

## اثر لجن فاضلاب، باکتری تیوباسیلوس تیواکسیدانس و زمان بر شکل‌های شیمیایی کادمیوم در خاک آهکی

سعیده احمدزاده سروستانی<sup>1</sup> و مصطفی چرم

دانشجوی دکتری خاکشناسی دانشگاه شهید چمران اهواز؛ saeide.ahmadzade@yahoo.com

دانشیار گروه خاکشناسی دانشگاه شهید چمران اهواز؛ mchorom@yahoo.com

دریافت: 94/11/18 و پذیرش: 95/3/9

### چکیده

در سال‌های اخیر استفاده از لجن فاضلاب به عنوان کود، در اراضی کشاورزی به دلیل ارزان بودن رواج یافته است. لجن فاضلاب حاوی مقادیر زیادی عناصر پر مصرف و کم مصرف است با این وجود لجن فاضلاب دارای غلظت‌های بالای عناصر سنگین است. این مطالعه به منظور تعیین اثرات لجن فاضلاب، باکتری تیوباسیلوس تیواکسیدانس و زمان بر توزیع گونه‌های کادمیم در بخش‌های مختلف یک خاک آهکی انجام شد. به همین منظور آزمایشی با سه سطح لجن فاضلاب (0، 50، 100 تن در هکتار)، دو سطح باکتری (حضور و عدم حضور باکتری) و سه زمان (0، 30 و 60 روز) انجام شد. آزمایش در سه تکرار در قالب طرح فاکتوریل کاملاً تصادفی انجام شد. نمونه‌ها به مدت دو ماه در دمای حدود 25 درجه و شرایط نزدیک به ظرفیت مزرعه‌ای نگهداری شدند. در نهایت توزیع گونه‌های کادمیم در بخش‌های تبادل‌ی محلول، آلی، کربناتی، اکسیدهای آهن و منگنز و باقیمانده بوسیله روش عصاره‌گیری مرحله‌ای تعیین شدند. نتایج نشان داد که شکل باقیمانده و سپس کربناتی کادمیم غالب بود و تیمار لجن فاضلاب و زمان تغییرات معنی‌داری را در خاک آهکی داشته است. مقدار کادمیم مرتبط با بخش کربناتی و باقیمانده در حضور و عدم حضور باکتری بیشتر از بقیه بخش‌ها بود. در خاک با باکتری تیوباسیلوس تیواکسیدانس درصد کادمیم در بخش کربناتی و آلی کاهش و درصد کادمیم در سایر بخش‌ها افزایش یافت. کادمیم پیوند شده با کربنات طی 60 روز به طور معنی‌داری بیشتر از 0 و 30 روز بود. شکل آلی کادمیم به طور معنی‌داری در طی زمان کاهش یافت. در مجموع در این پژوهش به نظر می‌رسد لجن فاضلاب، باکتری تیوباسیلوس تیواکسیدانس و زمان نقش مهمی در نگهداری و جابجایی کادمیم در بخش‌های خاک دارند.

واژه‌های کلیدی: فلز سنگین، عصاره‌گیری دنباله‌ای

<sup>1</sup>نویسنده مسئول، آدرس: اهواز، دانشگاه شهید چمران اهواز - دانشکده کشاورزی، گروه علوم خاک

محلول‌های عصاره‌گیر، به ترتیب از ضعیف به قوی، عصاره‌گیری می‌شود. انتخاب نوع عصاره‌گیر و توالی انجام به طوری انجام می‌گیرد که هر عصاره‌گیر شکل شیمیایی خاصی را استخراج کند. در حالت ایده‌آل محلول‌های عصاره‌گیری و ترتیب استفاده از آنها به گونه‌ای انتخاب می‌شوند که به صورت اختصاصی تنها شکل خاصی از ترکیبات خاک، با حداقل تأثیر بر شکل‌های دیگر، را استخراج کرده و نیز در طول عصاره‌گیری عناصر آزاد شده دستخوش جذب مجدد و رسوب نگردند (آهنستروم و پارک، 1999). لیم و همکاران (2004) گزارش کردند که گرچه افزایش زمان تکان دادن تعلیق خاک تیمار شده با کادمیوم از 1 به 7، 15، 30، 50 و 65 روز تأثیر معنی‌داری بر مقدار جذب سطحی کادمیوم نداشت، اما سبب تبدیل شکل‌های فلزی با حلالیت زیاد به شکل‌های کم محلول‌تر شد. میزرا و همکاران در تحقیقی که به منظور مطالعه اثر زمان بر قابلیت عصاره‌گیری شش فلز روی، مس، نیکل، کادمیوم، سرب و کروم تحت شرایط غرقابی و در چهار خاک مختلف انجام گرفت، با افزودن 50 میلی‌گرم در کیلوگرم خاک از این فلزات و عصاره‌گیری آنها با DTPA طی یک دوره خواباندن 120 روزه، مشاهده کردند که گرچه قابلیت عصاره‌گیری فلزات به ماهیت فلز و ویژگی‌های خاک بستگی داشت اما با افزایش زمان خواباندن از مقدار فلزات قابل عصاره‌گیری کاسته شد. ما و اورن (1998) با استفاده از عصاره‌گیری دنباله‌ای تغییر شکل کادمیوم افزوده شده به یک خاک آهکی را در طول یک آزمایش خواباندن 60 روزه مطالعه کردند.

نتایج نشان داد که با گذشت زمان شکل‌های محلول در آب، قابل تبادل و قابل عصاره‌گیری با EDTA کاهش و مقادیر از دست رفته در شکل‌های متصل به منگنز احیاپذیر، کربناتی، آلی، اکسیدهای آهن و آلومینیوم و تمه بازیافت شد. رفتار فلزات سنگین در خاک به ظرفیت اجزای مختلف خاک برای جذب و نگهداری این عناصر بستگی دارد. نگارندگان معتقدند که مقادیر بالای آهک در خاک‌های ایران در جذب و تثبیت فلزات نقشی کلیدی بازی می‌کند و به دنبال ورود فلزات به این خاک‌ها، به سرعت از مقدار قابل استفاده آنها کاسته می‌شود و با گذشت زمان شکل‌های محلول به شکل‌های با حلالیت کمتر تبدیل می‌شوند. رنلا و همکاران (2002) به منظور مطالعه قابلیت استفاده و توزیع کادمیوم در خاک مقادیر 0، 3، 10، و 50 میلی‌گرم کادمیوم در کیلوگرم (به شکل سولفات کادمیوم) را به یک خاک آهکی دارای پیشینه مدیریتی متفاوت افزودند. جداسازی شکل‌های شیمیایی کادمیوم بوسیله دو روش عصاره‌گیری دنباله‌ای و در طول

