

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

ارمغان صالحیان، علی کسراییان¹ و محمود وصال

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

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

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

دریافت: 95/5/13 و پذیرش: 96/4/12

چکیده

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

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

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

مقدمه

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

در خصوص اثر عناصر سنگین بر فعالیت میکروارگانیسم‌ها و شکست ساختار مواد آلی در خاک لندی و همکاران (2000) بیان کردند که عناصر سنگین یا از طریق تشکیل کمپلکس با سوبسترا و یا از بین بردن موجودات زنده سبب کاهش تنفس به‌عنوان یک شاخص عمومی از فعالیت موجودات زنده خاک می‌شوند. این مسئله می‌تواند با کاهش سرعت تجزیه مواد آلی و تجمع آن در خاک همراه باشد. آسوس و همکاران (1999) با اشاره به این مطلب به تجمع ماده آلی در خاک‌های آلوده به سرب و روی اشاره کردند و این پدیده را به کاهش و یا توقف معدنی شدن کربن به دلیل کاهش فعالیت موجودات زنده خاک هم‌بسته دانستند. معدنی شدن کربن آلی در خاک همراه با آزاد سازی نیتروژن از ساختار ترکیبات آلی و در پی آن افزایش نیترات در خاک است که این مسئله نیز می‌تواند تحت تأثیر شرایط محیطی به - ویژه سمیت عناصر سنگین قرار گیرد. جین‌لانگ یان و همکاران (2013) نشان دادند که نیترات‌زائی در تیمارهای آلوده به عناصر سنگین نسبت به شاهد کمتر بود. همچنین بیان کردند که بین کاهش فعالیت آنزیم‌آور آز و فرآیند نیترات‌زائی رابطه معنی‌داری وجود دارد. همچنین ماکوئی و همکاران (2008) با مطالعه عوامل تأثیر گذار بر آنزیم - های خاک میزان فعالیت آن‌ها را علاوه بر مقدار و نوع

ماده آلی به شرایط محیطی مانند نوع خاک، شدت فعالیت موجودات زنده و فرآیندهای زیستی در خاک وابسته دانست (ماکوئی و همکاران، 2008). بنابراین به نظر می‌رسد که عناصر سنگین علاوه بر فعالیت موجودات زنده و در پی آن ساخت آنزیم‌ها با تغییر شرایط شیمیایی بر فعالیت آنزیم‌ها نیز مؤثر باشد. با این حال، اثر برانگیختگی ماده آلی در افزایش فعالیت موجودات ریز خاک همراه با اثر بازدارندگی کادمیم در فعالیت موجودات زنده خاک در اثر زمان دگرگون می‌شود. یزدان‌پناه و همکاران (1385) در پژوهش خود با اشاره به اثر زمان و کربنات کلسیم بیان کردند که آلودگی کادمیم و روی سبب ایجاد فاز تأخیری در تنفس حاصل از سوبسترا شد اما پس از آن تنفس در هر دو خاک آهکی و غیر آهکی کاهش پیدا کرد. آنها همچنین بیان کردند که در خاک آهکی میزان تنفس بیشتر از خاک غیر آهکی بوده است که به نظر می‌رسد این مسئله به دلیل اثرات آهک بر قابلیت استفاده این عنصر باشد. مفتون و همکاران (2004) در مطالعه آلودگی کادمیم در یک خاک آهکی بیان کردند که این عنصر در بخش‌های مختلف خاک تقسیم شده و تنها بخش محلول کادمیم با قابلیت استفاده این عنصر نزدیک است. آنها در ادامه بیان کردند که کربنات کلسیم عامل تأثیرگذار بر بخش‌های فعال بوده و بخش مهمی از کادمیم به شکل اوکتاوایت در این خاک‌ها نگهداری و غیر قابل استفاده می‌شود.

