

نقش کرم‌های خاکی (ایزینیا فتیدا) در فراهمی زیستی خاک‌های آلوده به فلزات سنگین

قاسم رحیمی* و فیروزه نوروزی گلدره^۱

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۱۴؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۵/۵)

چکیده

کرم‌های خاکی موجودات زنده مفید خاک هستند که به‌طور معمول در مطالعات زیست‌محیطی و سمیت شناسی زیستی استفاده می‌شوند. از این‌رو مطالعه حاضر با هدف نقش کرم‌های خاکی ایزینیا فتیدا در فراهمی زیستی فلزات روی و مس خاک‌های آلوده انجام شد. بدین منظور این تحقیق روی یک خاک آلوده که از معدن آهن‌گران در ۲۶ کیلومتری شهرستان ملایر و زمین‌های اطراف آن نمونه‌برداری شده بود، انجام شد. در این مطالعه ۱۲ عدد کرم خاکی با میانگین وزن ۰/۳ تا ۰/۶ گرم برای هر نمونه خاک انتخاب شدند. کرم‌ها به مدت ۴۲ روز در معرض خاک آلوده به فلز قرار گرفتند. بعد از زمان مورد آزمایش غلظت فلز روی (Zn) و مس (Cu) در بخش‌های مختلف خاک اندازه‌گیری شد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که کود گاوی، پوره هویج و ورمی کمپوست به ترتیب باعث کاهش معنی‌دار (در سطح ۵ درصد) ۶۲/۲، ۸۰ و ۶۵/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم غلظت فلز روی در بخش کربناته نسبت به تیمار شاهد شد. کرم‌های خاکی به‌طور معنی‌داری باعث افزایش فلز روی (۸۱/۴۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در بخش کربناته شد. از طرفی افزایش معنی‌داری در مقدار مس تبدلی با اضافه کردن کود آلی همراه با کرم خاکی نسبت به نمونه شاهد دیده شد که این افزایش در تیمار ورمی کمپوست (۱/۲۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و پوره هویج (۱/۳۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) نسبت به شاهد در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد.

واژه‌های کلیدی: بخش‌بندی فلزات، کرم‌های خاکی، فلزات مس و روی

۱. گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

*: مسئول مکاتبات: پست الکترونیکی: g.rahimi@basu.ac.ir

مقدمه

یکی از مهم ترین آلودگی‌های زیست‌محیطی که سلامت انسان و دیگر موجودات زنده را به خطر انداخته، آلودگی فلزات سنگین است. فلزات سنگین جزء آلاینده‌های مهم خاک هستند که پس از تجمع در خاک و جذب توسط گیاه وارد زنجیره غذایی شده و موجب بروز مسمومیت در جانداران می‌شوند. آلودگی خاک به فلزات سنگین به سرعت طی دهه‌های اخیر روبه افزایش بوده و ده درصد از خاک‌های کره زمین آلوده به فلزات سنگین هستند (۱۰).

در مناطق متعددی که تحت تأثیر فعالیت‌های معدن هستند همواره غلظت بالایی از عناصر سمی تولید می‌کنند که اثرات سوء بر اکوسیستم دارند (۳۹). بنابراین فعالیت معدن یکی از خطرناک‌ترین فعالیت‌های انسان در جهان (۲) و یکی از بزرگ ترین منابع آلودگی زیست‌محیطی ناشی از فلزات سنگین است که محیط زیست را در معرض خطر قرار می‌دهد. فلزات سنگین دارای ویژگی‌هایی نظیر: تجمع‌پذیری زیستی، سمیت بالا، ثبات شیمیایی، تجزیه‌پذیری ضعیف و نیز قابلیت انحلال زیاد در آب هستند که سبب آلودگی‌های وسیع در سطح خاک می‌شوند (۱۷ و ۳۰). فلزات سنگین به دلیل سمیت و ماندگاری آنها در محیط زیست تهدیدی جدی برای سلامت جامعه به حساب می‌آیند (۲۰). از جمله فلزات سنگین موجود در خاک می‌توان به کادمیوم، روی و مس اشاره کرد، که بیشترین عوارض را بر سلامتی انسان دارند و بسیار سمی هستند (۶). روی (Zn)، عنصری حیاتی برای گیاهان محسوب می‌شود، در مقادیر بالا می‌تواند موجب مسمومیت گیاه شود و برای انسان نیز خطرآفرین است (۱۲). آشفته‌گی معده، استفراغ، التهاب پانکراس و اختلال تنفسی از عوارض سمیت فلز روی است (۵). جذب زیاد مس در انسان باعث خوردگی شدید مخاطی، آسیب گسترده مویرگی، تغییرات نکروتیک کبدی و کلیوی، دستگاه گوارشی و سیستم عصبی مرکزی شده و منجر به افسردگی می‌شود (۱۸).

کرم‌های خاکی موجودات زنده خاک هستند که به‌طور

معمول در مطالعات زیست‌محیطی و سنجش سمیت زیستی فلزات سنگین، مورد استفاده قرار می‌گیرند (۸ و ۱۶). این موجودات زنده خاک اطلاعات مهمی برای ارزیابی خطرات زیست‌محیطی تأمین می‌کنند و به دلیل ارتباط به نسبت مداوم بین غلظت برخی از آلوده‌کننده‌ها در بافتشان و در خاک یک شاخص مفید بیولوژیکی برای ارزیابی آلودگی به حساب می‌آیند (۱۹ و ۲۵). استفاده از کرم‌های خاکی در پالایش زیستی خاک یک روش بیولوژیکی است، به طوری که غلظت آلاینده‌ها در خاک از طریق مکانیسم تجمع زیستی در بدن کرم‌های خاکی کاهش پیدا می‌کند (۲۱ و ۳۱). کاهش آلاینده‌ها از طریق چندین مکانیسم از جمله جذب و تجمع آنها در بدن کرم خاکی و تخریب آلاینده‌ها در بدن آنها توسط آنزیم‌های دستگاه گوارش مانند سیتوکروم P450، برخی از فلورهای میکروبی تخریب کننده مانند سودوموناس، نوکاردیا و آلکالوئوز موجود در کرم خاکی اتفاق می‌افتد (۱۵). مطالعات دیگری نشان داد که کرم‌های خاکی می‌توانند فلزات سنگین را در بدن خود جمع کرده و با افزایش غلظت آلاینده‌ها درصد حذف فلزات سنگین را از خاک افزایش دهند (۲۶).

