

تحمل القایی در جمعیت میکروبی ناشی از آلودگی خاک (PICT) با سطوح مختلف لوریل بنزن سولفونات

معصومه مصطفائی خروانق^{۱*}، ناصر علی اصغرزاد^۲، شاهین اوستان^۳

۱. کارشناس ارشد، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

۲. استاد گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

۳. دانشیار گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۸/۰۳؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۷/۲۹)

چکیده

آلکیل بنزن سولفونات‌های خطی به طور گسترده در ترکیب پاک‌کننده‌ها استفاده می‌شوند. سالانه مقادیر زیادی از این سورفکتانت‌ها از طریق آبیاری مزارع با پساب یا استفاده از لجن فاضلاب به عنوان کود آلی وارد اکوسیستم خاک می‌شود و در صورت استفاده مستمر ممکن است اثرات نامطلوبی بر سلامت و کیفیت خاک ایجاد کند. برای ارزیابی خطرات ناشی از آلودگی اکوسیستم خاک با این سورفکتانت‌ها می‌توان از آزمون تحمل القایی ناشی از آلودگی (PICT) استفاده کرد. در تحقیق حاضر تأثیر سطوح مختلف سورفکتانت لوریل بنزن سولفونات (LBS) بر فعالیت میکروبی در یک نمونه خاک لوم شنی از منطقه خلعت پوشان تبریز بررسی شد. برای این منظور سطوح مختلف LBS شامل ۰، ۰/۰۲۵، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ درصد وزنی به گلدان‌های حاوی ۲ کیلوگرم خاک در ۳ تکرار اعمال شد و به مدت ۹۰ روز در رطوبت ۶۵ تا ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه (معادل ۱۰- کیلوپاسکال) و دمای ۲۵ درجه سلسیوس انکوباسیون گردید. فعالیت آنزیم دهیدروژناز به عنوان معیاری از فعالیت میکروبی در زمان‌های ۳، ۷، ۱۵، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز اندازه‌گیری شد. با گذشت زمان انکوباسیون، به تدریج تحمل القایی در جمعیت میکروبی خاک ایجاد شد، به گونه‌ای که تحمل در جمعیت میکروبی بعد از گذشت ۶۰ روز شروع شد و تا ۹۰ روز افزایش یافت. در این دوره زمانی، مقادیر PICT تا غلظت ۰/۰۵ درصد LBS افزایش ملایمی داشته و پس از آن، شیب افزایش تندتر شد. در واقع این غلظت می‌تواند به عنوان غلظت بحرانی LBS برای ایجاد تحمل القایی در جامعه میکروبی در شرایط آزمایش حاضر، در نظر گرفته شود.

کلید واژگان: سورفکتانت، لوریل بنزن سولفونات، PICT، دهیدروژناز

۱. مقدمه

آلکیل بنزن سولفونات‌های خطی (LASs) در زمرة سورفکتانت‌هایی هستند که به‌طور گسترده به‌عنوان پاک‌کننده، ترکنده، کف‌کننده و امولسیون‌کننده استفاده می‌شوند و مصارف شهری و صنعتی زیادی دارند. مصرف LASs در سراسر جهان بیش از چند هزار تن در سال است. بنابراین، ممکن است این مواد در غلظت‌های بسیار بالا در پساب‌ها یا لجن فاضلاب‌ها یافت شده و از این طریق وارد اکوسیستم خاک شوند، لذا، به‌عنوان مواد بالقوه خطرناک برای محیط‌زیست معرفی شده‌اند. سدیم دودسیل بنزن سولفونات (SDBS) یا سدیم لوریل بنزن سولفونات با فرمول $\text{Na}_3\text{SO}_4\text{H}_6\text{C}_{25}\text{H}_{12}\text{C}$ پرکاربردترین آلکیل بنزن سولفونات خطی به‌ویژه در مصارف خانگی است (Yuksel *et al.*, 2009).

روش بررسی تحمل القایی ناشی از آلودگی در جوامع میکروبی (PICT¹) برای اولین بار توسط یک گروه از محققان سوئدی در اواخر دهه ۸۰ میلادی استفاده شد. مفهوم PICT این است که حضور آلاینده بقای اکثر میکروارگانیسم‌های حساس را کاهش می‌دهد و در نتیجه منجر به افزایش تحمل در جمعیت باقیمانده می‌شود. بنابراین، افزایش تحمل در جامعه میکروبی شاخص خوبی برای اثبات حضور آلاینده در غلظت‌های نامطلوب است (Posthuma, 1997). هرچه مقدار عددی PICT بیشتر باشد، بیانگر افزایش جمعیت میکروبی متحمل است که عموماً با کاهش تنوع میکروبی همراه است، زیرا انواع حساس از بین می‌روند. کاهش تنوع میکروبی، اکولوژی خاک را به‌هم ریخته و آن را از حالت پایدار خارج می‌سازد و همچنین تحمل القایی ناشی از آلاینده‌ها حاکی از جهش ژنی و یا انتقال پلاسمید در جامعه میکروبی است که خطرات زیست محیطی مهمی به‌همراه دارد.

بررسی فعالیت آنزیمی خاک به‌ویژه فعالیت آنزیم

دهیدروژناز به‌عنوان پارامتر مناسب برای نظارت بر آلودگی خاک پیشنهاد شده است. Schiner و Margesin در سال ۱۹۹۸ گزارش کردند که اندازه‌گیری فعالیت آنزیم دهیدروژناز یک روش مناسب برای سنجش فعالیت میکروبی در خاک‌های آلوده به LAS است. Kowalczyk در سال ۱۹۹۲ گزارش کرد کاربرد ۱۰ و ۵۰ میلی‌گرم LAS بر کیلوگرم خاک فعالیت آنزیم دهیدروژناز را به‌طور قابل توجهی در یک خاک شنی کاهش داد، به‌طوری که غلظت ۵۰ میلی‌گرم LAS بر کیلوگرم خاک فعالیت آنزیم دهیدروژناز را در طول آزمایش (۸ هفته) مهار کرد ولی در غلظت ۱۰ میلی‌گرم LAS بر کیلوگرم خاک بازدارندگی به مدت چهار هفته به طول انجامید. در آزمایش دیگری گزارش شد که کاربرد مستمر LAS میزان آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی و آریل سولفاتاز را افزایش می‌دهد ولی فعالیت آنزیم دهیدروژناز را کاهش می‌دهد (Sańchez-Peinado *et al.*, 2009).

در تحقیق حاضر، اثرات لوریل بنزن سولفونات (LBS) بر فعالیت جوامع میکروبی خاک و همچنین احتمال بروز تحمل القایی ناشی از آلاینده در میکروارگانیسم‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

۲. مواد و روش‌ها

خاک مورد آزمایش از ایستگاه تحقیقاتی خلعت پوشان تبریز از عمق ۲۰-۳۰ سانتیمتری نمونه‌برداری شد. پس از هوا خشک شدن برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی شامل بافت، pH و EC در عصاره اشباع، درصد کربنات کلسیم معادل به روش تیتراسیون، درصد ماده آلی به روش والکلی - بلک (Loeppert & Suarez, 1996) اندازه‌گیری شدند. درصد رطوبت ظرفیت مزرعه (FC) با استفاده از دستگاه صفحه فشاری تعیین شد.

