دانشکده کشاورزی

گروه علوم خاک

پایان‌نامه جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته علوم خاک

گرایش بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک

تغییرات فعالیت آنزیمی و برخی شاخص‌های اکوفیزیولوژیک ریزجانداران خاک پس از انکوباسیون با سطوح مختلف سرب

استاد راهنما

دکتر ناصر علی‌اصغرزاد

استاد مشاور

دکتر نصرت‌اله نجفی

پژوهشگر

ناصر شیرزاده

شهریور ۱۳۹۰

بسم الله الرحمن الرحيم

تقدیم به پدر و مادر عزیزم به پاس تمامی زحمات بی دریغ شان

نهال را باران باید

تا بشوید غبار نشسته بر برگهایش

و سیرابش کند از آب حیات

و آفتاب باید تا بتاباند

نیرو را و محکم کند

شاخه های تازه روئیده را

به نام مادر

بوسه ای باید زد، دست هایی را

که می شویند غبار خستگی روزگار را

و سیراب می کنند روح تشنه را

به نام پدر

بوسه ای باید زد، دست هایی را

که می تابانند نیرو را

و استوار می کنند پایه های زیستن را....

تقدیر و تشکر

ای هستی بخش، وجود مرا بر نعمات بی کرانت توان شکر نیست. الهی مرا مدد کن تا دانش اندکم نه نردبانی باشد برای فزونی تکبر و غرور، نه حلقه ای برای اسارت و نه دست مایه ای برای تجارت، بلکه گامی باشد برای تجلیل از تو و متعالی ساختن زندگی خود و دیگران.

حال که توفیق جمع آوری و تهیه ی این مجموعه را یافته ام بر خود واجب می دانم از تمامی عزیزانی که در طی انجام این پژوهش از راهنمایی و یاری شان بهره مند گشته ام تشکر و قدردانی کنم و برای ایشان از درگاه پروردگار مهربان آرزوی سعادت و پیروزی نمایم.

در ابتدا صمیمانه ترین تقدیرها تقدیم به خانواده ی عزیزم که همواره حامی و مشوقم بوده اند و بی‌مودن روزهای سخت و آسان زندگی ام بدون دعای خیر و برکت وجودشان غیر ممکن بود.

از استاد راهنمای ارجمند جناب آقای **دکتر ناصر علی اصغرزاد** که با سعه صدر و صبوری مرا راهنمایی نموده و با ارائه نظرات سازنده و رهنمودهای بی دریغشان در پیشبرد این پایان نامه سعی تمام مبذول داشتند، کمال تشکر را دارم.

از استاد مشاور ارجمند جناب آقای **دکتر نصرت اله نجفی** که در طول این تحقیق بارهنمودها و تشویق های خود مرا مورد لطف خویش قرار دادند، صمیمانه سپاسگزارم.

از داور محترم جناب آقای **دکتر شاهین اوستان** که زحمت بازخوانی و داوری این مجموعه را به عهده داشتند، صمیمانه تشکر و قدردانی می نمایم.

از کلیه اساتید گرانقدر گروه که از محضرشان کسب فیض نمودم، تشکر می نمایم.

و در نهایت از تمامی دوستان و هم کلاسی های عزیزم که در طول این مدت افتخار آشنایی و مصاحبت با آنها را داشتم، به پاس محبت های بی دریغ شان سپاسگزارم.

نام خانوادگی: شیرزاده محمدجانلو **نام:** ناصر

عنوان پایان‌نامه: تغییرات فعالیت آنزیمی و برخی شاخص‌های اکوفیزیولوژیک ریزجانداران خاک پس از انکوباسیون با سطوح مختلف سرب

استاد راهنما: دکتر ناصر علی‌اصغرزاد **استاد مشاور:** دکتر نصرت‌اله نجفی

مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد **رشته:** علوم خاک **گرایش:** بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک

