تاثیر ورمی‌کمپوست هرس درختان سیب بر بهبود برخی خواص بیولوژیک خاک آلوده به سرب

پریناز خدایی[۱]، میرحسن رسولی صدقیانی[۲*]، حبیب خداوردیلو[۳]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۰/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۵/۰۱)

چکیده

سرب (Pb) از پرخطرترین عوامل آلودگی زیست‌محیطی می‌باشد که بر سلامت انسان و حیوانات تأثیر سوء دارد. حضور سرب در خاک باعث کاهش فعالیت‌های بیولوژیکی خاک نیز می‌شود. هدف از این پژوهش، بررسی تاثیر ورمی‌کمپوست در کاهش اثر آلودگی سربی بر فعالیت ریزجانداران خاک بود. بدین منظور آزمایش گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملا تصادفی شامل فلز سرب (Pb) در چهار سطح (غلظت‌های ۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و ورمی‌کمپوست (C) ضایعات هرس درختان سیب در سه سطح (۰، ۲۰ و ۴۰ تن در هکتار) و در سه تکرار انجام شد. یک نمونه خاک با نمک نیترات سرب به‌طوریکنواخت برای ایجاد غلظت‌های مختلف، آلوده شد. بعد از سپری شدن دوره خواباندن (۹۰ روز)، برخی شاخص‌های بیولوژیک خاک اندازه‌گیری گردید. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت سرب در خاک تنفس پایه میکروبی و برانگیخته و کربن زیست توده میکروبی به شدت کاهش یافتند. ولی با افزایش سطوح ورمی‌کمپوست، این شاخص‌های بیولوژیک بهبود یافتند. کاربرد ۲۰ و ۴۰ تن در هکتار ورمی‌کمپوست تنفس پایه میکروبی را بطور میانگین به‌ترتیب بیش از ۱/۹۵ و ۲/۳۳ برابر نسبت به شاهد افزایش داد. کربن زیست‌توده میکروبی بطور میانگین در تیمار ۴۰ تن در هکتار ورمی‌کمپوست، ۳/۱۸ برابر نسبت به تیمار شاهد بیش‌تر بود. مقدار qCO_2 در تیمار ۲۰ کیلوگرم در هکتار ورمی‌کمپوست نسبت به تیمار شاهد بیش از ۲/۶ برابر افزایش نشان داد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که کاربرد ورمی‌کمپوست باعث رفع تاثیر سوء سرب بر فعالیت ریزجانداران خاک می‌شود.

واژه‌های کلیدی: بهر متابولیک، تنفس میکروبی، زیست‌توده میکروبی، فلز سرب، ورمی‌کمپوست

۱- فارغ‌التحصیل کارشناسی ارشد گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه
۲- دانشیار گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه (مکاتبه کننده)
۳- دانشیار گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه
* پست الکترونیک: m.rsadaghiani@urmia.ac.ir

مقدمه

وجود فلزات سنگین در خاک یکی از عوامل محدودکننده‌ی رشد گیاهان است. بنابراین صرفنظر از منشأ، وجود این فلزات در خاک می‌تواند منجر به کاهش عملکرد گیاهان و کیفیت محصولات کشاورزی و در حالت‌های شدید، نابودی تنوع پوشش گیاهی در مناطق آلوده گردد. ناسمولر و همکاران (Knasmuller *et al*., 1998) در پژوهشی از سرب به‌عنوان یکی از خطرسازترین فلزهای سنگین یاد کردند که عملکرد بیولوژیک حیاتی ندارد و حتی در غلظت‌های کم برای موجودات زنده بسیار سمّی است. زدودن سرب از پیکره‌ی خاک بسیار دشوار است. لذا، باید تا حد امکان از ورود آن به خاک‌های کشاورزی پیش‌گیری کرد. راسکین و انسلی (Raskin & Ensley, 2000) در تحقیقات خود به این نتیجه رسیدند که انتقال سرب به دلیل پیوندهای قوی آن از طریق فرآیندهای جذب سطحی، تبادل کاتیونی، رسوب و تشکیل کمپلکس با مواد آلی در ۱۵ تا ۲۰ سانتی‌متری بخش رویین خاک متوقف می‌گردد.

با توجه به نتایج تحقیقات گیلر و همکاران (Giller *et al*., 1998) ثابت شده است که ریزجانداران بیشتر از جانوران یا گیاهان به تنش‌های فلزات سنگین حساس هستند. همچنین تحقیقات اوبارد و همکاران (Obbard *et al*., 2001) نشان داده است که فلزات سنگین روی فرایندهای کلیدی میکروبی و ساختار و تنوع و جمعیت میکروبی تأثیر می‌گذارند. در چند پژوهش جداگانه توسط لیائو و زی (Liao & Xie, 2007) و ژانگ و همکاران (Zhang *et al*., 2008)،برخی ویژگی-های میکروبی خاک، مانند فعالیت آنزیمی، کربن زیست‌توده میکروبی، کرین و نیتروژن معدنی شده، تنفس پایه و ترکیب جمعیت میکروبی به‌عنوان شاخص‌های کیفیت زیست‌محیطی خاک در نظر گرفته شدند. کربن زیست‌توده میکروبی خاک به‌عنوان منبع غذایی عمل می‌کند و نقش مهمی را در پایداری اکوسیستم بازی می‌کند. ویگ و همکاران (Vig *et al*., 2003) بیان داشتند که کربن زیست‌توده میکروبی به‌عنوان شاخص حساس در خاک آلوده به فلزات سنگین بوده و بطور وسیعی به‌عنوان روشی برای ارزیابی کیفیت خاک استفاده می‌شود. کندی و اسمیت (Kenedy & Smith, 1995) اظهار داشتند که ریزجانداران خاک بازتاب مهمی از کیفیت خاک هستند. زیرا کربن و نیتروژن خاک را غیرمتحرک می‌کنند. در مورد تاثیر فلزات سنگین و آلاینده ها بر فعالیت‌های میکروبی نیز پژوهش‌های بسیاری انجام شده است. به‌عنوان مثال مورنو و همکاران (Moreno *et al*., 2009) دریافتند که آلاینده‌ها ممکن است بر فرایندهای تنوع میکروبی در خاک تأثیرگذار باشند و بنابراین چرخه عناصر غذایی و عملیات کلیدی اکولوژیکی از قبیل تجزیه و ساخت مواد آلی را تحت تاثیر قرار می‌دهند. شاخص‌های بیولوژیکی ذکر شده بسهولت قابل اندازه‌گیری هستند و روابط محاسباتی تقریباً ساده‌ای دارند (Alkorta *et al*., 2003). به‌علاوه، این شاخص‌ها ارزیابی بیولوژیک جامعی از سلامت خاک ارائه می‌دهند. اما احتمالا افزودن برخی ترکیبات و مواد آلی ممکن است بتواند در بهبود فعالیت‌های میکروبی خاک تاثیر گذار باشد.