مقدار ۲ کیلوگرم خاک عبور داده شده از الک چهار میلی‌متری در هر یک از گلدان‌های پلاستیکی ریخته شد، رطوبت خاک به ۷۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای (FC) رسانده

¹ Pollution induced community tolerance

انکوباسیون شدند. TTC الکترون و پروتون حاصل از فعالیت آنزیم دهیدروژناز در میکروارگانیسم‌های خاک را دریافت کرده به مادهٔ قرمز رنگ و نامحلول تری فنیل فورمازان (TPF) تبدیل می‌شود.

برای استخراج رسوب TPF، ۵ میلی‌لیتر حلال آلی تولوئن به هریک از نمونه‌ها افزوده شد و سپس توسط دستگاه ورتکس به مدت ۳۰ ثانیه بهم زده و ۲۴ ساعت در تاریکی به حالت ساکن نگهداری شدند. بدین ترتیب رسوب TPF در تولوئن حل شده و در فاز روئی قرار گرفت. فاز روئی توسط پیپت پاستور در داخل کووت دستگاه اسپکتروفتومتر ریخته شده و میزان جذب نور در طول موج ۵۴۶ نانومتر قرائت شد. در واقع فعالیت آنزیم دهیدروژناز به صورت نسبی بر اساس میزان جذب نور بیان شد (Aliasgharzad et al., 2011).

۱.۲. محاسبات PICT

مقادیر جذب نور در مقابل غلظت‌های مختلف LBS برای خاک آلوده و خاک شاهد در شش مقطع زمانی رسم شد و مقادیر PICT مورد محاسبه قرار گرفت. برای محاسبهٔ PICT ابتدا میزان فعالیت میکروبی برای تیمارها و شاهد در مقابل غلظت LBS در هر یک از سطوح LBS در هر بازهٔ زمانی در نمودارهای جداگانه رسم شدند. سپس به هر یک از نمودارها معادلهٔ $y = \frac{a}{1+e^{bx}}$ که دارای بالاترین ضریب تبیین و حداقل خطای معیار بود، برازش داده شد. پس از حل هر یک از این معادلات مقادیر ΔIC_{50} یا همان PICT برآورد گردیدند. پس از به دست آوردن مقادیر IC_{50}^2 ، نمودار ΔIC_{50} در مقابل غلظت‌های مختلف LBS رسم شد. در نمودار حاصله نقطهٔ عطف یا شکستگی نمودار به عنوان غلظت بحرانی LBS در نظر گرفته شد که در آن غلظت، احتمال وقوع مقاوت ژنتیکی در مقابل آلاینده در میکرووب‌ها وجود دارد. این نمودار برای هر دورهٔ زمانی انکوباسیون ترسیم شد.

شده و به مدت ۱۰ روز در دمای ۲۵ درجهٔ سلسیوس انکوباسیون گردید. مقادیر مختلف سورفکتانت سدیم لوریل بنزن سولفونات یا به اختصار (LBS) شامل ۰، ۰/۰۲۵، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ درصد وزنی پس از تنظیم pH محلول‌ها در ۷، با استفاده از NaOH، به خاک اضافه شده و به مدت ۹۰ روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت ۶۵ تا ۷۵ درصد وزنی (معادل ۱۰- کیلوپاسکال) انکوباسیون شد (Diaz-Ravina & Bååth, 1996).

فعالیت آنزیم دهیدروژناز به عنوان شاخصی از فعالیت میکروبی و برای محاسبهٔ میزان تحمل جمعیت میکروبی به سورفکتانت در زمان‌های ۳، ۷، ۱۵، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز پس از انکوباسیون تعیین شد (Kelly et al., 1999). در هر دورهٔ زمانی، نمونه‌های مرکب از خاک هر گلدان تهیه شد. سپس از هر نمونهٔ مرکب یک نمونهٔ ۳ گرمی برداشته شده و آزمون PICT به شرح زیر روی آن انجام گرفت:

۳ میلی‌لیتر بافر تریس به هریک از نمونه‌های ۳ گرمی خاک اضافه شده و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۲۰ درجهٔ سلسیوس با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه تکان داده شدند. سپس عصاره‌های میکروبی با ۵ دقیقه سانتریفوژ کردن با ۳۰۰۰ دور در دقیقه به دست آمد (Lock & Janssen, 2005). برای هر گلدان ۶ عدد لولهٔ آزمایش انتخاب کرده، به هر یک از آنها ۲/۵ میلی‌لیتر محیط کشت نوترینت برات-گلوکز (هر دو با غلظت دو میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) اضافه شده و سپس غلظت‌های مختلف LBS منطبق بر غلظت‌های اعمال شده در گلدان‌ها در آنها ایجاد گردید. پس از استریل نمودن محیط کشت، ۰/۵ میلی‌لیتر از هریک از عصاره‌های میکروبی به لوله‌ها اضافه شد، سپس لوله‌ها در شیکر انکوباتور به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۸ درجهٔ سلسیوس انکوباسیون شد. پس از انکوباسیون، مقدار ۰/۲ میلی‌لیتر TTC^1 ($C_{19}H_{15}ClN_4$) ۰/۴ درصد (۰/۲۶۷ میلی‌گرم TTC در هر میلی‌لیتر آب) به هریک از لوله‌های آزمایش اضافه شد. سپس نمونه‌ها در تاریکی در دمای ۲۸ درجهٔ سلسیوس و در حالت ساکن به مدت ۷۲ ساعت

¹ -Trephenyltetrazolium chloride

² - inhibitory concentration

به عنوان نمونه، نحوه محاسبه PICT برای سطح ۰/۰۵ درصد LBS در روز سوم توضیح داده می‌شود. معادله‌های برازش یافته به داده‌ها برای سطح ۰/۰۵ درصد LBS به صورت $y=1.92324/[1+\exp(83.2537*x)]$ و برای سطح شاهد به صورت $y=1.66093/[1+\exp(79.9824*x)]$ (شکل ۱). طبق تعریف PICT برابر با غلظتی از آلاینده است که در آن حداکثر فعالیت در مقایسه با تیمار شاهد به نصف کاهش می‌یابد. در این مثال حداکثر فعالیت برابر با ۰/۹۶۴ است که نصف این مقدار برابر با ۰/۴۸۲ است. عدد ۰/۴۸۲ به جای y در معادله مربوط به سطح ۰/۰۵ درصد LBS گذاشته می‌شود تا مقدار x که همان IC_{50} تیمار است به دست آید. سپس عدد ۰/۴۸۲ را به جای y در معادله مربوط به سطح شاهد گذاشته می‌شود تا IC_{50} شاهد به دست آید. از حل معادله‌های فوق مقادیر

برای سطح ۰/۰۵ درصد LBS و شاهد به ترتیب برابر با ۰/۱۳ و ۰/۱۱ به دست آمد. طبق تعریف $\Delta IC_{50} = IC_{50polluted} - IC_{50unpolluted}$ است که در آن ΔIC_{50} همان PICT است. بنابراین، مقدار عددی ۰/۰۱۱ از ۰/۱۳ کسر می‌شود تا PICT به دست آید. بدین ترتیب مقادیر PICT برای هر یک از سطوح LBS افزوده شده و در هر یک از زمان‌های انکوباسیون به دست آمدند. سپس مقادیر PICT در مقابل سطوح غلظت‌های LBS افزوده شده به خاک رسم شدند.

