

Efficiency of Earthworms *Eisenia foetida* in Bioremediation of the Soils Contaminated with Cadmium and Chromium in Presence of Organic Material

Aseman E¹, Sayyaf H *², Mostafaii Gh.R³, Asgharnia H⁴, Akbari H⁵, Iranshahi L⁶

1. Department of Environmental Health, Faculty of Health, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

2. Department of Biostatistics and Public Health, Faculty of Health, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

3. Department of Environmental Health, Faculty of Paramedicine, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

4. Department of Environmental Health, Faculty of Health, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

5. Department of Environmental Health, Faculty of Health, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

6. Department of Environmental Health, Faculty of Health, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

* *Corresponding author.* Tel: +989359902303, Fax: +983155540111, E-mail: environmental_sayaf@yahoo.com

Received: Sep 1, 2015

Accepted: Sep 20, 2015

ABSTRACT

Background & objectives: One of the most important environmental problems is soils contamination by heavy metals in industrial areas and agricultural lands. Use of earthworms in soil bioremediation causes decrease in the pollutants concentration through bioaccumulation of the contaminants in earthworms.

Methods: This experimental study was carried out on the soils contaminated with chromium and cadmium at concentrations of 0.04 and 0.08 mg/g along with the control samples. Organic matters (Manure) at the concentrations of 5 and 9% t were added. Chromium and cadmium concentration in soil and the worms were measured at two time periods of 21 and 42 days by ICP spectrometry. Two-way variance was used for statistical analysis and $p < 0.05$ was considered as significant level.

Results: According to the results of this study, the removal efficiency decreased by 5% with increasing the organic material of the soil contaminated with chromium from 5% to 9% at the concentration of 0.06 mg/g. Bioremediation efficiency decreased by 20% at chromium concentration of 0.1 mg/g implying that the earthworms have probably more tendency to consume organic material rather than the soil contaminated with metals.

Conclusion: Considering increased mortality of worms at chromium concentration of 0.08 mg/g, this method is not recommended for soil bioremediation. In the case of cadmium further study is required. One can say that the organic material had no influence in bioremediation of the soil.

Keywords: Heavy Metals; Earth Worm *Eisenia foetida*; Bioremediation; Soil Pollution.

کارایی کرم‌های حاکی ایزنیا فوئتیدا در حضور ماده آلی جهت زیست پالایی خاک‌های آلوده به کروم و کادمیوم

الهام آسمان^۱؛ حسین سیاف^{۲*}؛ غلامرضا مصطفایی^۳؛ حسینعلی اصغر نیا^۴؛ حسین اکبری^۵؛ لیلا ایرانشاهی^۶

۱. کارشناسی ارشد بهداشت محیط، دانشگاه علوم پزشکی کاشان ۲. کارشناسی ارشد بهداشت محیط، دانشگاه علوم پزشکی کاشان ۳. دکتری مدیریت محیط زیست، استادیار دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی کاشان ۴. دکترای بهداشت محیط، استادیار دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل ۵. دکتری آمار حیاتی، استادیار گروه آموزشی آمار زیستی و اپیدمیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان ۶. کارشناسی ارشد حشره شناسی پزشکی، مربی دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی کاشان
* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۹۳۵۹۹۰۲۳۰۳ فکس: ۰۳۱ ۵۵۵۴۰۱۱۱ ایمیل: environmental_sayaf@yahoo.com

چکیده

زمینه و هدف: یکی از مهم‌ترین مشکلات زیست محیطی در سراسر دنیا آلودگی خاک‌های مناطق صنعتی و به ویژه زمین‌های کشاورزی به فلزات سنگین می باشد. استفاده از کرم‌های حاکی در پالایش زیستی خاک، باعث کاهش غلظت آلاینده‌ها از طریق مکانیسم تجمع زیستی در بدن کرم حاکی می شود.

روش کار: تحقیق حاضر از نوع مطالعه تجربی می‌باشد که بر روی خاک‌های آلوده به کروم و کادمیوم انجام شد. غلظت آلودگی اولیه کروم و کادمیوم در خاک مورد مطالعه در دو غلظت وزنی ۰/۰۴ mg/g و ۰/۰۸ mg/g همراه با شاهد مورد بررسی قرار گرفت. ماده آلی (کود حیوانی) به میزان ۵ و ۹ درصد وزنی نسبت به خاک اضافه گردید. تعداد ۳۰ عدد کرم به نمونه‌های ۵۰۰ گرمی خاک آلوده اضافه گردید. غلظت کروم و کادمیوم در ۱۰۸ نمونه خاک و بدن کرم‌ها با استفاده از دستگاه طیف سنجی پلاسما جفت شده القایی (ICP) در دو مقطع زمانی ۲۱ و ۴۲ روز اندازه گیری شد و داده‌های بدست آمده با استفاده از آزمون آماری آنالیز واریانس دو طرفه در سطح اطمینان ۹۵ درصد مورد آنالیز قرار گرفت.