نتایج مطالعات شریف و همکاران (Cherief *et al*., 2009) و نیز میلاواراپا و زینتی (Mylavarapa & Zinati, 2009) نشان داد که کمپوست خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک‌ها را از طریق افزایش مواد آلی و عناصر غذایی، ظرفیت نگهداری آب و ظرفیت تبادل کاتیونی بهبود بخشیده و بنابراین باعث بهبودی عملکرد محصولات و کیفیت خاک می‌گردد. علاوه بر آن بلیوا و همکاران (Belyaeva *et al*., 2005) گزارش کردند که کاربرد کمپوست در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین باعث افزایش راندمان شاخص‌های میکروبی خاک آلوده می‌گردد. اندرسون (Anderson, 1982)، بَث (Baath, 1989) و نانی‌پیری (Nannipieri, 1994) طی مطالعات خود تنفس پایه میکروبی یا معدنی شدن کربن آلی خاک را شاخص مهمی در ارزیابی فعالیت جمعیت میکروبی کل خاک عنوان کردند. این شاخص نه تنها بیانگر وضعیت فعالیت میکروب‌های خاک است، بلکه مشخص‌کننده‌ی روند، تعادل و چگونگی تجزیه‌ی ماده آلی، فعالیت آنزیمی و چرخه برخی عناصر غذایی در خاک می‌باشد. همچنین تنفس میکروبی یکی از مهم‌ترین شاخص‌های مورد

مطالعه در بررسی اثرات سمی فلزات سنگین بر رشد و فعالیت جمعیت میکروبی خاک نیز می‌باشد. شاخص بهرمتابولیک (qCO_2)[1] (نسبت تنفس پایه میکروبی به کربن زیست‌توده میکروبی خاک) یکی از مهمترین شاخص‌های کیفیت خاک می‌باشد. این شاخص در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین بیشتر تحت تاثیر قرار می‌گیرد (Jenkinson & Ladd, 1981). نتایج پژوهش‌ها نشان داده که qCO_2 در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین در مقایسه با خاک‌های غیر آلوده بالاتر است (Baath, 1989). بررسی این شاخص‌ها امکان تخمین اینکه آیا اکوسیستم طبیعی بوسیله آلودگی فلزهای سنگین تغییر کرده‌است یا خیر، را امکان‌پذیر می‌کند. هدف از این پژوهش بررسی تأثیر ورمی-کمپوست تهیه شده با ضایعات هرس درختان سیب و انگور بر اثرهای سوء آلودگی ناشی از سرب بر شاخص-های تنفس میکروبی پایه (BR)[2] ، تنفس برانگیخته با سوبسترا (SIR)[3]، کربن زیست‌توده میکروبی (MBC)[4] و بهر متابولیکی (qCO_2) بود.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری، اندازه‌گیری ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی و آلوده کردن خاک

نمونه خاک مور نظر از خاکی با فامیل Fine, Mixed, mesic Typic Halaquepts واقع در استان آذربایجان-غربی نمونه‌برداری شد. این خاک پس از هواخشک شدن به دو بخش تقسیم گردید. یک بخش از آن برای انجام آزمایش‌های فیزیکی و شیمیایی از الک ۲ میلی-متری عبور داده شد. برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک به روش های استاندارد اندازه گیری شد (جدول ۱و ۲) (Carter & Gregorich, 2008). بخش دیگر از نمونه خاک پس از عبور از الک ۵ میلی‌متری با غلظت‌های مختلف سرب آلوده گردید. غلظت آلاینده با توجه به حدود غلظت مجاز سرب در خاک انتخاب شد. به گونه‌ای که دامنه‌ای از غلظت صفر آن فلز تا چندین برابر غلظت مجاز را بپوشاند (غلظت سرب در خاک‌های غیرآلوده در گستره‌ی ۱۰ تا ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک است (Alloway, 1990). در حالیکه حدّ مجاز آن در خاک، در کشورهای مختلف متفاوت بوده و در محدوده‌ی ۵۰ تا ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک تعیین شده است (McLaughlin *et al.*, 2000). سطوح سرب اضافه شده به خاک شامل مقادیر ۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی-گرم در کیلوگرم خاک بودند. برای آلوده کردن خاک، ابتدا مقدار لازم نیترات‌سرب $Pb(NO_3)_2$ برای آلوده کردن یک کیلوگرم از خاک محاسبه و سپس کاملاً با آن مخلوط گردید تا پیش‌ماده‌ای همگن بدست آید. نیتروژن افزوده شده به خاک توسط نمک نیترات سرب، با افزودن مقادیر محاسبه شده اوره به تیمارهای مختلف تصحیح گردید. این پیش‌ماده‌ی آلوده سپس به‌طور کامل با توده خاک مخلوط شد. خاک‌های آلوده در جعبه‌های پلاستیکی بدون زهکش در معرض دوره-های متناوب تر و خشک شدن قرار گرفتند. در هر چرخه، خاک از آب اشباع گردید و سپس تا هوا خشک شدن در دمای اتاق نگهداری شد. خاک‌ها در چهار چرخه به همین روش تر و خشک شدند و هر چرخه حدود ۴۰ روز به درازا انجامید که تا حدّ امکان برهم‌کنش‌های آلاینده و خاک تکوین یافته و شرایط آلودگی طبیعی‌تر باشد.