۳. نتایج

برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش در جدول ۱ نشان داده می‌شود.

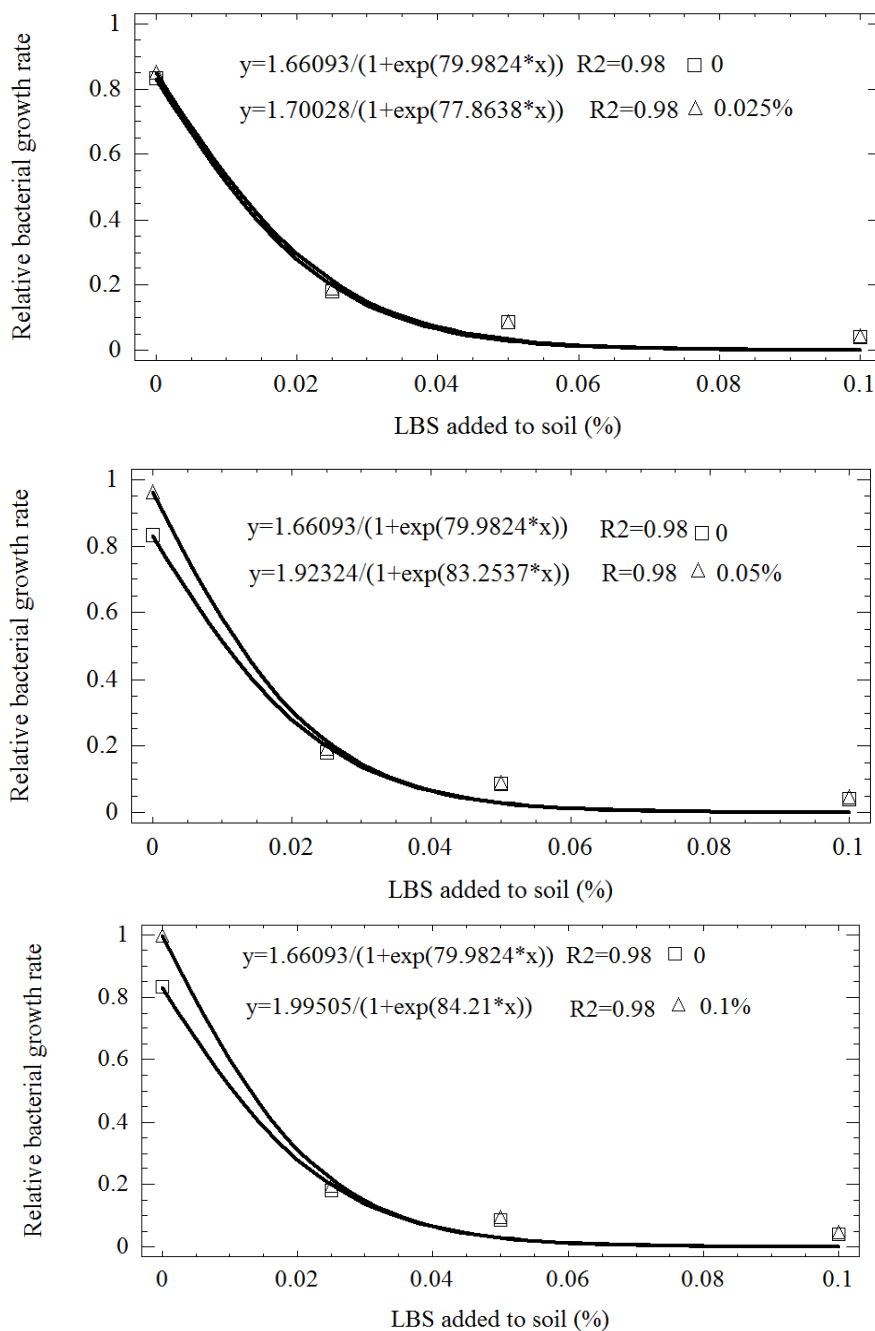
جدول ۱. برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش

پH	EC(dS/m)	کربنات کلسیم معادل (%)	کربن آلی (%)	بافت
۸/۱۳	۰/۶۲۴	۹/۲	۰/۱۹۵	لوم شنی

۱.۳. نتایج PICT

شکل ۱ نشان می‌دهد که فعالیت میکروبی خاک از روز سوم با افزایش سطوح LBS افزوده شده، افزایش یافت. طبیعتاً میکروب‌ها در هنگام مواجهه با تنش‌ها از جمله حضور آلاینده، فعالیت خود را افزایش می‌دهند و انرژی بیشتری برای مقابله با آلاینده مصرف می‌کنند که با افزایش فعالیت آنزیم دهیدروژناز قابل تشخیص است ولی این افزایش با ادامه حضور آلاینده نمی‌تواند ادامه پیدا کند و انواع حساس از بین می‌روند (Diaz-Ravina, M., Baath, E., 2001).