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

مواد و روش‌ها

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

نتایج

اثر زمان و تیمار کادمیم بر درصد کربن آلی

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

اثر زمان و تیمار کادمیم بر تنفس خاک

نتایج نشان داد که تنفس خاک در پایه آماری 1 % وابسته به فاکتورهای زمان و کادمیم و اثرات متقابل آنها بود. تنش غلظت کادمیم بر تنفس خاک تنها در بیشترین غلظت کاربردی (5 میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک) دیده شد به گونه‌ای که کاهش 40 درصدی در تنفس خاک در برابر تیمارهای قبل از آن اندازه‌گیری شد. با گذشت زمان تنفس خاک از کمترین مقدار خود در تیمار 3 روز، $0/07$ ($\text{mg CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{dm} \cdot 24\text{h}^{-1}$) که از نظر آماری با 7 روز در یک گروه قرار داشت به بیشترین مقدار در تیمار 93 روز $0/51$ ($\text{mg CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{dm} \cdot 24\text{h}^{-1}$) که این نیز از نظر آماری با 62 روز در یک گروه قرار داشت رسید (شکل 3 و 4، جدول 2). زمان خوابانیدن و غلظت کادمیم در خاک نیز در پایه آماری مورد مطالعه اثر معنی-داری داشت. بیشترین تنفس خاک در تیمار شاهد و 62 روز پس از خوابانیدن روی داد که در پایه آماری 1% تنها در غلظت دو میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک در روزهای 62 و 93 روز در یک گروه آماری قرار گرفتند. از سوی، کمترین تنفس خاک در تیمار شاهد و در روزهای

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

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

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

در زمان‌های یاد شده (تیمار زمان) ویژگی‌های گوناگون شیمیایی و زیستی خاک مانند درصد کربن آلی (والکی و بلک، 1934)، نیتروژن- نیتراتی به روش آلیاژ دواردا (احیایی و بهبهانی‌زاده، 1372)، فعالیت آنزیم اوره آز به روش رنگ‌سنجی در طول موج 690 nm (پالسون و کورتز، 1969)، پروتئین خاک به روش بیوره با اسپکتروفتومتر در طول موج 550 nm (راک و همکاران، 1986)، فعالیت ویژه آنزیم اوره‌آز¹ و نیز تنفس خاک به روش تیتراسیون (اندرسون، 1982) اندازه‌گیری شد. در پایان تجزیه و تحلیل داده‌ها با بسته نرم افزاری SAS انجام گرفت.

¹ فعالیت ویژه آنزیم اوره‌آز حاصل تقسیم فعالیت آنزیم اوره‌آز بر پروتئین خاک است.

3 و 7 اندازه گیری شد که در پایه آماری 1% با غلظت 2 میلی گرم کادمیم به ترتیب در روزهای 3 و 7 و 5 میلی گرم کادمیم در روزهای 3، 7، 31، 62 و 93 روز در یک گروه آماری قرار گرفتند (جدول 3).

جدول 1- برخی ویژگی های فیزیکی و شیمیایی خاک *

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

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

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

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

^{ns} غیر معنی دار، ** معنی دار در سطح 1%، * چشم گیر در سطح 5%



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



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

جدول 3- اثر متقابل غلظت کادمیم (میلی گرم در کیلوگرم خاک) و زمان (روز) بر میانگین درصد کربن آلی و تنفس خاک ($\text{mg CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{ dm} \cdot 24 \text{ h}^{-1}$)