امروزه آلودگی محیط زیست و از جمله خاک به عنوان یکی از مباحث بسیار مهم در زندگی بشر مطرح است. این پدیده نه تنها تخریب منابع طبیعی را به دنبال دارد، بلکه روز به روز سبب ایجاد محدودیت بیشتر برای ساکنین زمین می‌شود. در میان فلزات سنگین آلوده کننده خاک، کادمیوم از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. زیرا به راحتی بوسیله‌ی ریشه گیاه جذب می‌شود و سمیت آن تا 20 برابر بیشتر از سایر فلزات سنگین است. فراهمی زیستی بالای کادمیوم و احتمال ورود آن به زنجیره غذایی، حتی در سطوح پایین آلودگی خاک با این فلز سبب شده است که نیاز بیشتری نسبت به فهم عوامل مؤثر بر قابلیت استفاده این فلز و تغییر و تبدیل آن در خاک احساس شود. جعفرنژادی و همکاران (2011) گزارش کردند غلظت کادمیوم در برخی از خاک‌های کشاورزی استان خوزستان به عنوان یکی از مراکز تولید محصولات کشاورزی بدلیل آنچه کاربرد مقادیر زیاد کودهای فسفره خوانده شده در حال افزایش می‌باشد. به طور کلی قابلیت استفاده کادمیوم تحت تأثیر مقدار و منشا کادمیوم، پ هاش، مقدار ماده آلی، مقدار و نوع رس، ظرفیت تبدیلی کاتیونی و رقابت سایر عناصر به ویژه روی در خاک می‌باشد.

در رابطه با تغییر و تبدیل فلزات در خاک و از جمله کادمیوم عقیده بر آن است که عناصر فلزی بلافاصله پس از افزوده شدن به خاک، دارای بیشترین حلالیت و فراهمی زیستی می‌باشند. با گذشت زمان و ایجاد تعادل بین فلز و خاک بر اثر واکنش‌هایی همچون جذب سطحی، تبدیلی، کلاته شدن، رسوب، اکسید و احیا، واکنش با اکسیدها و هیدروکسیدهای آهن و منگنز و ورود به شبکه‌های با حلالیت زیاد به شکل‌های کم محلول‌تر تبدیل می‌شوند نسبت و فراهمی زیستی این شکل‌های شیمیایی در خاک بسته به خصوصیات خاک و نوع مدیریت اعمال شده متفاوت بوده و اطلاع از مقدار و نسبت این شکل‌ها در خاک از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (ماناهان، 1994). روش‌های عصاره‌گیری دنباله‌ای از معمولترین روش‌های جداسازی این شکل‌های شیمیایی می‌باشند که به منظور درک بهتر فرآیندهای مؤثر در قابلیت دسترسی این عناصر بکار برده می‌شوند. در این روش‌ها هدف تخمین پتانسیل آزادسازی عناصر موجود در جزء‌های مختلف خاک در اثر تغییر شرایط محیط خاک است. این روش اطلاعات مفیدی در مورد وضعیت و توزیع عناصر در اجزاء مختلف خاک بدست می‌دهد (تسیر و کمپبل، 1999). در روش عصاره‌گیری دنباله‌ای، مقدار معینی از خاک به صورت متوالی با

**جزء محلول و پیوند شده روی سطوح تبادل‌ی خاک**

کاربرد نمک‌های الکترولیت مانند کلرید منیزیم، نیترات منیزیم، نیترات پتاسیم و نیترات کلسیم به عنوان عصاره‌گیر، جایگزینی یون‌های فلزی تبادل‌ی را که توسط نیروهای الکتروستاتیک ناشی از بار منفی سطوح ذرات خاک جذب شده‌اند، را تسهیل می‌بخشد. فلزات قرار گرفته در فاز تبادل‌ی معمولاً به شکل غیر اختصاصی جذب سطحی ذرات شده‌اند.

**جزء پیوند شده با کربنات‌های خاک**

بخش مهمی از فلزات سنگین در خاک‌های مناطق خشک و نیمه خشک در ارتباط با کانی‌های کربناتی خاک می‌باشد. فلزاتی که در ارتباط با کربنات‌های خاک می‌باشند، معمولاً به شکل اختصاصی توسط پیوندهای کوالانسی جذب شده‌اند. نیروی پیوند کوالانسی به مراتب قوی‌تر از نیروی الکتروستاتیک می‌باشد، لذا قابلیت جذب این فلزات برای گیاه کمتر از جزء فلز تبادل‌ی بر روی سطح کلونیدهای خاک می‌باشد. قابل ذکر است که حلالیت جزء فلز پیوندی با کربنات‌های خاک به شدت به pH خاک وابسته است. ترکیب استات سدیم یک مولار در اسید استیک در پ‌هاش 5، قادر است بیش از 99% از کل کربنات‌های خاک را حل کند. به همین دلیل به عنوان یک عصاره‌گیر مناسب جهت عصاره‌گیری فلزات سنگین در ارتباط با کربنات‌های خاک، مورد استفاده قرار می‌گیرد.

**جزء پیوند شده با اکسیدها و هیدرواکسیدهای آهن و منگنز**

اکسیدهای آهن و منگنز ابتدا فلزات سنگین را به شکل تبادل‌ی جذب کرده و رفته رفته با گذشت زمان به اشکال با قابلیت تحرک کمتر انتقال داده و به شکل اختصاصی جذب می‌کنند. ترکیبات مختلفی برای عصاره‌گیری این جزء پیشنهاد شده است. ترکیب هیدروکسیل آمین هیدروکلراید در اسید استیک 25% بیشترین کاربرد را در عصاره‌گیری این جزء داشته است.

**جزء فلز وابسته به مواد آلی**

فلزات سنگین می‌توانند با ترکیبات مختلف مواد آلی خاک از قبیل ارگانیک‌های زنده، بقایای گیاهی و جانوری و یا مواد آلی پوششی روی سطوح ذرات کانی، وارد پیوند شوند. تحت شرایط اکسیداسیون مواد آلی تجزیه شده و فلزات سنگین پیوند شده با آنها آزاد می‌گردند. لذا استفاده از پراکسید هیدروژن به عنوان یک اکسیدکننده قوی، جهت عصاره‌گیری این جزء معمول می‌باشد.