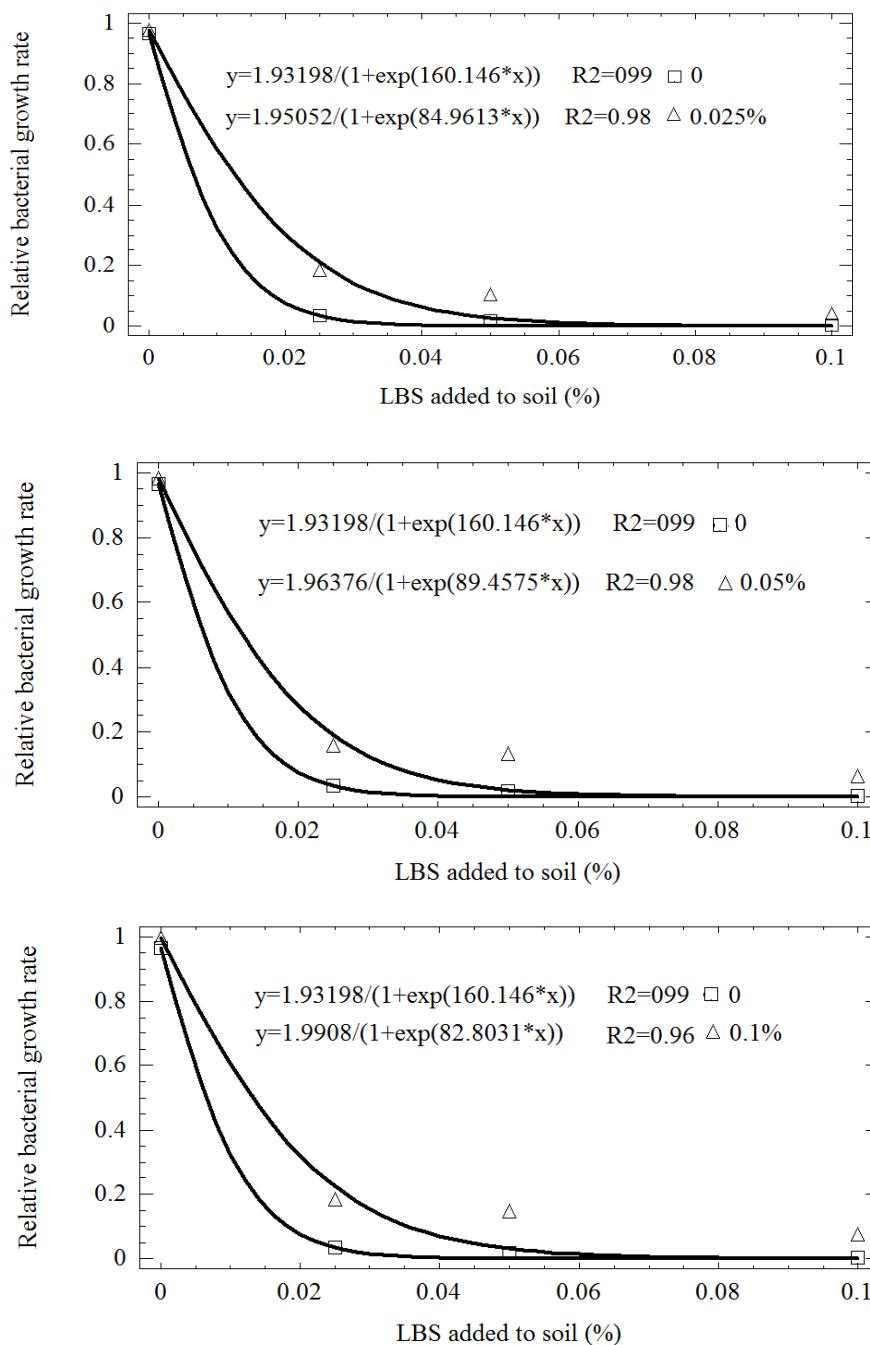
در تحقیق حاضر برای محاسبه PICT، غلظت‌های ۰، ۰/۰۲۵، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ درصد LBS به خاک اعمال شد و در هر بازه زمانی رشد میکروارگانیسم‌های خاک مورد بررسی قرار گرفت ولی در طول آزمایش در غلظت‌های ۰/۵ و ۱ درصد LBS به دلیل غلظت زیاد یا اثر غیر مستقیم آلاینده از طریق ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی به ویژه ویژگی‌های فیزیکی و یا هر دو عموماً باکتری‌ها در فاز سنجش که در محیط کشت مایع صورت گرفت، رشد نکردند و اندازه‌گیری فعالیت آنزیم دهیدروژناز مقدور نبود لذا در محاسبات PICT از این دو غلظت صرف‌نظر شد.



شکل ۱. فعالیت میکروبی (نسبت جذب نور) در مقابل غلظت LBS در محیط کشت در تیمارها در مقایسه با شاهد غیر آلوده برای سطوح مختلف LBS اضافه شده در روز سوم انکوباسیون

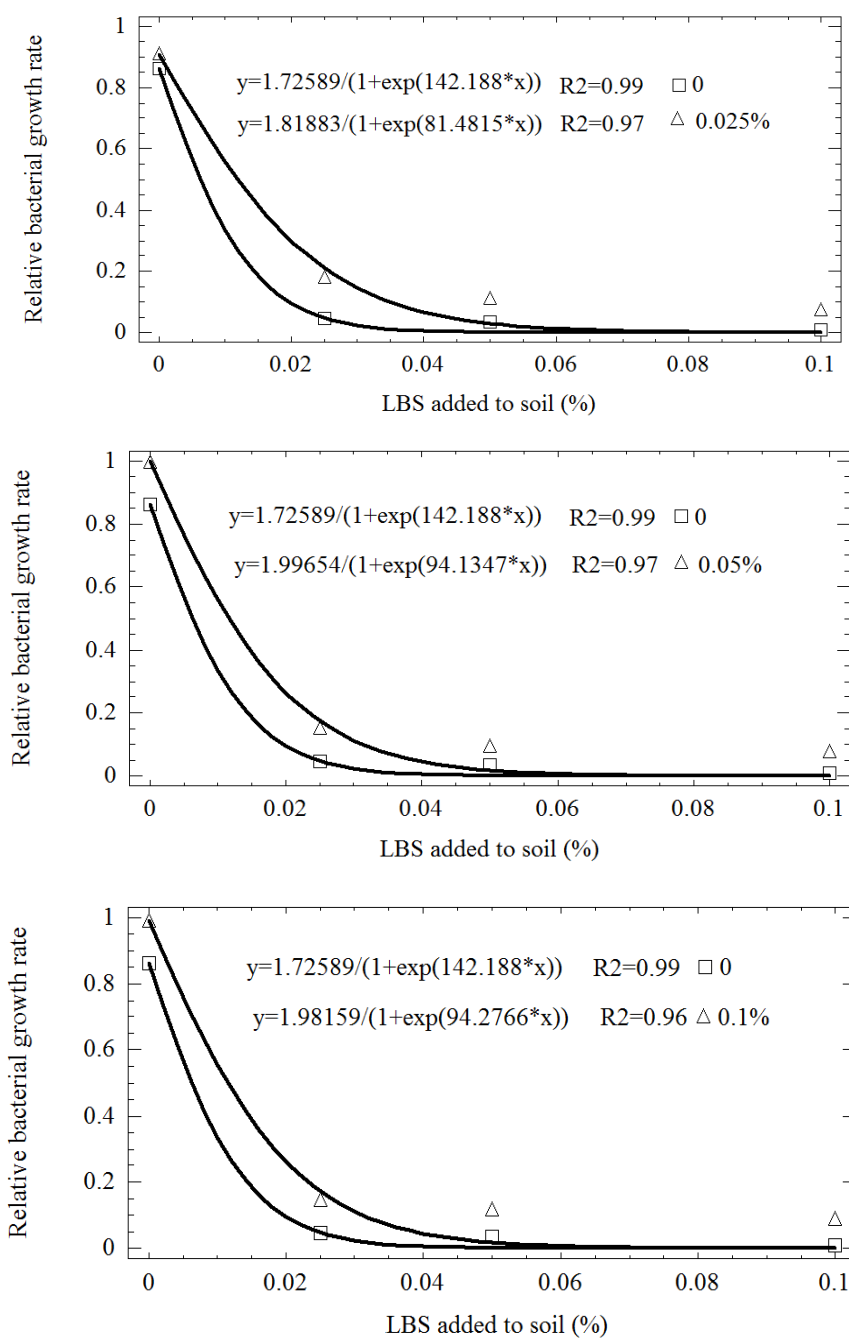
حساس و تولید منابع سهل الوصول برای میکروارگانیسم‌های متحمل خاک است (شکل ۲).