یافته‌ها: بر اساس نتایج بدست آمده از این مطالعه مشخص شد که با افزایش ماده آلی از ۵٪ به ۹٪ وزنی در خاک آلوده به فلز کروم، در غلظت اولیه ۰/۰۶ mg/g راندمان حذف ۵٪ کاهش یافته است. در غلظت ۰/۱ mg/g نیز راندمان ۲۰٪ کاهش دارد که احتمالاً به دلیل گرایش بالای کرم‌های حاکی به مصرف ماده آلی نسبت به مصرف خاک آلوده به فلز بوده است. همچنین با افزایش ماده آلی از ۵٪ به ۹٪ وزنی در خاک آلوده به کادمیوم، در غلظت ۰/۰۴ mg/g راندمان حذف ۵/۵ درصد کاهش و در غلظت ۰/۰۸ mg/g راندمان حذف ۵/۱۲ درصد افزایش یافت.

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که با توجه به افزایش مرگ و میر کرم‌ها در خاک حاوی کروم با غلظت ۰/۰۶ mg/g، استفاده از این روش به منظور زیست پالایی خاک از کروم توصیه نمی‌شود و در مورد کادمیوم نیاز به بررسی بیشتری دارد، همچنین می‌توان گفت ماده آلی تأثیری در زیست پالایی نداشته است.

واژه‌های کلیدی: فلزات سنگین، کرم حاکی ایزنیا فوئتیدا، زیست پالایی، آلودگی خاک

دریافت: ۹۴/۶/۱۰ پذیرش: ۹۴/۶/۲۹

مقدمه

آلاینده‌ها در محیط زیست محسوب می‌شوند و به دلیل سمیت و تجمع خود در محیط، مشکل ساز هستند. آلودگی خاک‌ها به فلزات سنگین، یکی از مسائل زیست محیطی است که تهدیدی جدی برای سلامتی انسان و سایر موجودات زنده خواهد بود (۱).

پیشروی جوامع بشری به سمت صنعتی شدن باعث تولید و ورود آلاینده‌های خطرناکی از قبیل ترکیبات سرطان زا، مواد سمی و فلزات سنگین به محیط زیست می‌شود. فلزات سنگین از اصلی‌ترین

(۲). کروم و کادمیوم دو فلز سنگین خطرناک می‌باشند. مواجهه مزمن با کروم باعث سرطان در اندام‌های گوارشی و شش‌ها، اسهال شدید و حالت تهوع می‌شود (۳). کادمیوم نیز فلزی است که موجب ضایعات کلیوی، جهش زایی، سرطان زایی و افزایش فشار خون می‌شود (۴). از آنجایی که محصولات کشاورزی مستقیماً با خاک در ارتباط هستند و به دلیل استفاده گسترده انسان از این محصولات و پتانسیل بالای آلودگی این خاک‌ها به فلزات سنگین به خصوص در مناطق صنعتی، نیاز به پالایش خاک‌های آلوده اهمیت فراوانی پیدا می‌کند. در بحث آلودگی‌زدایی خاک‌های آلوده به فلزات سنگین، پایداری و مقاومت زیاد این فلزات نسبت به تجزیه‌پذیری از جمله مسائل چالش برانگیز به شمار می‌آید. استفاده از روش‌های متداول پالایش در بازیابی مکان‌های آلوده، عمدتاً به دلیل داشتن هزینه بالا و عدم سازگاری با زیست بوم چندان کارآمد نیستند (۲). از این رو نیاز به کاربرد روش‌های جدید با بازده بالا و هزینه‌های کم جهت پالایش خاک‌های آلوده می‌باشد. استفاده از کرم‌های خاکی در زیست پالایی خاک یک روش بیولوژیکی می‌باشد، به طوری که غلظت آلاینده‌ها در خاک از طریق مکانیسم تجمع زیستی در بدن کرم خاکی کاهش پیدا می‌کند (۵، ۶). این موجودات می‌توانند غلظت بالایی از فلزات سنگین را در بدن خود تجمع دهند (۷). مطالعات قبلی نشان داده که حضور فلزات سنگین با غلظت‌های بالا در خاک منجر به افزایش مرگ و میر کرم‌ها می‌شود (۸-۱۱). مطالعه دارلینگ^۱ و همکاران نشان داد که میزان تراکم ترکیبات محلول سرب در کرم خاکی، بیشتر از ترکیبات کم محلول می‌باشد (۱۲). طی مطالعه آویلا^۲ و همکاران مشخص شد که افزایش ماده آلی به دلیل گرایش کرم‌ها به این مواد می‌تواند سمیت فلزات سنگین را در کرم‌های خاکی

کاهش دهد (۱۳). ایریزار^۳ و همکاران طی مطالعه خود به این نتیجه رسیدند که در صورتی که ماده آلی در خاک کم باشد، کرم‌های خاکی قادر به هضم خاک نبوده، در نتیجه سمیت فلز کادمیوم در آنها افزایش یافته و باعث مرگ و میر و اختلال در تولید مثل آنها می‌شود (۱۴). مطالعه حق پرست و همکاران نیز حاکی از این بود که ماده آلی به منزله انرژی برای کرم‌های خاکی ایزنیا فوتیدا می‌باشد و درصد زنده مانی آنها را افزایش می‌دهد (۹).

با توجه به اینکه یکی از مشکلات زیست محیطی آلودگی خاک‌ها به فلزات سنگین می‌باشد و استفاده از کرم‌های خاکی روش بیولوژیکی مناسبی برای حذف بوده و با توجه به وفور مواد دفعی دامی که قابلیت استفاده به عنوان ماده آلی را دارند، مطالعه حاضر با هدف بررسی کارایی کرم‌های خاکی ایزنیا فوتیدا در حضور ماده آلی با میزان وزنی ۵ و ۹ درصد جهت زیست پالایی خاک‌های آلوده به کروم و کادمیوم با غلظت‌های اولیه ۰/۰۴mg/g و ۰/۰۸mg/g انجام شد.