دوره خواباندن 600 روزه نشان داد که مصرف کادمیوم سبب افزایش تمام شکل‌های شیمیایی کادمیوم از همان ابتدای آزمایش شد و در تمام سطوح کادمیوم مصرفی و مدیریت‌های زراعی مختلف بخش عمده کادمیوم به شکل کربناتی درآمد. این پژوهشگران نتیجه‌گیری کردند که ظرفیت نگهداری کادمیوم در خاک‌های آهکی به مراتب بیشتر از حدود مجاز توصیه شده توسط سازمان‌های حفاظت محیط زیست می‌باشد. گرچه در سال‌های اخیر در خاک‌های ایران از عصاره‌گیری دنباله‌ای جهت تعیین شکل‌های شیمیایی فلزات و از جمله کادمیوم استفاده شده است، اما بررسی تغییرات زمانی شکل‌های شیمیایی کادمیوم تحت تأثیر باکتری تیوباسیلوس تیواکسیدانس در خاک تیمار شده با لجن فاضلاب کمتر مورد توجه قرار گرفته است. اکسید شدن گوگرد عنصری به وسیله تعداد بی‌شماری از باکتری‌های جنس تیوباسیلوس صورت می‌گیرد که پنج گونه از آنها در بیشتر خاک‌ها مشاهده شده‌اند. مهمترین و رایجترین باکتری اکسید کننده گوگرد تیوباسیلوس تیواکسیدانس است که تقریباً در تمام خاک‌های زراعی مشاهده شده است. این باکتری‌ها هوازی و کمولیتوتروف هستند یعنی برای فعالیت خود احتیاج به اکسیژن مولکولی دارند و در ضمن کربن مورد نیاز خود را از گاز کربنیک و انرژی لازم را از اکسیداسیون مواد معدنی بدست می‌آورند. بسیاری از پژوهشگران گزارش کرده‌اند مصرف گوگرد و تولید اسید سولفوریک در نتیجه اکسایش آن، باعث کاهش pH خاک و افزایش دسترسی عناصر می‌شود. در شرایط هوازی باکتری‌های کمولیتوتروف اکسیدکننده نیتروژن و گوگرد و حتی آهن و منگنز در فرایند اکسیداسیون هوازی خود در میکروپوره‌های خاک می‌توانند اسید بسازند و بر حلالیت کانی‌های فسفر در خاک بیافزایند. باکتری‌های تیوباسیلوس مهمترین اکسیدکنندگان گوگرد در خاک هستند، تلقیح کردن خاک با این باکتری‌ها، باعث افزایش سرعت اکسیداسیون گوگرد می‌شود (بشارتی و صالح راستین، 1380).

**شکل‌های شیمیایی فلزات در خاک**

به منظور تعیین شکل‌های شیمیایی کادمیوم در فاز جامد خاک از عصاره‌گیری متوالی به روش تسیر و همکاران استفاده شد. این روش به دلیل تعیین اجزاء مختلف ژئوشیمیایی و به دلیل عدم بزرگنمایی بعضی از بخش‌ها روش قابل قبولی ارزیابی شده است. تسیر و همکاران برای هر فلز پنج جزء مختلف در نظر گرفتند. (تسیر و همکاران، 1979).

## جزء فلز باقیمانده

پس از عصاره‌گیری چهار جزء ذکر شده، مواد جامد باقیمانده حاوی کانی‌های اولیه و ثانویه بیشماری است که ممکن است مقادیر زیادی از فلزات را در ساختمان کریستالی خود محصور کرده باشند. این فلزات در بازه زمانی معقول و تحت شرایط طبیعی آزاد نمی‌شوند، لذا قابلیت زیست‌فراهمی آنها برای گیاه بسیار کم می‌باشد. برای عصاره‌گیری این جزء از اسیدهای قوی مانند اسید هیدروکلریک و اسید نیتریک غلیظ استفاده می‌شود. از بین اشکال مختلف فلزات سنگین، چهار جزء پیوند شده بر روی سطوح تبادل‌ی کلونیدهای خاک، جزء پیوندی با کانی‌های کربناتی خاک، جزء متصل به اکسیدهای آهن و منگنز و جزء وابسته به مواد آلی دارای پتانسیل تحرک پذیری زیادی هستند، در حالی که جزء باقیمانده تحت شرایط معمولی به عنوان گونه غیر متحرک مطرح می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

جهت انجام این مطالعه مقدار مناسبی خاک از مزرعه‌ی دانشکده‌ی کشاورزی دانشگاه اهواز از عمق 20-0 سانتی‌متری جمع‌آوری شد و پس از هوا خشک کردن و عبور از الک 2 میلی‌متری برخی ویژگی‌های شیمیایی و فیزیکی خاک خاک از جمله بافت خاک به روش هیدرومتر، قابلیت هدایت الکتریکی در عصاره اشباع، پ-هاش به وسیله الکتروود شیشه‌ای، ماده آلی به روش اکسیداسیون تر واکلی بلک، فسفر قابل استفاده به روش عصاره‌گیری با بی‌کربنات سدیم، نینروژن کل به روش کجلدال و تعیین غلظت عناصر کم مصرف و کادمیوم عصاره‌گیری شده با DTPA به وسیله دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد. خاک مورد نظر با استفاده از 10 میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیوم (از منبع نمک سولفات) به روش اسپری کردن یکنواخت تیمار گردید. مهمترین هدف استفاده از باکتری تیوباسیلوس تیواکسیدانس در این پژوهش تغییر پهاش خاک از طریق ایجاد اسید سولفوریک طی فرایند اکسیداسیون گوگرد بوده است و تغییر پهاش یکی از عوامل موثر بر حلالیت عناصر در خاک می‌باشد. با توجه به اینکه باکتری تیوباسیلوس تیواکسیدانس اسید دوست می‌باشد کاهش پهاش ایجاد شده در اثر افزودن لجن فاضلاب تأثیر مثبتی بر رشد این باکتری در خاک قلیایی دارد. باکتری تیوباسیلوس تیواکسیدانس از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران (مرکز منطقه‌ای کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران PTCC) به صورت کشت زنده تهیه شد و

بر اساس استانداردهای ذکر شده (PTCC) محیط کشت باکتری که به آن گوگرد اضافه شده بود آماده و پس از رشد باکتری در محیط کشت، 60 میلی‌لیتر از باکتری کشت زنده تهیه شده به هر یک از گلدان‌های 7 کیلوگرمی افزوده شد. به منظور بررسی تغییرات زمانی شکل‌های شیمیایی کادمیوم تحت تأثیر باکتری تیوباسیلوس تیواکسیدانس در خاک تیمار شده با لجن فاضلاب آزمایشی فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. که فاکتورها شامل 3 سطح لجن فاضلاب (0، 50 و 100 تن در هکتار) و 2 سطح مایه تلقیح تیوباسیلوس (بدون مایه تلقیح و تلقیح شده با باکتری) و سه زمان خواباندن (0، 30 و 60 روز) بود. خاک مورد نظر به گلدان‌های پلاستیکی با وزن 7 کیلوگرم منتقل و در سه تکرار در شرایط گلخانه نگهداری شد.