در روز هفتم انکوباسیون میزان فعالیت میکروبی در مقایسه با روز سوم افزایش پیدا کرد. به نظر می‌رسد این افزایش در فعالیت میکروبی به دلیل مرگ گونه‌های



شکل ۲. فعالیت میکروبی (نسبت جذب نور) در مقابل غلظت LBS در محیط کشت در تیمارها در مقایسه با شاهد غیر آلوده برای سطوح مختلف LBS اضافه شده در روز هفتم انکوباسیون

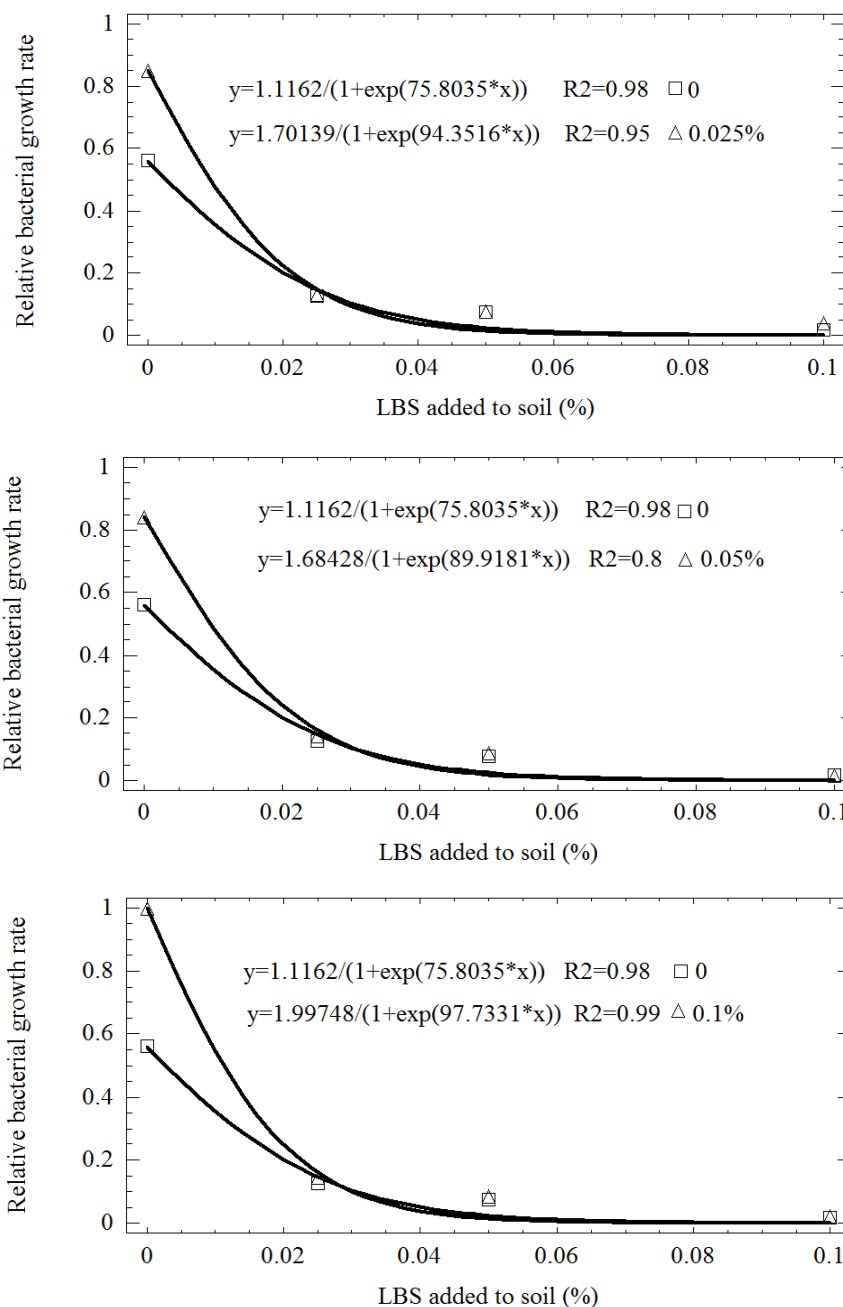
در روز پانزدهم انکوباسیون فعالیت میکروبی نسبت به روز هفتم به مقدار ناچیز کاهش پیدا کرد (شکل ۳).



شکل ۳. فعالیت میکروبی (نسبت جذب نور) در مقابل غلظت LBS در محیط کشت در تیمارها در مقایسه با شاهد غیرآلوده برای سطوح مختلف LBS اضافه شده در روز پانزدهم انکوباسیون

بیشتری کاهش پیدا کرد. به نظر می‌رسد دلیل این امر کاهش منابع کربنه باشد که در اثر این کاهش منبع کربنه میکروارگانیسم‌های حساس از بین می‌روند و طبیعتاً فعالیت میکروبی کاهش پیدا می‌کند (شکل ۴).