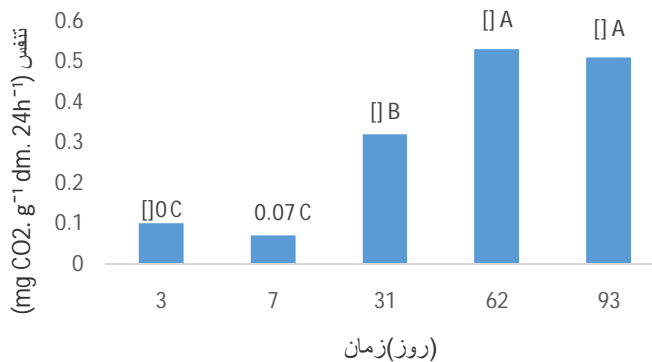
تنفس	کربن آلی (درصد)	زمان	غلظت کادمیم
0/26 dcef	2/90 ab	3	0
0/08 ef	3/00 ab	7	
0/33 dce	1/40 def	31	
0/83 a	1/03 ef	62	
0/55 bc	0/96 f	93	
0/02 f	2/93 ab	3	2
0/08 ef	3/40 ab	7	
0/37 cd	1/66 cd	31	
0/76 ab	1/06 ef	62	
0/72 ab	1/13 def	93	
0/02 f	2/83 b	3	5
0/06 ef	2/86 ab	7	
0/27 dcef	2/13 c	31	
0/18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

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



شکل 3 - اثر آلودگی کادمیم بر تنفس خاک
 شده ($\text{mg CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{ dm} \cdot 24 \text{ h}^{-1}$)

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

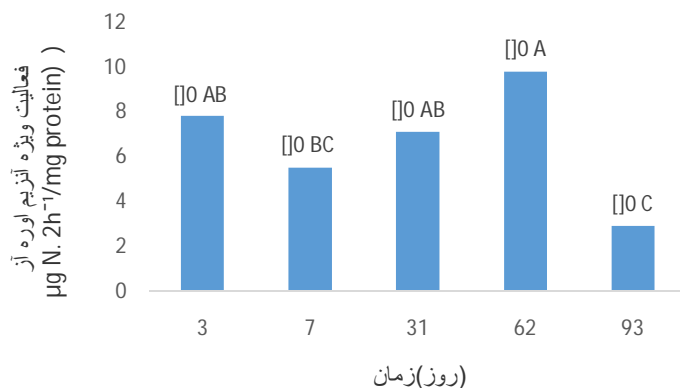


شکل 4 - اثر زمان بر تنفس خاک
 شده ($\text{mg CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{ dm} \cdot 24 \text{ h}^{-1}$)

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

اندازه گیری شد که از نظر آماری با روز هفتم در یک گروه قرار گرفت و در برابر آن بیشترین اندازه این ویژگی در روز 62 به اندازه 9/80 ($\mu\text{g N.2h}^{-1}/\text{mg protein}$) بود که این نیز از نظر آماری با روزهای 31 و 3 در یک گروه قرار گرفت (شکل 5).

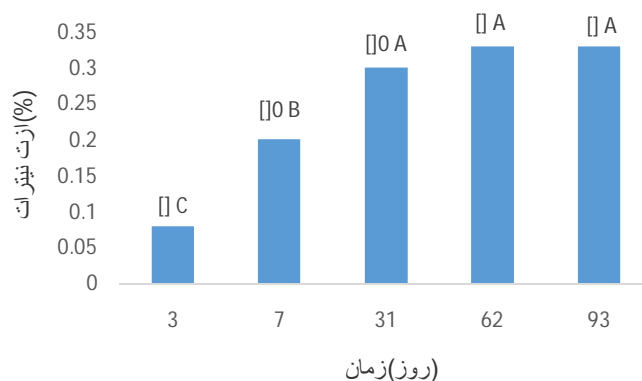
اثر زمان خوابانیدن و تیمار کادمیم بر فعالیت ویژه آنزیم اوره آز
 به رغم عدم تأثیر غلظت های کادمیم بر فعالیت ویژه آنزیم اوره آز، زمان خوابانیدن در پایه آماری 1% بر این ویژگی مؤثر بود به گونه ای که کمترین اندازه فعالیت ویژه این آنزیم در روز 93 ($\mu\text{g N.2h}^{-1}/\text{mg protein}$) 2/94



شکل 5- اثر زمان بر فعالیت ویژه آنزیم اوره آز ($\mu\text{g N. 2h}^{-1}/\text{mg protein}$)
 ارقام داری حروف مشترک، تفاوت معنی داری در سطح آماری 1% ندارند.