تهیه ورمی‌کمپوست از ضایعات هرس درختان سیب و انگور

بقایای ضایعات هرس درختان سیب و انگور از باغات شهرستان ارومیه جمع‌آوری شد. سپس این بقایای به اندازه ۱ الی ۲ میلی‌متر خرد شده و در ظروف پلاستیکی ۱۰ لیتری در شرایط گلخانه و رطوبت ۷۰ درصد ظرفیت نگهداری آب به‌مدت ۱/۵ ماه خوابانیده شدند. پس از اینکه تجزیه اولیه توسط رطوبت و ریزجانداران بومی صورت گرفت و نسبت C/N بسترها تعدیل شد، محتویات ظروف پلاستیکی به جعبه‌های چوبی ۳۰×۴۰×۳۰ سانتی‌متر انتقال داده شد. همزمان تعداد ۵۰ عدد کرم خاکی از جنس ایزنیا فتیدا در هر کدام از جعبه‌ها آزاد گردید. جعبه‌های چوبی به مدت ۴/۵ ماه تحت تاثیر فعالیت کرم‌های خاکی در شرایط رطوبتی و دمایی مناسب قرار گرفتند. پس از تشکیل

1- Metabolic quotient
1- Base respiration
2- Substrate-induced respiration
3- Microbial biomass carbon

ورمی‌کمپوست، برخی ویژگی‌های شیمیایی و بیولوژیکی آن از قبیل EC، pH، درصد نیتروژن و کربن و نسبت C/N، درصد برخی عناصر معدنی مانند کلسیم، منیزیم، سدیم، پتاسیم و فسفر اندازه‌گیری شدند (جدول ۳).

اعمال تیمارهای ورمی‌کمپوست روی خاک‌های آلوده شده

از خاک آلوده‌شده ۳۰۰ گرم توزین و در ظروف دربسته پلاستیکی ریخته شد. سپس از ورمی‌کمپوست به میزان صفر، ۲۰ و ۴۰ تن در هکتار نسبت به مقدار خاک مورد مطالعه توزین و به خاک‌های موجود در ظروف پلاستیکی افزوده شد. نمونه‌ها به مدت ۹۰ روز در دمای ۲۵-۲۸ درجه سلسیوس خوابانیده شدند. رطوبت نمونه‌ها در مقدار ۷۰ درصد ظرفیت زراعی حفظ شدند.

اندازه‌گیری شاخص‌های میکروبی

به منظور بررسی تاثیر ورمی‌کمپوست بر فعالیت میکروبی خاک آلوده به سرب، تنفس پایه میکروبی، تنفس برانگیخته میکروبی یا سوبسترا و زیست‌توده میکروبی خاک اندازه‌گیری شدند. سپس مقدار بهر متابولیکی و قابلیت دسترسی به کربن محاسبه گردید، که شرح آزمایش‌ها به‌صورت زیر می‌باشد:

تنفس پایه میکروبی (BR)

برای اندازه‌گیری تنفس پایه میکروبی از روش اندرسون (Anderson, 1982) استفاده شد. بدین ترتیب که ۱۰ گرم از خاک هر نمونه توزین و به درون ظروف شیشه‌ای درب‌دار ویژه‌ی اندازه‌گیری تنفس ریخته شد. سپس لوله آزمایشی حاوی ۱۰ میلی‌لیتر محلول NaOH ۰/۱ نرمال در درون ظروف قرار داده شد. درب ظرف‌ها محکم بسته شد و نمونه‌ها به‌مدت ۳ روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگه‌داری شدند. تیتراسیون نمونه‌ها با HCl ۰/۱ نرمال انجام شد. در پایان مقدار CO_2 آزاد شده با استفاده از رابطه (۱) محاسبه گردید:

$$BR=\frac{(V_b - V_S) \times 2.2}{W_s} \qquad (۱)$$

که در آن BR تنفس میکروبی پایه ($mg\ CO_2\text{-}C\ g^{-1}\ day^{-1}$)، V_b حجم اسید کلریدریک مصرفی برای نمونه شاهد، V_S حجم اسید کلریدریک مصرفی برای هر نمونه، W_s وزن اولیه خاک (g) و ۲/۲ فاکتور تبدیل (یک میلی‌لیتر HCl ۰/۱ نرمال معادل ۲/۲ میلی‌گرم CO_2 می‌باشد) است.

تنفس برانگیخته با سوبسترا (SIR)

برای بررسی تاثیر آلودگی سربی خاک بر جمعیت و فعالیت میکروبی خاک، تنفس برانگیخته با سوبسترا نیز اندازه‌گیری گردید. برای اندازه‌گیری تنفس برانگیخته با سوبسترا، ۵۰ گرم نمونه خاک با ۱ میلی-لیتر گلوکز ۱ درصد به‌عنوان سوبسترا خوب مخلوط و به درون ظروف شیشه‌ای درب‌دار ویژه‌ی اندازه‌گیری تنفس ریخته شد. سپس لوله آزمایشی حاوی ۱۰ میلی‌لیتر محلول NaOH ۰/۱ نرمال درون ظروف قرار داده شد. درب ظروف را محکم بسته و به‌مدت ۶ ساعت در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس خوابانده شدند. پس از ۶ ساعت تیتراسیون نمونه‌ها با HCL ۰/۱ نرمال انجام شد. مقدار CO_2 آزاد شده محاسبه و میزان تنفس برانگیخته با سوبسترا ($mg\ CO_2\text{-}C\ g^{-1}\ day^{-1}$) برآورد شد (Nanipieri & Alef, 1995).

