et al*, 1988).

در مناطق متعددی که تحت تأثیر فعالیت‌های معدن هستند همواره غلظت بالایی از عناصر سمّی تولید می‌کنند که اثرات سوء بر اکوسیستم دارند (Wiegleb & Felinks, 2001). بنابراین فعالیت معدن یکی از خطرناک‌ترین فعالیت‌های انسان در جهان (Adriano, 1986) و یکی از بزرگ‌ترین منابع آلودگی زیست‌محیطی ناشی از فلزات سنگین است که محیط زیست را در معرض خطر قرار می‌دهد. فلزات سنگین دارای ویژگی‌هایی نظیر تجمع‌پذیری زیستی، سمیّت بالا، ثبات شیمیایی، تجزیه‌پذیری ضعیف و نیز قابلیت انحلال زیاد در آب بوده که سبب آلودگی‌های وسیع در سطح خاک می‌شوند (Sizmur & Hodson, 2009). فلزات سنگین به دلیل سمیّت و ماندگاری آن‌ها در محیط زیست، تهدیدی جدی برای سلامت جامعه می‌باشند (Li & *et al*, 2014). از جمله فلزات سنگین موجود در خاک می‌توان به کادمیوم اشاره کرد. کادمیوم فلزی با بیش‌ترین عوارض روی سلامتی انسان بوده و بسیار سمّی می‌باشد (Berlin, 1985). کادمیوم به مرور در بدن موجودات زنده (به‌ویژه بافت کلیوی) تجمع می‌یابد و در بدن انسان دارای نیمه‌عمر زیستی طولانی ۱۶ تا ۳۳ سال می‌باشد (Richardson & Gangollil, 1993). هم‌چنین کادمیوم در اندام‌های بی مهرگان خاکزی از قبیل جورپایان و کرم‌های خاکی می‌تواند تجمع یابد که در نهایت کادمیوم در دسترس موجودات عالی‌تر تغذیه‌کننده از آن گروه،قرار می‌گیرد (Hopkin, 1989). کادمیوم توسط آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان، در گروه یک مواد سرطان‌زای انسانی طبقه‌بندی شده است و تحقیقات نشان داده که برای حیوانات آزمایشگاهی و وحشی سرطان‌زا می‌باشد (Waisberg & *et al*, 2003).

کرم‌های خاکی موجودات زنده خاک هستند که به‌طور معمول در مطالعات زیست‌محیطی و سمیّت‌شناسی زیستی استفاده می‌شوند (Dai & *et al*, 2004; Hobbelen & *et al*, 2006). این موجودات یکی از اجزای مهم خاک می‌باشند که نقش اساسی در حفظ ساختمان خاک، توسعه خاک و اثرات کلیدی در فرآیندهایی مانند تجزیه مواد آلی و مواد مغذی معدنی دارند (Dai & *et al*, 2004). این موجودات زنده خاک اطلاعات مهمی برای ارزیابی خطرات زیست‌محیطی را تأمین می‌کنند و به دلیل ارتباط نسبتاً مداوم بین غلظت برخی از آلوده‌کننده‌ها در بافت‌شان و در بخش‌های خاک یک شاخص مفید زیستی برای ارزیابی آلودگی به حساب می‌آیند (Lanno & *et al*, 2004). استفاده از کرم‌های خاکی در پالایش زیستی خاک یک روش زیستی است، به‌طوری که غلظت آلاینده‌ها در خاک از طریق فرآیند تجمع زیستی در بدن کرم‌های خاکی کاهش پیدا می‌کند (Slizovskiy & Kelsey, 2010). مطالعات آسمان و همکاران (Aseman & *et al*, 2015)، نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین میزان کاهش غلظت فلزات کروم و کادمیوم از خاک و تجمع این فلزات در بدن کرم خاکی وجود دارد. در مطالعه‌ای که توسط شاه منصوری و همکاران (2005 Shahmansouri *et al.*,) در خصوص تجمع زیستی فلزات سنگین در بدن کرم خاکی در طی فرآیند ورمی کمپوست صورت گرفت، مشخص گردید که غلظت فلزات سنگین از جمله کادمیوم با گذشت زمان در ورمی کمپوست کاهش و در بدن کرم خاکی افزایش یافته است.

حضور کرم‌های خاکی در محیط خاک می‌تواند قابلیت دسترسی زیستی آلاینده‌ها و فعالیت میکروبی را بهبود ببخشد که منجر به تجزیه میکروبی بیشتر آلاینده‌های خاک می‌شود. هم‌چنین از جمله مهم‌ترین موارد کاربرد این موجودات شامل تصفیه در مدیریت مواد زاید، به عنوان جاذب بیولوژیک در سمیت‌زدایی و پالایش خاک از فلزات سنگین و برخی از آفت‌کش‌های آلی، افزایش جمعیت و تقویت فعالیت‌های آنزیمی میکروارگانیسم‌های مفید خاک، بهبود کیفیت خاک و توسعه کشاورزی است (Zaltauskaite & Sodiene, ; Sun & *et al*, 2011) .(2010

کرم‌های خاکی به‌طور گسترده در فرآوری طیف وسیعی از ضایعات آلی مثل لجن فاضلاب، بقایای گیاهی، ضایعات صنعتی و کودهای حیوانی استفاده می‌شوند. مواد آلی پس از بلعیده شدن و عبور از دستگاه گوارش کرم‌ها دستخوش تغییرات فیزیکی، شیمیایی و زیستی زیادی می‌شوند، از جمله این تغییرات، افزایش قابلیت دسترسی فلزات می‌باشد (Martin, 1991). گزارش‌های زیادی مبنی بر تأثیر فعالیت کرم‌های خاکی بر تغییر توزیع فلزات در بخش‌های مختلف خاک وجود دارد (Ma & et al,2002). ون و همکاران (Wen & *et al*, 2006) افزایش بخش محلول، تبادلی و کربناته و کاهش در بخش مواد آلی را گزارش کردند.

با توجه به اینکه امروزه یکی از مهم‌ترین مشکلات زیست‌محیطی در سراسر دنیا آلودگی خاک‌های مناطق صنعتی و معادن و به ویژه زمین‌های کشاورزی اطراف این معادن، به فلزات سنگین می‌باشد و به دلیل اینکه استفاده از کرم‌های خاکی روش زیستی مناسبی برای حذف این فلزات از محیط خاک به‌شمار می‌آید، این مطالعه به‌منظور تعیین کارایی کرم خاکی ایزینیا فتیدا *(Eisenia fetida)* در پالایش زیستی خاک‌های کشاورزی آلوده اطراف معدن آهنگران و فراهمی زیستی کادمیوم اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

منطقه مورد مطالعه

این تحقیق روی یک خاک آلوده طبیعی برداشت شده از معدن سرب و روی آهنگران و زمین‌های اطراف آن انجام شد. معدن سرمک آهنگران در ۲۶ کیلومتری شهرستان ملایر، به سمت شهرستان اراک در استان همدان، به‌ترتیب با طول و عرض جغرافیایی "۴۴ '۵۹ °۴۸ و "۲۰ '۱۰ °۳۴ واقع شده است (شکل ۱)، آب و هوای این منطقه معتدل مدیترانه‌ای است.