مشابه میانگین های غلظت نیترات در روز 31 بود. در دوره خوابانیدن غلظت نیترات خاک از آغاز آزمایش چهار برابر شد و میانگین آن از 0/08 درصد به 0/33 درصد در بالاترین گروه های آماری رسید (شکل 6، جدول 2).

اثر زمان و تیمار کادمیم بر درصد نیترات
 در این پژوهش دیده شد که غلظت نیترات وابسته به غلظت کادمیم خاک نبود اما زمان خوابانیدن بر غلظت آن اثر داشته و بیشترین غلظت نیترات در 62 و 93 روز پس از آغاز آزمایش اندازه گیری شد که از دیدگاه آماری



شکل 6- اثر زمان بر درصد ازت نیترات خاک
 ارقام داری حروف مشترک، تفاوت معنی داری در سطح آماری 1% ندارند.

همبستگی تیمارهای زمان و کادمیم با ویژگی‌های شیمیایی و زیستی خاک

کربن آلی خاک در همین پایه آماری با کاهش روبرو شد. از سوی، تغییر در غلظت کادمیم و با افزایش آن در پایه آماری 5% تنها بر تنفس خاک اثر افزایشی داشت. میان تغییر تنفس خاک و مقدار نیتراژ در پایه آماری 1% نیز روند افزایشی مشاهده شد اما، میان دگرگونی درصد کربن آلی و تنفس از یک سو و درصد کربن آلی و نیتراژ از سوی دیگر در پایه آماری 1% اثر کاهش مشاهده شد.

همانطور که از جدول 4 پیداست میان تغییر فاکتور زمان از یک سوی و کادمیم از سوی دیگر بر فعالیت ویژه آنزیم اوره‌آز هیچگونه همبستگی معنی‌داری دیده نشد. با گذشت زمان تغییر در مقدار نیتراژ و تنفس خاک هم‌سو و در پایه آماری 1% معنی‌دار بود درحالی‌که میزان درصد

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

	نیتراژ	اوره‌آز	کادمیم	زمان	تنفس
اوره‌آز			0/03 ^{ns}	-0/24 ^{ns}	
نیتراژ		0/07 ^{ns}	0/044 ^{ns}	0/77 ^{**}	
تنفس	0/59 ^{**}	0/08 ^{ns}	0/34 [*]	0/64 ^{**}	
ماده آلی	-0/74 ^{**}	0/01 ^{ns}	0/19 ^{ns}	-0/85 ^{**}	

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

بحث و نتیجه‌گیری

محیط خاک است در حالی‌که با افزایش روند تنفس ماده آلی نیز کاهش پیدا کرد.

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

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

قابلیت استفاده آن در خاک به شکل کربنات کادمیم (اکتاویت) می‌شود. صفری سنجانی و جعفری (2016) نیز به تأثیر بخش معدنی بر کاهش قابلیت استفاده کادمیم اشاره کردند. چادهوری و همکاران (2003) در پژوهش خود نشان دادند که افزودن ماده آلی به خاک اثرهای بد فلزهای سنگین بر فعالیت آنزیم اوره‌آز را می‌کاهد. اگلی و همکاران (2010) نیز نشان دادند که ماده آلی یک عامل استراتژیک خوب در زدودن خاک آلوده به فلزهای سنگین است، به ویژه ماده آلی که دارای اندازه فراوانی از هومیک اسید باشد. رفتار آنزیم اوره‌آز تحت تأثیر تیمار کادمیم قرار نگرفت و این با مشاهده سایر محققین نیز هم‌خوانی داشت. کیزی‌کایا و همکاران (2004) و همچنین وانگ و همکاران (2007) در مطالعه اثر کادمیم بر روی فعالیت آنزیم اوره‌آز بیان کردند که این آنزیم کمتر وابسته به این آلاینده است.