کربن زیست‌توده میکروبی (MBC)

بدین ترتیب ۱۰۰ گرم از هر نمونه خاک با کلروفرم به‌مدت ۲۴ ساعت تدخین (گازدهی) شده و با محلول سولفات پتاسیم، استخراج شد. خاک تدخین شده (یک قسمت) با محلول سولفات پتاسیم (پنج قسمت) مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه تکان داده شد و با کاغذ صافی صاف گردید. مقدار کربن آلی در عصاره‌ها با روش والکلی و بلک (Nelson & Sommers, 1982) اندازه‌گیری شد. همین روش برای خاک شاهد (بدون تدخین) نیز انجام شد. برای اندازه‌گیری کربن آلی در عصاره‌های خاک، ۵ میلی‌لیتر از عصاره‌های خاک را برداشته و ۱۰ میلی‌لیتر دی کرومات پتاسیم ۱ نرمال و ۲۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ به آن‌ها افزوده شد. نمونه‌ها به‌مدت ۳۰ دقیقه به‌حال خود رها شدند. سپس ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰ میلی‌لیتر اسید

اورتو فسفریک غلیظ به هریک از نمونه‌ها افزوده گردید. ۰/۳ میلی‌لیتر شناساگر دی فنیل آمین به هریک از نمونه‌ها اضافه و در پایان تیتراسیون با محلول فرو آمونیوم سولفات انجام شد. از اختلاف مقادیر محاسبه شده برای نمونه‌های تدخین شده و تدخین نشده مقدار کربن زیست‌توده میکروبی مطابق رابطه زیر محاسبه گردید:

$$MBC = F_c - UF_c \quad (۲)$$

که در آن MBC کربن زیست‌توده میکروبی ($mg\ kg^{-1}$)، F_C کربن معدنی شده یا CO_2 متصاعد شده در نمونه‌های تدخین شده با کلروفرم ($mg\ kg^{-1}$) و UF_C کربن معدنی شده یا CO_2 متصاعد شده در نمونه‌های تدخین نشده با کلروفرم ($mg\ kg^{-1}$) است.

بهر متابولیکی (qCO_2)

میزان تنفس پایه خاک (کربن تجزیه شده برای تولید انرژی) به ازای هر واحد کربن زیست‌توده میکروبی (کربن مصرف شده برای رشد و تشکیل سلول‌های جدید) در واحد زمان بهر متابولیکی گویند. بنابراین برای ارزیابی تاثیر تنش آلودگی سربی خاک بر نیاز انرژی میکروب‌های خاک، ضریب متابولیکی با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید (Cheng *et al*., 1993):

$$qCO_2 = \frac{BR}{MBC} \quad (۳)$$

که در آن qCO_2 ضریب متابولیکی ($mg\ CO_2\text{-}C\ mg^{-1}\ MBC\ day^{-1}$)، BR تنفس میکروبی پایه ($mg\ CO_2\text{-}C\ g^{-1}\ day^{-1}$) و MBC کربن زیست‌توده میکروبی ($mg\ CO_2\text{-}C\ kg^{-1}$) است.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های به‌دست آمده از این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها نیز با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال پنج درصد انجام گرفت.

نتایج و بحث

در جدول ۱، برخی خصوصیات شیمیایی ورمی-کمپوست بکار رفته آورده شده است. این ورمی-کمپوست به عنوان ماده اصلاح کننده برای خاک آلوده به سرب به کار گرفته شد. جدول ۲ برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در پژوهش را نشان می‌دهد. خاک مورد مطالعه دارای بافتی متوسط، pH آن در محدوده‌ی خاک‌های آهکی، کمی شور، غیر سدیمی و با توجه به حدود مجاز گزارش شده در منابع (برای مثال کارینی (Cariny, 1995)، غیرآلوده به فلز سرب بود (جدول ۲).

جدول ۱- برخی خصوصیات شیمیایی ورمی‌کمپوست به کار رفته در خاک مورد مطالعه

Table 1- Some properties of applied vermicompost in studied soil

C (%)	N (%)	C/N	pH	Ca (%)	Mg (%)	Na (%)	K (%)	P (%)
24.7	1.5	16.6	7.3	0.12	0.19	2.64	2.29	0.33

جدول شماره ۲- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش

Table 2- Some physico-chemical properties of studied soil

Total-Pb ($mg\ kg^{-1}$)	CEC ($cmol\ kg^{-1}$)	ESP (%)	CCE (%)	OM (%)	ECe $dS\ m^{-1}$	pH	Soil Texture	Sand (%)	Silt (%)	Clay (%)
21.42	22.1	3	30.5	0.12	2.5	8.1	Loam	32.3	40.3	27.4

CEC: ظرفیت تبادل کاتیونی؛ ECe: هدایت الکتریکی عصاره اشباع خاک؛ ESP: درصد سدیم تبادلی؛ CCE: کربنات کلسیم معادل؛ OM: ماده آلی

CEC: Cation Exchangeable Capacity; Ec_e: Electrical Conductivity of soil saturation extract; ESP: Exchangeable Sodium percentage; CCE: Carbonate Calcium Equivalent