نمونه‌برداری و اندازه‌گیری خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک

برای پژوهش حاضر شش نمونه مرکب خاک از عمق صفر تا ۱۵ سانتی‌متری از شش نقطه متفاوت از معدن در جهت شیب برداشت شد و یک نمونه خاک به عنوان نمونه شاهد (S7) از مناطق غیرآلوده (اطراف دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا) نیز جمع‌آوری شد. موقعیت قرارگیری نقاط به این صورت بود که نقطه S1 و S6، به‌ترتیب در نزدیک‌ترین و دورترین فاصله (یک کیلومتری معدن سرمک آهنگران در نزدیکی جاده) از معدن قرار گرفته بودند و سایر نقاط نمونه‌برداری S2، S3، S4 و S5 ما بین این دو نقطه قرار گرفتند. نمونه‌های خاک هوا خشک و از الک (mm<۲) عبور داده شدند. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک‌ها مانند هدایت الکتریکی (EC) در عصاره اشباع (Roades, 1996)، pH خاک با نسبت ۵:۱ خاک به آب (Reinecke, 1992)، کربن آلی خاک با روش والکلی-بلک (Walkey & Black, 1934)، بافت خاک با روش هیدرومتری (Bauycos,1962) و ظرفیت تبادل کاتیونی (CEC) به روش استات آمونیوم (Rowell, 1994)، مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۳). اندازه‌گیری غلظت کل کادمیوم در خاک به روش اسپوزیتو و همکاران (Sposito *et al*., 1982)، با هضم اسیدی خاک انجام شد. هم‌چنین عصاره‌گیری فلز سنگین از بخش‌های مختلف خاک برای تعیین غلظت کادمیوم در بخش‌های مختلف از روش عصاره‌گیری پی در پی اسپوزیتو و همکاران (Sposito *et al*., 1982)، استفاده شد. مراحل انجام آن در جدول ۱ آورده شده است. بنابراین غلظت کادمیوم در نمونه‌های به دست آمده توسط دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی مدل Varian 220 اندازه‌گیری شد (جدول ۱).

آماده‌سازی تیمارها و اجرای آزمایش

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. فاکتورهای مورد بررسی عبارت بودند از نوع کودهای آلی و وجود یا عدم وجود کرم خاکی. کودهای آلی شامل ورمی کمپوست، کود گاوی، پوره‌ی هویج با نسبت ۵۰ درصد و یک نمونه شاهد همراه با حضور یا عدم حضور کرم خاکی به ظروف حاوی ۳۰۰ گرم خاک مورد بررسی قرار داده شد. به منظور هوادهی کرم‌های خاکی، چهار طرف ظرف‌ها با حفره کوچک سوراخ شد و برای جلوگیری از خروج کرم‌ها از داخل ظرف، از توری‌های ریزی استفاده شد. رطوبت نمونه‌ها توسط آب مقطر به رطوبت مورد نیاز برای زنده ماندن کرم خاکی رسانده شد. سپس نمونه‌های مورد آزمایش به مدت سه روز به منظور ایجاد تعادل بین رطوبت خاک و تیمارهای مورد استفاده در داخل انکوباتور در دمای ۲±۲۱ درجه‌ی سلسیوس قرار داده شدند.

شکل۱- موقعیت منطقه مورد مطالعه

Figure 1. Location of study

جدول۱- عصاره‌گیرها و شرایط آزمایش برای تعیین کادمیوم به روش اسپوزیتو

Table 1. Extractors and test conditions for the determination of different parts of heavy metals by Esposito method

Heavy metal fractions	Duration	Extractor
Exchangeable fraction	16 hours (at laboratory temperature)	25 ml of potassium nitrate 0.5 molar
organic fraction	16 hours (at laboratory temperature)	25 ml sodium hydroxide 0.5 molar
Carbonate fraction	6 hours (at laboratory temperature)	25 ml of EDTA 0.05 molar
Remainder fraction	16 hours (at laboratory temperature)	25 ml HNO3

روش استفاده از کرم خاکی

کرم‌های خاکی مورد استفاده، ایزینیا فتیدا، از شرکت ورمی‌کمپوستینگ و تولیدکننده و عرضه‌کننده کرم ایزنیا فتیدا واقع در استان البرز، تهیه شد. همه کرم‌های خاکی به مدت دو ماه قبل از آزمایش در شرایط آزمایشگاهی در داخل انکوباتور کشت شدند (Nannoni *et al*, 2011).

آماده‌سازی برای اندازه‌گیری کادمیوم در بدن کرم خاکی سه روز بعد از ایجاد تعادل رطوبت بین مخلوط نمونه‌های خاک با هر یک از تیمارهای مورد استفاده، ۱۲ عدد کرم خاکی بالغ با میانگین وزن ۰/۳ تا ۰/۶ گرم انتخاب و با آب مقطر شسته شدند و سپس به مدت ۴۸ ساعت روی کاغذ صافی مرطوب در پلیت شیشه‌ای بدون هیچ مواد غذایی قرار داده شدند تا محتویات روده آن‌ها تخلیه شوند. برای جلوگیری از مدفوع خواری، کاغذ واتمن هر ۱۲ ساعت عوض می‌شد (Arnold & Hodson , 2007). پس از تخلیه روده، ۱۲ عدد کرم خاکی به هفت نمونه خاک مخلوط شده با تیمارها اضافه شد. پس از گذشت ۴۲ روز از شروع آزمایش، تمام کرم‌های خاکی باقی‌مانده برای آنالیز عناصر سنگین برداشت شدند. کرم‌های خاکی زنده با آب مقطر شسته شدند و پس از تخلیه روده، کرم‌های خاکی در دمای ۶۰ درجه سلسیوس در آون به مدت یک شب کشته شدند (Nahmani *et al*, 2007). برای اندازه-گیری کادمیوم از روش هضم با اسید (Li *et al*, 2014) استفاده شد. در این روش ۰/۱ گرم وزن خشک پودرشده کرم‌های خاکی در داخل لوله‌های آزمایش ریخته شد و به هر یک از نمونه‌ها ۱۲/۵ میلی‌لیتر نیتریک اسید (HNO_3) اضافه شد و به مدت هشت ساعت در دمای ۸۰ درجه سلسیوس در بن‌ماری قرار داده شد. پس از گذشت زمان یاد شده و سرد شدن نمونه‌ها، عصاره‌گیری شدند، سپس غلظت فلز سنگین کادمیوم توسط دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی مدل ۲۲۰ اندازه‌گیری شد.

فاکتور تجمع زیستی (BAF)

در این مطالعه، فاکتور تجمع زیستی به منظور برآورد فراهمی زیستی کادمیوم در گونه کرم خاکی مورد استفاده قرار گرفت؛ که از طریق نسبت غلظت فلز در کرم خاکی (میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک) به غلظت کل عنصر خاک (در میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک) محاسبه شد.

$$BAF = \frac{[metd]_{earthworm}}{[metd]_{soil}}$$

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه آماری داده‌ها برای خصوصیات اولیه خاک‌ها از طرح کامل تصادفی و برای بررسی تأثیر تیمارها بر فراهمی زیستی کادمیوم از فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با استفاده از نرم افزار SAS انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام شد. برای رسم نمودارها از برنامه Excel، نرم‌افزار MS Office استفاده شد.