تجمع فلزات سنگین توسط کرم‌های خاکی می‌تواند بسته به نوع فلز متفاوت باشد. به‌عنوان مثال، روی و مس که به‌عنوان مواد مغذی در غلظت‌های پایین عمل می‌کنند، از نظر میزان تجمع یا دفع توسط کرم‌های خاکی در مقایسه با کادمیوم و سرب متفاوت است. پژوهشگران اشاره کردند که در حضور مس، روی، سرب و کادمیوم، گونه ایزینیا فتیدا بیشترین میزان دفع و یا بیشترین مقدار تجمع فلز را در خاک آلوده به روی و مس، در مقایسه با خاک آلوده به سرب و کادمیوم نشان می‌دهد (۳۳). این به دلیل مکانیسم‌های کنترل فیزیولوژیکی کرم‌های خاکی است و همچنین به دلیل اینکه مس و روی فلزات ضروری برای فعالیت (۱۴) ارگانیسم هستند.

به‌طور کلی حضور کرم‌های خاکی در محیط خاک می‌تواند قابلیت دسترسی زیستی آلاینده‌ها و فعالیت میکروبی را بهبود ببخشد که منجر به تجزیه میکروبی بیشتر آلاینده‌های خاک می‌

به آزمایشگاه انتقال داده شدند. خاک‌ها هوا خشک و از الک (۲ mm) عبور داده شدند. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک‌ها مانند هدایت الکتریکی (EC) و واکنش خاک (pH) با نسبت ۵:۱ خاک به آب (۲۸ و ۲۹)، کربن آلی خاک با روش والکلی- بلک (۳۸)، بافت خاک با روش هیدرومتری (۷) و ظرفیت تبادل کاتیونی (CEC) به روش استات آمونیوم (۲۷)، مورد بررسی قرار گرفت. اندازه‌گیری غلظت کل فلزات سنگین در خاک به روش اسپوزیتو و همکاران (۳۴)، با هضم اسیدی خاک انجام شد. عصاره‌گیری فلزات سنگین از بخش‌های مختلف خاک برای تعیین غلظت فلزات در بخش‌های مختلف در طول دوره مورد آزمایش از روش عصاره‌گیری پی‌پی اسپوزیتو و همکاران (۳۴)، استفاده شد. مراحل انجام آن در جدول ۱ نشان داده است. غلظت فلزات سنگین در نمونه‌های به دست آمده توسط دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی مدل Varian ۲۲۰ اندازه‌گیری شد.

آماده‌سازی نمونه‌ها: این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. فاکتورهای مورد بررسی عبارت بودند از نوع کودهای آلی و وجود یا عدم وجود کرم خاکی. کودهای آلی شامل ورمی کمپوست، کود گاوی (به صورت پوسیده شده)، پوره هویج (به صورت تازه) با نسبت ۵۰ درصد و یک نمونه شاهد همراه با حضور یا عدم حضور کرم خاکی به ظروف حاوی ۳۰۰ گرم خاک هوا خشک شده مربوط به هر نقطه نمونه‌برداری در ظرف پلاستیکی به ابعاد (۱۷×۱۳×۱۸ سانتی‌متر) قرار داده شد. ماده آلی مورد استفاده با نسبت ۵۰ درصد به خاک اضافه شدند. به منظور هوادهی کرم‌های خاکی، چهار طرف ظرف‌ها با حفره کوچک سوراخ شد و برای جلوگیری از خروج کرم‌ها از داخل ظرف، از توری‌های ریزی استفاده شد. رطوبت نمونه‌ها توسط آب مقطر به رطوبت مورد نیاز (۷۰ درصد) برای زنده ماندن کرم خاکی رسانده شد. سپس نمونه‌های مورد آزمایش به مدت سه روز به منظور ایجاد تعادل بین رطوبت خاک و تیمارهای مورد استفاده در داخل انکوباتور در دمای 21 ± 2 درجه

شود، همچنین از جمله مهم‌ترین موارد کاربرد این موجودات شامل تصفیه در مدیریت مواد زائد، به عنوان جاذب بیولوژیک در سمیت‌زدایی و پالایش خاک از فلزات سنگین و برخی از آفت‌کش‌های آلی، افزایش جمعیت و تقویت فعالیت‌های آنزیمی میکروارگانیسم‌های مفید خاک، بهبود کیفیت خاک و توسعه کشاورزی است (۳۳ و ۳۹).

به دلیل اینکه امروزه یکی از مهم‌ترین مشکلات زیست محیطی در سراسر دنیا آلودگی خاک‌های مناطق صنعتی و معادن و به ویژه زمین‌های کشاورزی اطراف این معادن، به فلزات سنگین نظیر، سرب، کادمیوم، مس، روی، کروم و غیره است و به دلیل اینکه استفاده از کرم‌های خاکی روش بیولوژیکی مناسبی برای حذف این فلزات از محیط خاک است، این مطالعه به منظور تعیین کارایی کرم خاکی ایزینیا فتیدا (*Eisenia fetida*) در فراهمی زیستی فلزات مس و روی در خاک‌های معدنی آلوده به این فلزات به اجرا در آمد.

مواد و روش‌ها

منطقه مورد مطالعه: این تحقیق روی یک خاک آلوده طبیعی که از معدن سرب و روی آهنگران و زمین‌های اطراف آن که کم و بیش مورد استفاده کشاورزی قرار می‌گیرد، نمونه‌برداری شده بود، انجام شد. معدن سرمک آهنگران در ۲۶ کیلومتری شهرستان ملایر، به سمت شهرستان اراک در استان همدان با طول جغرافیایی ۴۸ درجه، ۵۹ دقیقه و ۴۴ ثانیه و عرض جغرافیایی ۳۴ درجه، ۱۰ دقیقه و ۲۰ ثانیه واقع شده است.