روش کار

مطالعه حاضر از نوع مطالعه تجربی بود که با تعداد ۱۰۸ نمونه و با در نظر گرفتن سه بار تکرار برای هر آزمایش در مقیاس آزمایشگاهی انجام شد.

نحوه محاسبه تعداد نمونه = متغیر فلز سنگین (کروم و کادمیوم) × غلظت‌های کاربردی فلزات (صفر، ۰/۰۴ و ۰/۰۸ میلی گرم بر گرم) × متغیر ماده آلی (صفر، ۵ و ۹ درصد وزنی) × متغیر زمان (۲۱ و ۲۴ روز) × سه بار تکرار.

کرم خاکی

کرم خاکی مورد استفاده در این تحقیق ایزنیا فوتیدا^۴ بود که از شاخه کرم‌های حلقوی، خانواده لومبریسیده، جنس ایزنیا و گونه فوتیدا می‌باشد که

³ Irizar

⁴ Eisenia Foetida

¹ Darling

² Avila

از شرکت تولید کرم و کود ورمی کمپوست سلانه شهرستان کاشان تهیه شد.

خاک

خاک‌های مورد نیاز از زمین‌های کشاورزی شهرستان کاشان از عمق ۳۰-۰ سانتی متر برداشته شدند. میزان کروم، کادمیوم و برخی خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک‌ها مطابق روش‌های متداول در موسسه تحقیقات آب و خاک کشور (۹) اندازه‌گیری شدند (جدول ۱). در آزمایشگاه خاک‌ها در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد و از الک ۲ میلی متر (مش ۵۰) عبور داده شد و تا شروع آزمایش در سایه نگهداری شدند.

ماده آلی

ماده آلی مورد نیاز (کود گاوی) از دامداری شهرستان کاشان تهیه شد و پس از خشک کردن، برای اختلاط یکنواخت با خاک از الک ۲ میلی متر (مش ۵۰) عبور داده شد. پس از انجام مراحل فوق، ماده آلی به میزان صفر، ۵ و ۹ درصد وزنی به خاک‌های مورد مطالعه افزوده شد.

تهیه غلظت‌های مورد نیاز کروم و کادمیوم

غلظت‌های مورد بررسی برای کروم و کادمیوم 0.04 mg/g و 0.08 mg/g در نظر گرفته شد که به صورت تجربی و از بررسی مطالعات گذشته بدست آمد. در این مطالعه بر اساس جهت تهیه این غلظت‌ها ابتدا محلول ۴۰ گرم بر لیتر کروم و کادمیوم از نمک‌های کرومات پتاسیم و سولفات کادمیوم ساخته شد. با توجه به اینکه خاک اولیه میزان 0.06 mg/g کروم داشت، بنابراین غلظت‌های صفر، 0.04 و 0.08 میلی گرم بر گرم کروم به صورت 0.06 ، 0.1 و 0.14 میلی گرم بر گرم تغییر پیدا کرد.

آماده سازی کرم‌ها

به منظور سازگاری کرم‌ها با محیط جدید و جلوگیری از تنش، قبل از شروع آزمایش، کرم‌ها به مدت ۱۰ روز در خاک مورد آزمایش نگهداری شدند و غلظت کروم موجود در خاک اثر چندانی بر

روی کاهش جمعیت کرم‌ها نداشت به طوری که این میزان قابل چشم پوشی بود. به خاک‌ها آب اضافه شد تا رطوبت آنها در حد ۵۰ درصد حفظ شود. پس از گذشت ۱۰ روز کرم‌ها از محیط سازگاری خارج و با آب مقطر شسته شده و سپس به مدت ۲۴ ساعت بر روی توری پارچه ای مرطوب قرار داده شدند تا محتویات روده خود را پس دهند.

آماده سازی خاک

برای تهیه خاک آلوده به فلز کروم، 0.5 میلی لیتر و 1 میلی لیتر از محلول 40 گرم بر لیتر کروم به گلدان‌های حاوی 500 گرم خاک به صورت یکنواخت اضافه شد که بدین ترتیب غلظت‌های 0.04 mg/g و 0.08 mg/g حاصل شد. همچنین برای تهیه خاک آلوده به کادمیوم نیز بدین ترتیب عمل شد. برای افزودن فلز سنگین به خاک، ابتدا خاک‌های هر گلدان روی صفحه پلاستیکی پخش و با استفاده از آب پاش دستی به خاک اضافه و رطوبت خاک‌ها در حد 50 درصد تنظیم شد. سپس به هر گلدان 30 عدد کرم خاکی بالغ و سازگار یافته با خاک آلوده اولیه اضافه شد. گلدان‌ها در دمای 25 ± 2 درجه سانتیگراد و رطوبت 50 درصد نگهداری شد.

برای تعیین میزان حذف فلزات سنگین از خاک و میزان تجمع بیولوژیکی فلزات سنگین در بدن کرم‌ها، زمان‌های تماس 21 و 42 روز بر اساس مطالعه متون مشابه قبلی انتخاب شد.