بحث و نتایج

خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و غلظت کادمیوم خاک‌های مورد مطالعه

نتایج تجزیه خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و میانگین غلظت کادمیوم خاک‌های مورد مطالعه در جدول ۲ آورده شده است. بیش‌ترین مقدار کادمیوم در نقطه S3 برابر ۶/۶۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود و کم‌ترین مقدار میانگین آن در نقطه S6 برابر ۱/۸۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود (جدول ۵). اختلاف معنی‌داری بین تمام نقاط برای کادمیوم با نقطه غیرآلوده وجود داشت و نقاط S2 و S3 نسبت به سایر نقاط بالاترین مقدار فلز را دارا بودند (جدول ۵). از این رو سازمان اتحادیه اروپا (Eu)، حد مجاز کادمیوم در خاک را سه میلی‌گرم اعلام نموده است (Sharma & Prasad, 2010) و حضور مقادیر بالای سه میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم در خاک، نشان‌دهنده آلودگی کادمیوم در خاک است (Cicek & Koparal, 2004). بر اساس این نتایج، غلظت کادمیوم در نقاط S1، S2 و S3 در حد بحرانی بود.

جدول ۲- خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و میانگین (± اشتباه معیار) غلظت کادمیوم (میلی‌گرم بر کیلوگرم) خاک نمونه‌برداری شده از نقاط مختلف.

Table 2. Physical and chemical properties and the mean (± standard error) concentration of cadmium (mg kg^{-1}) of soil sampled from different points.

	pH	(EC) (ds m^{-1})	Organic (%) carbon	Cationic exchange capacity (Cmolc kg^{-1})	Cd (mg kg^{-1})	Clay (%)	Silt (%)	Sand (%)	Texture
S_1	8.23^{ab}	0.195^{a}	0.039^{d}	17.3^{d}	3.925 ± 0.06^{c}	14.8	31.4	53.8	sandy loam
S_2	8.09^{ab}	0.138^{b}	0.965^{b}	28.7^{a}	4.985 ± 0.15^{b}	30.8	36	33.2	clay loam
S_3	8.50^{a}	0.196^{a}	2.262^{a}	29.8^{a}	6.658 ± 0.03^{a}	26.8	32	41.2	clay loam
S_4	8.25^{ab}	0.111^{c}	0.682^{c}	22.9^{c}	2.248 ± 0.01^{d}	36.8	36	27.2	clay loam
S_5	8.15^{ab}	0.108^{c}	0.564^{c}	30.3^{a}	2.368 ± 0.08^{d}	26.8	29.4	43.8	loam
S_6	8.23^{ab}	0.108^{c}	0.663^{c}	29.4^{a}	1.875 ± 0.03^{e}	42.2	36.6	21.2	clay
S_7 Non-contaminated point	7.85^{b}	0.132^{b}	0.575^{c}	26.4^{b}	1.159 ± 0.23^{f}	24.8	20	55.2	sandy clay loam

حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده‌ی وجود تفاوت معنی‌دار بین نقاط نمونه‌برداری با استفاده از آنالیز مقایسه میانگین دانکن (P<۰/۰۵) می‌باشد.

Different letters in each row indicate a significant difference between the sampling points using Duncan's mean comparison analysis (P< 0.05).

تجمع فلز سنگین در بدن کرم خاکی

نتایج جدول تجزیه واریانس کادمیوم در نقاط نمونه‌برداری در جدول ۳ ارائه شده است. غلظت کادمیوم انباشته شده در بافت کرم‌های خاکی (در سطح پنج درصد) معنی‌دار شد. کرم‌های خاکی به طور قابل توجهی توانسته‌اند کادمیوم را از تمامی خاک‌های آلوده جذب کنند، بیش‌ترین غلظت کادمیوم در بافت کرم‌های خاکی *Eisenia fetida*، در نقاطی که نسبت به سایر نقاط نمونه-برداری دارای بیش‌ترین غلظت فلز مورد نظر (S2 و S3) بودند یافت شد (جدول ۴). بیش‌ترین غلظت کادمیوم در بافت کرم‌های خاکی در تمام تیمارها در نقطه S3 یافت شد که این نقطه نسبت به سایر نقاط به این فلز آلوده‌تر بود. غلظت کادمیوم در بافت کرم‌های خاکی در تیمارها تفاوت معنی‌داری داشت (P۰۰۰۱>). افزودن کود گاوی نسبت به سایر تیمارها باعث افزایش معنی‌دار کادمیوم تجمعی در بافت کرم‌خاکی شد. تفاوت در تیمارها به احتمال زیاد به علت اجزای عوامل مختلف، از جمله

تحرک کرم‌های خاکی، ناهمگنی خاک و نوع تغذیه می‌باشد (Nannoni *et al*, 2011).

با توجه به این که کادمیوم یک فلز سمّی و غیرضروری برای کرم‌های خاکی می‌باشد، اما به طور قابل ملاحظه‌ای توسط کرم‌های خاکی جذب شده است (جدول ۴). تجمع کادمیوم توسط کرم‌های خاکی را می‌توان به عدم توانایی این موجودات زنده خاک، به دفع این فلز غیرضروری توسط کرم‌های خاکی (Marino & Morgan, 1999)، تحرک و فراهمی زیستی بالای این فلز در خاک نسبت داد (Nannoni *et al*, 2011). مارینو و مورگان (Marino & Morgan, 1999)، گزارش کردند که دفع دشوار کادمیوم توسط کرم‌های خاکی منجر به تجمع این فلز در کرم خاکی می‌شود، که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد. فاکتور تجمع زیستی فلز سنگین در بدن کرم خاکی یکی از روش‌های بررسی جذب فلزات توسط موجودات زنده، ارزیابی فراهمی زیستی فلزات در عصاره‌های خاک است که توسط فاکتور تجمع زیستی (BAF)، تعیین می‌شود (Nannoni *et al*, 2011). جدول ۵ میانگین فاکتور تجمع زیستی فلز کادمیوم کرم‌های خاکی را نشان می‌دهد. مقدار فاکتور تجمع زیستی فلز کادمیوم بیش‌تر از یک بود. یکی از دلایل بالا بودن مقدار فاکتور تجمع زیستی برای فلز کادمیوم می‌تواند کم بودن مقدار این فلز در خاک (جدول ۵) باشد. چاپمن و همکاران (Chapman *et al*, 1996)، گزارش کردند که غلظت کم کادمیوم در خاک منجر به بالا بودن فاکتور تجمع زیستی این فلز برای کرم-های خاکی می‌شود که این گزارش‌ها با نتایج این مطالعه مطابقت داشت. علاوه بر این، تفاوت آماری معنی‌داری ($P<۰/۰۰۰۱$) در مقدار فاکتور تجمع زیستی فلز سنگین بین نقاط نمونه‌برداری در تمام تیمارها وجود داشت. با توجه به این که مقدار فلز سنگین در نقطه‌ی غیرآلوده نسبت به نقاط آلوده کم‌تر بود، بیش‌ترین میزان فاکتور تجمع زیستی فلزات در تمام تیمارها در نقطه‌ی غیرآلوده (S7) مشاهده شد. دای و همکاران (Dai *et al.*, 2004)، مقدار فاکتور تجمع زیستی فلزات مس، روی، سرب و کادمیوم در کرم‌های خاکی آپروکتودا کالیجینوزا (*Aporrectodea caliginsa*) و لومبرکوس روبلوس (*Lumbricus rubellus*) ساکن خاک به ترتیب کادمیوم>روی>مس>سرب گزارش کردند.