نمونه‌برداری خاک: برای پژوهش حاضر شش نمونه مرکب از عمق صفر تا ۱۵ سانتی‌متری خاک برداشت شد. برای مقایسه میزان و شدت آلودگی، یک نمونه خاک (نمونه شاهد، SV) از مناطق شاهد (اطراف دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا) نیز جمع‌آوری شد. فاصله نقطه S۱ در معدن و نقطه S۶ در دورترین فاصله از معدن (یک کیلومتری معدن سرمک آهنگران در نزدیکی جاده) و نقاط S۲، S۳، S۴ و S۵ مابین این دو نقطه قرار گرفتند. نمونه‌های خاک در داخل کیسه پلی‌اتیلن ریخته و

جدول ۱. عصاره‌گیرها و شرایط آزمایش برای تعیین بخش‌های مختلف فلز سنگین به روش اسپوزیتو

عصاره‌گیر	مدت زمان شیک کردن	فرم فلزات سنگین
۲۵ میلی‌لیتر نیترات پتاسیم ۰/۵ مولار	۱۶ ساعت (در دمای آزمایشگاه)	بخش تبادل
۲۵ میلی‌لیتر هیدروکسید سدیم ۰/۵ مولار	۱۶ ساعت (در دمای آزمایشگاه)	بخش پیوند به مواد آلی
۲۵ میلی‌لیتر EDTA ۰/۰۵ مولار	۶ ساعت (در دمای آزمایشگاه)	بخش پیوند به کربنات
۲۵ میلی‌لیتر HNO_3	۱۶ ساعت (در دمای آزمایشگاه)	بخش باقی مانده

گذشت ۴۲ روز از شروع آزمایش و پس از حذف کرم‌های خاکی، هر نمونه خاک پس از هوا خشک شدن و گذراندن از الک ۲ میلی‌متر، به منظور جزءبندی فلزات سنگین مورد بررسی قرار گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه واریانس داده‌ها به روش فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی به کمک نرم‌افزار SAS انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

بحث و نتایج

خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مورد مطالعه: نتایج تجزیه واریانس خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک نمونه برداری شده از نقاط مختلف (جدول ۲) نشان می‌دهد که مقدار pH، EC و CEC در نقاط نمونه‌برداری در سطح ۱ درصد معنی دار بود. با توجه به جدول ۳، pH خاک‌های مناطق اطراف معدن بین ۸/۰۹ تا ۸/۵۰ و pH منطقه شاهد ۷/۸۵ بود. این نشان می‌دهد که pH خاک‌های منطقه مورد مطالعه قلیایی بوده است. مقدار EC خاک‌های مورد مطالعه در محدوده ۰/۲۰ تا ۰/۱۲ دسی‌زیمنس بر متر (ds/m) بود که نشان‌دهنده پایین بودن میزان شوری مناطق مورد مطالعه است (جدول ۳). کمترین و بیشترین مقدار کربن آلی به ترتیب در نقاط نمونه‌برداری S۱ (۰/۰۴ درصد) و S۳ (۲/۲۶ درصد) مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری بین این نقاط با سایر نقاط نمونه‌برداری دیده شد. ظرفیت تبادل کاتیونی خاک‌های مناطق مورد مطالعه بین ۱۷/۳ تا ۳۰/۳ سانتی‌مول بار بر کیلوگرم بود، نقاط S۲، S۳، S۵ و S۶

سانتی‌گراد قرار داده شدند. آماده‌سازی کرم خاکی: کرم خاکی مورد استفاده، ایزینیا فتیدا از شاخه کرم‌های حلقوی، خانواده لومبریسیده (Lumbricidae)، جنس ایزینیا و گونه فتیدا بود که از شرکت ورمی‌کمپوستینگ که تولید کننده و عرضه کننده کرم ایزینیا فتیدا واقع در استان البرز است، تهیه شد. همه کرم‌های خاکی به مدت دو ماه قبل از آزمایش در رطوبت ۷۰ درصد در دمای 21 ± 2 درجه سانتی‌گراد با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی در داخل انکوباتور کشت شدند (۲۴).

آزمایش سمیت کرم‌های خاکی: سه روز بعد از ایجاد تعادل رطوبت بین نمونه‌های خاک با هر یک از تیمارهای مورد استفاده، دوازده کرم خاکی بالغ برای هر نمونه به صورت تصادفی انتخاب و با آب مقطر شسته شدند، پس از خشک کردن آنها، کرم‌های خاکی با میانگین وزن $0.6 - 0.3$ گرم انتخاب شدند. به منظور خارج کردن محتویات روده کرم‌های خاکی از ذرات خاک، کرم‌های خاکی در پتری دیش‌های شیشه‌ای (۷ عدد کرم در هر ظرف) شامل کاغذ واتمن با چند قطره آب مقطر برای حفظ رطوبت، در دمای ۱۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت نگه‌داشته شدند. برای جلوگیری از کوپروفاژی کاغذ واتمن هر ۱۲ ساعت عوض می‌شد (۳). پس از تخلیه روده، کرم‌های خاکی به خاک اضافه شد. آزمایش در دمای 21 ± 2 با دوره نوری ۱۶:۸ ساعت تاریکی و روشنایی انجام شد و در طول اجرای آزمایش هیچ نوع غذایی به ظرف‌ها اضافه نشد. در طول اجرای آزمایش کرم‌های خاکی مرده به منظور جلوگیری از اثر آنها بر کرم‌های دیگر حذف می‌شدند. پس از

جدول ۲. تجزیه واریانس خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک نمونه‌برداری شده از نقاط مختلف

میانگین مربعات					
درجه آزادی	منبع پراکنش	pH	کربن آلی	هدایت الکتریکی	ظرفیت تبادل کاتیونی
نقاط نمونه‌برداری	۶	۰/۰۸ ^{ns}	۰/۹۶ ^{**}	۰/۰۰۳ ^{**}	۵۰ ^{**}
خطا	۱۳	۰/۰۴	۰/۰۱	۰/۰۰۰۳	۰/۸۸
F value	-	۱/۷۸	۸۵/۰۴	۹۷/۹	۵۷/۰۴

** و ns نشان‌دهنده تفاوت معنادار و غیر معنادار در سطح ۱ درصد است.

جدول ۳. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک نمونه‌برداری شده از نقاط مختلف

بافت	شن	سیلت	رس	ظرفیت تبادل کاتیونی	کربن آلی	هدایت الکتریکی	pH	
				(Cmolc/kg)	(%)	(ds/m)		
لوم شنی	۵۳/۸	۳۱/۴	۱۴/۸	۱۷/۳ ^d	۰/۰۴ ^d	۰/۲۰ ^a	۸/۲۳ ^{ab}	S۱
لوم رسی	۳۳/۲	۳۶	۳۰/۸	۲۸/۷ ^a	۰/۹۷ ^b	۰/۱۴ ^b	۸/۰۹ ^{ab}	S۲
لوم رسی	۴۱/۲	۳۲	۲۶/۸	۲۹/۸ ^a	۲/۲۶ ^a	۰/۲۰ ^a	۸/۵۰ ^a	S۳
لوم رسی	۲۷/۲	۳۶	۳۶/۸	۲۲/۹ ^c	۰/۶۸ ^c	۰/۱۱ ^c	۸/۲۵ ^{ab}	S۴
لوم	۴۳/۸	۲۹/۴	۲۳/۸	۳۰/۳ ^a	۰/۵۶ ^c	۰/۱۱ ^c	۸/۱۵ ^{ab}	S۵
رس	۲۱/۲	۳۶/۶	۴۲/۲	۲۹/۴ ^a	۰/۶۶ ^c	۰/۱۱ ^c	۸/۲۳ ^{ab}	S۶
لوم رسی شنی	۵۵/۲	۲۰	۲۴/۸	۲۶/۴ ^b	۰/۸۵ ^c	۰/۱۳ ^b	۸/۸۵ ^b	شاهد SV

حروف مختلف در هر سطر حاکی از تفاوت معنی‌داری بین نقاط نمونه‌برداری با استفاده از تحلیل مقایسه‌ای دانکن ($P < 0.0001$) است.