نمونه‌های خاک با ورقه پارافیلیم دارای منافذ عبور هوا پوشانده شدند تا با وجود تبادل هوا از تبخیر سریع آب آنها جلوگیری شود. مقدار رطوبت نمونه‌ها هر سه روز یکبار با آب مقطر به حدود ظرفیت مزرعه رسانده شد. نمونه‌های خاک در زمان‌های مذکور برداشت و شکل‌های شیمیایی کادمیوم با روش عصاره‌گیری دنباله‌ای تسیر و همکاران (1979) جداسازی و بوسیله‌ی دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد. در این روش در هر زمان خواباندن یک گرم از نمونه‌های خاک برداشت و پس از انتقال به لوله‌های سانتریفیوژ هشت میلی‌لیتر محلول کلرید منیزیم یک مولار با pH=7 اضافه و بعد از گذشت یک ساعت در دمای اتاق عصاره‌گیری شد. در این مدت نمونه‌ها به شکل پیوسته تکان داده می‌شوند. سپس نمونه‌ها با سرعت 3000 دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و محلول رویی از کاغذ صافی واتمن 40 عبور داده شد و در ظروف پلاستیکی 50 میلی‌لیتری نگهداری شد. غلظت کادمیوم در عصاره‌ها با دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد. در پایان هر مرحله و قبل از انجام مرحله بعدی، بر روی خاک باقیمانده در لوله سانتریفیوژ 10 میلی‌لیتر آب مقطر ریخته و مجدداً سانتریفیوژ می‌شود. برای سایر مراحل مقدار عصاره‌گیر لازم هر مرحله به خاک باقیمانده از مرحله قبل اضافه شد. نمونه‌ها به مدت لازم تکان داده شدند و پس از سانتریفیوژ و صاف کردن جهت اندازه‌گیری کادمیوم به کار رفتند. تجزیه آماری داده‌ها به وسیله‌ی برنامه کامپیوتری MSTATC و مقایسه‌ی میانگین‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد و نمودارها بوسیله‌ی نرم‌افزار Excel رسم شدند.

جدول 1- روش عصاره‌گیری دنباله‌ای تسیر و همکاران 1997

مرحله	جزء عصاره‌گیری شده	روش کار
F1	تبادلی و محلول	8 میلی‌لیتر محلول کلرید منیزیم 1 مولار با پهاش 7 در دمای 25 درجه سانتیگراد به مدت 1 ساعت شیکر شد
F2	کربناتی	8 میلی‌لیتر محلول استات سدیم 1 مولار با پهاش 5 در دمای 25 درجه سانتیگراد به مدت 5 ساعت شیکر شد
F3	پیوند شده با اکسیدهای آهن و منگنز	20 میلی‌لیتر هیدروکسیل آمین هیدروکلراید 0/04 مولار تهیه شده در اسید استیک 25 درصد با پهاش 2 در دمای 96 درجه سانتیگراد به مدت 2 ساعت شیکر شد
F4	پیوسته با ماده آلی	الف - 3 میلی‌لیتر اسید نیتریک 0/02 مولار + 5 میلی‌لیتر آب اکسیژنه 30 درصد در دمای 85 درجه سانتیگراد به مدت 2 ساعت شیکر شد ب- 3 میلی‌لیتر آب اکسیژنه 30 درصد در دمای 85 درجه سانتیگراد به مدت 3 ساعت شیکر شد ج- 5 میلی‌لیتر استات آمونیوم 3/2 مولار در دمای 25 درجه سانتیگراد به مدت 30 دقیقه شیکر شد.
F5	باقیمانده	7/5 میلی‌لیتر اسید کلریدریک 12 مولار + 2/5 میلی‌لیتر اسید نیتریک 16 مولار در دمای 25 درجه سانتیگراد به مدت 16 ساعت نگهداری، سپس به مدت 2 ساعت تبخیر و تقطیر ملایم و در نهایت سرد و صاف شد (بدون سانتریفیوژ)

کلیه سوسپانسیون‌ها پس از مرحله تکان دادن سانتریفیوژ و توسط سرنگ فیلتر شد

جدول 2- خصوصیات شیمیایی خاک مورد مطالعه

خاک	خصوصیات
3/1	قابلیت هدایت الکتریکی ( $\text{dS m}^{-1}$ )
7/6	pH
0/9	ماده آلی (%)
0/07	کادمیوم قابل جذب با DTPA ( $\text{mg kg}^{-1}$ )
18/5	ظرفیت تبادل کاتیونی ( $\text{cmolc kg}^{-1}$ )
سیلنتی لوم	بافت
1/2	کادمیوم کل ( $\text{mg kg}^{-1}$ )

جدول 3- خصوصیات شیمیایی لجن فاضلاب مورد استفاده

لجن فاضلاب	واحد	خصوصیات
11/5	%	ماده آلی
6/8		pH
18/5	( $\text{dS m}^{-1}$ )	EC
0/72	( $\text{mg kg}^{-1}$ )	کادمیوم قابل جذب با DTPA
2/6	( $\text{mg kg}^{-1}$ )	کادمیوم کل

اندازه‌گیری در عصاره 2:1 (لجن: آب)

نتایج و بحث

گیری شد. با توجه به اطلاعات علمی موجود، حد تمایز خاک‌های آلوده از غیر آلوده در خاک‌های آهکی 2 میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیوم کل در نظر گرفته شده است (وانگ و همکاران، 1999).

اثر کاربرد لجن فاضلاب و باکتری تیوباسیلوس تیواکسیدانس بر شکل‌های شیمیایی کادمیوم

همانطور که در جدول 4 مشاهده می‌شود کاربرد لجن فاضلاب سبب افزایش معنی‌دار شکل‌های شیمیایی کادمیوم شده است کاربرد لجن فاضلاب در این پژوهش

برخی از خصوصیات شیمیایی خاک و لجن فاضلاب مصرف شده در جدول 2 و 3 آورده شده است. خصوصیات خاک از جمله بافت خاک به روش هیدرومتر، قابلیت هدایت الکتریکی در عصاره اشباع، پ-هاش به وسیله الکتروود شیشه‌ای، ماده آلی به روش اکسیداسیون تر واکلی بلک، نینروزن کل به روش کج‌لدال و تعیین غلظت کادمیوم کل و قابل جذب با DTPA عصاره‌گیری شده به وسیله دستگاه جذب اتمی اندازه-

پژوهشگران دیگری نیز گزارش شده است. ما و اورن (1997) در مطالعات خود افزایش جزء اکسیدی و کاهش اجزاء با حالیت بیشتر نظیر تبادل، محلول در آب را با گذشت زمان گزارش کردند. کاربرد لجن فاضلاب در مجموع در این پژوهش پتانسیل خطرات زیست محیطی کادمیوم را بالا برده است.