آماده سازی خاک جهت اندازه‌گیری کروم و کادمیوم

برای استخراج کروم و کادمیوم از خاک، حدود 4 گرم از خاک هر گلدان را برداشته و پس از خشک کردن در دمای 60 درجه سانتیگراد و آسیاب کردن، 1 گرم از هر نمونه، با ترازوی دیجیتالی با دقت 0.001 گرم توزین و عمل هضم و عصاره گیری با مخلوط اسیدنیتریک غلیظ و اسید کلریدریک 50 درصد بر روی اجاق برقی در دمای 95 درجه سانتی‌گراد انجام شد. نمونه‌های مورد نظر با کاغذ

روش اندازه‌گیری

جهت اندازه‌گیری میزان غلظت کروم و کادمیوم از دستگاه طیف سنجی پلاسمای جفت شده القایی (ICP) مدل Optima2100DV ساخت شرکت PerkinElmer آزمایشگاه دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی کاشان استفاده شد.

تعریف درصد مرگ و میر

در صورتی که تمام کرم‌های موجود در یک گلدان از بین رفته باشند آن گلدان به عنوان گلدان از بین رفته تلقی شده و برای محاسبه درصد مرگ و میر، تعداد گلدان‌های از بین رفته به کل گلدان‌ها تقسیم می‌گردد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها، فراوانی موارد مرگ و میر کرم‌ها در هر کدام از سطوح غلظت کروم و کادمیوم محاسبه و سپس از آنالیز واریانس دو طرفه استفاده شد. در نهایت از آزمون t تک نمونه‌ای برای مقایسه مقادیر مشاهده شده با مقدار اولیه استفاده شد. نرم افزار مورد استفاده جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها SPSS-17 بود. در این مطالعه $p < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

تأثیر غلظت‌های مختلف کروم، کادمیوم و زمان بر

درصد مرگ و میر کرم‌ها

برخی خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک زمین‌های کشاورزی مورد مطالعه در این پژوهش در جدول ۱ آمده است.

صافی واتمن شماره ۱، صاف و تا زمان اندازه‌گیری در ظروف پلی اتیلنی نگهداری شد. همچنین به منظور ارزیابی خطا از خاک‌های کشاورزی بدون اضافه کردن کروم و کادمیوم به عنوان نمونه شاهد استفاده شد که با هر سری از نمونه‌ها آماده سازی شد (۱۵).

آماده سازی جهت اندازه‌گیری کروم و کادمیوم در بدن کرم خاکی

برای سنجش توانایی کرم خاکی ایزینیا فوتئیدا در حذف کروم و کادمیوم از خاک آلوده بصورت تجمع زیستی، کرم‌های خاکی اضافه شده در پایان هر مرحله آزمایش (روز ۲۱ و روز ۴۲) از محیط خاک جدا شد و با آب شسته و به آرامی با دستمال خشک شد و سپس به مدت ۲۴ ساعت در یک توری پارچه‌ای مرطوب بدون هیچ ماده غذایی قرار داده شد تا محتویات روده آنها تخلیه شود، سپس کرم‌ها جمع‌آوری و شستشوی مجدد داده شد و به آرامی خشک شدند و در ویال‌های درپوش دار قرار داده شدند. برای اندازه‌گیری عناصر از روش هضم با اسید (۱۶) استفاده شد. در این روش ابتدا بافت کرم‌ها پس از انجماد، در فور خشک گردید، سپس ۰/۵ گرم از آن توزین و داخل لوله آزمایش ریخته شد و به آن ۵ میلی لیتر اسیدنیتریک غلیظ و ۱ میلی لیتر هیدروژن پراکسید اضافه شد و سپس در دمای ۲۲۰-۱۸۰ درجه سانتی گراد حرارت داده شد تا محلول شفاف حاصل گردد. نمونه‌ها پس از سرد شدن صاف گردید (۱۶).

جدول ۱. خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک مورد مطالعه

کروم (mg/g)	کادمیوم (mg/g)	درصد ذرات %	هدایت الکتریکی Ds/m	PH	نیترژن کج‌دال کل %	کربن آلی %	نیترژن %	پتاسیم (PPM)	فسفر (PPM)	آزمایش‌های فیزیکی			پارامتر
										گوگرد %	سیلیسیم %	کربن %	
۰/۰۶	۰	۲۲/۱۵	۱۵/۹۰	۷/۹۵	۲۰/۹۶	۰/۱۳	۰/۰۱	۸۶/۴۶	۳/۰۵	۷۵	۱۶	۹	Sandy Loam

جدول ۲. درصد مرگ و میر کرم‌ها در غلظت‌های مختلف کروم و کادمیوم بر حسب میلی گرم بر گرم در دو مقطع زمانی متفاوت

نوع ماده معدنی	غلظت (mg/g)	زمان تماس (روز)	
		۲۱	۴۲
کروم	۰/۰۶	۰	۰
	۰/۱	۱۱/۱	۵۵/۶
	۰/۱۴	۴۴/۴	۷۷/۸
کادمیوم	۰	۰	۰
	۰/۰۴	۰	۱۱/۱
	۰/۰۸	۰	۳۳/۳

خاک تغییر چندانی در مرگ و میر کرم‌ها مشاهده نشده است.