تأثیر ورمی‌کمپوست و سرب بر شاخص‌های میکروبی

باتوجه به جدول ۳، شدت تنفس میکروبی پایه با افزایش میزان کاربرد ورمی‌کمپوست (C) و سطوح سرب (Pb) به ترتیب افزایش و کاهش یافت. به طوریکه در تیمار شاهد (بدون سرب و بدون ورمی-کمپوست)، تفاوت معنی‌داری را با تیمار بحرانی (حداکثر سرب و بدون ورمی‌کمپوست (Pb1000 و C0) مشاهده شد. با این‌حال هنگامی که سطح ورمی-کمپوست به میزان ۴۰ تن در هکتار افزایش یافت، تیمار بحرانی مذکور تفاوت معنی‌داری با شاهد نشان داد که این بیانگر اثر مفید ورمی‌کمپوست بر شدت تنفس میکروبی بود. نتایج آزمایش نشان داد که حتی در سطوح متوسط ورمی‌کمپوست (۲۰ تن در هکتار)، اثرات مفیدتری روی تنفس میکروبی مشاهده گردید (۰/۰۸ ±۰/۰۰۴). لندی و همکاران (Landi *et al.*, 2000) گزارش کردند که فلزات‌سنگین با ایجاد کمپلکس با سوبسترای مورد نیاز آنزیم‌ها و خارج نمودن سوبسترا از دسترس میکروارگانیسم‌ها و یا با ازبین بردن میکروارگانیسم‌ها، سبب کاهش تنفس خاک می‌شوند. بیش‌تر بودن مقادیر تنفس میکروبی در سطح سرب صفر و ۴۰ کمپوست احتمالا به این دلیل است که شدت متابولیسم تنفسی میکروارگانیسم‌ها در حضور مقادیر بالای مواد آلی افزایش می‌یابد که به‌عنوان منبع کربن قابل استفاده برای میکروب‌ها عمل می‌نماید. هاینس و همکاران (Haynes *et al.*, 2003) نیز در مطالعات خود به این نتیجه رسیده بودند.

هاتوری (Hattori, 1992) در پژوهش‌های خود دلیل این پدیده را چنین بیان کرد که سوبسترای اضافه شده به خاک (گلوکز) در این غلظت‌های سرب با وجود کاهش فراوانی ریزجانداران، برای آن‌ها به‌سهولت قابل دسترس نبوده است و سرب سبب ایجاد تاخیر در رشد نمایی میکروب‌های فعال خاک می‌شود. فلزات-سنگین در خاک افزون بر ایجاد سمیت برای گیاهان، برای ریزجانداران خاک نیز سمی بوده و فعالیت آن‌ها را مختل می‌کنند. کاهش تنفس میکروبی توسط برخی پژوهشگران گزارش شده است. برای مثال ورما و همکاران (Verma *et al.*, 2010) گزارش کردند آلودگی سربی خاک، فعالیت ریزجانداران خاک از جمله تنفس میکروبی خاک را کاهش می‌دهد. در تحقیقی گای و همکاران (Gai *et al.*, 2010) گزارش کردند که سمیت سرب در خاک سبب کاهش تنفس میکروبی خاک می‌شود. همچنین نچوکو و پولفورد (Nwachukwu & Pulford, 2011) نشان دادند که تنفس میکروبی خاک در خاک‌های آلوده به سرب، مس و روی کاهش یافت و نتایج تحقیقات حاضر با نتایج محققین نامبرده مطابقت داشت. نکته قابل توجه در این شاخص سطح تحمل ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود که این یافته نشان داد تفاوت معنی‌داری در سطوح تیمارهایی با سطح ۲۰ و ۴۰ تن در هکتار کمپوست وجود نداشت. یعنی در شرایط آلودگی سرب عملکرد مطلوب این شاخص را می‌توان با سطوح کمتر ورمی‌کمپوست نیز بدست آورد.

از نظر کربن زیست‌توده میکروبی (MBC)، اثر متقابل تیمارهای ورمی‌کمپوست و سرب در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف معنی‌دار نشان داد (P≤۰/۰۱). با توجه به جدول ۳ افزایش میزان ورمی‌کمپوست در سطح صفر سرب، شاخص کربن زیست توده میکروبی را به طور معنی‌داری افزایش داد و همین روند در سایر سطوح سرب نیز مشاهده گردید. این نتیجه نشان داد میزان ورمی‌کمپوست در جهت تقلیل اثرات مخرب سرب کارایی مناسبی دارد. به طوریکه با اعمال تیمار ۴۰ تن ورمی‌کمپوست در هکتار در سطح آلودگی ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌توان نتایج مشابه شرایط بدون آلودگی و اعمال تیمار ورمی‌کمپوست مشاهده کرد.

با بررسی دقیق جدول ۳ می‌توان گفت کاهش مقدار شاخص MBC در آلودگی‌های سربی شدید، با افزایش ورمی‌کمپوست قابل جبران است. اما در سطوح صفر و یا متوسط، ماده آلی آلودگی‌های سربی به شدت شاخص مذکور را کاهش می‌دهند. طبق گزارشات و یافته های لیائو و زِی (Liao & Xei, 2007) و همچنین وانگ و همکاران (Wang *et al.*, 2007)، کربن زیست‌توده میکروبی یکی از شاخص‌های میکروبی حساس به تنش فلزات‌سنگین است.

جدول ۳- مقایسه میانگین‌های شاخص‌های میکروبی خاک در ترکیب‌های تیماری مختلف آلودگی سرب و کمپوست

Table 3- Means comparison of microbial indices in different combined treatments of Pb contamination and compost