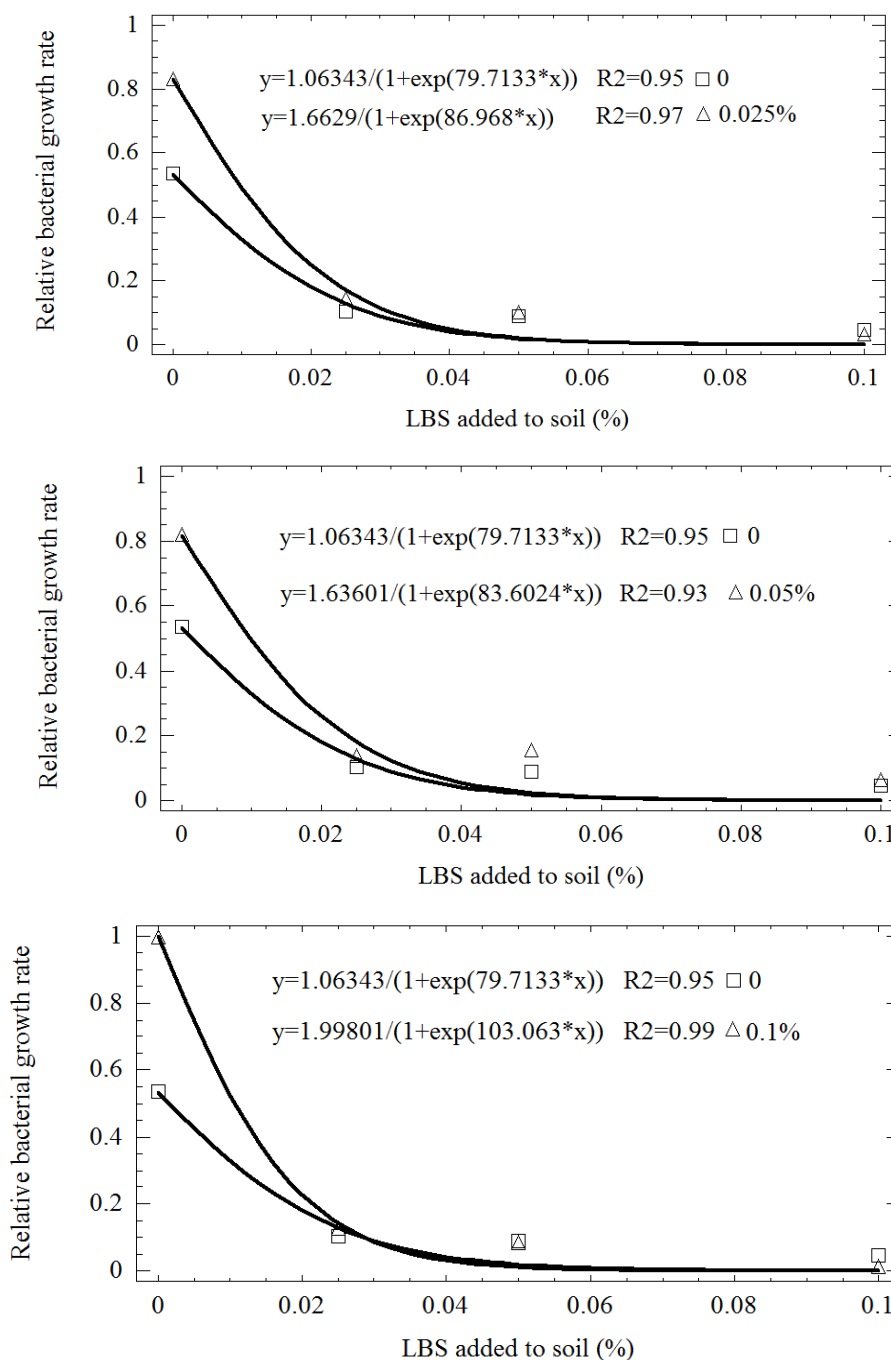
در روز سی‌ام انکوباسیون مقادیر فعالیت میکروبی نسبت به دوره‌های قبلی کاهش پیدا کرد، شدت کاهش فعالیت میکروبی در سطوح مختلف غلظت LBS ثابت نبوده و عموماً در سطوح ۰/۰۲۵ و ۰/۰۵ درصد با شدت



شکل ۴. فعالیت میکروبی (نسبت جذب نور) در مقابل غلظت LBS در محیط کشت در تیمارها در مقایسه با شاهد غیر آلوده برای سطوح مختلف LBS اضافه شده در روز سی ام انکوباسیون

از این غلظت به بعد با شدت بیشتری رخ داد، که می تواند به دلیل به وجود آمدن جمعیت متحمل نسبت به LBS در خاک باشد.

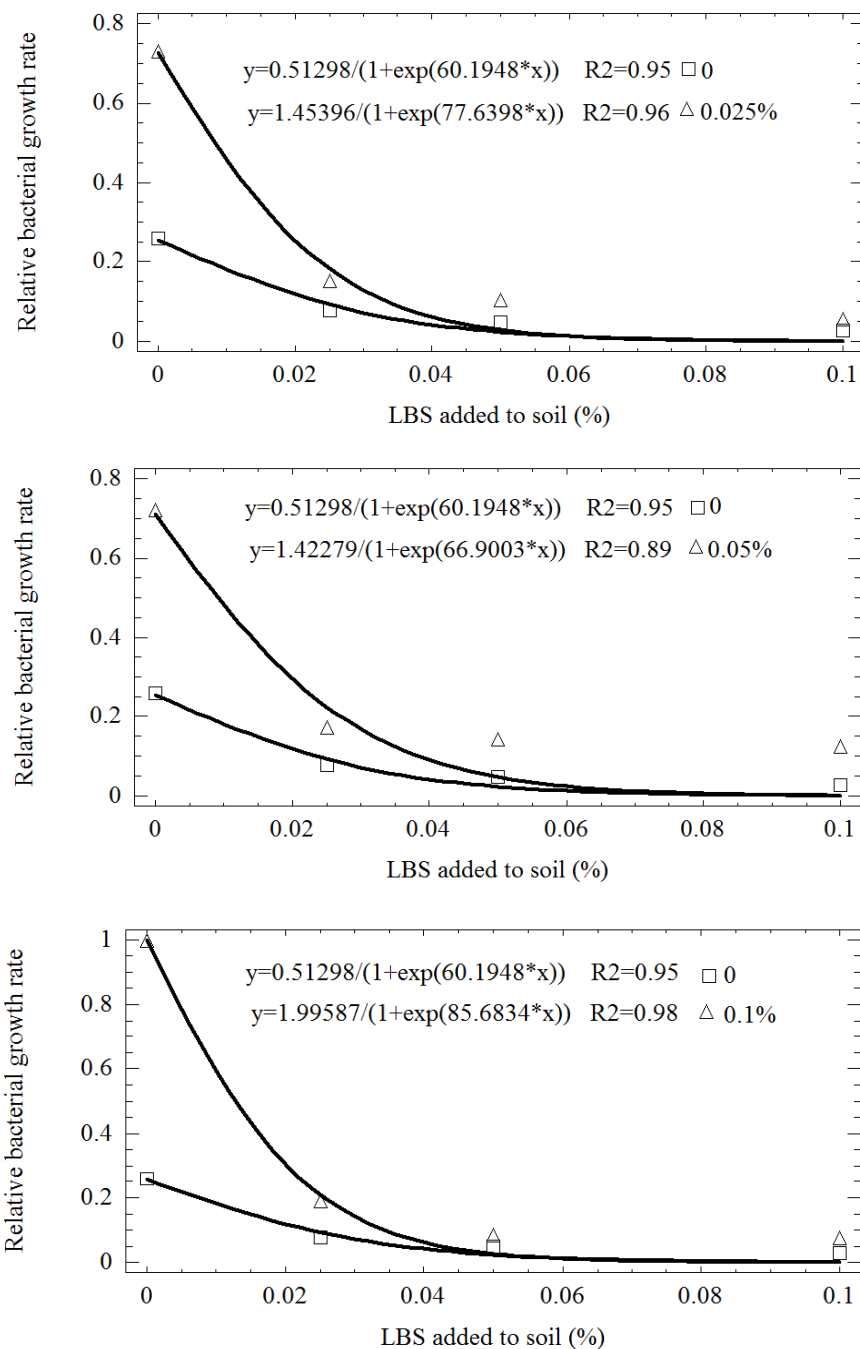
در روز ۶۰ انکوباسیون علیرغم کاهش فعالیت میکروبی (شکل ۵) مقادیر PICT محاسبه شده افزایش پیدا کرد (شکل ۸)، این افزایش تا غلظت ۰/۰۵ درصد ملایم بوده و



شکل ۵. فعالیت میکروبی (نسبت جذب نور) در مقابل غلظت LBS در محیط کشت در تیمارها در مقایسه با شاهد غیر آلوده برای سطوح مختلف LBS اضافه شده در روز ۶۰ انکوباسیون

شد (شکل ۶) و در مقایسه با دوره‌های قبل این افزایش نمود بیشتری دارد (شکل ۸).