تاثیر غلظت کروم، ماده آلی و زمان در میزان حذف فلزات از خاک

جدول ۳ نشان می‌دهد که با افزودن ۵ درصد ماده آلی به خاک، در غلظت اولیه $0/06 \text{ mg/g}$ کروم پس از گذشت ۲۱ روز زمان تماس، حذفی صورت نگرفته است ولی با گذشت ۴۲ روز تقریباً ۳۳٪ حذف رخ داده است. همچنین با اضافه کردن همین مقدار ماده آلی، زمانی که غلظت اولیه کروم از mg/g $0/06$ به $0/14 \text{ mg/g}$ افزایش می‌یابد، راندمان حذف حدود $4/76$ درصد کاهش می‌یابد. بر اساس نتایج بدست آمده در این مطالعه، با افزایش ماده آلی خاک به میزان ۹ درصد، راندمان حذف کروم در غلظت‌های اولیه $0/1 \text{ mg/g}$ و $0/14 \text{ mg/g}$ با گذشت ۴۲ روز به ترتیب $17/5$ درصد و $31/64$ درصد بدست آمد. همچنین با افزودن همین مقدار ماده آلی در غلظت اولیه $0/06 \text{ mg/g}$ در زمان تماس ۲۱ روز ۴٪ حذف مشاهده شد ولی در ۴۲ روز حذفی صورت نگرفت.

غلظت‌های مورد بررسی برای کروم و کادمیوم به طور یکسان، $0/04 \text{ mg/g}$ و $0/08 \text{ mg/g}$ در نظر گرفته شد، منتهی با توجه به اینکه خاک اولیه میزان $0/06 \text{ mg/g}$ کروم داشت، میزان کروم در خاک افزایش یافت. بر اساس جدول ۲، نتایج نشان می‌دهد که درصد مرگ و میر کرم‌ها ۲۱ و ۴۲ روز پس از شروع مداخله در غلظت $0/06 \text{ mg/g}$ کروم خاک برابر صفر درصد بوده است. این اعداد در غلظت اولیه $0/1 \text{ mg/g}$ کروم خاک به ترتیب $11/1$ و $55/6$ درصد بوده و در غلظت $0/14 \text{ mg/g}$ کروم به $44/4$ و $77/8$ درصد رسیده است. میزان مرگ و میر در غلظت صفر میلی گرم بر گرم کادمیوم در روزهای ۲۱ و ۴۲ صفر درصد بود. همچنین مرگ و میر در غلظت اولیه $0/04 \text{ mg/g}$ در روزهای نمونه‌برداری به ترتیب صفر و $11/1$ درصد و در غلظت mg/g $0/08$ کادمیوم، صفر و $33/3$ درصد مشاهده شد، که نشان می‌دهد با افزایش سطح غلظت کروم خاک افزایش واضحی در مرگ و میر کرم‌ها مشاهده شده است، در حالی که با افزایش غلظت کادمیوم

جدول ۳. میانگین میزان کروم موجود در خاک بر حسب غلظت کروم خاک، درصد ماده آلی و زمان تماس

ماده آلی (درصد وزنی)	غلظت کروم در خاک (mg/g)	زمان (روز)	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$
%۰	۲۱	۰/۰۶ mg/g	۰/۰۶۳۵±۰/۰۲۷۵	۰/۰۵۸۳±۰/۰۱۶۷	-
		۴۲	۰/۰۷۲۹±۰/۰۴۶۲	-	-
%۵	۲۱	۰/۰۶ mg/g	۰/۰۷۲۵±۰/۰۳۶۰	۰/۰۷۰۶±۰/۰۴۶۵	۰/۰۹۸۵±۰/۰۳۳۶
		۴۲	۰/۰۴۹۳±۰/۰۱۳۴	۰/۰۴۷۷±۰/۰۱۱۲	۰/۱۰۷۶±۰
%۹	۲۱	۰/۰۶ mg/g	۰/۰۵۷۶±۰/۰۱۷۸	۰/۰۶۲۱±۰/۰۳۰۲	۰/۱۳۱۷±۰/۰۰۱۶
		۴۲	۰/۰۶۴۰±۰/۰۳۳۰	۰/۰۸۲۵±۰/۰۰۶۳	۰/۰۹۵۷±۰/۰۰۱۲

(SD± \bar{x} : میانگین ± انحراف معیار)

تاثیر غلظت کروم، ماده آلی و زمان در میزان تجمع بیولوژیکی در بدن کرم خاکی

بر اساس نتایج موجود در جدول ۴، با افزودن ۵ درصد ماده آلی به خاک در غلظت‌های اولیه mg/g ۰/۰۶، ۰/۱ mg/g و ۰/۱۴ mg/g کروم، میزان تجمع کروم در بدن کرم‌های خاکی پس از گذشت ۲۱ روز به ترتیب ۷، ۲۶ و ۳۹ درصد مشاهده شد. همچنین در همین میزان درصد ماده آلی، زمانی که غلظت

اولیه از mg/g ۰/۰۶ به mg/g ۰/۱ در مدت زمان ۴۲ روز افزایش یافت، مقدار تجمع کروم در بدن کرم‌های خاکی نیز ۳/۲۴ درصد افزایش پیدا کرد. از طرف دیگر، با اضافه کردن ۹ درصد ماده آلی، میزان تجمع کروم در بدن کرم‌های خاکی از غلظت اولیه mg/g ۰/۰۶ تا mg/g ۰/۱۴ در زمان ۲۱ روز حدود ۱۰٪ و در زمان ۴۲ روز تقریباً ۱۹٪ افزایش یافت.