جدول۳- تجزیه واریانس غلظت کادمیوم در بافت کرم‌های خاکی پس از ۴۲ روز قرار گرفتن در معرض خاک آلوده

Table 3. Analysis of variance of cadmium concentrations in the tissues of earthworms after 42 days of exposure to contaminated soil

Source of Variation	f values	Degree of Freedom	Mean Square Cd
Sampling points	40.48	6	245.92**
Treatment	61.66	3	375.60**
S*T	13.81	13	83.89**
Error	-	68	3229.11

**: نشان دهنده‌ی اختلاف معنی داری را در سطح پنج درصد

** : indicates a significant difference at the 5% level

اثر کرم خاکی بر فراهمی زیستی کادمیوم

فلزات سنگین در خاک به چهار بخش شامل بخش محلول و تبادلی، بخش متصل به مواد آلی، بخش متصل به کربناته و بخش باقی‌مانده تقسیم بندی می‌شود. قابلیت جذب و فراهمی هر یک از این بخش‌ها متفاوت بوده و فراهمی زیستی فلزات سنگین در خاک نه تنها به میزان حلالیت آن‌ها، بلکه به سرعت تبدیل بخش‌های مختلف فلزات به شکل محلول بستگی دارد. بخش محلول و تبادلی، بخش قابل استفاده زیستی هر فلز می‌باشد، در حالی که بخش کربناته، بخش غیرمتحرک و غیرقابل جذب می‌باشد. فلزهای متصل به بخش آلی می‌تواند با ریخت‌های مواد آلی از طریق فرآیندهای کمپلکس شدن و تجمع زیستی همراه باشند و با تجزیه مواد آلی آزاد شوند، بنابراین تحرک بالایی دارند. بخش باقی‌مانده، بخشی از فلزها هستند که به شکل پیوندهای محکم اکسیدی، رسوب و کمپلکس‌های قوی به صورت نسبتاً پایدار هستند و در شرایط گوناگون تغییرات قابل چشمگیری پیدا نمی‌کنند این بخش غیرمتحرک بوده و غیرقابل جذب می‌باشد. (Feng Peng *et al*, 2009; Feng *et al*, 2012).

جدول ۴- میانگین غلظت کل کادمیوم (میلی‌گرم بر کیلوگرم) در بافت کرم‌های خاکی پس از ۴۲ روز قرار گرفتن در معرض خاک آلوده

Table 4. Mean concentration of total cadmium (mg kg^{-1}) in the tissues of earthworms after 42 days exposure to contaminated soil

Heavy metal (mg kg^{-1})	Treatment	sampling points						
		S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7 Unpolluted point
Cd	Manure	28.0 b	26.7b	48.4a	22.0 bc	22.0 bc	18.7 c	18.0c
	Plant Fertilizer (*)	_	13.1c	28.9a	16.1bc	16.9b	14.8b	12.7c
	Vermicompost (*)	_	_	19/3a	_	_	15.9b	15.6c
	Control	17.8d	17.7d	21.6a	19.5b	17.2c	18.4c	18.7bc

حروف کوچک متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده‌ی وجود تفاوت معنی‌دار بین نقاط نمونه‌برداری در هر تیمار با استفاده از آنالیز مقایسه میانگین دانکن (P<۰/۰۵) می‌باشد. (*) به دلیل عدم مشاهده‌ی کرم خاکی در بعضی از نقاط نمونه برداری در تیمار پوره‌ی هویج (S1) و ورمی کمپوست (S1، S2، S4 و S5)، این نقاط فاقد عدد بودند.

The lower case letters in each row indicate a significant difference between the sampling points in each treatment using Duncan's mean comparison (P<0.05). (*) Due to the lack of observation of earthworms in some sampling points in the treatment of plant fertilizers (S1) and vermicompost (S1, S2, S4, and S5), these points were not number.

جدول ۵- میانگین فاکتور تجمع زیستی غلظت کل کادمیوم (میلی‌گرم بر کیلوگرم) در بافت کرم‌های خاکی پس از ۴۲ روز قرار گرفتن در معرض خاک آلوده

Table 5. Average bio-concentration factor of total concentration of cadmium (mg / kg) in the tissues of earthworms after 42 days exposure to contaminated soil

Heavy metals	Treatment	sampling points						
		S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7 Unpolluted point
Cd	Manure	7.14f	5.36g	7.27e	8.93d	9.29c	9.96b	15.53a
	Plant Fertilizer (*)	_	2.62f	4.43e	6.53d	7.16c	7.87b	10.93a
	Vermicompost (*)	_	_	3.09c	_	_	8.47b	13.59a
	Control	4.52d	3.54e	3.23e	7.90c	7.44c	9.80b	16.13a

حروف کوچک متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده‌ی وجود تفاوت معنی‌دار بین نقاط نمونه‌برداری در هر تیمار با استفاده از آنالیز مقایسه میانگین دانکن (P<۰/۰۵) می‌باشد. (*) به دلیل عدم مشاهده‌ی کرم خاکی در بعضی از نقاط نمونه برداری در تیمار پوره‌ی هویج (S1) و ورمی کمپوست (S1، S2، S4،S5)، این نقاط فاقد عدد بودند.

The lower case letters in each row indicate a significant difference between the sampling points in each treatment using Duncan's mean comparison (P<0.05). (*) Due to the lack of observation of earthworms in some sampling points in the treatment of plant fertilizers (S1) and vermicompost (S1, S2, S4, and S5), these points were not number.

نتیجه تجزیه واریانس تأثیر کود آلی بر بخش‌بندی کادمیوم (جدول ۶) نشان داد که تأثیر کود آلی و کرم خاکی (در پایه احتمال یک درصد)، بر مقدار کادمیوم در بخش آلی و کربناته معنی‌دار گردید، اما تأثیر این تیمارها در بخش تبادلی و باقی‌مانده معنی دار نشد. به منظور بررسی مقایسه میانگین برهمکنش کودهای آلی و کرم خاکی مورد بررسی قرار گرفت.

بخش تبادلی کادمیوم

مقایسه میانگین اثر برهمکنش دو جانبه بخش‌بندی کادمیوم در بخش تبادلی (شکل ۲) نشان داد که در تیمار شاهد (WE,T0) اضافه کردن کرم خاکی باعث افزایش کادمیوم تبادلی نسبت به تیمار بدون کرم خاکی شد هر چند این افزایش چشمگیر نبود. از طرفی کاربرد پوره هویج همراه با کرم خاکی (T2, WE)، باعث افزایش کادمیوم در بخش تبادلی شد که تفاوت معنی‌داری بین این تیمار با کود گاوی بدون تلقیح با کرم خاکی (T1, NE)، مشاهده نشد اما با سایر تیمارها معنی‌دار بود. فعالیت کرم خاکی به دلیل اثرات آن‌ها بر فعالیت میکروبی و معدنی کردن کربن آلی، مقدار کربن آلی خاک را افزایش می‌دهد (Sizmur & *et al*, 2011)، آلی خاک می‌شود (Caravaca & Roldan, 2003). افزایش در کربن آلی دفع فلزات سنگین را به وسیله تأثیر بر تعادل جذب و دفع فلزات سنگین را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Antoniadis & Alloway, 2002). بنابراین این افزایش در کربن آلی خاک باعث افزایش بخش کادمیوم محلول و تبادلی با تلقیح کرم خاکی در خاک مورد مطالعه شده است. یافته‌های مشابهی توسط ون و همکاران (Wen *et al*, 2004)، گزارش شده است. آقابابایی و همکاران (Aghababaei *et al*, 2014)، نشان دادند که افزایش در

کربن آلی خاک توسط فعالیت کرم خاکی ممکن است به افزایش در غلظت کادمیوم و سایر فلزات سنگین (کروم، کبالت، نیکل، روی، مس و سرب) در بخش محلول و قابل تبادل کمک کند.