مس (۶۹۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در نقطه S۲ یافت شد و کمترین مقدار میانگین مس ابتدا در نقطه S۶ سپس در نقطه S۴ یافت شد. غلظت فلز مس در نقاط S۲، S۳ با سایر نقاط معنی دار بود (جدول ۵). سازمان بهداشت جهانی (WHO)، حد مجاز فلز روی و مس در خاک را به ترتیب ۵۰ و ۴۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم اعلام کرده است بنابراین حضور مقادیر بالاتر از این میزان در خاک، نشان دهنده آلودگی فلز روی و مس در خاک است. بر اساس این نتایج غلظت فلز روی و مس در تمام نقاط نمونه‌برداری (به جز SV) در حد بحرانی بود.

اثر کرم خاکی بر فراهمی زیستی فلزات روی و مس: جزء بندی فلزات سنگین خاک به چهار بخش تقسیم شدند که بخش محلول و تبدلی، ترکیبات قابل استفاده زیستی هر فلز بود، درحالی که جزء کربناته بخش فلزات رسوب شده با کربنات‌ها

بیشترین ظرفیت تبادل کاتیونی را دارا بودند. همچنین خاک‌های مناطق S۲، S۳، S۴، S۵ و ۶ دارای بافت ریز بودند (جدول ۳). غلظت فلزات سنگین در خاک‌های مورد مطالعه: نتایج جدول تجزیه واریانس فلز سنگین در نقاط نمونه‌برداری (جدول ۴) نشان می‌دهد غلظت دو فلز سنگین در نقاط نمونه‌برداری در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود؛ بنابراین مقایسه میانگین فلزات سنگین در این نقاط مورد بررسی قرار گرفت و در جدول ۵ آورده شده است (جدول ۵). بیشترین و کمترین مقدار میانگین فلز روی به ترتیب در نقاط S۳ (۵۵۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و S۶ (۲۱۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم) یافت شد. غلظت فلز روی در نقطه S۳ با نقطه S۲ تفاوت معنی‌داری را نشان نداد در صورتی که تفاوت معنی‌داری در نقطه S۳ با سایر نقاط برای غلظت فلز روی دیده شد (جدول ۵). بیشترین مقدار میانگین

جدول ۴. تجزیه واریانس غلظت کل فلزات سنگین در نقاط مورد مطالعه

میانگین مربعات		درجه آزادی	منبع پراکنش
Cu	Zn		
۱۷۶۱۶۲**	۹۳۰۰۹**	۶	نقاط نمونه برداری
۴۲/۲	۲۳۰۸	۱۳	خطا

** نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ۱ درصد است.

جدول ۵. میانگین (\pm خطای معیار) غلظت کل فلزات سنگین (میلی گرم بر کیلوگرم) در نقاط مورد مطالعه

SV شاهد	S۶	S۵	S۴	S۳	S۲	S۱	
۱۵/۴۵ \pm ۰/۵ ^d	۲۱۷ \pm ۸/۷ ^c	۲۳۲ \pm ۱۰/۴ ^c	۲۸۶ \pm ۶/۹ ^c	۵۹۶ \pm ۳۲/۷ ^a	۵۱۹ \pm ۳۳/۷ ^{ab}	۴۴۲ \pm ۵۳/۸ ^b	Zn
۳۹/۱۹ \pm ۰/۸ ^d	۴۴/۱ \pm ۶/۱ ^d	۷۰/۹ \pm ۱/۳ ^{cd}	۴۵/۲ \pm ۰/۳ ^d	۳۲۸ \pm ۱۵/۷ ^b	۶۹۶ \pm ۲۱/۱ ^a	۸۱/۴ \pm ۱/۵ ^c	Cu

حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده وجود تفاوت معنی دار بین نقاط نمونه برداری با استفاده از آنالیز مقایسه میانگین دانکن ($P < 0.05$) است.

جدول ۶. نتایج تجزیه واریانس اثر کود آلی و کرم خاکی بر بخش بندی فلز روی

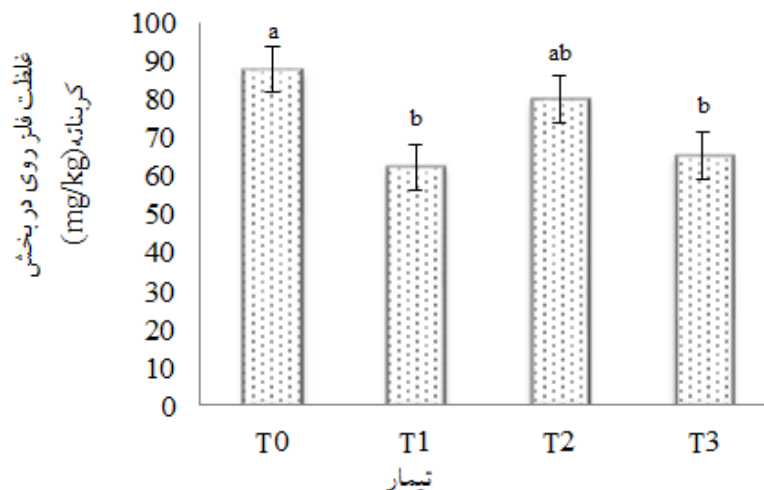
میانگین مربعات					
بخش باقی مانده	بخش کربناته	بخش آلی	بخش تبادل	درجه آزادی	منبع پراکنش
۲۳۹۸ ^{ns}	۵۱۹۱*	۶۹۷۲ ^{ns}	۱۸/۴ ^{ns}	۳	کود آلی
۶۷/۶۰ ^{ns}	۸۸۰۳*	۱۸۳۲۴ ^{ns}	۰/۶۲ ^{ns}	۱	کرم خاکی
۱۳۸ ^{ns}	۶۲۹ ^{ns}	۴۸۸۱ ^{ns}	۳۸/۲ ^{ns}	۳	کود آلی x کرم خاکی
۴۹۲	۸۳/۶	۴۲	۳/۹۱	۱۰۸	خطا

^{ns} و * به ترتیب نشان دهنده معنی دار نبودن و معنی دار بودن در سطح ۵ درصد است.