جدول ۴. میانگین میزان کروم موجود در بدن کرم‌ها بر حسب غلظت کروم خاک، میزان ماده آلی و زمان تماس

ماده آلی (درصد وزنی)	غلظت کروم در خاک (mg/g)	زمان (روز)	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$
%۰	۲۱	۰/۰۶ mg/g	۰/۰۰۵۵±۰/۰۰۶۳	۰/۰۳۵۴±۰/۰۴۴۰	-
		۴۲	۰/۰۰۸۰±۰/۰۰۴۸	-	-
%۵	۲۱	۰/۰۶ mg/g	۰/۰۰۴۲±۰/۰۰۱۱	۰/۰۲۶۰±۰/۰۱۴۶	۰/۰۵۵۷±۰/۰۱۳۵
		۴۲	۰/۰۰۵۴±۰/۰۰۱۱	۰/۰۳۳۳±۰/۰۱۸۰	-
%۹	۲۱	۰/۰۶ mg/g	۰/۰۰۳۴±۰/۰۰۱۵	۰/۰۲۵۵±۰/۰۱۲۳	۰/۰۲۲۴±۰/۰۰۲۷
		۴۲	۰/۰۰۵۹±۰/۰۰۳۷	۰/۰۲۳۲±۰/۰۰۸۶	۰/۰۴۱۶±۰/۰۱۰۷

تاثیر غلظت کادمیوم، ماده آلی و زمان در میزان حذف فلزات از خاک

با توجه به نتایج بدست آمده مشخص شد که با افزایش میزان ماده آلی خاک از ۵ به ۹ درصد در غلظت اولیه mg/g ۰/۰۴ کادمیوم، پس از گذشت ۲۱ روز و ۴۲ روز، راندمان حذف این فلز از خاک توسط

کرم‌های خاکی به ترتیب ۲۵/۱ درصد و ۵/۵ درصد کاهش می‌یابد. در مقابل، میزان راندمان حذف کادمیوم از خاک در غلظت اولیه mg/g ۰/۰۸ با افزایش ماده آلی و زمان تماس ۴۲ روز، حدود ۵٪ افزایش یافت (جدول ۵).

جدول ۵. میانگین میزان کادمیوم موجود در خاک بر حسب غلظت اولیه فلز، ماده آلی و زمان تماس

ماده آلی (درصد وزنی)	غلظت کادمیوم در خاک (mg/g)	•mg/g	•/۰.۴ mg/g	•/۰.۸ mg/g
زمان (روز)	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$
۰٪	۲۱	۰	•/۰.۲۲۳±۰.۰۰۲۷	•/۰.۵۷۳±۰.۰۰۶۶
۵٪	۴۲	•/۰.۰۰۱±۰	•/۰.۲۵۰±۰.۰۰۱۱	•/۰.۵۶۷±۰.۰۰۲۲
۹٪	۲۱	•/۰.۰۰۵±۰.۰۰۰۷	•/۰.۲۵۸±۰.۰۰۱۴	•/۰.۶۵۰±۰.۰۰۶۵
	۴۲	•/۰.۰۰۷±۰.۰۰۰۸	•/۰.۲۴۴±۰.۰۰۲۹	•/۰.۵۹۸±۰.۰۰۰۳
	۲۱	•	•/۰.۲۶۳±۰.۰۰۲۸	•/۰.۶۴۴±۰.۰۰۷۸
	۴۲	•	•/۰.۲۶۶±۰.۰۰۳۳	•/۰.۵۵۷±۰.۰۰۱۸

تاثیر غلظت کادمیوم، ماده آلی و زمان در میزان تجمع بیولوژیکی در بدن کرم خاکی

نتایج جدول ۶ نشان می‌دهد پس از گذشت ۴۲ روز، وقتی که ماده آلی به خاک اضافه نشود و غلظت اولیه کادمیوم در خاک ۰/۰۴ mg/g باشد، میزان تجمع این فلز در بدن کرم‌های خاکی حدود ۰/۸۷٪ می‌باشد، در صورتی که میزان تجمع در غلظت ۰/۰۸ mg/g تقریباً ۰/۴۲٪ رخ داده است. با افزودن ۵ درصد وزنی ماده آلی به خاکی که دارای غلظت

اولیه ۰/۰۴ mg/g کادمیوم است، پس از سپری شدن ۲۱ روز زمان تماس، کرم‌های خاکی حدود ۰/۴۲٪ این فلز را در بدن خود تجمع می‌دهند و با افزایش ماده آلی به ۹ درصد وزنی، میزان تجمع ۵٪ کاهش می‌یابد. همچنین در غلظت ۰/۰۸ mg/g با افزایش میزان ماده آلی خاک از ۵ تا ۹ درصد و با در نظر گرفتن ۴۲ روز زمان تماس، میزان تجمع تقریباً ۰/۱۱٪ کاهش پیدا می‌کند.