دانشگاه: تبریز **دانشکده:** کشاورزی **تاریخ فارغ‌التحصیلی:** ۱۳۹۰/۶/۱۹

تعداد صفحات: ۹۷

کلید واژه‌ها: آلودگی سرب، فعالیت آنزیمی، شاخص‌های اکوفیزیولوژیک، کیفیت خاک

چکیده

فلزات سنگین از راههای مختلف وارد خاک شده و می‌توانند تأثیر منفی بر موجودات زنده خاکزی مخصوصاً ریزجانداران بگذارند. سرب یکی از فلزات سنگین است که از طریق احتراق موتورهای بنزینی، آلاینده‌های صنعتی و کمپوست حاصل از زباله‌های شهری وارد خاکها می‌شود و می‌تواند سلامت خاک را به مخاطره اندازد. روشهای متنوعی برای سنجش اثرات منفی فلزات سنگین بر اکولوژی میکروبی و سلامت خاک وجود دارد. در این بین، اندازه‌گیری فعالیت میکروبی و تعیین تنوع و تعدد میکروبی حائز اهمیت هستند که در تحقیقات قبلی با سرب، مورد اندازه‌گیری قرار گرفته‌اند. در تحقیق حاضر، از برخی شاخص‌های آنزیمی و اکوفیزیولوژیک برای بررسی اثرات سوء سرب بر سلامت خاک استفاده شد. ابتدا سطوح مختلف سرب شامل ۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ٤۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک از منبع نیترات سرب به خاک اضافه شد و در دوره‌های انکوباسیون ۳، ۱۵، ۳۰، ۹۰ و ۱۸۰ روز فعالیت آنزیم‌های فسفومونواستراز اسیدی و قلیایی، اوره‌آز و نیترات‌رداکتاز که در چرخه‌های میکروبی فسفر و نیتروژن خاک دخیل هستند، مورد سنجش قرار گرفت. همچنین، کربن بیوماس میکروبی، تنفس پایه، تنفس تحریک شده با بستره و شاخص‌های اکوفیزیولوژیک (سهم میکروبی و سهم متابولیک) به عنوان شاخص‌های بسیار حساس بیولوژیک در مقابل آلاینده‌ها مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. در روزهای اول و در غلظت‌های پایین سرب برخی از شاخص‌ها (فعالیت

آنزیم نیترات‌رداکتاز و تنفس ناشی از بستره) افزایش نشان دادند ولی با افزایش غلظت سرب، این شاخص‌ها نیز کاهش یافتند. با گذشت زمان غلظت‌های پایین‌تر سرب نیز باعث کاهش معنی‌دار شاخص‌های میکروبی مورد اندازه‌گیری شدند. در انتهای انکوباسیون، در نتیجه القای تحمل در جمعیت میکروبی، بعضی از شاخص‌ها مانند فعالیت آنزیم‌های نیترات‌رداکتاز و فسفومنواستراز اسیدی و قلیایی و تنفس ناشی از بستره، به‌طور معنی‌داری نسبت به روز ۹۰ افزایش نشان دادند. در غلظت‌های بالای ۲۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک اکثر شاخص‌های مورد اندازه‌گیری، کاهش معنی‌داری یافتند. در واقع غلظت‌های ۱۰۰ تا ۳۰۰ میلی‌گرم سرب اضافه شده بر کیلوگرم خاک، به‌عنوان محدوده غلظت بحرانی برای خاک مورد مطالعه مطرح است، به‌طوری که در غلظت‌های بالاتر از آنها آثار منفی سرب به‌طور معنی‌داری قابل مشاهده بود.

فهرست مطالب:

عنوان صفحه

مقدمه ٤

۱ فصل اول بررسی منابع.....۱۰

۱-۱- مروری بر مفهوم آلودگی و آلوده‌کننده‌های خاک.....۱۱

۱-۲- راههای ورود آلاینده‌ها به خاک: ۱۱

۱-۲-۱- فاضلاب و لجن فاضلاب ۱۱

۱-۲-۲- سموم و آفت‌کشهای شیمیایی ۱۲

۱-۲-۳- کودهای دامی و کمپوست حاصل از زباله شهری ۱۲

۱-۲-٤- پساب صنایع ۱۳

۱-۳- ویژگی‌های فلزات سنگین.....۱۳

۱-٤- روشهای بیولوژیکی بررسی اثرات آلاینده‌ها بر اکوسیستم خاک.....۱٦

۱-٤-۱- بیوماس میکروبی خاک..... ۱٦

۱-٤-۲- تنفس میکروبی خاک ۱۷

۱-٤-۳- فعالیت آنزیم‌های خاک..... ۱۷

۱-٤-٤- الگوهای اسید چرب فسفولیپیدی (PLFA) ۱۸

۱-٤-٥- سیستم BIOLOG..... ۱۸

۱-٤-٦- الگوهای فیزیولوژیکی تراز جمعیتی (CLPP)..... ۱۸

۱-٤-۷- واکنش زنجیره‌ای پلیمراز-الکتروفورز با شیب طبع‌برگشتگی (PCR-DGGE) ۱۹

۱-٤-۸- اندازه‌گیری تحمل القایی ناشی از آلودگی در جمعیت میکروبی (PICT) ۱۹

۱-٥- فعالیت‌های آنزیمی و برخی شاخص‌های میکروبی در خاک ۱۹

۱-٥-۱- فعالیت آنزیمی ۱۹

۱-٥-۲- ساختار جعیت میکروبی..... ۲٦

۱-٥-۳- تنوع متابولیکی و عملکردی جوامع میکروبی ۲۸

۱-٥-٤- تنوع و فعالیت میکروبی..... ۲۸

۱-٥-٥- بیوماس میکروبی..... ۲۹

۱-٥-٦- سهم متابولیک و سهم میکروبی ۳۰

۱-٥-۷- تحمل جوامع میکروبی ۳۱

۲ فصل دوم مواد و روشها ۳۳

۲-۱- خاک مورد آزمایش ۳٤

۲-۲- اعمال تیمارها..... ۳٤
۲-۳- اندازه‌گیری فعالیت آنزیمهای فسفو مونواستراز اسیدی و قلیایی..... ۳۵
۲-۳-۱- تهیه محلول اصلی بافر عمومی اصلاح شده..... ۳۵
۲-۳-۲ تهیه محلول کاری بافر برای فسفو مونواستراز قلیایی ۳۵
۲-۳-۳- تهیه محلول کاری بافر برای فسفو مونواستراز اسیدی ۳۵
۲-۳-٤- تهیه محلول بستره برای فسفومونواستراز اسیدی و قلیایی:..... ۳۵
۲-۳-۵- تهیه محلول‌های استاندارد:..... ۳۵
۲-۳-٦- تهیه استانداردهای کالیبراسیون: ۳٦
۲-۳-۷- روش کار: ۳٦
۲-٤- اندازه‌گیری فعالیت آنزیم نیترات رداکتاز ۳۷
۲-٤-۱- تهیه محلول ۲ و ٤-دی‌نیتروفنل (۰/۹ میلی‌مولار)..... ۳۷
۲-٤-۲- تهیه بافر کلرید آمونیوم..... ۳۷
۲-٤-۳- تهیه معرف رنگی ۳۷
۲-٤-٤- تهیه محلول‌های استاندارد ۳۷
۲-٤-۵- روش کار ۳۸
۲-۵- اندازه‌گیری فعالیت آنزیم اوره‌آز..... ۳۹
۲-۵-۱- تهیه محلول بستره..... ۳۹
۲-۵-۲- تهیه محلول عصاره‌گیر KCl..... ۳۹
۲-۵-۳- تهیه معرف فنول- سود ۳۹
۲-۵-٤- تهیه محلول هیپوکلریت سدیم ۹/. درصد ۳۹
۲-۵-۵- تهیه محلول‌های استاندارد ۳۹
۲-۵-٦- تهیه استانداردهای واسنجی:..... ٤۰
۲-۵-۷- روش کار: ٤۰
۲-٦- اندازه‌گیری کربن بیوماس میکروبی ٤۱
۲-۷- محاسبه شاخص‌های اکوفیزیولوژیک ٤۱
۲-۷-۱- محاسبه سهم متابولیک ٤۲
۲-۷-۲- محاسبه سهم میکروبی..... ٤۲
۲-۸- تنفس پایه..... ٤۲
۲-۹- تنفس ناشی از بستره..... ٤۳
۲-۱۰- طرح آزمایش و تجزیه و تحلیل آماری ٤٤