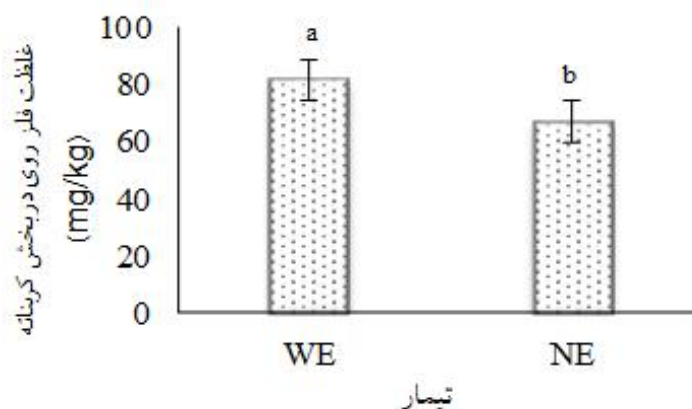
مقایسه میانگین بخش بندی فلز روی نشان می دهد که کود گاوی، پوره هویج و ورمی کمپوست به ترتیب باعث کاهش معنی دار (در سطح ۵ درصد) ۶۲/۲، ۸۰ و ۶۵/۲ میلی گرم بر کیلوگرم غلظت فلز روی در بخش کربناته نسبت به تیمار شاهد شد (شکل ۱). در مطالعه ای بر سه نوع خاک، نشان داد که با افزودن مواد آلی جامد، غلظت فلز روی در بخش کربناته کاهش یافت (۱۶). پژوهشگران دیگر نشان دادند که کاربرد کود گاوی، از اسیدی شدن خاک جلوگیری می کند و فراهمی زیستی فلزات سنگین را کاهش می دهد. آنها دلیل این مسئله را افزایش pH در اثر مصرف کود گاوی گزارش کردند (۳۶). با توجه به شکل ۲، کرم های خاکی به طور معنی داری باعث افزایش فلز

است که قابلیت استفاده زیستی ندارد. این بخش به تغییرات pH حساس است. فلزهای بخش آلی می تواند با ریخت های مواد آلی از طریق فرایندهای کمپلکس شدن و تجمع زیستی همراه باشند و با تجزیه مواد آلی آزاد شوند. این بخش از فلزات با تغییر شرایط، توانایی تحرک دارند. جزء باقی مانده، بخشی از فلزها هستند که به شکل پیوندهای محکم اکسیدی، رسوب و کمپلکس های قوی به صورت نسبتاً پایدار بوده و در شرایط گوناگون تغییرات قابل چشمگیری پیدا نمی کنند (۱۱).

نتایج جدول تجزیه واریانس بخش بندی فلز روی (Zn)، نشان دهنده تأثیر معنی دار کود آلی و کرم خاکی در سطح ۵ درصد روی بخش کربناته فلز روی است (جدول ۶). یافته های



شکل ۱. اثر کود آلی بر فلز روی در بخش کربناته خاک. T0، T1، T2، T3 به ترتیب نشان‌دهنده تیمار شاهد، تیمار کود گاوی، تیمار پوره هویج و تیمار ورمی کمپوست است. حروف مشابه بر هر یک از ستون‌ها نشان‌دهنده نبود تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد آزمون دانکن است. خطوط عمودی بر هر ستون نشان‌دهنده انحراف استاندارد داده‌ها است.



شکل ۲. اثر کرم خاکی بر فلز روی در بخش کربناته خاک. WE، NE به ترتیب نشان‌دهنده تیمار دارای کرم خاکی و بدون کرم خاکی است. حروف مشابه بر هر یک از ستون‌ها نشان‌دهنده نبود تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ درصد آزمون دانکن است. خطوط عمودی بر هر ستون نشان‌دهنده انحراف استاندارد داده‌ها است.

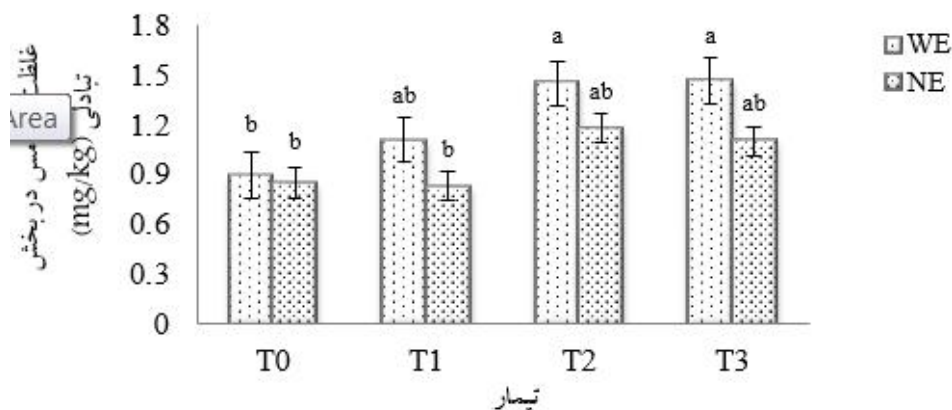
فلز مس (جدول ۷) نشان داد که تأثیر کود آلی در سطح ۵ درصد آماری، بر مقدار مس در بخش‌های تبادلی و در سطح ۱ درصد آماری، در بخش‌های آلی و کربناته چشمگیر بود. تأثیر کرم خاکی در بخش تبادلی و کربناته در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد. از طرفی نتایج تجزیه واریانس برهم‌کنش دوجانبه (کود آلی و کرم خاکی) در بخش تبادلی معنی‌دار نبود (جدول ۷)، ولی مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که برهم‌کنش دوجانبه تأثیر

روی (۸۱/۴۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در بخش کربناته شد. تجزیه ماده آلی توسط فعالیت کرم‌های خاکی باعث شد که بخش کربناته خاک افزایش یابد، بنابراین کرم خاکی باعث رسوب فلز روی توسط کربنات کلسیم می‌شود، در pH بالاتر در روده کرم خاکی، به دلیل دفع آمونیاک و یا کربنات کلسیم نیز می‌تواند سبب رسوب فلز با کربنات‌ها شود (۳۵). نتایج تجزیه واریانس کود آلی و کرم خاکی بر بخش‌بندی