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

وجود ماده آلی در خاک و در پی آن افزایش شاخص‌های زیستی خاک در یک دوره زمانی از جمله تنفس، آزاد شدن نیترات همراه با کاهش ماده آلی یک فرآیند طبیعی است اما افزایش کادمیم می‌تواند بر این روند اثر تأخیری یا کلاً بازدارندگی داشته باشد. تجادا (2009) نشان داد که غلظت‌های بالای کادمیم (100 تا 1000 میلی‌گرم کادمیم بر کیلوگرم خاک) اثر بازدارندگی بر زیست توده میکروبی، جمعیت کرم‌های خاکی و شمار نامتدها دارد. ویلیامز و همکاران (1977) همچنین یانگن و همکاران (2006) در آزمایش‌های جداگانه نشان دادند که عناصر روی، کادمیم و مس اثر بازدارندگی بر تنفس و زیست توده خاک دارند. آنها نیز گزارش کردند که کمترین اندازه تنفس در ابتدای آزمایش اندازه‌گیری شد و با گذشت زمان اندازه تنفس نیز افزایش یافت که با یافته‌های این پژوهش هم‌خوانی داشت. از سوی دیگر، دیازوینا و بت (1996) گزارش کردند که در روزهای نخست پس از آلودگی خاک به سرب، برخی از شناسه‌ها، مانند تنفس پایه و تنفس برانگیخته، در غلظت‌های پایین سرب حتی اندکی افزایش یافتند ولی با افزایش اندازه آلودگی این شناسه‌ها نیز کاهش نشان دادند. با گذشت زمان خوابانیدن غلظت‌های پایین‌تر سرب هم سبب کاهش شناسه‌های میکروبی شدند. در این پژوهش همبستگی معنی‌داری بین غلظت نیترات و تیمار کادمیم وجود نداشت و این به‌رغم آن بود که پژوهش‌گران مختلف به اثر بازدارندگی کادمیم بر فرآیند نیترات سازی خاک اشاره نمودند (سینقا و همکاران (1998) و سان و همکاران (2003)). مشاهده متفاوت پاسخ نیترات در این پژوهش می‌تواند به دلیل غلظت کم کادمیم در این تیمارها و کم جذب همین غلظت کم در بخش‌های مختلف خاک و کم اثر شدن آن باشد. مفتون و همکاران (2004) با اشاره به تأثیر بخش معدنی در کاهش قابلیت استفاده کادمیم اضافه کردند که کربنات کلسیم سبب رسوب کادمیم و کاهش

فهرست منابع:

1. احیایی، م. بهبهانی‌زاده، ع.ا. 1372. شرح روش‌های تجزیه شیمیایی خاک، نشریه فنی شماره 893، موسسه تحقیقات خاک و آب، نشر آموزش کشاورزی، کرج، ایران. صفحه 150.
2. کاظم علیلو، س. رسولی صدقیانی، ا. ارزبایی برخی شاخص‌های زیستی خاک در حضور میکروارگانسیم‌های محرک رشد گیاه و آلودگی کادمیمی خاک. مجله تحقیقات آب و خاک ایران. دوره 44 بهار، شماره، 68-57.
3. کسرائیان، ع. کریمیان، ن. و غفوری. 1391. ارزیابی توزیع مکانی و تعیین نقاط بحرانی آلودگی کادمیم در بخشی از زمین های کشاورزی غرب شیراز به روش کریجینگ. نشریه آب و فاضلاب. شماره 4، 50-44.