#### اثرات متقابل تیمار زمان و باکتری تیوباسیلوس

اثرات باقیمانده باکتری تیوباسیلوس تیواکسیدانس و زمان در جدول 6 آورده شده است. برهمکنش باکتری تیوباسیلوس تیواکسیدانس و زمان در سطح 5 درصد معنی‌دار بوده است. باکتری تیوباسیلوس تیواکسیدانس با تولید اسید سولفوریک طی فرایند اکسید کردن گوگرد منجر به اسیدی شدن محیط فعالیت خود می‌شود و همچنین از طریق تجزیه ترکیبات کربناته تأثیر معنی‌داری بر شکل کربناته کادمیوم داشته است. تلقیح باکتری موجب کاهش فرم کربناته شده که این روند با گذشت زمان نیز قابل مشاهده بوده است. همانطور که در شکل (2) مشاهده می‌شود گذشت زمان منجر به افزایش فرم کربناته، اکسیدی و کاهش فرم محلول + تبادل، باقیمانده و آلی شد. تشکیل و تجزیه کمپلکس‌های مواد آلی با فلز بوسیله باکتری تیوباسیلوس تیواکسیدانس می‌تواند در ترکیب و یا رهاسازی فلزات در خاک مؤثر باشد و به نوبه خود بر مقدار نسبی سایر شکل‌ها اثر بگذارد.

#### اثر متقابل تیمار لجن فاضلاب و باکتری

اثرات متقابل باکتری تیوباسیلوس تیواکسیدانس و لجن فاضلاب در جدول 7 آورده شده است. برهمکنش باکتری تیوباسیلوس تیواکسیدانس و لجن فاضلاب در سطح 5 درصد معنی‌دار بوده است. با توجه به شکل (3) با افزایش سطح لجن فاضلاب در حضور باکتری تمام شکل‌های کادمیوم به جز باقیمانده افزایش یافت شاید بتوان نوسانات سایر شکل‌ها را به پویایی ترکیبات آلی خاک نسبت داد. همانطور که در شکل (4) مشاهده می‌شود تلقیح باکتری تیوباسیلوس تیواکسیدانس منجر به افزایش شکل محلول + تبادل، اکسیدی و باقیمانده و کاهش فرم کربناته و آلی شد.

پتانسیل خطرات زیست محیطی کادمیوم را بالا می‌برد. اثرات کاربرد لجن فاضلاب بر فراهمی گونه‌های محلول و تبدلی در سطح 5 درصد معنی‌دار بوده است. کاربرد لجن فاضلاب حرکت فلزات به این فازها را به دلیل افزایش کمپلکس‌هایی نظیر کادمیوم کلراید در خاک تشدید می‌کند. افزایش فرم‌های آلی کادمیوم را از یک سو می‌توان به تجزیه ماکرومولکول‌های هیومیک و آزادسازی کادمیوم آلی و از سوی دیگر به مقادیر کادمیوم بومی لجن فاضلاب نسبت داد. داده‌های جدول 4 نشان می‌دهد که در هر سه زمان و همچنین در هر سه سطح لجن فاضلاب در هر دو تیمار شاهد و باکتری قسمت اعظم کادمیوم به ترتیب در فاز باقیمانده و کربناته بوده است. به نظر می‌آید که دلیل چنین توزیعی پ‌هاش بالای خاک، زیاد بودن فاز کربناته و تمایل در پیوستن به این فاز بوده است.

#### اثرات متقابل تیمار لجن فاضلاب و زمان

در جدول شماره 5 اثرات متقابل تیمار لجن فاضلاب و زمان مشاهده می‌شود. برهمکنش لجن فاضلاب و زمان در سطح 5 درصد معنی‌دار بوده است. با افزایش سطح لجن فاضلاب همه شکل‌های کادمیوم به غیر از بخش باقیمانده افزایش معنی‌داری نشان می‌دهند ( $p < 0/05$ ). همانطور که در جدول 5 نشان داده شده است با افزایش سطح لجن فاضلاب، کادمیوم متصل به همه شکل‌های شیمیایی محلول و تبدلی، کربناته، آلی و اکسیدی افزایش معنی‌داری داشته است که بیشترین افزایش در بین این چهار بخش متعلق به شکل کربناته می‌باشد به عنوان مثال همانطور که در شکل (1) مشاهده می‌شود در زمان 60 روز با افزایش سطوح لجن فاضلاب از صفر به 100 تن در هکتار شکل کربناته از 2/7 به 3/92 میلی‌گرم در کیلوگرم رسید. همچنین با گذشت زمان شکل کربناته و اکسیدها افزایش و محلول + تبدلی و آلی کاهش می‌یابد بررسی شکل‌های شیمیایی کادمیوم با گذشت زمان نشان دهنده تغییرات معنی‌داری بود، البته با گذشت زمان بعضی شکل‌ها روند ثابتی را به طور صعودی یا نزولی دنبال می‌کردند به طور مثال کاهش غلظت شکل محلول + تبدلی و افزایش غلظت کادمیوم متصل به اکسیدهای آهن و منگنز امری دور از انتظار نبود، زیرا تغییر شکل‌های محلول فلزات با گذشت زمان و تبدیل آنها به شکل‌های با حالیت کمتر توسط

جدول 4- اثر تیمارهای مختلف (زمان، لجن فاضلاب و باکتری) بر توزیع گونه‌های کادمیوم (میلی گرم بر کیلوگرم خاک)

شکل‌های مختلف کادمیوم در خاک (mg/kg)					
تیمارها و سطوح	تبادلی و محلول	کربناتی	آلی	اکسیدهای آهن و منگنز	باقیمانده
زمان (روز)	0	0/29a	1/93d	0/264bc	0/358c
	30	0/254b	2/319c	0/212d	0/423b
	60	0/198c	2/97b	0/154e	0/521a
لجن فاضلاب	0	0/057f	2/7d	0/08g	0/225g
	50	0/58d	3/38b	0/176e	0/453d
	100	1/15c	3/92a	0/335c	0/721a
باکتری	شاهد	0/315b	3/8c	0/45e	0/548g
	باکتری	0/372a	2/97d	0/342f	0/665h

جدول 5- تأثیر زمان و سطوح لجن فاضلاب بر شکل‌های شیمیایی کادمیوم (میلی گرم بر کیلوگرم خاک)

شکل‌های مختلف کادمیوم در خاک (mg/kg)						
لجن فاضلاب (تن در هکتار)	تیمار زمان (روز)	تبادلی و محلول	کربناتی	آلی	اکسیدهای آهن و منگنز	باقیمانده
S <sub>0</sub>	0	0/173d	1/67f	0/128f	0/105i	9/12a
	30	0/126e	1/87ef	0/104fg	0/144h	8/96b
	60	0/057f	2/773d	0/079g	0/225g	8/06d
S <sub>50</sub>	0	0/326b	2/11e	0/323c	0/296f	8/24c
	30	0/253c	2/693d	0/26d	0/37e	7/72e
	60	0/175d	3/38b	0/176e	0/453d	7/11f
S <sub>100</sub>	0	0/396a	2/99cd	0/468a	0/509c	7/04g
	30	0/356b	3/257bc	0/385b	0/59b	6/81h
	60	0/278c	3/92a	0/335c	0/721a	6/15i