۳ فصل سوم نتایج و بحث ٤٥
۳-۱- نتایج تجزیه خاک ٤٦
۳-۲- میزان سرب فراهم خاک پس از اعمال سطوح مختلف سرب ٤٦
۳-۳- فعالیت آنزیم‌های خاک ٤٧
۳-۳-۱- فعالیت آنزیم فسفومنواستراز اسیدی ٤٧
۳-۳-۲- فعالیت آنزیم فسفومنواستراز قلیایی ٤٩
۳-۳-۳- فعالیت آنزیم نیترات‌رداکتاز ٥١
۳-۳-٤- فعالیت آنزیم اوره‌آز ٥٣
۳-٤- نتایج اندازه‌گیری تنفس، کربن بیوماس میکروبی و شاخص‌های اکوفیزیولوژیک ٥٦
۳-٤-۱- کربن بیوماس میکروبی ٥٧
۳-٤-۲- سهم میکروبی ٥٩
۳-٤-۳- سهم متابولیک ٦١
۳-٤-٤- تنفس پایه خاک ٦٣
۳-٤-٥- تنفس ناشی از بستره ٦٤
۳-٥- نتیجه‌گیری و پیشنهادات ٨٠
٤ پیوست ٨٣
٥ فهرست منابع ٨٩

مقدمه

امروزه به‌دلیل افزایش روز افزون فعالیت‌های کشاورزی و صنعتی که خود ناشی از افزایش سریع جمعیت است و همچنین محدودیت منابع آب و نیز محدودیت استفاده از کودهای شیمیایی، استفاده از فاضلاب‌ها و پساب‌های شهری و صنعتی و همچنین لجن فاضلاب برای تولید حداکثری محصولات کشاورزی بسیار افزایش یافته است (حسین‌پور و همکاران، ۱۳۸۷). لجن فاضلاب و پساب صنایع بدلیل دارا بودن مواد آلی زیاد و نیز برخی عناصر غذایی مثل نیتروژن، آهن، مس، روی، نیکل، منگنز و سایر عناصر، اصلاح کننده خواص فیزیکوشیمیایی و بیولوژیکی خاک به حساب می‌آیند که می‌توانند باعث افزایش تولید محصولات کشاورزی شوند ولی این مواد حاوی مواد آلوده‌کننده از قبیل بسیاری از فلزات سنگین[1] نیز می‌باشند و کاربرد بیش از حد آنها می‌تواند مشکل‌ساز شود. فعالیت‌های صنعتی و کشاورزی منجر به انتشار فلزات سنگین در محیط و آلودگی خاک، آبهای زیرزمینی، رسوبات و آبهای سطحی می‌شوند (بهره‌مند و همکاران، ۱۳۸۱).

برخلاف سایر آلاینده‌ها، دفع فلزات سنگین از محیط بسیار مشکل می‌باشد زیرا این فلزات به‌طور شیمیایی یا بیولوژیکی تخریب نمی‌شوند و غیرقابل تجزیه هستند اما می‌توانند اکسید یا احیا شده و یا به‌وسیله مواد آلی کمپلکس شوند (گله‌دار، ۱۳۸۷).

از مهمترین آلاینده‌هایی که امروزه خطرات بسیاری را متوجه جوامع انسانی کرده است فلزات سنگین هستند. چنانچه غلظت این عناصر به‌قدر کافی زیاد باشد می‌توانند برای موجودات زنده سمی باشند. عناصر کم‌مقدار[2] مانند آرسنیک، کادمیوم، نیکل، کرم، کبالت، مس، سرب و جیوه که حداقل پنج برابر سنگین‌تر از آب هستند، فلزات سنگین نامگذاری شده‌اند. فلزات سنگین حتی در غلظت‌های اندک سمی، سرطان‌زا یا جهش‌زا هستند و بنابراین یک مشکل مهم و مورد توجه جامعه جهانی هستند (اوستان، ۱۳۸۳).

فلزات سنگین مس، روی، سرب، کادمیوم، کبالت، نیکل و جیوه دارای بیشترین فراوانی در فاضلاب کارخانه‌ها هستند (گله‌دار، ۱۳۸۷). سرب یکی از فلزات سنگین است که از طریق احتراق

[1] heavy metal
[2] Trace elements

موتورهای بنزینی، آلاینده‌های صنعتی و کمپوست حاصل از زباله‌های شهری وارد خاکها می‌شود و می‌تواند سلامت خاک[1] را به مخاطره اندازد. روشهای متنوعی برای سنجش اثرات منفی فلزات سنگین بر اکولوژی میکروبی و سلامت و کیفیت خاک وجود دارد.