4. یزدان پناه، ن. فتوت، ا. لکزبان، ا. حق نیا، غ. 1387. تأثیر فلزات سنگین روی و کادمیم بر فرآیند تنفس میکروبی در دو خاک آهکی و غیر آهکی. آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی). دوره 22، 59-68.
5. Aceves, M., C., Grace, J., Ansorena, L., Dendooven, P.C., Brookes. 1999. Soil microbial biomass and organic C in gradient of zinc concentrations in soil around a mine spoil tip. *Soil. Biology and Biochemistry*. 31: 867-876.
6. Anderson, J.P.E. 1982. Soil respiration. p. 831-871. In: A.L. Page and R.H. Miller (eds.) *Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties*. American Society of Agronomy, Madison, WI.
7. Babula, P., Ryant, P. and Adam, V. 2009. The role of sulphur in cadmium ions detoxification demonstrated in invitro model: *Dionaea muscipula*. *Environment Chemistry* 7: 353-361.
8. Badine, N.N.Y., Chotte, J.L., Pate, E., Masse, D. and Rouland, C. 2001. Use of soil enzyme activities to monitor soil quality in natural and improved fallows in semi-arid tropical regions. *Applied Soil Ecology* 18:229-238.
9. Baszynski, T., Wajda, L., Krol, M., Wolinska, D., Krupa, Z. and Tukendorf, A. 1980. Photosynthetic activities of cadmium-treated tomato plants. *Journal of Plant Physiology*. 48: 365-370.
10. Burns, R.G. 1983. Extracellular enzyme-substrate interactions in soil. pp. 249-298. In: *Microbes in Their Natural Environment* (Slater JH, Wittenbury R and Wimpenny JWT Eds). Cambridge University Press, London.
11. Chaudhuri, D., Tripathy, S., Veeresh, H., Powell, M.A. and Hart, B.R. 2003. Relationship of chemical fractions of heavy metals with microbial and enzyme activities in sludge and ash-amended acid lateritic soil from India. *Environmental Geology* 45: 115-123. DOI: 10.1007/s00254-003-0864-4.
12. Diaz-Ravina, M. and Bååth, E. 1996. Development of metal tolerance in soil bacterial communities exposed to experimentally increased metal levels. *Applied and Environmental Microbiology* 62: 2970-2977.
13. Dubey, R. 2011. Metal toxicity, oxidative stress and antioxidative defense system in plants, in *Reactive Oxygen Species and Antioxidants in Higher Plants*. S. D. Gupta, Ed., pp. 177-203.
14. Efeoglu, B. 2009. Heat shock proteins and heat shock response in plants. *Journal Science* 22: 67-75.
15. Egli, M., Sartori, G., Mirabella, A., Giaccari, D., Favilli, F., Scherrer, D., Krebs, R. and Delbos, E. 2010. The influence of weathering and organic matter on heavy metals lability in silicatic Alpine soils. *Science of the Total Environment* 408: 931-946.
16. Gee, G.W. and Bauder, J.W. 1986. Particle size analysis, hydrometer method. In: *Methods of Soil Analysis*. D. L. Sparks et al. (eds.) part III, 3rd ed. American Society of Agronomy. Inc, Madison, WI. PP: 383- 411.
17. Haanstra, L. and Doelman, P. 1991. An ecological dose-response model approach to short- and long-term effects of heavy metals on arylsulphatase activity in soil. *Biology and Fertility of Soils* 11: 18-23.
18. Hinojosa, M.B., Carrera, J.A., Rodríguez -Maroto, J.M. and García -Ruiz, R. 2008. Effects of pyrite sludge pollution on soil enzyme activities: Ecological dose - response model. *Science of the Total Environment*. 396.
19. Jinlong, Y., Guixiang, Q. and Cheng, D. 2013. Effects of the combined pollution of lead and cadmium on soil urease activity and nitrification. *Procedia Environmental Sciences* 18: 78-83.