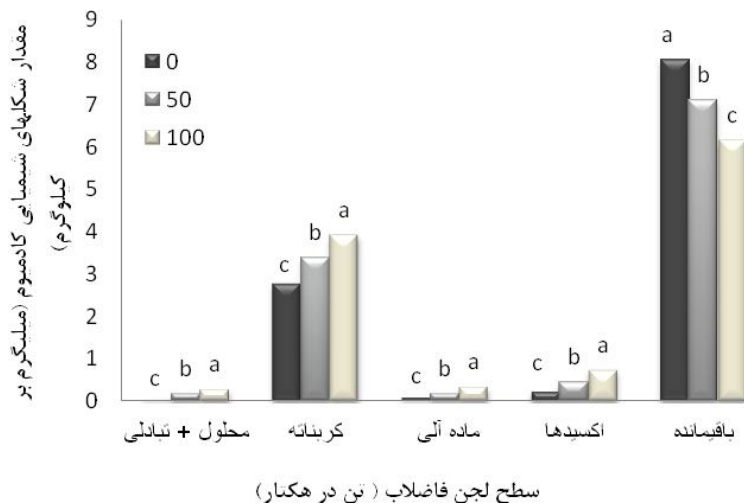
میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک هستند بر اساس آزمون دانکن فاقد تفاوت آماری معنی‌دار در سطح احتمال 5 درصد هستند.

جدول 6- تأثیر زمان و باکتری تیوباسیلوس تیواکسیدانس بر شکل‌های شیمیایی کادمیوم (میلی گرم بر کیلوگرم)

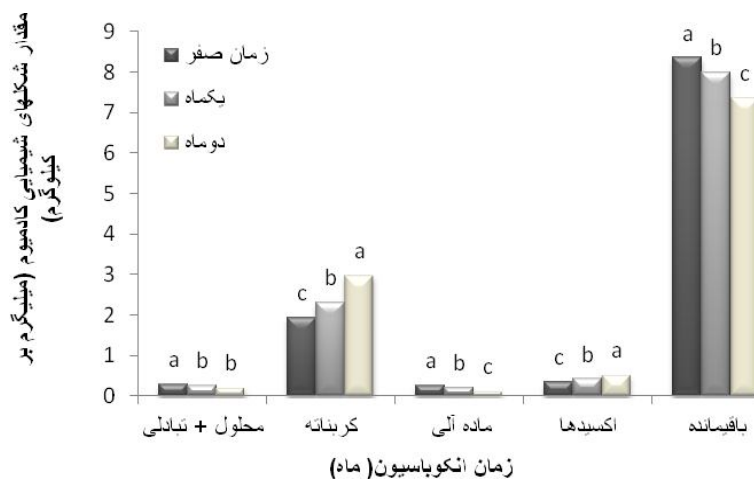
شکل‌های مختلف کادمیوم در خاک (mg/kg)						
زمان (روز)	تیمار باکتری	تبادلی و محلول	کربناتی	آلی	اکسیدهای آهن و منگنز	باقیمانده
T <sub>0</sub>	شاهد	0/3a	2/584c	0/349a	0/249e	7/73c
	باکتری	0/29a	1/932d	0/264bc	0/358c	8/35a
T <sub>30</sub>	شاهد	0/236b	2/897b	0/286b	0/312d	7/48d
	باکتری	0/254b	2/319c	0/212d	0/423b	7/99b
T <sub>60</sub>	شاهد	0/141d	3/742a	0/239cd	0/412b	6/66f
	باکتری	0/198b	2/979b	0/154e	0/521a	7/34e

جدول 7- تأثیر سطوح لجن فاضلاب و باکتری تیوباسیلوس تیواکسیدانس بر شکل های شیمیایی کادمیوم (میلی گرم بر کیلوگرم)

لجن فاضلاب	تیمار باکتری	تبادلی و محلول	کربناتی	آلی	اکسیدهای آهن و منگنز	باقیمانده
S <sub>0</sub>	شاهد	0/096f	2/48c	0/125e	0/116f	8/48b
	باکتری	0/141e	1/73d	0/083f	0/199e	9/04a
S <sub>50</sub>	شاهد	0/273c	2/93b	0/3c	0/308d	49d
	باکتری	0/23d	2/52c	0/206d	0/437c	7/9c
S <sub>100</sub>	شاهد	0/315b	3/80a	0/45a	0/548b	6/28f
	باکتری	0/372a	2/977b	0/342b	0/665a	7/04e

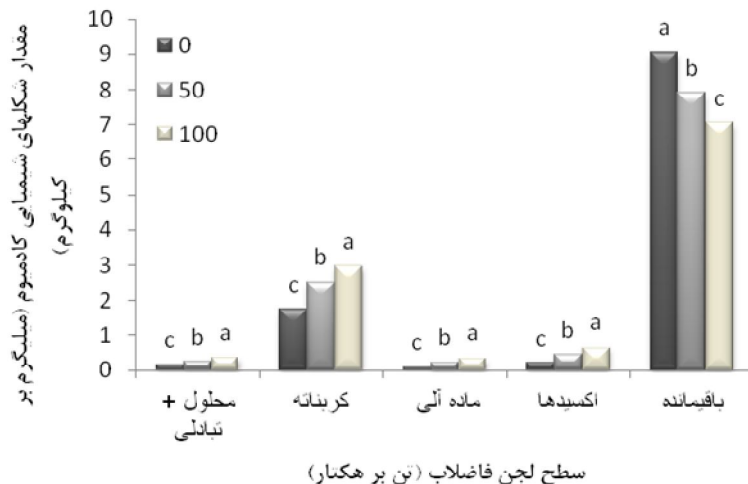


شکل 1- تأثیر سطوح لجن فاضلاب بر شکل های شیمیایی کادمیوم در دوره ی انکوباسیون دو ماهه