کل سرب اضافه شده در خاک (میلی‌گرم در کیلوگرم) Total Pb added in soil ($mg\ kg^{-1}$)	مقدار کمپوست اضافه شده به خاک (تن در هکتار) Amount of added compost in soil ($t\ ha^{-1}$)		
	کمپوست ۰ C0	کمپوست ۲۰ C20	کمپوست ۴۰ C40
	تنفس پایه میکروبی BR ($mg\ CO_2\text{-}C\ g^{-1}\ day^{-1}$)		
0	0.09 ± 0.006^{e}	0.14 ± 0.006^{bc}	0.19 ± 0.004^{a}
250	0.08 ± 0.001^{e}	0.128 ± 0.007^{cd}	0.15 ± 0.004^{b}
500	0.05 ± 0.005^{f}	0.121 ± 0.006^{d}	0.13 ± 0.1^{cd}
1000	0.02 ± 0.005^{g}	0.08 ± 0.004^{e}	0.088 ± 0.003^{e}
	تنفس برانگیخته با سوبسترا SIR ($mg\ CO_2\text{-}C\ g^{-1}\ day^{-1}$)		
0	0.13 ± 0.006^{ef}	0.27 ± 0.006^{b}	0.31 ± 0.003^{a}
250	0.12 ± 0.006^{fg}	0.22 ± 0.01^{c}	0.23 ± 0.007^{c}
500	0.07 ± 0.004^{h}	0.15 ± 0.01^{de}	0.16 ± 0.01^{d}
1000	0.03 ± 0.009^{i}	0.1 ± 0.0005^{gh}	0.01 ± 0.006^{fg}
	کربن زیست توده میکروبی MBC ($mg\ CO_2\text{-}C\ kg^{-1}$)		
0	0.65 ± 0.03^{f}	1.02 ± 0.05^{d}	2.28 ± 0.06^{a}
250	0.52 ± 0.04^{g}	0.8 ± 0.02^{e}	1.75 ± 0.05^{b}
500	0.44 ± 0.05^{h}	0.34 ± 0.02^{hi}	1.38 ± 0.05^{c}
1000	0.3 ± 0.04^{ij}	0.19 ± 0.01^{j}	0.67 ± 0.02^{f}
	شاخص ضریب متابولیکی qCO_2 ($mg\ CO_2\text{-}C\ mg^{-1}\ MBC\ day^{-1}$)		
0	0.15±0.004cd	0.14 ± 0.005^{cde}	0.08 ± 0.003^{e}
250	0.17 ± 0.01^{c}	0.17 ± 0.008^{c}	0.08 ± 0.001^{e}
500	0.12 ± 0.007^{cde}	0.36 ± 0.004^{b}	0.09 ± 0.005^{de}
1000	0.06 ± 0.02^{e}	0.41 ± 0.03^{a}	0.13 ± 0.004^{cde}

میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری (P≤۰/۰۵) ندارند.

اعداد مقابل داده‌ها، انحراف معیار داده‌ها را در سه تکرار نشان می‌دهند.

The means with common letters have no significant difference according to Duncan's multiple range test (P<0.05).
The numbers after data show Standard Deviation of data in three replications.

مقادیر این شاخص با افزایش غلظت سرب در خاک کاهش یافت. پاپا و همکاران (Papa *et al.*, 2010) دلیل این کاهش را اینگونه بیان داشتند که ریزجانداران در شرایط آلودگی سربی خاک نیاز به انرژی بیش‌تری برای تحمل شرایط نامطلوب ایجاد شده دارند. به‌همین دلیل درصد بیش‌تری از انرژی کربن هدر می‌رود و کربن کم‌تری در ساختار ترکیبات آلی بدن میکروب‌ها ساخته می‌شود. کاهش همزمان

تنفس ناشی از سوبسترا و کربن زیست‌توده میکروبی (جدول۴) در اثر افزایش غلظت سرب در خاک، نشان می‌دهد که سهم میکروب‌های فعال از زیست‌توده کل با افزایش غلظت سرب در خاک کاهش می‌یابد. پاپا و همکاران (Papa *et al.*, 2010) نیز در یافته‌های خود گزارش کردند که میکروب‌های جوان خاک به‌دلیل حساسیت بیش‌تر وتحمل کم‌تر، در غلظت‌های بالای سرب زودتر از بین می‌روند. چراکه تنفس ناشی از سوبسترا نشان‌دهنده‌ی جمعیت فعال میکروبی از نظر متابولیکی می‌باشد. نتایج این پژوهش با نتایج خان و همکاران (Khan *et al.*, 2010) مطابقت داشت.

در مورد شاخص ضریب متابولیکی (qCO_2) در شرایط بدون کاربرد کمپوست (C0) در سطوح مختلف سرب روند نامنظم کاهشی($P<۰/۰۱$) مشاهده گردید، ولی بین سطوح سرب صفر، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اختلاف غیر معنی‌دار و در سطح ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اختلاف معنی‌داری با سایر سطوح سرب مشاهده شد که این نشانگر تنش ناشی از آلودگی سرب در خاک است که در سطوح مختلف سرب، افزایش کاربرد کمپوست منجر به کاهش qCO_2 گردید.

اندرسون و دامش (Anderson & Domsch, 1993) بیان کردند که شاخص qCO_2 برای مطالعه‌ی تاثیر تنش ناشی از آلودگی‌های مختلف بر نیاز انرژی ریزجانداران خاک بکار می‌رود. qCO_2 مقدار تنفس خاک (کربن تجزیه شده برای تولید انرژی) به ازای هر واحد زیست‌توده میکروبی (کربن مصرف شده برای رشد و تشکیل سلول‌های جدید) در واحد زمان است. نتایج تحقیقات بَث (Baath, 1989) نشان داد که این شاخص در خاک‌های آلوده به فلزات‌سنگین تغییر می‌کند. زیرا در این خاک‌ها فعالیت متابولیکی و بازده مصرف کربن توسط میکروب‌ها تغییر می‌کند. هچنین لندی و همکاران (Landi *et al.*, 2000) گزارش کردند که میکروب‌های خاک در شرایط تنش به ازای هر واحد سوبسترای اضافه شده کربن کم‌تری را صرف تشکیل زیتوده جدید می‌کنند و اغلب آن را برای تامین انرژی لازم برای ادامه حیات به‌کمک تنفس مصرف می‌کنند. بنابراین افزایش qCO_2 با افزایش غلظت سرب در خاک احتمالا به‌این دلیل بود که کارآیی متابولیکی ریزجانداران در تبدیل سوبسترای آلی به زیست‌توده جدید کاهش یافت و قسمت بیش‌تر کربن برای تامین انرژی مصرف شده است.