کیفیت خاک[2] شامل خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک و رابطه آنها با حاصلخیزی و سلامت خاک می‌باشد. بسیاری از شاخص‌ها می‌توانند برای توصیف کیفیت خاک استفاده شوند ولی باید خصوصیات مرتبط و زمان مورد نیاز هم در نظر گرفته شوند (مارتینز–سالگادو و همکاران، ۲۰۱۰).

در شرایط تنش ناشی از تأثیر منفی انسان بر اکوسیستم خاک مانند انتشار آلوده‌کننده‌های شیمیایی، فعالیت‌ها و توسعه جوامع میکروبی دستخوش تغییراتی می‌شوند. برای بررسی پیامدهای اکولوژیکی متداول، شاخص‌های میکروبی[3] باید مورد مطالعه و برسی قرار گیرند (فیلیپ، ۲۰۰۲).

آنالیزهای شیمیایی فقط مقادیر خاصی از آلوده‌کننده‌ها را نشان می‌دهند و نمی‌توانند پیامدهای زیست‌محیطی ناشی از تحرک، وارد شدن به چرخه غذایی و از همه مهم‌تر تأثیر آنها بر فرآیندهای کلیدی متابولیسم خاک را منعکس کنند. روش‌های بیولوژیکی تأثیر واقعی آلوده‌کننده‌ها را با کاهش رشد و فعالیت میکروبی نشان می‌دهند (اسمجکالوا و همکاران، ۲۰۰۳).

خصوصیات مرتبط با مواد آلی خاک مثل نسبت کربن به نیتروژن، کیفیت کربن آلی (هومیک یا فولویک اسید)، فعالیت آنزیمی و پایداری خاکدانه‌ها می‌توانند به عنوان شاخص کیفی خاک مطرح شوند (مارتینز–سالگادو و همکاران، ۲۰۱۰).

ریزجانداران خاک نقش مهمی در چرخه عناصر غذایی و تغذیه گیاه، حفظ و نگهداری ساختمان خاک، سم‌زدایی مواد شیمیایی مضر، کنترل آفات گیاهی و رشد گیاه ایفا می‌کنند (السگارد و همکاران، ۲۰۰۱؛ فیلیپ، ۲۰۰۲). اندازه‌گیری شاخص‌های میکروبی کیفیت خاک می‌تواند اطلاعات سریعی درباره فرآیندهای معدنی شدن، فراهمی عناصر و حاصلخیزی خاک و پیامدهای ناشی از تغییر کاربری اراضی و عملیات مختلف کشاورزی (کودپاشی، عملیات شخم، کاربرد سموم و ...) ارائه دهد (مارتینز–سالگادو و

[1].Soil health
[2].Soil quality
[3].Mirobial Indices

همکاران، ۲۰۱۰). شواهد قوی وجود دارد که ریزجانداران خاک در مقایسه با جانوران و گیاهان حساسیت بیشتری به فلزات سنگین دارند (گیلر و همکاران، ۱۹۹۹).

فلزات سنگین عمدتاً از طریق تغییر تنوع گونه‌ای[1] و فعالیت، بر اکولوژی میکروبی خاک مؤثر واقع می‌شوند (فروستگارد و همکاران، ۱۹۹٦). ترکیب ساختار میکروبی و فعالیت‌های آنزیمی خاک به دلیل نقش مهم و مرکزی آنها در عملکرد اکوسیستم خاک، شاخص‌های مهم نمایش آلودگی خاک هستند. اندازه‌گیری‌های کمی مانند کربن بیوماس میکروبی، تنفس، فعالیت‌های آنزیمی و مقادیر ATP[2] برای بررسی تأثیر فلزات سنگین بر میکروفلورای خاک می‌توانند مورد استفاده قرار گیرند (بروکس، ۱۹۸٦؛ بابیچ، ۱۹۸۵).

فعالیت‌های آنزیمی می‌توانند فعالیت میکروبی کل خاک را منعکس کنند. همچنین این فعالیت‌ها به تغییرات ایجاد شده توسط تنش‌های طبیعی و انسانی مانند افزایش فلزات سنگین بسیار حساس هستند. بنابراین مطالعه تأثیر آلودگی فلزات سنگین بر فعالیت‌های آنزیمی خاک برای درک بیشتر تأثیر آنها بر کیفیت و حاصلخیزی خاک اهمیت زیادی دارد (زینگ و همکاران، ۲۰۰۷).