جدول ۶. میانگین میزان کادمیوم موجود در بدن کرم‌ها بر حسب غلظت اولیه فلز در خاک، ماده آلی و زمان تماس

ماده آلی (درصد وزنی)	غلظت کادمیوم در بدن کرم خاکی (mg/g)	•mg/g	•/۰.۴ mg/g	•/۰.۸ mg/g
زمان (روز)	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$
۰٪	۲۱	•/۰.۱۲۰±۰.۰۱۷۶	•/۰.۱۹۷۵±۰.۰۷۳۲	•/۰.۱۷۵۸±۰.۰۹۱۶
۵٪	۴۲	•/۰.۰۲۵±۰	•/۰.۳۱۴۱±۰.۰۰۲۶	•/۰.۳۳۸۳±۰.۰۴۳۱
۹٪	۲۱	•/۰.۰۴۶±۰.۰۰۴۰	•/۰.۱۶۹۱±۰.۰۲۳۵	•/۰.۱۴۲۶±۰.۱۲۳۴
	۴۲	•/۰.۰۷۸±۰.۰۱۰۶	•/۰.۲۷۱۵±۰.۰۶۷۳	•/۰.۴۱۰۹±۰.۱۸۸۳
	۲۱	•/۰.۰۳۷±۰.۰۰۱۹	•/۰.۱۴۸۷±۰.۰۷۱۱	•/۰.۱۲۶۷±۰.۰۵۹۲
	۴۲	•/۰.۱۴۰±۰.۰۱۹۸	•/۰.۲۹۷۹±۰.۰۴۴۶	•/۰.۳۲۱۹±۰.۰۱۵۴

بحث

بر اساس آنالیزهای آماری انجام شده در مطالعه حاضر مشخص شد که به دلیل سمیت بالای کروم برای کرم‌ها، بین میزان غلظت کروم خاک و میزان مرگ و میر کرم‌های خاکی ارتباط معنی‌داری وجود دارد ($p < 0.05$). در مقابل، احتمالاً به دلیل سم‌زدایی فلز کادمیوم توسط پروتئین‌های متالوتیونین در

کانال‌های غذایی پشتی^۱ کرم‌های خاکی، با افزایش غلظت کادمیوم خاک، تغییر چندانی در مرگ و میر کرم‌ها مشاهده نشد (۱۷). نتایج مطالعه زالتوسکیت^۲ و همکاران نیز نشان داد که افزایش غلظت کادمیوم تاثیر در مرگ و میر کرم‌ها ندارد (۱۸). طبق نتایج مطالعه حاضر اثر سمیت کروم طی زمان شدیدتر از

¹ Posterior Alimentary

² Zaltauskaite

میزان مرگ و میر کرم‌ها افزایش و در نتیجه زیست پالایی کاهش می‌یابد (۱۴).

در مورد خاک آلوده به فلز کادمیوم، نتایج نشان داد که با افزودن ماده آلی به نسبت ۵ درصد به خاک، با گذشت زمان زیست پالایی افزایش یافته است ولی با افزایش ماده آلی به ۹ درصد، راندمان حذف تغییر چندانی نکرده است که این نشان دهنده آن است که ماده آلی تأثیری در زیست پالایی نداشته است. در حالی که مطالعه حق پرست و همکاران نشان داده که افزایش ماده آلی به خاک آلوده به فلز کادمیوم می‌تواند اثرات مخرب فلز را نسبتاً کاهش دهد (۹).

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که جمعیت کرم‌ها پارامتر مهمی برای تشخیص و ارزیابی آلودگی خاک می‌باشد. بنابراین کرم‌های حاکی را می‌توان به عنوان یک شاخص زیستی برای اندازه‌گیری آلودگی خاک در منطقه مورد مطالعه قرار داد. استفاده از ماده آلی به دلیل گرایش بالای کرم‌های حاکی به مصرف آن، تأثیری بر کاهش سمیت کروم و کادمیوم برای کرم‌ها نداشته و در نتیجه با حضور ماده آلی در خاک‌های آلوده به فلزات کروم و کادمیوم توانایی زیست پالایی کرم‌های حاکی کاهش می‌یابد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله بر خود لازم می‌دانند از مسئولین دانشگاه علوم پزشکی کاشان به دلیل کمک‌های مادی و معنوی برای انجام این مطالعه کمال تشکر و قدردانی را به عمل آورند. لازم به ذکر است، این مقاله حاصل بخشی از پایان نامه با عنوان بررسی زیست پالایی خاک‌های آلوده به کروم و کادمیوم توسط کرم‌های حاکی ایزنیا فوئتیدا در مقطع کارشناسی ارشد در سال ۹۳ و کد ۹۲۱۱۱ است که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی و درمانی کاشان اجرا شده است.

اثر سمیت کادمیوم بر زنده مانی کرم‌های حاکی بود، به عبارت دیگر با گذشت زمان، کروم نسبت به کادمیوم باعث وقوع مرگ و میر بیشتر در جمعیت کرم‌های حاکی می‌شود. همچنین نتایج نشان داد که افزودن ماده آلی به خاک تأثیر چندانی روی کاهش مرگ و میر کرم‌های حاکی ندارد. این عامل می‌تواند به دلیل سمیت بالای فلز کروم و کادمیوم روی کرم‌های حاکی باشد. در مطالعه ای که توسط حق پرست و همکاران انجام گرفت، مشخص شد که میزان تلفات کرم‌ها در خاک‌هایی که دارای ۴ درصد ماده آلی هستند، نسبت به خاک‌های فاقد ماده آلی، کمتر می‌باشد (۹). مطالعه آویلا و همکاران نشان داد که تولید کوکون و زنده مانی در کرم‌ها در خاک با غلظت بالای ۵۰۰ میلی گرم بر گرم مس و ماده آلی کمتر از ۳/۵ درصد کاهش می‌یابد (۱۳).