20. Kizikaya, R., Askýnç, T., Bayraklý, B. and Sađlam, M. 2004. Microbiological characteristics of soil contaminated with heavy metals. *European Journal of Soil Biology* 40: 95-102.
21. Knudsen, D., Peterson, G.A. and Pratt, P.E. 1982. Lithium, sodium and potassium. pp. 225-246.
22. Landi, L., G., Renella, J.L., Moreno, L., Falchini, P., Nannipieri, 2000. Influence of cadmium on the metabolic quotient, L-, D- glutamic acid respiration ratio and enzyme activity, microbial biomass ratio under laboratory conditions. *Biology and Fertility of Soils*. 32: 8-16.
23. Luo, Y. and Zhou X. 2006. *Soil respiration and the Environment*. Academic press.
24. Lindsay, W.L. and Norvell, W.A. 1978. Development of a DTPA test for zinc, iron, manganese and copper, *Soil Science Society of America Journal* 42: 421- 428.
25. Maftoun, M.F., Rassooli, Z. Ali Nejad. and Karimian. 2004. Cadmium sorption behavior in some highly calcareous soils of Iran. *Communications in Soil Science and Plant analysis*. 35: 1271- 1282.
26. Makoi, H.J.R. and Ndakidemi, P.A. 2008. Selected soil enzymes: Example of their potential roles in the ecosystem. *African Journal of Biotechnology* 7(3): 181-191.
27. Nelson, D.W. and Sommers, L.E. 1996. Total carbon, organic carbon, and organic matter. In: *Methods of Soil Analysis*. D. L. Sparks et al. (eds.) part III, 3rd ed. American Society of Agronomy. Inc., Madison, WI. PP: 961–1010.
28. Olsen, S.R., Cole C.V., Watanabe F.S. and Dean L.A. 1954. Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate USDA Circ. No. 939.
29. Paulson, K.N. and Kurtz, L.T. 1969. Locus of urease activity in soil. *Soil Science Society of America Proceeding* 33: 897-901.
30. Rhoades, J.D. 1996. Salinity: Electrical conductivity and total dissolved solids. In: *Methods of Soil Analysis*. D. L. Sparks et al. (eds.) part III, 3rd ed. American Society of Agronomy. Inc., Madison, WI. PP: 417- 436.
31. Rock, R.C., Walker, W.G. and Jennings, C.D. 1986. Nitrogen Metabolites and Renal Function. In: *Textbook of Clinical Chemistry*. Edited by NW Titez. WB Saunders. Philadelphia, USA.
32. Safari Sinegani, A.A. and Emtiazi, G. 2006. The relative effects of some elements on the DNS method in cellulose assay. *Journal of Applied Sciences and Environmental Managment* 10(3): 93-96.
33. Safari Sinegani, A.A. and Mirahamdi Araki, H. 2010. Changes in chemical forms of lead in temperate and semiarid soils in sterile and unsterile conditions. *Environmental Chemistry Letters* 8:323–330.
34. Safari Sinegani, A.A. and Jafari M. 2016. Chemical speciation and bioavailability of cadmium in the temperate and semiarid soils treated with wheat residue. *Environmental Science and Pollution Research*.
35. Singha, D.D., Anoop, S. and Gupta, A.P. 1998. Nitrogen transformation in sewage – sludge amended soil as influenced by addition of zinc, cadmium, and nickel. *Indian Journal of Agricultural Sciences* 68(2): 96-100. DOI: 10.1016/0269-7491(94)90140-6.
36. Sumner, M.E. and Miller, W.P. 1996. Cation exchange capacity and exchange coefficients. In: *Methods of Soil Analysis*. D. L. Sparks et al. (eds.) part III, 3rd ed. American Society of Agronomy. Inc., Madison, WI. PP: 1201- 1229.
37. Sun, B., Zhou, S.L. and Zhao, Q.G. 2003. Soil heavy metal compositive pollution based on spatial variation. *Agriculture Environmental Sciences* 22: 248-51
38. Tejada, M. 2009. Application of different organic wastes in a soil polluted by cadmium. Effect on soil biological properties. *Geoderma*, 153: 254 - 268. DOI:10.1016/j.biortech2007.06.002.

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

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

A. Salehian, A. Kasraian¹, and M. Vessal

Former MS Student, Islamic Azad University, Shiraz Branch; E-mail: yasgood42@yahoo.com

Assistant professor, Islamic Azad University, Shiraz Branch; E-mail: alkasra@yahoo.com

Professor, Islamic Azad University, Shiraz Branch; E-mail: mahmoodvessal@yahoo.ca

Received: August, 2016 & Accepted: July, 2017

Abstract

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

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

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