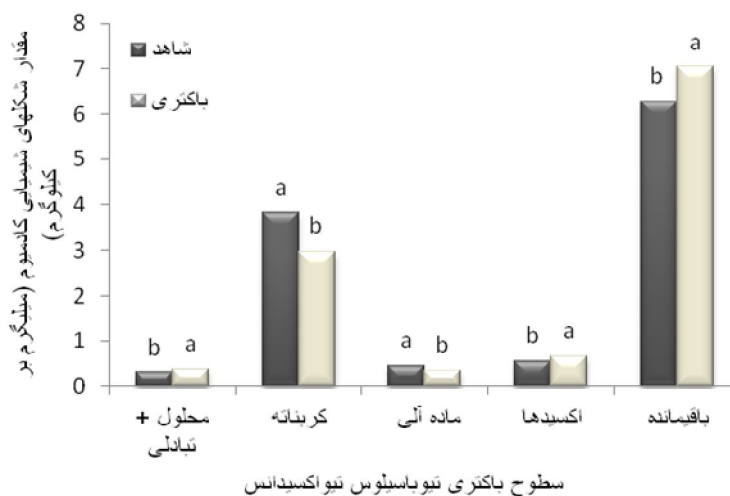


شکل 2- تأثیر تلقیح با باکتری تیوباسیلوس تیواکسیدانس در زمان های مختلف بر مقدار کادمیوم مرتبط با شکل های شیمیایی مختلف





شکل 3- تأثیر سطوح لجن فاضلاب و تلقیح باکتری تیوباسیلوس تیواکسیدانس بر شکل‌های شیمیایی کادمیوم



شکل 4- تأثیر حضور و عدم حضور باکتری تیوباسیلوس تیواکسیدانس بر شکل‌های شیمیایی کادمیوم در تیمار 100 تن در هکتار لجن فاضلاب

سیلت، شن و کلر همبستگی دارد. در تمام زمان‌ها با افزایش سطح لجن فاضلاب شکل‌های محلول و تبادل، کربناته، اکسیدی و آلی کادمیوم به طور معنی‌داری افزایش یافتند که بیانگر دست‌یابی سریع به تعادل و رسوب کادمیوم به شکل فازهای معدنی می‌باشد. این امر ظرفیت زیاد خاک‌های مورد مطالعه را برای جذب و نگهداری کادمیوم نشان می‌دهد.

رجایی و همکاران (2006) نشان دادند که کربنات کلسیم کنترل‌کننده اصلی حلالیت کادمیوم در خاک‌های آهکی است. رنلا و همکاران (2004) گزارش کردند که در خاک‌های آهکی که تحت مدیریت‌های مختلف می‌باشند، تنها قسمت بسیار جزئی از کادمیوم بومی خاک قابل استفاده بوده و بیشتر آن در شکل باقیمانده و کربناتی می‌باشد. جلالی و خانلری (2008) گزارش کردند که کادمیوم قابل استخراج در خاک‌های مورد مطالعه آنها با خصوصیات ماده آلی، قابلیت هدایت الکتریکی، pH خاک از قبیل رس،

کربناتی تبدیل کنند. تلقیح باکتری تیوباسیلوس تیواکسیدانس تأثیر معنی‌داری بر شکل کربناته داشته و منجر به کاهش کادمیوم مرتبط با شکل کربناته شده است. بر اساس نتایج بدست آمده توصیه می‌شود که در خاک-های آلوده شده با کادمیوم و یا خاک‌هایی که مقادیری از این فلز را به صورت کمپوست یا لجن فاضلاب دریافت می‌کنند، هر ساله سطوح قابل استفاده این فلز اندازه‌گیری و میزان جذب توسط گیاهان کشت شده در این خاک‌ها تعیین شود، تا از ورود این عنصر به زنجیره غذایی و عبور از حدود بحرانی جلوگیری شود.

نتایج این پژوهش نشان داد که با افزایش سطح لجن فاضلاب میزان کادمیوم در تمام بخش‌های مختلف خاک به جز باقیمانده افزایش یافت و به دلیل آهکی بودن خاک منطقه مورد نظر بخش عمده‌ای از کادمیوم به شکل بقیمانده و کربناته در خاک نگهداری می‌شود. با گذشت زمان کادمیوم مرتبط با کربنات‌ها افزایش یافت، که نشان-دهنده ظرفیت کربنات کلسیم برای نگهداری کادمیوم در خاک‌های مورد مطالعه است و این خاک‌ها قادرند که مقادیر زیاد این فلز را به سرعت تثبیت کرده و به شکل

### فهرست منابع:

1. بشارتی، ح و صالح راستین، ن. 1379. تأثیر مصرف گوگرد و مایه تلقیح باکتری‌های تیوباسیلوس بر مقدار آهن و روی جذب شده توسط ذرت در شرایط گلخانه مجله خاک و آب جلد 12 . شماره 7 . صفحات 63-72. موسسه تحقیقات خاک و آب تهران، ایران.
2. بشارتی، ح و صالح راستین، ن. 1380. بررسی تأثیر کاربرد مایه تلقیح باکتری‌های تیوباسیلوس همراه با گوگرد در افزایش قابلیت جذب فسفر، مجموعه مقالات ضرورت تولید صنعتی کودهای بیولوژیکی در کشور موسسه تحقیقات خاک و آب. صفحه 317-293.
3. Abbaspour, A., M. Kalbasi, S. Hajrasuliha, and A. Golchin. 2007. Effects of Plant Residue and Salinity on Fractions of Cadmium and Lead in Three Soils. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*. 16: 6, 539 – 555
4. Amini, M., H. Khademi, M. Afyuni, and K.C. Abbaspour. 2005. Variability of available cadmium in relation to soil properties and land use in an arid region in central Iran. *Water Air and Soil pollution Journal*. 162: 205-218.
5. Ahnstrom, Z. S., and D. R. Parker. 1999. Development and assessment of a sequential extraction procedure for the fractionation of soil cadmium. *Soil Science Society American Journal*. 63: 1650–1658.
6. Antoniadis, N., and B.J. Alloway. 2001. Availability of Cd, Ni, and Zn to ryegrass in sewage sludge treated soils at different temperatures. *Water Air Soil Pollut*. 132: 201–204.
7. Arenas-Lago<sup>a</sup>, D, Vega, f.d., Silva, L. F. O., Andrade, M. L. 2013. Soil interaction and fractionation of added cadmium in some Galician soils. *Microchemical Journal*. Volume 110, Pages: 681–690.
8. Basta, N. T., R. Gradwohl, K. L. Snethen and J. L. Schroder. 2001. Chemical immobilization of lead, zinc and cadmium in smelter-contaminated soils using biosolids and rock phosphate. *J. Environ. Qual*. 30:1222-1230.
9. Feng, M.H., X.Q. Shan, Z.Z. Shu, and W. Bei. 2005. Comparison of a rhizosphere-based method with other one-step extraction methods for assessing the bioavailability of soil metals to wheat. *Chemosphere*. 59: 939–949.
10. Jafarnejadi, A.R., M. Homaei, G. Sayyad, and M. Bybordi. 2011. Large Scale Spatial Variability of Accumulated Cadmium in the Wheat Farm Grains. *Soil and Sediments Contamination*. 20: 98 113.
11. Jalali M., and Z.V. Khanlari. 2008. Cadmium availability in calcareous soils of agricultural lands in Hamadan, Western Iran. *Soil and Sediment Contamination*. 17(3): 256-268