آنزیم اوره‌آز از جمله آنزیم‌های خارج سلولی است که مرتباً به‌وسیله ریزجانداران تولید می‌شود و در تجزیه اوره و تبدیل آن به کربنات آمونیوم نقش دارد و یکی از آنزیم‌های مؤثر در چرخه نیتروژن به حساب می‌آید. حساسیت فعالیت آنزیم اوره‌آز به آلاینده‌ها در بسیاری از موارد نسبت به سایر آنزیم‌های خاک بیشتر است (بات، ۱۹۸۹). اوره‌آز نسبت به آلودگی کادمیوم، سرب و روی – که از آلوده‌کننده‌های مهم خاک هستند– بسیار حساس است (یانگ و لیو، ۲۰۰۰).

آنزیم فسفاتاز در چرخه فسفر و تجزیه فسفر آلی اکوسیستم‌های مختلف شامل خاک، دریاچه و زمین‌های غرقاب نقش ایفا می‌کند (فردمن، ۲۰۰۸). آنزیم‌های اصلی معدنی‌شدن فسفر آلی خاک فسفاتاز قلیایی (داخل سلولی) و فسفاتاز اسیدی (خارج سلولی) هستند. فعالیت هر دو آنزیم فسفاتاز اسیدی و قلیایی تحت تأثیر خصوصیات گوناگون خاک، واکنش ارگانیسم‌های خاک، پوشش گیاهی و حضور مواد بازدارنده و فعال کننده می‌باشد (مارتینز–سالگادو و همکاران، ۲۰۱۰) فعالیت فسفاتاز می‌تواند شاخص

[1] Species diversity
[2] Adenosine triphosphate

خوبی برای پتانسیل معدنی شدن فسفاتهای آلی و فعالیت بیولوژیکی خاک باشد (دیک و همکاران، ۱۹۸۳). فسفاتاز اسیدی نقش حیاتی در معدنی‌شدن فسفر آلی ایفا می‌کند و شدت فعالیت آن می‌تواند ظرفیت تأمین فسفر اکوسیستم را نشان دهد (هوانگ، ۲۰۱۱).

آنزیم نیترات‌ردااکتاز یکی از آنزیم‌های کلیدی در نیترات‌زدایی است. نیترات‌زدایی یک فرآیند انرژی‌زا است و ریزجانداران در شرایط بی‌هوازی از نیترات به عنوان یک پذیرنده الکترون استفاده می‌کنند. پیش‌بینی شده است که بیش از ۵۰ درصد ریزجانداران در این فرایند به نوعی دخالت دارند. در شرایط بی‌هوازی ابتدا آنزیم نیترات ردااکتاز NO_3^- را به NO_2^- احیا می‌کند. این مرحله در خاکهای اسیدی کنترل کننده نیترات‌زدایی است. در حالی که در خاکهای قلیایی مرحله احیای نیتریت محدود کننده است. در هر صورت این آنزیم می‌تواند به عنوان یک شاخص حساس برای تعیین کیفیت خاک مورد استفاده قرار گیرد (فو و طباطبایی، ۱۹۸۹).

علاوه بر تعیین کمی بیوماس میکروبی، مشخص کردن حالت فیزیولوژیک جمعیت میکروبی نیز اهمیت زیادی دارد. حالت فیزیولوژیک از روی وضعیت تغذیه‌ای، نوع خاک، آب و هوا، اثر آلاینده‌ها و غیره تعیین می‌گردد. مقالات کمی در مورد حالت‌های فیزیولوژیکی جمعیت‌های میکروبی خاک ارائه شده است. سهم متابولیک[1] و سهم میکروبی[2] از جمله شاخص‌های اکوفیزیولوژیک[3] هستند که برای تعیین وضعیت میکروبی خاک مورد ارزیابی قرار می‌گیرند (نانی‌پایری، ۱۹۹۷).