در روز ۹۰ انکوباسیون مقادیر PICT تا غلظت ۰/۰۵ درصد LBS به صورت تدریجی افزایش پیدا کرد، ولی پس از این غلظت افزایش شدید در مقدار PICT مشاهده



شکل ۶. فعالیت میکروبی (نسبت جذب نور) در مقابل غلظت LBS در محیط کشت در تیمارها در مقایسه با شاهد غیرآلوده برای سطوح مختلف LBS اضافه شده در روز ۹۰ انکوباسیون

LBS بر انواع حساس غالبیت یافته و تعداد آنها ممکن است به شدت افزایش یافته باشد. این روند تغییرات در روزهای ۳۰ و ۶۰ نیز مشاهده شد. در واقع غلظت ۰/۰۵ درصد LBS نقطه عطف نمودار است.

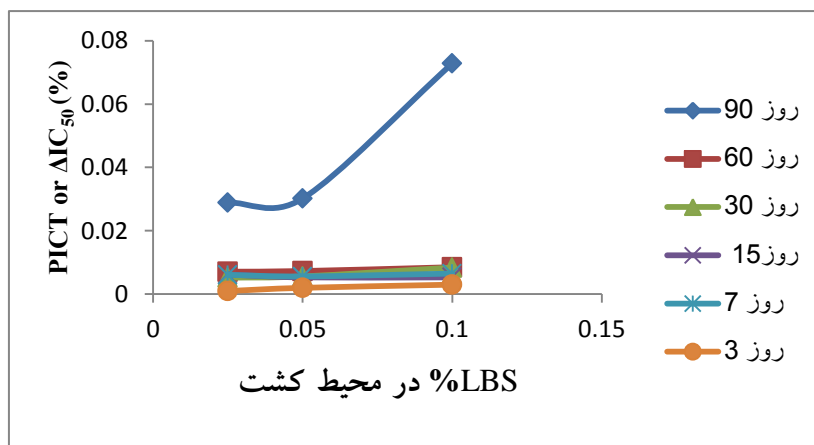
ممکن است این افزایش به واسطه ایجاد تغییرات ژنتیکی یا فیزیولوژیکی در میکروارگانیسم‌های خاک باشد که در غلظت‌های بالاتر از ۰/۰۵ درصد، نسبت به LBS اضافه شده به خاک سازگار شده‌اند و گونه‌های متحمل به

۴. بحث و نتیجه گیری

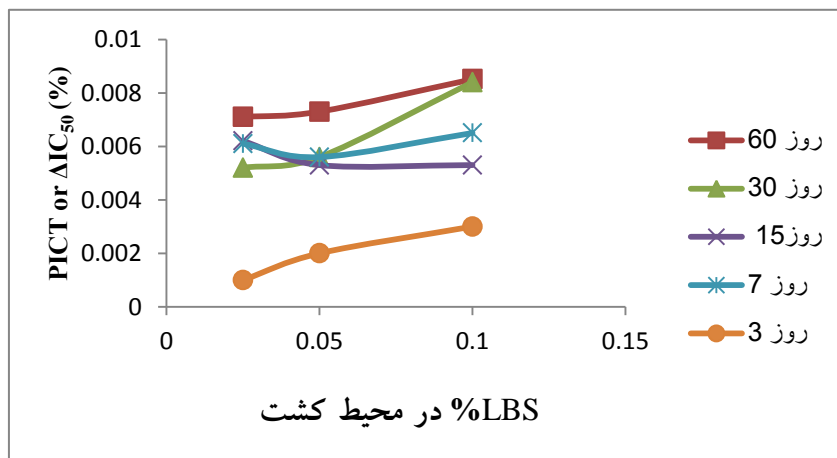
در تحقیق حاضر با افزایش زمان انکوباسیون با سطوح مختلف LBS، مقادیر PICT افزایش پیدا کرد. این نتیجه نشان می‌دهد که میکروارگانیسم‌های خاک با گذشت زمان نسبت به LBS متحمل می‌شوند و می‌توانند در حضور LBS به فعالیت خود ادامه دهند.

Baath و Alden Demoling در سال ۲۰۰۸ نشان دادند که تحمل القایی در میکروب‌ها در حضور سوبسترای سمی افزایش می‌یابد. آنان بیان کردند که تفاوت بین مقادیر PICT به نوع آلاینده، غلظت، سمیت و زیست‌فراهمی آن بستگی دارد. البته در بین عوامل مذکور، میزان PICT بیشتر به غلظت آلاینده بستگی

دارد. در تحقیق حاضر افزایش تحمل قابل ملاحظه، ۹۰ روز پس از انکوباسیون مشاهده شد، البته در زمان‌های قبل از آن نیز دیده می‌شود ولی به نسبت کمتر است. مقادیر PICT تا غلظت ۰/۰۵ درصد LBS تقریباً ثابت ماند و پس از این غلظت در روز ۹۰ به شدت افزایش یافت (شکل ۸). این نشان می‌دهد که تغییر زیادی در تحمل جامعه میکروبی تا غلظت ۰/۰۵ درصد LBS ایجاد نشده است. افزایش تحمل جامعه میکروبی بعد از اضافه کردن LBS می‌تواند با تأثیر آنی به واسطه مرگ گونه‌های حساس و یا به واسطه توانایی رقابت و سازگاری میکروارگانیسم‌ها نسبت داده شود (Diaz-Ravina & Baath, 1996)



شکل ۷. مقادیر PICT در مقابل غلظت‌های LBS اضافه شده به خاک تا روز ۶۰ انکوباسیون



شکل ۸. مقادیر PICT در مقابل غلظت‌های LBS اضافه شده به خاک در زمان‌های مختلف انکوباسیون

اکوسیستم خاک کاهش یابد (Lock & Janssen., 2005). نکته‌ای که اهمیت قابل توجه دارد این است که گونه‌های متحمل به وجود آمده ممکن است گونه‌های مضر باشند، به طوری که باعث اختلال در عملکرد سایر میکروارگانیسم‌ها، جانداران خاکزی و گیاهان شوند.