جدول ۷. نتایج تجزیه واریانس اثر کود آلی و کرم خاکی بر بخش بندی فلز مس

میانگین مربعات					
منبع پراکنش	درجه آزادی	بخش تبدلی	بخش آلی	بخش کربناته	بخش باقی مانده
کود آلی	۳	۱/۹۹*	۲۹۱**	۳۱۶۰۸**	۱۰۰۹۴ ^{ns}
کرم خاکی	۱	۲/۴۲**	۳/۴۷ ^{ns}	۴۱۲۲۹**	۱۲۹۴۱ ^{ns}
کود آلی × کرم خاکی	۳	۰/۲۱ ^{ns}	۳۷/۵ ^{ns}	۳۵۳۳۵**	۲۳۷۳۸ ^{ns}
خطا	۱۰۸	۰/۰۶	۲۰/۷۳	۴/۴۹	۸۸۰۵

^{ns}، * و ** به ترتیب نشان دهنده معنی دار نبودن و معنی دار بودن در سطح ۵ درصد و ۱ درصد است.

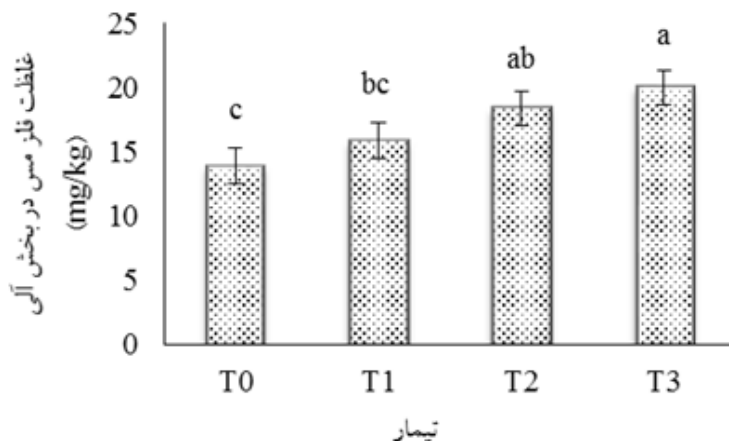


شکل ۳. اثر متقابل کود آلی و کرم خاکی بر فلز مس در بخش تبدلی خاک. T0، T1، T2، T3 به ترتیب نشان دهنده تیمار شاهد، تیمار کود گاوی، تیمار پوره هویج، تیمار ورمی کمپوست و WE، NE به ترتیب نشان دهنده تیمار دارای کرم خاکی و بدون کرم خاکی است. حروف مشابه بر هر یک از ستون‌ها نشان دهنده عدم تفاوت معنی داری در سطح ۱ درصد آزمون دانکن است. خطوط عمودی بر هر ستون نشان دهنده انحراف استاندارد داده‌ها است.

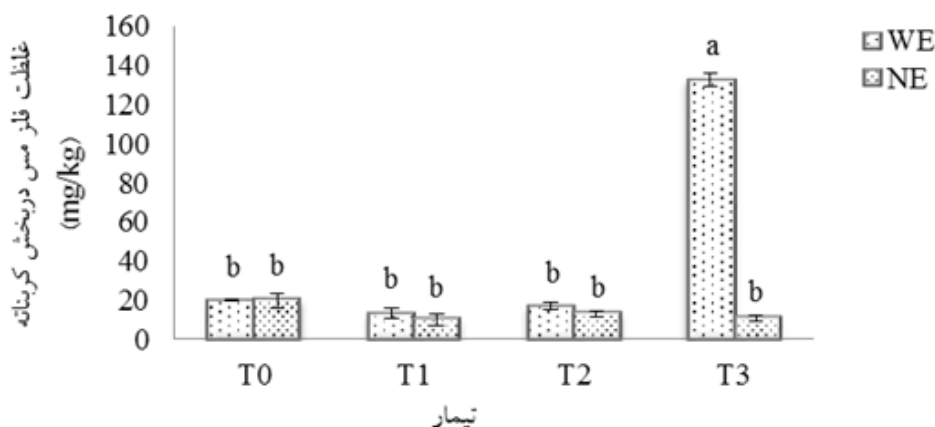
حلالیت و در دسترس بودن فلزات سنگین در خاک آلوده را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۳۹). افزایش در کربن آلی می‌تواند دفع فلزات سنگین را به وسیله تأثیر بر تعادل جذب و دفع فلزات سنگین و فلز متصل به اجزای آلی با وزن مولکولی کم را تحریک کند (۴)؛ بنابراین اضافه کردن ماده آلی تلقیح شده با کرم خاکی منجر به تجزیه مواد آلی و افزایش کربن آلی خاک توسط این بی‌مهرگان می‌شود که حاصل آن افزایش فلز مس در بخش تبدلی است.

نتایج تجزیه واریانس مس نشان داد که کاربرد کود آلی اثرات چشمگیری روی بخش آلی این فلز داشتند (جدول ۷). با توجه به مقایسه میانگین فلز مس در بخش آلی (شکل ۴)،

معنی داری (در سطح ۱ درصد) بر مس تبدلی داشته است بنابراین مقایسه میانگین این برهم‌کنش مورد بحث قرار گرفت (شکل ۳). در تیمار شاهد، تلقیح شده با کرم خاکی، مقدار مس در بخش تبدلی از ۰/۹۸۸ به ۱/۲۳۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم افزایش یافت اما تفاوت معنی داری بین آنها دیده نشد (شکل ۳). از طرفی افزایش معنی داری در مقدار مس تبدلی با اضافه کردن کود آلی همراه با کرم خاکی نسبت به نمونه شاهد دیده شد که این افزایش در تیمار ورمی کمپوست (۱/۲۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و پوره هویج (۱/۳۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) نسبت به شاهد در سطح ۱ درصد معنی دار شد. تغییرات در مقدار کربن آلی خاک و یا کربن آلی محلول،



شکل ۴. اثر کود آلی بر فلز مس در بخش آلی خاک، T0، T1، T2، T3 به ترتیب نشان‌دهنده تیمار شاهد، تیمار کود گاوی، تیمار پوره هویج و تیمار ورمی کمپوست است. حروف مشابه بر هر یک از ستون‌ها نشان‌دهنده نبود تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ درصد آزمون دانکن است. خطوط عمودی بر هر ستون نشان‌دهنده انحراف استاندارد داده‌ها است.