جدول ۶- نتایج تجزیه واریانس اثر کود آلی و کرم خاکی بر روی بخش‌بندی فلز کادمیوم

Table 6. Results of analysis of variance of organic fertilizer and earthworm on cadmium metal fragmentation

Source of Variation	Degree of freedom	Mean squares			
		Exchange section	Organic section	Carbonate section	Remaining section
Organic Fertilizer	3	0.128^{ns}	2.50^{**}	18.0^{**}	155835^{ns}
Earthworm	1	0.105^{ns}	8.82^{**}	45.71^{**}	106927^{ns}
O*E	3	0.237^{**}	2.03^{**}	7.02^{**}	184947^{ns}
Error	108	0.02	0.01	0.05	8950

** و ns: به‌ترتیب نشان دهنده‌ی معنی‌داری در سطح یک درصد و عدم معنی‌داری می‌باشد.

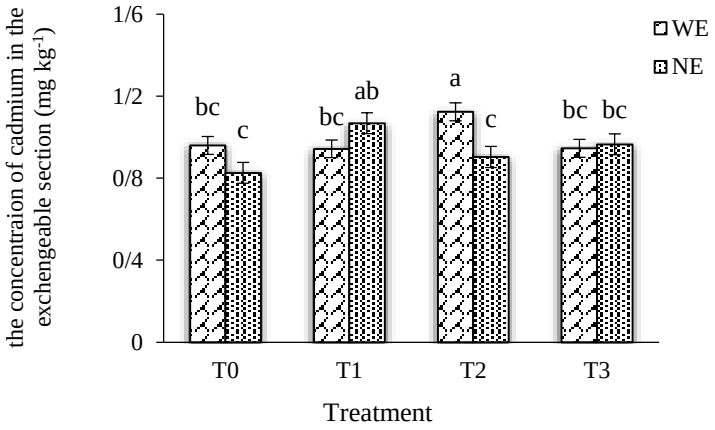
** and ns : indicates a significant difference at the 1% level، respectively.

بخش مواد آلی کادمیوم

نتایج حاصل از مقایسه میانگین بخش مواد آلی در شکل ۳ ارائه شده است. کاربرد تیمارهای کود گاوی، ورمی کمپوست، پوره‌ی هویج همراه با کرم خاکی نسبت به عدم حضور آن به ترتیب باعث افزایش معنی‌دار ۱/۵۴، ۱/۰۳ و ۱/۳۸ میلی گرم بر کیلوگرم کادمیوم در بخش آلی شد. افزایش کادمیوم در بخش آلی را می‌توان به تحریک فرآیند معدنی شدن ماده آلی و هوموسی شدن آن از طریق تغذیه، حفر کانال و فعالیت متابولیکی کرم خاکی نسبت داد (Edwards & Bohlen, 1996). فعالیت کرم‌های خاکی منجر به افزایش جمعیت میکروبی و فعالیت متابولیک خاک می‌شود (Wen *et al.*, 2004)، که نتیجه آن تجزیه ماده آلی به اجزای محلول در آب با وزن مولکولی کم است. کرم‌های خاکی نیز می‌توانند فلز متصل به بخش آلی را از طریق دفع و تجزیه ترکیبات آلی (Brown *et al*, 2000) که ممکن است کمپلکس قوی با فلزات (Kızılkaya & Hepsen, 2004) تشکیل دهند را افزایش دهند.

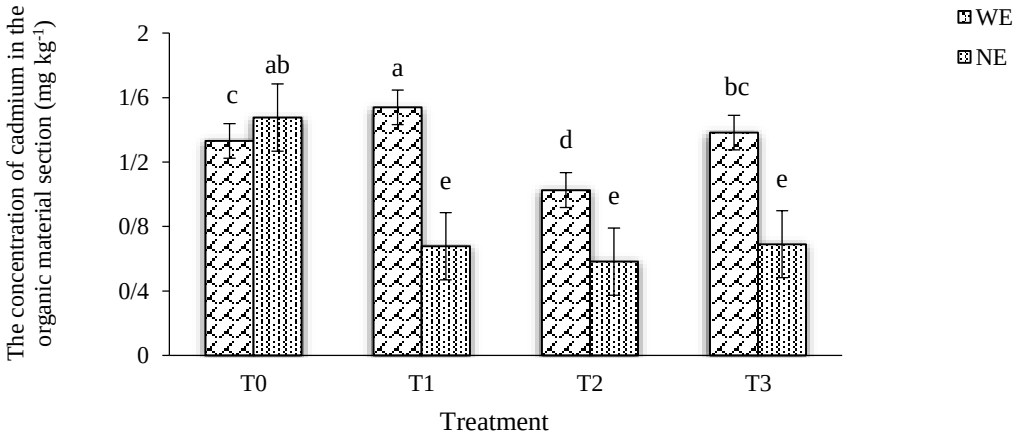
اثر کرم خاکی بر فراهمی زیستی کادمیوم

فلزات سنگین در خاک به چهار بخش شامل بخش محلول و تبادلی، بخش متصل به مواد آلی، بخش متصل به کربناته و بخش باقی‌مانده تقسیم بندی می‌شود. قابلیت جذب و فراهمی هر یک از این بخش‌ها متفاوت بوده و فراهمی زیستی فلزات سنگین در خاک نه تنها به میزان حلالیت آن‌ها، بلکه به سرعت تبدیل بخش‌های مختلف فلزات به شکل محلول بستگی دارد. بخش محلول و تبادلی، بخش قابل استفاده زیستی هر فلز می‌باشد، در حالی که بخش کربناته، بخش غیرمتحرک و غیرقابل جذب می‌باشد. فلزهای متصل به بخش آلی می‌تواند با ریخت‌های مواد آلی از طریق فرآیندهای کمپلکس شدن و تجمع زیستی همراه باشند و با تجزیه مواد آلی آزاد شوند، بنابراین تحرک بالایی دارند. بخش باقی‌مانده، بخشی از فلزها هستند که به شکل پیوندهای محکم اکسیدی، رسوب و کمپلکس‌های قوی به صورت نسبتاً پایدار هستند و در شرایط گوناگون تغییرات قابل چشمگیری پیدا نمی‌کنند این بخش غیرمتحرک بوده و غیرقابل جذب می‌باشد. (Feng Peng *et al*, 2009; Feng *et al*, 2012).



شکل۲ – اثر متقابل کود آلی و کرم خاکی بر کادمیوم در بخش تبادلی خاک. T_0، T_1، T_2، T_3 به ترتیب نشان‌دهنده‌ی تیمار شاهد، تیمار کود گاوی، تیمار پوره‌ی هویج، تیمار ورمی کمپوست و W_E، N_E به ترتیب نشان‌دهنده‌ی تیمار دارای کرم خاکی و بدون کرم خاکی می‌باشد. حروف مشابه بر روی هر یک از ستون‌ها نشان‌دهنده‌ی عدم تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد آزمون دانکن می‌باشد. خطوط عمودی بر روی هر ستون نشان‌دهنده‌ی انحراف استاندارد داده‌ها است.