طبق تحقیقات انجام شده اثرات سوء LAS بر میکروارگانیسم‌های خاک از غلظت 50 mg kg^{-1} (Wilke, 1997) و بر گیاهان از غلظت 90 mg kg^{-1} آغاز می‌شود (Lee, Løkke & Gestel, 1998). در سال ۱۹۷۰ تحمل القایی ایجاد شده نسبت به LAS را در قارچ‌های خاکزی بررسی کرد و مشاهده کرد که پس از ۹۰ روز انکوباسیون خاک، در غلظت 1000 mg kg^{-1} LAS تحمل القایی در قارچ‌های خاکزی ایجاد می‌شود. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت LBS در خاک و با گذشت زمان به تدریج علائم ایجاد تحمل در جامعه میکروبی خاک مشاهده گردید. ولی وقوع تحمل در مقابل آلاینده در روزهای ۶۰ و ۹۰ شدت بیشتری داشت و چنین برمی‌آید که احتمالاً سویه‌های متحمل در اثر تغییرات فیزیولوژیک یا ژنتیکی حاصل شده باشند که می‌تواند زنگ خطری برای این آلاینده در خاک باشد. با توجه به غلظت بحرانی به دست آمده برای این آلاینده در این آزمایش، می‌توان گفت که ورود پساب‌های شهری به خاک‌های کشاورزی به تدریج سبب افزایش غلظت این شوینده در آنها شده و در نهایت سبب بروز صدمات جبران ناپذیر به اکوسیستم خاک خواهد شد. بنابراین در ورود این پساب‌ها به مزارع کشاورزی باید مدیریت مناسب صورت گیرد تا غلظت این آلاینده در خاک همواره زیر سطح بحرانی باشد.

با توجه به نتایج به دست آمده، غلظت ۵۰۰ میلی گرم LBS بر کیلوگرم خاک (۰/۰۵ درصد) به عنوان غلظت بحرانی آن تلقی می‌شود که در آن گونه‌های میکروبی متحمل ظاهر می‌شوند. در غلظت بالاتر از این مقدار، افزایش زیادی در PICT به خصوص در ۹۰ روز صورت گرفت. این نتایج نشان می‌دهد که اگر غلظت LBS در خاک به بیش از ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم خاک برسد و این غلظت حداقل تا ۹۰ روز در خاک پایدار بماند ممکن است صدمات جبران ناپذیری به اکوسیستم خاک وارد شود. در واقع این غلظت از آلودگی خاک توسط LBS ممکن است باعث تغییرات ژنتیکی و ساختاری در جامعه میکروبی خاک شود، به طوری که گونه‌های حساس میکروبی از بین رفته و گونه‌های متحمل به LBS ایجاد شده و در نتیجه باعث کاهش تنوع عملکردی و تنوع ژنتیکی در میکروارگانیسم‌های خاک شود. میکروارگانیسم‌های متحمل شده بر انواع حساس غالب می‌شوند و در نتیجه ممکن است جمعیت آنها به صورت بی‌رویه افزایش یابد. میکروارگانیسم‌های متحمل شده ممکن است نتوانند همه وظایف عملکردی مربوط به کل میکروارگانیسم‌های خاک را انجام دهند و در نتیجه سبب اختلال در چرخه عناصر غذایی خاک خواهد شد (Giller *et al.*, 1998). از نتایج این اختلال می‌توان به تجمع مواد آلی در خاک اشاره کرد. بر اثر عدم تجزیه مواد آلی ذخایر کربنی سهل الوصول خاک کاهش می‌یابد، در نتیجه بسیاری از میکروارگانیسم‌های هتروتروفیک خاک با مشکل مواد غذایی مواجه شده و جمعیت آنها کاهش می‌یابد و در نتیجه تجزیه مواد سمی در خاک مختل می‌شود، بدین ترتیب ممکن است کیفیت

References

- Alden Demoling, L., Baath, E., 2008. No long-term persistence of bacterial pollution-induced community tolerance in tylosin-polluted soil. *Environmental Science & Technology*. 42, 6917-6921.
- Aliasgharzad, N., Molaei, A., Oustan, S., 2011. Pollution induced community tolerance (PICT) of microorganisms in soil incubated with different levels of lead. *World Academy of Science, Engineering and Technology*. 60, 1469-1473.

- Diaz-Ravina, M., Bååth, E., 1996. Development of metal tolerance in soil bacterial communities exposed to experimentally increase metal levels. *Applied and Environmental Microbiology*. 62,2970–2977.
- Diaz-Ravina, M., Bååth, E., 1996. Development of metal tolerance in soil bacterial communities exposed to experimentally increase metal levels. *Applied and Environmental Microbiology*. 62,2970–2977.
- Diaz-Ravina, M., Baath, E., 2001. Response of soil bacterial communities Preexposed to different metals and reinoculated in an unpolluted soil. *Soil Biology & Biochemistry*. 33,241–248.
- Giller, K., Witter, E., McGrath, SP., 1998. Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soils: a review. *Soil Biology and Biochemistry*. 30,1389-1414.
- Kelly, JJ, Haggblom, L., Tate III, RL, 1999. Changes in soil microbial communities over time resulting from one time application of zinc: a laboratory microcosm study. *Soil Biology & Biochemistry*. 31, 1455-1465.
- Kowalczyk, T., 1992. Auswirkungen verschiedener synthetischer Tensid auf die mikrobielle aktivität von böden. *Landschaftsentwicklung und umweltforschung*. 87.
- Lee, BKH., 1970. The effect of anionic and non-ionic detergents on soil microfungi. *Canadian Journal of Botany*. 48,583-589.
- Lock, K., Janssen, C.R., 2005. Influence of soil zinc concentration on zinc sensitivity and functional diversity of microbial communities. *Environmental pollution*. 136,275-281.
- Loeppert, RH., Suarez, GL., 1996. Chemical Methods. pp. 437-474. In: Sparks DL (ed.) *Methods of Soil Analysis*, Part 3. SSSA, Medison Wisconsin.
- Løkke, H., van Gestel, CAM., 1998. *Handbook of soil invertebrate toxicity tests*. Ecological and environmental toxicology series. UK: John Wiley and Sons Ltd.
- Margesin, R., Schiner, F., 1998. Biodegradation of the anionic surfactant sodium dodecyl sulphate at low temperatures. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 41, 139–143.
- Posthuma, L., 1997. Effects of toxicants on population and community parameter sin field conditions, and their potential use in the validation of risk assessment methods in ecological risk assessment of contaminants in soil, N.M. Van Straalen., H. Locked, Eds. Chapman and Hall, London. 85-117.
- Sánchez-Peinado, M.M., Rodelas, B., Martínez-Toledo, MV., Gonzalez-Lopez, J., Pozo, C., 2009. Response of soil enzymes to Linear Alkyl benzene Sulfonate (LAS) addition in soil microcosms. *Soil Biology & Biochemistry*. 41, 69–76.
- Yuksel, E., Sengil, A., Mahmut, O., 2009. The removal of sodium dodecyl sulfate insynthetic wastewater by peroxi-electrocoagulation method. *Chemical Engineering Journal*. 152, 347–353.