شکل ۵. اثر متقابل کود آلی و کرم خاکی بر فلز مس در بخش کربناته، T0، T1، T2، T3 به ترتیب نشان‌دهنده تیمار شاهد، تیمار کود گاوی، تیمار پوره هویج، تیمار ورمی کمپوست و WE، NE به ترتیب نشان‌دهنده تیمار دارای کرم خاکی و بدون کرم خاکی است. حروف مشابه بر هر یک از ستون‌ها نشان‌دهنده نبود تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ درصد آزمون دانکن است. خطوط عمودی بر هر ستون نشان‌دهنده انحراف استاندارد داده‌ها است.

(۱۳۲/۹۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم) نسبت به شاهد و سایر تیمارها شد (شکل ۵). این یافته‌ها تا حدودی با نتایج عباس‌پور و گلچین (۱) که گزارش کردند که ورمی کمپوست باعث افزایش بخش کربناته فلز مس و از طرفی باعث افزایش پیوند یافته به اکسید منگنز می‌شود، مطابقت داشت، والکر (۳۷)، در مطالعاتی که تأثیر کود گاوی را بر توزیع مس بررسی کرد به این نتیجه رسید که کود گاوی باعث کاهش مس در بخش

کاربرد ورمی کمپوست و پوره هویج به‌طور معنی‌داری (در سطح ۱ درصد) باعث افزایش مس در بخش آلی نسبت به تیمار شاهد شد. نتایج دیگر نشان داد که ورمی کمپوست باعث افزایش غلظت مس در بخش آلی می‌شود که با نتایج این مطالعه مطابقت داشت (۱).

کاربرد تیمار ورمی کمپوست تلقیح با کرم خاکی باعث افزایش معنی‌دار (در سطح ۱ درصد) غلظت مس کربناته

نتیجه گیری

نتایج حاصل از این مطالعه حاکی از آن است که بر اثر فعالیت کرم‌های خاکی و تجزیه مواد آلی به ترکیبات ریزتر، غلظت فلزات سنگین در بخش‌های تبادلی، آلی و کربناته (زیست فراهمی فلزات سنگین) افزایش یافت. این تغییر در توزیع بخش های مختلف نشان می‌دهد که فعالیت کرم‌های خاکی یک فاکتور مهم و تأثیرگذار در توزیع فلزات در بخش‌های مختلف و زیست فراهمی آنها در ورمی کمپوست است.

کربناته و افزایش مس در بخش متصل به ماده آلی شده است. از طرفی نقش کرم‌های خاکی را نباید بی‌تأثیر دانست، بسیاری از گونه‌های کرم خاکی کربنات کلسیم (CaCO_3) را به شکل گرانول‌هایی از غدد تخصصی خود، ترشح می‌کنند، این گرانول‌ها بیشتر به شکل کلسیت با مقدار کمی از آمورف کربنات کلسیم و آراگونیت است (۹). از طرفی فعالیت کرم‌های خاکی باعث تجزیه ماده آلی می‌شود که می‌تواند بخش کربناته مواد آلی خاک را افزایش دهد؛ بنابراین کرم خاکی باعث رسوب فلز توسط کربنات کلسیم می‌شود.

منابع مورد استفاده

1. Abbaspour, A. and A. Golchin. 2011. Immobilization of heavy metals in a contaminated soil in Iran using di-ammonium phosphate, vermicompost and zeolite. *Environmental Earth Sciences* 63: 935-943.
2. Adriano D. 1986. Heavy Metals in the Environment. Springer-Verlag, New York.
3. Arnold, R. and M. Hodson. 2007. Effect of time and mode of depuration on tissue copper concentrations of the earthworms *Eisenia andrei*, *Lumbricus rubellus* and *Lumbricus terrestris*. *Environmental Pollution* 148: 21-30.
4. Antoniadis, V. and B. Alloway. 2002. The role of dissolved organic carbon in the mobility of Cd, Ni and Zn in sewage sludge-amended soils. *Environmental Pollution* 117: 515-521.
5. Barceloux, D. G. 1999. Zinc. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology* 37(2): 279-292.
6. Bauyco G. J. 1962. Hydrometer methods improved for making particle size of soils. *Agronomy Journal* 56: 464-465.
7. Berlin, M. 1985. Handbook of the Toxicology of Metals. Elsevier Science Publishers, 2nd ed. London.
8. Bhagwant, S. and M. Bhikagee. 2000. Induction of hypochromic macrocytic anemia in *Oreochromis hybrid* the dependency on exposure time. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 9(2): 179-188.
9. Brinza, L., P. D. Quinn, P. F. Schofield, J. F. W. Mosselmans and M. E. Hodson. 2013. Incorporation of strontium in earthworm-secreted calcium carbonate granules produced in strontium-amended and strontium-bearing soil. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 113: 21-37.
10. Dai J., T. Becquer, J. H. Rouiller, G. Reversat, F. Bernhard-Reversat, J. Nahmani and P. Lavelle. 2004. Heavy metal accumulation by two earthworm species and its relationship to total and DTPA-extractable metals in soils. *Soil Biology and Biochemistry* 36: 91-98.
11. Eijsackers, H. 2010. Earthworms as colonisers: Primary colonisation of contaminated land, and sediment and soil waste deposits. *Science of the Total Environment* 408: 1759-1769.
12. Faiz, Y., M. Tufail, M. T. Javed and M. Chaudhry. 2009. Road dust pollution of Cd, Cu, Ni, Pb and Zn along Islamabad Expressway. *Pakistan. Microchemical Journal* 92: 186-192.
13. Feng Peng, F., Y. Hui Song, P. Yuan, X. Cui and G. Qiu. 2009. The remediation of heavy metals contaminated sediment. *Hazardous Materials* 161: 633-640.
14. Hopkin, S. 1995. Deficiency and Excess of Essential and Non-essential Metals in Terrestrial Insects. Insects in a Changing Environment. Academic Press, London.
15. Hashemi, H, A. Khodabakhshi, B. Alinia and F. Abbasi. 2018. Bioremediation of lead and zinc contaminated soils by compost worm. *Journal of Health Sciences & Surveillance System* 6(2): 58-63.
16. Heseu, Z. Y. 2006. Extractability and bioavailability of zinc over time in three tropical soils incubated with biosolids. *Chemosphere* 63(5): 762-771.
17. Hobbelen, P., J. Koolhaas and C. Van Gestel. 2006. Bioaccumulation of heavy metals in the earthworms *Lumbricus rubellus* and *Aporrectodea caliginosa* in relation to total and available metal concentrations in field soils. *Environmental Pollution* 144: 639-646.
18. Ismaili Sari, A. 2006. Pollutants of Health and Standards in the Environment. Naghshe Mehr Publications, Tehran.
19. Kızılkaya R. 2005. The role of different organic wastes on zinc bioaccumulation by earthworm *Lumbricus terrestris* L.(Oligochaeta) in successive Zn added soil. *Ecological Engineering* 25(4): 322-331.