12. Kabata-Pendias A. and H. Pendias. 2000. 'Trace Elements in Soil and Plants' (third ed. CRC Press, Boca Raton, FL, USA).
13. Khanh Nguyen, V., Lee, J. 2015. Effect of sulfur concentration on microbial removal of arsenic and heavy metals from mine tailings using mixed culture of *Acidithiobacillus* spp. Journal of Geochemical Exploration. Volume 148, Pages: 241–248.
14. Khoshgoftar, A.H., H. Shariatmadari, N. Karimian, M. Kalbasi, S.E.A.T.M. van der Zee, and D.R. Parker. 2004. Salinity and Zn application effects on phytoavailability of Cd and Zn. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 68:1885–1889.
15. Kuo, S., Jellum, E.J., and Baker, A.S., 1985. Effect of soil type and sludge application on zinc and cadmium availability to Swiss chard. *Soil Sci.* 139, 122–130.
16. Lake, D.L., P. Kirk, and J. Lester. 1984. Fractionation, characterization, and speciation of heavy metals in sewage sludge and sludge amended soil: A review. *J. Environ. Qual.* 13:175-183.
18. Li, Z., and L. M. Shuman. 1996. Redistribution of forms of zinc, cadmium, and nickel in soils treated with EDTA. *Journal of Science and Total Environment.* 191: 95–107.
19. Lim, T. T., J. H. Tay and C. I. Teh. 2002. Contamination time effect on lead and cadmium fractionation in a tropical coastal clay. *J. Environ. Qual.* 31: 806-812.
20. Mahler, R. J., F. T. Bingham, A. L. Page and J. A. Ryan. 1982. Cadmium-enriched sewage sludge application to acid and calcareous soils. *J. Environ. Qual.* 11: 694-700.
21. Maniquiz-Redillas, M., Hyung Kim, L. 2014. Fractionation of heavy metals in runoff and discharge of a stormwater management system and its implications for treatment. *Journal of Environmental Sciences*. Volume 26, Issue 6, 1 June 2014, Pages 1214–1222.
22. Ma Y.B., and N.C. Uren. 1998. Transformations of heavy metals added to soil application of a new sequential extraction procedure. *Geoderma.* 84: 157–168.
23. Menzies, N.W., M. J. Donn, and P.M. Kopittke. 2007. Evaluation of extractants for estimation of the phytoavailable trace metals in soils. *Environmental pollution.* 145(1):121–130.
24. Nanthi Bolan, N., Kunhikrishnan, A., Thangarajan, R., Kumpiene, J., Park, Jinhee., Makino, T., Kirkham, M. B., Scheckel, K. 2014. Remediation of heavy metal (loid) s contaminated soils – To mobilize or to immobilize. *Journal of Hazardous Materials.* Volume 266, Pages: 141–166.
25. Nogueira, T. A. R., Melo, W. J., Fonesca, I. M. Marcussi. S. A., Melo, G. M. P., Marques, M. O. 2010. Fractionation of Zn, Cd and Pb in a Tropical Soil After Nine-Year Sewage Sludge Applications. *Journal of Pedosphere.* Volume 20, Issue 5. Pages: 545–556.
26. Rajaie, M., Karimian, N., Maftoun, M., Yasrebi, J., Assad, M. T. 2006. Chemical forms of cadmium in two calcareous soil textural classes as affected by application of cadmium-enriched compost and incubation time. *Journal of Geoderma.* Volume 136, Issues 3–4, 15, Pages: 533–541.
27. Rao, C. R. M., A. Sahuquillo, and J. F. Lopez Sanchez. 2008. A review of the different methods applied in environmental geochemistry for single and sequential extraction of trace elements in soils and related materials. *Water Air Soil Pollution.* 189: 291-333.
28. Renella, G., P. Adamo, M.R. Bianco, L. Landi, P. Violante, and P. Nannipieri. 2004. Availability and speciation of cadmium added to a calcareous soil under various managements. *European J. Soil Sci.*, 55, 123–133.
29. Shaofeng Wang, Sh., Jia, Y., Wang, Sh., Wang, X., Wang, H., Zhao, Zh., Liu, B. 2010. Fractionation of heavy metals in shallow marine sediments from Jinzhou Bay, China. *Journal of Environmental Sciences.* Volume 22, Issue 1, January 2010, Pages 23–31.
30. Singh, J. P., S. P. S. Karwasra, and M. Singh. 1988. Distribution and forms of copper, iron, manganese, and zinc in calcareous soils of India. *Soil Sci.* 146, 359–366.

31. Smolders, E., R.M. Lambergts, M.J. McLaughlin, and K.G. Tiller. 1998. Effect of soil solution chloride on cadmium availability to Swiss chard. *J. Environ. Qual.* 27:426–431.
32. Sposito, G., L. J. Lund, and A.C. Chang. 1982. Trace metal chemistry in arid-zone field soils amended with sewage sludge: I. Fractionation of Ni, Cu, Cd, and Pb in solid phases. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 46: 260-264.
33. Takeda, A., H. Tsukada, Y. Takaku, S. Hisamatsu, J. Inaba, and M. Nanzyo. 2006. Extractability of major and trace elements from agricultural soils using chemical extraction methods: application for phytoavailability assessment. *Soil Science and Plant Nutrition* .52(4): 406–417.
34. Tessier, A. and P. G. C. Campbell. 1991. Partitioning of trace metals in sediments. In Kramer, J.R., and H.E. Allen (Eds.), *Metal speciation: Theory, analysis and application* (pp. 183–199). Boca Raton, FL: Lewis.
35. Tessier, A., P. G. C. Campbell, and M. Bisson. 1979. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Analytical Chemistry* 51: 844–851.
36. Wang H. K. 1999. Heavy metal pollution in soils and its remedial measures and restoration in Mainland China. In *Soils and Groundwater Pollution and Remediation* □. (Eds Huang, P.M., I.K. Iskander) (Lewis, USA)
37. Yang, Y., Nan, Z., Zhao, Zh., Wang, Sh., Wang, Zh., Wang, X. 2011. Chemical fractionations and bioavailability of cadmium and zinc to cole (*Brassica campestris* L.) grown in the multi-metals contaminated oasis soil, northwest of China. *Journal of Environmental Sciences* Volume 23, Issue 2, Pages: 275–281.
38. Yasrebi, J., N. K. Karimian, M. Maftoun, A. Abtahi and A. M. Sameni. 1994. Distribution of zinc forms in highly calcareous soils as influenced by soil physical and chemical properties and application of zinc sulfate. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 25:2133-2145.
39. Zhang, J., Hua, p. 2015. The build-up dynamic and chemical fractionation of Cu, Zn and Cd in road-deposited sediment. *Journal of Science of the Total Environment.* Volume 532, Pages: 723–732.