با توجه به جدول ۳ با اعمال تیمار ۲۰ تن در هکتار، روند یکنواختی در افزایش qCO_2 در مقابله با تنش ناشی از افزایش سطوح سرب مشاهده شد که با نتایج ذکر شده در بالا همخوانی داشت. با ادامه روند افزایش ماده آلی (ورمی‌کمپوست سطح ۴۰ تن در هکتار)، مجددا روند مشاهده شده در تیمار صفر ورمی-کمپوست و عدم معنی‌داری این سطح کمپوست در سطوح مختلف سرب مشاهده گردید. در حالیکه انتظار می‌رفت با افزایش ماده آلی روند سطح ورمی‌کمپوست ۲۰ تن در هکتار تکرار شود، اما یک بی‌نظمی در نتایج دیده شد. علت این پدیده احتمالا این است که بالا رفتن ماده آلی تا سطح ۲۰ تن در هکتار اثرات سوء تنش فلز سنگین رفع می‌گردد و از آن مقدار به بعد ماده آلی اضافی وارد فرآیند نامعلومی می‌شود که می تواند میزان qCO_2 را مطابق با روند مشاهده شده در سطح صفر ورمی‌کمپوست، غیر قابل پیش‌بینی کند.

نتیجه‌گیری کلی

در مورد کاربرد تیمار ورمی‌کمپوست و اثر آن بر روی شاخص‌های میکروبی به دو نکته مهم در ارزیابی نهایی بایستی توجه کرد. اول اینکه خاک شاهد تا چه سطحی می‌تواند آلودگی را تحمل کند و یا نقطه آستانه تحمل میکروب‌ها در چه غلظتی از آلاینده اتفاق می‌افتد و دوم اینکه چه میزان ورمی‌کمپوست می‌تواند شرایط خاک را در سطحی پایین‌تر از این نقطه حفظ نماید. در این تحقیق، در تمامی شاخص-های اندازه‌گیری‌شده سطح ۲۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سرب (Pb250)، تقریبا بعنوان سطح تحمل میکروبها بود و نقطه شروع بحران در جمعیت ریزجانداران بحساب می‌آمد و از این سطح به بالا، تنش آلودگی سرب شدیدتر گردید. در تمامی تیمارها به جز کربن زیست توده میکروبی با به کار بردن ۲۰ تن ورمی‌کمپوست در هکتار، می‌توان به پایداری جمعیت میکروبی رسید و شاید نیازی به کاربرد سطوح بالاتر

کمپوست برای نیل به این هدف نباشد. به‌طور کلی در این پژوهش نشان داده شد که آلودگی سرب، فعالیت بیولوژیک به‌ویژه تنفس میکروبی و کربن زیست‌توده میکروبی خاک را به شدت کاهش داد. لیکن کاربرد ورمی‌کمپوست سبب بهبود شاخص‌های میکروبی و کاهش اثرات سمی آلودگی سرب گردید.

سپاسگزاری

بخشی از نتایج این تحقیق در قالب طرح پژوهشی شماره ۸۵۱۲۵/۶۰ با استفاده از اعتبارات "صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور" انجام گردیده که بدینوسیله تقدیر و تشکر می‌گردد.

References

Alef K., and Nannipieri P. 1995. Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry. Academic Press, London, 453p.

Alkorta I., Aizpurua A., Riga P., Albizu I., Amezaga I., and Garbisu C. 2003. Soil enzyme activities as biological indicators of soil health. *Reviews on Environmental Health*, 18: 65–73.

Alloway B.J. 1990. Heavy Metals in Soils: Lead. Blackie and Son Ltd, Publishers, Bishop Briggs, Glasgow, London, pp. 177-196.

Anderson J.P. 1982. Soil Respiration. In: A.L. and Mille R.H. (Eds.), Methods of Soil Analysis Part 2, Chemical and Microbiological Properties. *American Society of Agronomy*, Madison, WI, pp. 831-871.

Anderson T.H., and Domsch K.H. 1993. The metabolic quotient from CO_2 (qCO_2) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 25: 393–395.

Baath E. 1989. Effects of heavy metals in soil on microbial processes and populations. *Water, Air, and Soil Pollution*, 47: 335-379.

Belyaeva O.N., Haynes R.J. and Birukova O.A. 2005. Barley yield and soil microbial and enzyme activities as affected by contamination of two soils with lead, zinc or copper. *Biology and Fertility of Soils*, 41: 85-94.

Cariny T. 1995. The Reuse of Contaminated Land. John Wiley and Sons Ltd. Publisher, 219p.

Carter M.R., and Gregorich, E.G. 2008. Soil Sampling and Methods of Analysis, 2nd ed. CRC Press, Boca Raton, FL, 1204p.

Cherif H., Ayari F., Ouzari H., Marzorati M., Brusetti L., Jedidi N., Hassen A. and Daffonchio D. 2009. Effects of municipal solid waste compost, farmyard manure and chemical fertilizers on wheat growth, soil composition and soil bacterial characteristics under Tunisian arid climate. *European Journal of Soil Biology*, 45: 138-145.

Epelde L., Hernandez-allica J., Becerril J.M., and Garbisu C. 2006. Assessment of the efficiency of a metal phytoremediation process with biological indicators of soil health. *In*: *Difpolmine Conference*, 12-14 December, Le Corum, Montpel- lier, France.

Gai N., Yang Y., Li T., Yao J., Wang F., and Chen H. 2011. Effect of lead contamination on soil microbial activity measured by micro-calorimetry. *Chinese Journal of Chemistry*, 29: 1541-1547.

Giller K.E., Witter F., and McGrath S.P. 1998. Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soils, a review. *Soil Biology and Biochemistry*, 30: 1389-1414.

Hattori H. 1992. Influence of heavy metals on soil microbial activities. *Soil Science and Plant Nutrition*, 38: 93-100.

Haynes R.J., Fraser P.M., Piercy J.E., and Tregurtha R.J. 2003. Casts of *Aporrectodea caliginosa* (Savigny) and *Lumbricus rubellus* (Hoffmeister) differ in microbial activity, nutrient availability and aggregate stability. *Pedobiologia*, 47: 882–887.

Khan A.G. 2005. Role of soil microbes in the rhizosphere of plants growing on trace element contaminated soils in phytoremediation. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 18: 355-364.