20. Lanno, R., J. Wells, J. Conder, K. Bradham and N. Basta. 2004. The bioavailability of chemicals in soil for earthworms. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 57: 39-47.
21. Li, Z., Z. Ma, T. J. van der Kuijp, Z. Yuan and L. Huang. 2014. A review of soil heavy metal pollution from mines in China: pollution and health risk assessment. *Science of the Total Environment* 468: 843-853.
22. Li, L. Z., D. M. Zhou, P. Wang, H. E. Allen and S. Sauvé. 2009. Predicting Cd partitioning in spiked soils and bioaccumulation in the earthworm *Eisenia fetida*. *Applied Soil Ecology* 42(2): 118-123.
23. Matscheko, N., S. Lundstedt, L. Svensson, J. Harju and M. Tysklind. 2002. Accumulation and elimination of 16 polycyclic aromatic compounds in the earthworm (*Eisenia fetida*). *Environmental Toxicology and Chemistry* 21(8): 1724-1729.
24. Nannoni, F., G. Protano and F. Riccobono. 2011. Uptake and bioaccumulation of heavy elements by two earthworm species from a smelter contaminated area in northern Kosovo. *Soil Biology and Biochemistry* 43(12): 2359-2367.
25. Nahmani, J., M. E. Hodson and S. Black. 2007. A review of studies performed to assess metal uptake by earthworms. *Environmental Pollution* 145: 402-424.
26. Nahmani, J., M. E. Hodson, S. Devin and M. G. Vijver. 2009. Uptake kinetics of metals by the earthworm *Eisenia fetida* exposed to field-contaminated soils. *Environmental Pollution* 157(10): 2622-2628.
27. Peijnenburg, W. and T. Jäger. 2003. Monitoring approaches to assess bioaccessibility and bioavailability of metals: matrix issues. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 56: 63-77.
28. Rowell, D. L. 1994. Soil Science Methods and Application, part 7. Measurement of the Composition of Soil Solution.
29. Reinecke, A. J. 1992. A review of ecotoxicological test methods using earthworms. PP. 7-19. In: Greig-Smith P. W., H. Becker, P. J. Edwards and F. Heimbach (Eds.), *Ecotoxicology of Earthworms*. Intercept, Hants.
30. Rodes J. D. 1996. Salinity: Electrical Conductivity and Total Dissolved Solids. Method of Soil Analysis, Pars: Chemical Methods. Madison. Wisconsin, USA.
31. Sizmur, T. and M. E. Hodson. 2009. Do earthworms impact metal mobility and availability in soil? -A review. *Environmental Pollution* 157(7): 1981-1989.
32. Slizovskiy, I. B. and J. W. Kelsey. 2010. Soil sterilization affects aging-related sequestration and bioavailability of p, p'-DDE and anthracene to earthworms. *Environmental Pollution* 158(10): 3285-3289.
33. Spurgeon, D. and S. Hopkin. 1999. Comparisons of metal accumulation and excretion kinetics in earthworms (*Eisenia fetida*) exposed to contaminated field and laboratory soils. *Applied Soil Ecology* 11: 227-243.
34. 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, Zn, Cd and Pb in solid phases. *Journal of Soil Science Society of America* 46: 260-264.
35. Sun, H, J. Li, C. Wang, L. Wang and Y. Wang. 2011. Enhanced microbial removal of pyrene in soils in the presence of earthworms. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal* 20(6): 617-630.
36. Udovic, M. and D. Lestan. 2010. Fractionation and bioavailability of Cu in soil remediated by EDTA leaching and processed by earthworms (*Lumbricus terrestris* L. *Environmental Science and Pollution Research* 17: 561-570.
37. Walker, D. J., R. Clemente, R. and M. P. Bernal. 2004. Contrasting effects of manure and compost on soil pH, heavy metal availability and growth of *Chenopodium album* L. in a soil contaminated by pyritic mine waste. *Chemosphere* 57(3): 215-224.
38. Walkey, A. and I. A. Black. 1934. An examination of the degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science* 37: 29-38.
39. Wang, Z. -Z., Y. -M. Zhang, Y. -C. Guo, W. -S. Xia, Z. -W. Li and J. -F. Deng. 2007. Monitoring of soil heavy metal pollution by earthworm. *Journal of Environmental Sciences(China)* 10: 437-444.

The Role of Earthworms (*Eisenia fetida*) on the Bioavailability of Contaminated Soil with Heavy Metals

G. Rahimi* and F. Noruzi Goldareh¹

(Received: January 14-2020 ; Accepted: July 26-2020)

Abstract

Earthworms are soil organisms commonly used in environmental studies and biological toxicology. Therefore, the present study aimed to investigate the role of *Eisenia Fetida* earthworms on the bioavailability of zinc and copper in the contaminated soils. This study was carried out on a contaminated soil sampled from the Ahangaran mine 26 kilometers far from the city of Malair and its surrounding areas. In this experiment, 12 earthworms with the average weight of 0.3 -0.6 g were selected for each soil sample. The worms were exposed to a metal contaminated soil for 42 days. After the test time, Zinc (Zn) and Copper (Cu) concentrations were measured in different fractions of the soil. The results showed that cow manure, carrot pulp and vermicompost significantly reduced (at the level of 5%) 62.2, 80 and 65.2 mg / kg of the metal zinc concentration in carbonate, respectively, as compared to the treatment control. Earthworms significantly increased zinc (81.45 mg kg) in the carbonate fraction. On the other hand, there was a significant increase in the amount of exchangeable copper with the addition of organic fertilizer to worm, as compared to the control sample. This increase was significant (at the level of 1%) in the treatment of Vermicompost (1.27 mg / kg) and carrot pulp (1.32 mg / kg), as compared to control.

Keywords: Fractionation of metals, Earthworms, Copper and Zinc metals

¹ Soil Science Department., Bou-Ali Sina University, Hamedan, Iran.

*: Corresponding author, Email: g.rahimi@basu.ac.ir