Figure 2. Interaction of organic fertilizers and earthworms on cadmium in the exchange part of soil. T0, T1, T2, T3 representing control treatment, manure application, carrot pulp treatment, vermicompost treatment and WE, NE, respectively, indicating the treatment of earthworms and no worms. The same letters on each column indicate no significant difference at the 1% Duncan test. The vertical lines on each column represent the standard deviation of the data.



شکل ۳- اثر متقابل کود آلی و کرم خاکی بر کادمیوم در بخش پیوند یافته به مواد آلی خاک. T0، T1، T2و T3 به ترتیب نشان‌دهنده‌ی تیمار شاهد، تیمار کود گاوی، تیمار پوره‌ی هویج، تیمار ورمی کمپوست و WE، NE به ترتیب نشان‌دهنده‌ی تیمار دارای کرم خاکی و بدون کرم خاکی می‌باشد. حروف مشابه بر روی هر یک ستون‌ها نشان‌دهنده‌ی عدم تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد آزمون دانکن می‌باشد. خطوط عمودی بر روی هر ستون نشان‌دهنده انحراف استاندارد داده‌ها است.

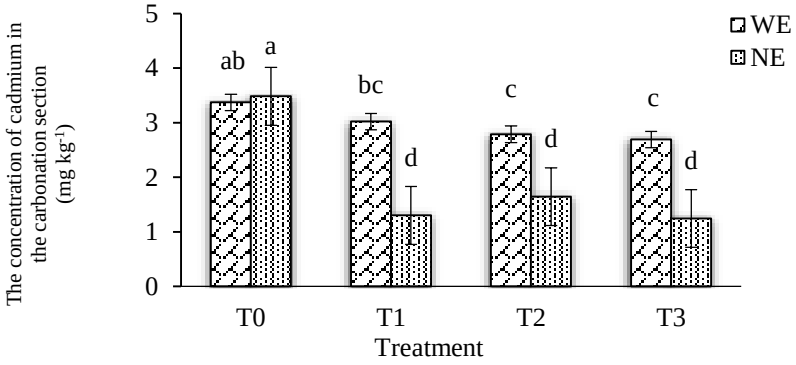
Figure 3. Interaction of organic fertilizers and earthworms on cadmium in the section bound to organic soils. T0, T1, T2, T3 representing control treatment, manure application, carrot pulp treatment, vermicompost treatment and WE, NE, respectively, indicating the treatment of earthworms and no worms. The same letters on each column indicate no significant difference at the 1% Duncan test. The vertical lines on each column represent the standard deviation of the data.

تیمار شاهد همراه با کرم خاکی (T0, WE)، نسبت به تیمار شاهد بدون کرم خاکی (T0, NE)، باعث کاهش غلظت کادمیوم در بخش پیوندیافته به ماده آلی شد هر چند که این کاهش چشمگیر نبود (شکل ۳). از آنجایی که اجزای آلی به راحتی توسط میکروارگانیسم‌های خاک تجزیه می‌شوند و فلزات متصل شده به اجزای آلی برای موجودات زنده قابل دسترس‌تر است (Cheng & Wong, 2002)، بنابراین در مطالعه حاضر، کادمیوم عمدتاً در

بخش آلی وجود دارد که می‌تواند به طور بالقوه برای موجودات زنده قابل دسترس باشد؛ بنابراین کاهش مشاهده شده در تیمار شاهد همراه با کرم خاکی احتمال دارد به دلیل جذب کادمیوم از بخش آلی توسط کرم خاکی نسبت به تیمار شاهد تلقیح نشده با کرم خاکی شده است.

بخش کربناته کادمیوم

نتایج جدول تجزیه واریانس بخش‌بندی کادمیوم نشان داد که تیمارهای گوناگون کرم خاکی و کود آلی روی بخش کربناته این فلز پیامد معنی‌داری داشتند (جدول ۸). مقایسه میانگین برهمکنش دوجانبه کادمیوم در بخش کربناته در شکل ۴ ارائه شده است. کرم خاکی در تیمار شاهد باعث کاهش غیرمعنی‌دار، کادمیوم در بخش کربناته شد که نشان می‌دهد، کرم خاکی تأثیری بر روی کادمیوم کربناته نداشته است. فعالیت ایزنیا فتیدا در خاک آلوده توسط فعالیت‌های معدن کاری و معدن‌کاوی، فرم شیمیایی کادمیوم را با افزایش قابل توجهی در بخش غیر باقی‌مانده از خاک تحت تأثیر قرار داد (Ruiz *et al*, 2009) در pH بالاتر در روده کرم خاکی، به دلیل دفع آمونیاک و یا کربنات کلسیم نیز رسوب فلز با کربنات‌ها (Udovic & Lestan, 2010)، می‌تواند انجام گیرد. با این وجود، در برخی مطالعات، الگوی مشخصی از تأثیر کرم‌های خاکی در جزءبندی فلزات مرتبط با مواد آلی و کربناته وجود ندارد (Wen *et al*, 2004; Ruiz *et al*, 2011)، که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد.



شکل۴ - اثر متقابل کود آلی و کرم خاکی بر فلز کادمیوم در بخش کربناته خاک.

T0، T1، T2، T3 به ترتیب نشان‌دهنده‌ی تیمار شاهد، تیمار کود گاوی ، تیمار پوره‌ی هویج، تیمار ورمی کمپوست و WE، NE به ترتیب نشان‌دهنده‌ی تیمار دارای کرم خاکی و بدون کرم خاکی می‌باشد. حروف مشابه بر روی هر یک ستون‌ها نشان‌دهنده‌ی عدم تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد آزمون دانکن می‌باشد. خطوط عمودی بر روی هر ستون نشان‌دهنده انحراف استاندارد داده‌ها است.

Figure 4. Interaction of organic fertilizers and earthworms on cadmium in carbonate soil.

T0, T1, T2, T3 representing control treatment, manure application, carrot pulp treatment, vermicompost treatment and WE, NE, respectively, indicating the treatment of earthworms and no worms. The same letters on each column indicate no significant difference at the 1% Duncan test. The vertical lines on each column represent the standard deviation of the data.

استفاده از کودهای آلی همراه با کرم خاکی باعث شد که این بخش نسبت به نمونه‌های بدون تلقیح به‌طور چشمگیری افزایش یابد. کاربرد تیمارهای کود گاوی، ورمی‌کمپوست، پوره‌ی هویج همراه با کرم خاکی به‌ترتیب باعث افزایش ۳/۰۲، ۲/۷۹ و ۲/۶۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم در بخش کربناته شد؛ از طرفی کاربرد کودهای آلی باعث کاهش بخش کادمیوم کربناته نسبت به تیمار شاهد (با کرم و بدون کرم) شد، ولی کود گاوی همراه با کرم خاکی نسبت به شاهد همراه با کرم خاکی تغییر معنی‌داری روی غلظت کادمیوم در این بخش انجام نداد. بنابراین کرم خاکی می‌تواند روی بخش کربناته فلز کادمیوم با مواد آلی تأثیر بسزایی داشته باشد.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این مطالعه حاکی از آن است که بیش‌ترین غلظت کادمیوم در بافت کرم‌های خاکی در تمام تیمارها در نقطه S3 (نمونه خاک نمونه‌برداری شده از نقطه سوم) یافت شد که این نقطه نسبت به سایر نقاط به این فلز آلوده‌تر بود. کرم‌های خاکی دارای ظرفیت‌های متفاوت برای جذب و تجمع کادمیوم دارند. که این رفتار کرم‌های