Kennedy A.C., and Smith K.L. 1995. Soil microbial diversity and the sustainability of agricultural soils. *Plant and Soil*, 170: 75-86.

Knasmuller S., Gottmann E., Steinkellner H., Fomin A., Pickl C., and Paschke A. 1998. Detection of genotoxic effects of heavy metal contaminated soils with plant bioassays. *Mutation Research*, 420: 37-48.

Jenkinson D.S., and Ladd J.N. 1981. Microbial biomass in soil measurement and turnover, In: Paul E.A., and Ladd J.N. (Eds). Soil Biochemistry, Marcel Dekker, Inc. pp. 415-471.

Liao M., and Xie X.M. 2007. Effect of heavy metals on substrate utilization pattern, biomass, and activity of microbial communities in a reclaim wasteland of red soil area. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 66: 17-223.

Landi L., Renella G., Moreno J.L., Falchini L., and Nannipieri P. 2000. Influence of cadmium on the metabolic quotient, l-D-glutamic acid respiration ratio and enzyme activity: microbial biomass ratio under laboratory conditions. *Biology and Fertility of Soils*, 32: 8-16.

McLaughlin M.J., Hamon R.E., McLaren R.G., Speir T.W., and Rogers S.L. 2000. A bioavailability-based rationale for controlling metal and metalloid contamination of agricultural land in Australia and New Zealand. *Australian Journal of Soil Research*, 38: 1037-1086.

Moreno J.L., Bastida F., Ros M., Hernandez T., and Garcia C. 2009. Soil organic carbon buffers heavy metal contamination on semiarid soils: effects of different metal threshold levels on soil microbial activity. *European Journal of Soil Biology*, 45: 220-228.

Nannipieri P. 1994. The potential use of soil enzymes as indicators of productivity, sustainability and pollution. In: Pankhurst C.E., Doube B.M., Gupta V.V.S.R., and Grace P.R. (Eds). Soil Biota: Management in Sustainable Farming Systems. *CSIRO* Publications, Melbourne, Australia, pp. 238-244.

Nelson R.E., and Sommers L.E. 1982. Total carbon, organic carbon and organic matter. In: Page, A.L., Miller R.H., and Keeney D.R. (Eds.), Methods of Soil Analysis. Part 2. *Soil Science Society of America*, Madison, WI. pp. 539-579.

Nwachukwu O.I., and Pulford I.D. 2011. Microbial respiration as an indication of metal toxicity in contaminated organic materials and soil. *Journal of Hazardous Materials*, 185: 1140-1147.

Obbard P. 2001. Ecotoxicological assessment of heavy metals in sewage sludge amended soils. *Applied Geochemistry*, 16: 1405-1411.

Papa S., Bartoli Pellegrino G., and Fioretto A.A. 2010. Microbial activities and trace element contents in an urban. *Plant, Soil and Environment*, 165:193-203.

Raskin I., and Ensley B.D. 2000. Phytoremediation of Toxic Metals: Using Plants to Clean Up the Environment. John Wiley and Sons, Inc. New York 304p.

Vig K., Megharaj M., Sethunathan N., and Naidu R. 2003. Bioavailability and toxicity of lead to microorganisms and their activities in soil: a review. *Advances in Environmental Research*, 8: 121-135.

Verma R. K., Yadav D.V., Singh C.P., Suman A., and Gaur A. 2010. Effect of heavy metals on soil respiration during decomposition of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) trash in different soils. *Plant, Soil and Environment*, 56: 76-81.

Wang Y.P., Shi J.Y., Lin Q., Chen X., and Chen Y.X. 2007. Heavy metal availability and impact on activity of soil microorganisms along a Cu/Zn contamination gradient. *Journal of Environmental Sciences*, 19: 848-853.

Zhang Y., Zhang H.W., Su, Z.C., and Zhang C.G. 2008. Soil microbial characteristics under long-term heavy metal stress: a case study in Zhangshi wastewater irrigation area, Shenyang. *Pedosphere*, 18: 1-10.

Effect of Apple Pruning Vermicompost on Improving some Biological Properties of a Pb-Contaminated Soil

Parinaz Khodaei[1], MirHassan Rasouli-Sadaghiani[2*], Habib Khodaverdiloo[3]

(Received: January 2016 Accepted: May 2016)

Abstract

Lead (Pb) is one of dangerous environmental contaminated factors which threaten the health of plants, animals and humans. Lead in the soil led to reduce the biological activities of soil. The aim of this study was to evaluate the effect of vermicompost (C) of apple pruning wastes on microorganism's activity of a Pb-contaminated soil. For this purpose an experiment was carried out in greenhouse condition as a factorial experiment based on a randomized completely design with two factors including Pb concentration in four levels (0, 250, 500 and 1000 mg Pb kg^{-1} soil) and vermicompost in three levels (0, 20 and 40 t ha^{-1}). A soil sample was selected and spiked uniformly with different concentrations of Pb. These samples were incubated for 90 days, and then some biological experiments were measured. Results showed that by increasing the Pb concentration in soil, BR, SIR and MBC were reduced intensively, but these indices were improved by adding the vermicompost. Using 20 and 40 t ha^{-1} vermicompost increased BR up to 1.95 and 2.33 times higher than control treatment, respectively. MBC at 40 t ha^{-1} vermicompost application treatment on average was 3.18 times higher than control treatment. The amount of qCO_2 increased up to 2.6 times in C20 (20 t ha^{-1} vermicompost) treatment compared to control. Therefore it could be concluded that application of vermicompost ameliorate the toxic impacts of Pb on microorganisms activity.

Keywords: Lead (Pb), Metabolic Quotient, Microbial biomass carbon (MBC), Microbial respiration, Vermicompost

1- Graduate of Soil Science, Department of Soil Science, Urmia University, Iran
2- Associate Professor, Department of Soil Science, Urmia University
3- Associate Professor, Department of Soil Science, Urmia University
[*] Corresponding author Email: m.rsadaghiani@urmia.ac.ir