نتایج مطالعه حاضر حاکی از آن است که با افزودن ماده آلی به میزان ۵ درصد وزنی به خاک آلوده به کروم در غلظت 0.06 mg/g پس از ۲۱ روز زیست پالایی صورت نگرفته است ولی پس از ۴۲ روز راندمان زیست پالایی به میزان $18/33$ درصد افزایش یافته است. در غلظت 0.1 mg/g نیز میزان زیست پالایی از 30% پس از ۲۱ روز به 53% پس از ۴۲ روز رسیده که به عبارتی با گذشت زمان 23% زیست پالایی افزایش یافته است. در غلظت 0.18 mg/g راندمان پس از ۴۲ روز $6/5$ درصد کاهش یافته است که احتمالاً به دلیل بالای مرگ و میر رخ داده در کرم‌های حاکی می‌باشد. با افزایش ماده آلی از ۵ به ۹ درصد وزنی، در غلظت اولیه 0.06 mg/g راندمان حذف 5% کاهش یافته است. در غلظت اولیه 0.1 mg/g نیز حدود ۲۰ درصد کاهش راندمان وجود دارد که احتمالاً به دلیل گرایش بالای کرم‌های حاکی به مصرف ماده آلی و یا تلفات آنها در اثر سمیت و غلظت بالای کروم می‌باشد. در حالی که ایریزار و همکاران طی مطالعه خود نشان دادند که با کاهش ماده آلی در خاک،

References

- 1- Chen TB, Zheng YM, Lei M, Huang ZC, Wu HT, Chen H, Fan KK, et al. Assessment of heavy metal pollution in surface soils of urban parks in Beijing, China. *Chemosphere*. 2005;60(4):542-551
- 2- Blaylock MJ, Salt DE, Dushenkov S, Zakharova O, Gussman C, Kapulnik Y, Ensley BD, et al. Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil-applied chelating agents. *Environ sci technol*. 1997;31(3):860-865
- 3- Cefalu WT, Hu FB. Role of chromium in human health and in diabetes. *Diabetes care*. 2004;27(11):2741-2751.
- 4- Sizmur T, Hodson ME. Do earthworms impact metal mobility and availability in soil?—A review. *Environ Pollut*. 2009;157(7):1981-1989
- 5- Matscheko N, Lundstedt S, Svensson L, Harju J, Tysklind M. Accumulation and elimination of 16 polycyclic aromatic compounds in the earthworm (*Eisenia fetida*). *Environ toxicol chem*. 2002;21(8):1724-1729
- 6- Slizovskiy IB, Kelsey JW. Soil sterilization affects aging-related sequestration and bioavailability of p, p -DDE and anthracene to earthworms. *Environ pollut*. 2010;158(10):3285-3289
- 7- Li L, Xu Z, Wu J, Tian G. Bioaccumulation of heavy metals in the earthworm *Eisenia fetida* in relation to bioavailable metal concentrations in pig manure. *Bioresource technol*. 2010;101(10):3430-3436
- 8- Spurgeon DJ, Hopkin S. Extrapolation of the laboratory-based OECD earthworm toxicity test to metal-contaminated field sites. *Ecotoxicology*. 1995;4(3):190-205
- 9- Haghparast RJ, Golchin A, Kahneh E. Effect of Different Cadmium Concentrations on Growth of *Eisenia fetida* in a Calcareous Soil. *J water soil*. 2013;27(1):24-35
- 10- Jamshidi Z, Golchin A. The effect of different levels of chromium and exposure time on growth parameters of earthworms. *KAUMS J (FEYZ)*. 2013;16(7):625-626.
- 11- Garcia M, Römbke J, de Brito MT, Scheffczyk A. Effects of three pesticides on the avoidance behavior of earthworms in laboratory tests performed under temperate and tropical conditions. *Environ pollut*. 2008;153(2):450-456
- 12- Darling CT, Thomas VG. Lead bioaccumulation in earthworms, *Lumbricus terrestris*, from exposure to lead compounds of differing solubility. *Sci total environ*. 2005;346(1):70-80
- 13- Avila GG, Gaete HH, Sauve SS, Neaman AA. Organic matter reduces copper toxicity for the earthworm *Eisenia fetida* in soils from mining areas in central Chile. 2009
- 14- Irizar A, Rodríguez M, Izquierdo A, Cancio I, Marigómez I, Soto M. Effects of Soil Organic Matter Content on Cadmium Toxicity in *Eisenia Fetida*: Implications for the Use of Biomarkers and Standard Toxicity Tests. *Arch environ con and tox*. 2015;68(1):181-192
- 15- Amouei A, Naddafi K. The Effect of Chemical Additives on the Uptake and Accumulation of Pb and Cd in Native Plants of North of Iran. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*. 2012;22(86):124-116
- 16- Li L-Z, Zhou D-M, Wang P, Allen HE, Sauvé S. Predicting Cd partitioning in spiked soils and bioaccumulation in the earthworm *Eisenia fetida*. *Appl soil ecol*. 2009;42(2):118-123
- 17- Morgan J, Morgan A. Heavy metal concentrations in the tissues, ingesta and faeces of ecophysiologicaly different earthworm species. *Soil Biol and Biochem*. 1992;24(12):1691-1697
- 18- Zaltauskaite J, Sodiene I. Effects of total cadmium and lead concentrations in soil on the growth, reproduction and survival of earthworm *Eisenia fetida*. *Ekologija*. 2010;56(1-2):10-16