خاکی حاصل از نوع رژیم غذایی و کرم‌های خاکی می‌باشد. از آنجایی که غلظت کم کادمیوم در خاک منجر به بالا بودن فاکتور تجمع زیستی فلزات برای کرم‌های خاکی می‌شود مقدار فاکتور تجمع زیستی برای فلز کادمیوم بیش‌تر از یک بدست آمد. کاربرد تیمارهای کود گاوی، ورمی‌کمپوست، پوره‌ی هویج همراه با کرم خاکی به‌ترتیب باعث افزایش معنی‌دار ۱/۵۴، ۱/۰۳ و ۱/۳۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم در بخش آلی و افزایش ۳/۰۲، ۲/۷۹ و ۲/۶۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم در بخش کربناته شد. بخش قابل استخراج که شامل اشکال قابل تبادل و کربنات‌ها و بخش آلی است، می‌تواند به عنوان یک شاخص خوب از لحاظ جذب قوی کادمیوم در خاک برای کرم‌های خاکی باشد. این تغییر در توزیع بخش‌های مختلف نشان می‌دهد که فعالیت کرم‌های خاکی و کاربرد کودهای آلی هر کدام یک فاکتور مهم و تأثیرگذار در توزیع فلزات در بخش‌های مختلف و زیست فراهمی آن‌ها می‌باشد. با توجه به انجام شدن این طرح در شرایط آزمایشگاهی پیشنهاد به ادامه طرح در شرایط آزمایشگاهی با همان تیمارها در زمان طولانی‌تری به منظور بررسی دقیق‌تر فراهمی زیستی فلزات سنگین می‌شود.

Reference

Adriano D., 1986. Heavy metal metals in the environment Springer-Verlag. New York.

Aghababaei F., Raiesi F., and Hosseinpur A., 2014. The combined effects of earthworms and arbuscular mycorrhizal fungi on microbial biomass and enzyme activities in a calcareous soil spiked with cadmium. *Applied Soil Ecology*, 75: 33-42.

Antoniadis, V., and Alloway, B. 2002. The role of dissolved organic carbon in the mobility of Cd, Ni and Zn in sewage sludge-amended soils. *Environmental Pollution*, 117: 515-521.

Arnold R., and Hodson M. 2007. Effect of time and mode of depuration on tissue copper concentrations of the earthworms *Eisenia andrei*, *Lumbricus rubellus* and *Lumbricus terrestris*. *Environmental Pollution*, 148: 21-30.

Aseman E., Mostafaei G., Sayaf H., Asgharnia H., Akbari H., Iranshahi L. 2015. Investigation of bioremediation of soils contaminated with chromium and cadmium by earthworms *Eisenia fetida*. *Health and the Environment*, 8: 357-366.

Bauycos G.J. 1962. Hydrometer methods improved for making particle size of soils. *Agronomy Journal*, 56: 464-465.

Berlin M., 1985. Handbook of the toxicology of metals. Elsevier Science Publishers, 2nd Ed. London. Bhagwant, S. & Bhikagee, M. 2000. Induction of hypochromic Macrocytic Anemia in Oreohromis hybrid the dependency on exposure time. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 9 (2): 179-88.

Brown G.G., Barois, I., and Lavelle, P. 2000. Regulation of soil organic matter dynamics and microbial activityin the drilosphere and the role of interactions with other edaphic functional domains. *European Journal of Soil Biology*, 36: 177-198.

Caravaca F., and Roldan A. 2003. Assessing changes in physical and biological properties in a soil contaminated by oil sludges under semiarid Mediterranean conditions. *Geoderma*, 117: 53-61.

Chapman P.M., Allen H.E., Godtfredsen K., and Z'Graggen M.N. 1996. Policy analysis, peer reviewed: Evaluation of bioaccumulation factors in regulating metals. *Environmental Science & Technology*, 30: 448A-452A.

Cheng J., Wong M.H. 2002. Effects of earthworms on Zn fractionation in soils. *Biology and Fertility of Soils*. 36: 72-78.

Cicek A., and Koparal A.S. 2004. Accumulation of sulphur heavy metals in soil and tree leaves sampled from the surroundings of Tuncbilek thermal power plant. *Chemosphere*, 57: 1031-1036.

Dai J., Becquer T., Rouiller J.H., Reversat G., Bernhard-Reversat F., Nahmani J., and Lavelle P. 2004. Heavy metal accumulation by two earthworm species and its relationship to total and DTPA-extractable metals in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 36: 91-98.

Edwards C.A., and Bohlen P.J., 1996. Biology and Ecology of Earthworms, 3th Ed. Chapman and Hall, London.

Feng Peng F., Hui Song, Y., Yuan P., Cui X., and Qiu, G. 2009. The remediation of heavy metals contaminated sediment. *Hazardous Materials*, 161: 633–640.

Feng W., Banner J.L., Guilfoyle A.L., Musgrove M., and James E.W. 2012. Oxygen isotopic fractionation between drip water and speleothem calcite: A 10-year monitoring study, central Texas, USA. *Chemical Geology*, 304-305: 53-67.

Hobbelen P., Koolhaas J., and Van Gestel, C. 2006. Bioaccumulation of heavy metals in the earthworms *Lumbricus rubellus* and *Aporrectodea caliginosa* in relation to total and available metal concentrations in field soils. *Environmental Pollution*, 144: 639-646.

Hopkin S.P. 1989. Ecophysiology of metals in invertebrates. Elsevier Applied Science, London.

Waisberg M., Joseph P., Hale B., and Beyersmann D. 2003. Molecular and cellular mechanisms of cadmium carcinogenesis. *Toxicology*, 192: 95-117

Kızılkaya R., and Hepsen S. 2004. Effect of biosolid amendment on enzyme activities in earthworm (Lumbricus terrestris) casts. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 167: 202-208.

Lanno R., Wells J., Conder J., Bradham K., and Basta N. 2004. The bioavailability of chemicals in soil for earthworms. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 57: 39-47.

Lasat M.M., Baker A.J.M., and Kochian L.V. 1998. Altered Zn compartmentation in the root symplasm and stimulated Zn absorbtion into the leaf as mechanisms involved in Zn hyperaccumulation in *Thlaspi caerulescens*. *Plant Physiology*, 112: 1715-1722.

Li Z., Ma Z., van der Kuijp T.J., Yuan Z., and Huang L. 2014. A review of soil heavy metal pollution from mines in China: pollution and health risk assessment. *Science of the Total Environment*, 468: 843-853.

Ma Y., Dickinson N.M., and Wong M.H. 2002. Toxicity of Pb/Zn mine tailings to the earthworm Pheretima and effects of burrowing on metal availability. *Biology and Fertility of Soils*, 36: 79-86

Marino F., and Morgan A. 1999. The time-course of metal (Ca, Cd, Cu, Pb, Zn) accumulation from a contaminated soil by three populations of the earthworm, *Lumbricus rubellus*. *Applied Soil Ecology*, 12: 169-177.

Martin A. 1991. Short and long term effects of the endogenic earthworms *Millsonia anomala* of tropical savannas, on soil organic matter. *Biology and Fertility of Soils*, 11: 234-238.

Nannoni F., Protano G., and Riccobono F. 2011. Fractionation and geochemical mobility of heavy elements in soils of a mining area in northern Kosovo. *Geoderma*, 161: 63-73.

Nannoni F., Protano G., and Riccobono F. 2011. Uptake and bioaccumulation of heavy elements by two earthworm species from a smelter contaminated area in northern Kosovo. *Soil Biology and Biochemistry*, 43(12): 2359-2367.

Nahmani J., Hodson M.E., and Black S. 2007. A review of studies performed to assess metal uptake by earthworms. *Environmental Pollution*, 145: 402-424.

Reinecke A.J. 1992. A review of ecotoxicological test methods using earthworms.In:In: Greig-Smith P.W., Becker H., Edwards, P.J., and Heimbach, F. (Eds.), Ecotoxicology of Earthworms. Intercept, Hants, Pp.7-19.

Richardson M.L., and Gangollil S. 1993. The Dictionary of substances and their effects, vol.2C.Royal Society of Chemistry, London, UK.

Roades J.D. 1996. Salinity: Electrical conductivity and total dissolved solids." Methods of soil analysis: Part 3 Chemical methods 5. Madison. Wisconsin, USA. 417-436.

Rowell D.L. 1994. Soil science methods and Application, part7. Measurement of the composition of soil solution. PP. 146.

Ruiz E., Rodríguez L., and Alonso-Azcárate J. 2009. Effects of earthworms on metal uptake of heavy metals from polluted mine soils by different crop plants. *Chemosphere*, 75: 1035-1041.

Ruiz E., Alonso-Azcárate J., and Rodríguez L. 2011. *Lumbricus terrestris* L. activity increases the availability of metals and their accumulation in maize and barley. *Environmental Pollution*, 159(3), 722-728.

Shahmansouri M., Pourmoghadas H., Parvaresh A., and Alidadi H. 2005. Heavy metals bioaccumulation by Iranian and Australian earthworms (*Eisenia fetida*) in the sewage sludge vermicomposting. *Iranian Journal of Environmental Health Science & Engineering*, 2(1): 28-32.

Sharma S., and Prasad F.M. 2010. Accumulation of lead and cadmium in soil and vegetable crops along major highways in Agra (India). *Electronic Journal of Chemistry*, 7(4): 1174-1183.

Sun H, Li J, Wang C, Wang L, Wang Y. 2011. Enhanced microbial removal of pyrene in soils in the presence of earthworms. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, 20(6): 617-30.

Sizmur T., and Hodson M.E. 2009. Do earthworms impact metal mobility and availability in soil? – A review. *Environmental Pollution*, 157(7): 1981-89.

Sizmur T., Tilston E.L., Charnock J., Palumbo-Roe B., Watts M.J., and Hodson M.E. 2011. Impacts of epigeic, anecic and endogeic earthworms on metal and metalloid mobility and availability. *Journal of Environmental Monitoring*, 13: 266-273.

Sposito G., Lund L.J. and Chang A.C. 1982. Trace metal chemistry in arid zone field soils amended with sewage sludge: I. fractionation of Ni, Cu, Zn, Cd and Pb in solid phases. *Soil Science Society of America Journal,* 46: 260-264

Slizovskiy I.B., Kelsey J.W. 2010. Soil sterilization affects aging-related sequestration and bioavailability of p, p′-DDE and anthracene to earthworms. *Environmental Pollution*, 158(10): 3285-89.

Udovic M., Lestan D. 2010. Fractionation and bioavailability of Cu in soil remediated by EDTA leaching and processed by earthworms (*Lumbricus terrestris* L). *Environmental Science and Pollution Research,* 17: 561-570.

Walkey A., and Black I.A. 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*, 37: 29-38.

Wang X.S., 2009. Antimony in urban roadside surface soils: concentration, source and mode of occurrence. *Open Environmental Pollution & Toxicology Journal*., 1: 89-92.

Wen B., Hu X., Liu Y., Wang W., Feng M., Shan X. 2004. The role of earthworms (Eisenia fetida) in influencing bioavailability of heavy metals in soils. *Biology and Fertility of Soils*, 40: 181-187.

Wen B., Liu Y., Hu X., and Shan X. 2006. Effect of earthworms (*Eisenia fetida*) on the fractionation and bioavailability of rare earth elements in nine Chinese soils. *Chemosphere*, 63: 1179-1186.

Wiegleb G., and Felinks B. 2001. Predictability of early stages of primary succession in post-mining landscapes of Lower Lusatia, Germany. *Applied Vegetation Science*, 4: 5-18.

Zaltauskaite J., Sodiene I. 2010. Effects of total cadmium and lead concentrations in soil on the growth, reproduction and survival of earthworm *Eisenia fetida*. *Ekologija*, 56(1-2):10-16.

Effect of *Eisenia fetida* Earthworm in the Presence of Organic Matter for Bioremediation and Bioavailability of Cadmium in Contaminated Soils

Ghasem Rahimi[1*], Firouzeh Noruzi Goldareh[2]

(Received: September, 2020 Accepted: November, 2020)

Abstract

In terms of environmental hazard assessment, earthworms are ecologically important components of soil and considered as a biological indicator to maintain soil health and quality. The aim of this study was to assess the efficacy of *Eisenia fetida* earthworms in the bioremediation of cadmium in contaminated soils. For this purpose, this study was carried out on a contaminated soil sampled from the Ahangaran mine, 26 Km far from the Malayer town and surrounding lands. In this study, six soil samples were collected from 0-15 cm depth at different intervals around the mine lands and one soil sample (control sample) from the non-polluted area. This experiment was investigated as a factorial in the form of a complete randomized block design with the first factor of organic fertilizers (cow manure, carrot pulp, vermicompost, and control) and the second factor was existence or absence of earthworms. Twelve earthworms with 0.3 to 0.6 g were selected for each soil sample (300 g). The worms were exposed to cadmium-contaminated soils at concentrations of 1.159 to 6.658 mg kg^{-1} for 42 days. At the end of the experiment, the concentration of cadmium was measured in soil and whole body of earthworms. The results showed that earthworms have different capacities for absorbing and accumulating cadmium, which is the behavior of earthworms resulting from the diet of earthworms. The highest concentration of cadmium in the whole body of earthworms was found in all treatments at point S_3 (soil sampled from the third point), which was more polluted than other sampling points. The addition of cow manure to other treatments also increased accumulation of cadmium in the soil worm tissue. The low concentration of cadmium in the soil led to the high bioaccumultion factor of this metal for earthworms. In this study, the amount of bioaccumultion factor for cadmium was more than one. Application of cow manure, vermicompost and carrot pulp treated with earthworms, significantly increased 1.54, 1.03, 1.38 mg kg^{-1} Cd in the organic fraction and increased 3.02, 2.79, 2.69 mg kg^{-1} Cd in the carbonate fraction. Extractable fraction, which contains exchangeable forms and carbonates and organic fraction, can be a good indicator of strong adsorption of cadmium in soil for earthworms. In general, the use of organic fertilizers with earthworms increased cadmium in the organic sector.

Keywords: Fractionation of metals, Cadmium uptake, Bioaccumulation factor, *Eisenia fetida*

Rahimi, G., Noruzi Goldareh F. 2021. Effect of Eisenia fetida Earthworm in the Presence of Organic Matter for Bioremediation and Bioavailability of Cadmium in Contaminated Soils. *Applied Soil Research*, 9(2): 116-129.

1.Associate Profesor, Soil Science Department, Bou-Ali Sina University, Hamedan, Iran
2.M.Sc. Graduated, Soil Science Department, Bou-Ali Sina University, Hamedan, Iran
* Corresponding Author Email: g.rahimi@basu.ac.ir