سهم متابولیک برای تعیین تأثیر کیفی بر بیوماس به کار رفته و همچنین معیار غیرمستقیمی از کارایی انرژی میکروبی است یا به عبارت دیگر سهم متابولیک عبارت است از CO_2 حاصل از تنفس میکروبی در واحد بیوماس میکروبی خاک. تغییرات سهم متابولیک ممکن است به تغییرات ترکیب جمعیتی یا به تغییرات بستره و پیش‌ماده‌ای که یک جمعیت غیرقابل تغییر استفاده می‌کند یا هر دو و یا عدم تغییر ترکیب جمعیتی دلالت کند. نتایج حاصل از مطالعه بر روی پاسخ سهم متابولیک به آلودگی فلزات سنگین ضد و نقیض است. برخی از محققان افزایش سهم متابولیک (بروکس و مک‌جی، ۱۹۸٤) و برخی دیگر کاهش سهم متابولیک (باه و همکاران، ۱۹۹۱) را گزارش کرده‌اند. این شاخص در خاکهای

[1] metabolic quotient
[2] microbial quotient
[3] Physiological indices

آلوده شده با فلزات سنگین بیشتر از خاکهای غیرآلوده گزارش شده است (شاندر و بروکس ۱۹۹۱). هر چه سهم متابولیک کمتر باشد، چرخه‌های میکروبی کارآمدتر هستند. تنش‌هایی نظیر کاربرد علف‌کشها سبب افزایش سهم متابولیک می‌شود (واردل و پارکینسون، ۱۹۹۲).

سهم میکروبی یا نسبت کربن میکروبی به کربن آلی خاک، می‌تواند شاخصی حساس برای بررسی کیفیت خاک باشد. این نسبت رابطه کربن میکروبی و کربن آلی را نشان می‌دهد و با استفاده از آن می‌توان دینامیک کربن در خاک را بررسی کرد. با وجود اینکه کربن بیوماس میکروبی ارتباط نزدیکی با مقدار ماده آلی دارد، ولی بیوماس از طرفی تحت تأثیر قابلیت دسترسی بستره تجزیه‌پذیر و از طرف دیگر تحت تأثیر محیط شیمیایی و ساختار فیزیکی (نقش حفاظتی) می‌باشد و عواملی مثل آنتی‌بیوتیک‌ها بر روی آن تأثیر بسیار منفی دارند، در حالی که این مواد تأثیر چندانی بر روی مقدار مواد آلی خاک ندارند. سهم میکروبی با آلوده شدن خاک کاهش می‌یابد (بروکس، ۱۹۹۵).

در اکولوژی میکروبی، تنفس واقعی (تنفس پایه[1]) و تنفس پتانسیل (تنفس ناشی از بستره[2]) به خوبی شناخته شده و به طور وسیعی برای اندازه‌گیری فعالیت میکروبی خاک مورد استفاده قرار می‌گیرد. علاوه بر این، تنفس ناشی از بستره یکی از روش‌های پایه‌ای برای تخمین کمی بیوماس میکروبی خاک به عنوان بخش بسیار فعال و ناپایدار کربن آلی خاک مورد استفاده قرار می‌گیرد. منابع کربن میکروبی خاک و فعالیت و ترکیب آن به عنوان پارامترهای کلیدی در فرآیندهای خاک در زمینه‌های مختلف اکولوژیکی به طور وسیعی مورد ارزیابی قرار گرفته است (آنانیوا و همکاران، ۲۰۰۸). تنفس می‌تواند شاخص آلودگی خاک باشد (بچ و فرانسیسکو، ۱۹۹۹). در این مورد سطوح مصرفی اکسیژن یا تولید دی‌اکسیدکربن اندازه‌گیری می‌شود.

فلزات سنگین از جمله سرب از راههای مختلف وارد خاک می‌شوند و در چرخه غذایی انسان قرار می‌گیرند. افزودن کمپوست حاصل از زباله شهری به خاک که برای افزایش حاصلخیزی خاک صورت می‌گیرد، باعث ورود فلزات سنگین به خاک می‌شود و از آنجایی که این فلزات ماندگارند در خاک انباشته می‌شوند. بنابراین، استفاده از شاخص‌های بیولوژیکی برای تعیین سطح بحرانی این فلزات

[1] basal respiration
[2] substrate-induced respiration

در خاک ضروری به نظر می‌رسد. لذا، در این پژوهش از برخی شاخص‌های بیولوژیکی برای تعیین سطح بحرانی تأثیر سرب در خاک مورد مطالعه استفاده شد.

اهداف:

اهداف مهم در این پژوهش عبارتند از:

۱. بررسی اثر سطوح سرب بر فعالیت‌های آنزیمی خاک

۲. تعیین اثر سطوح سرب بر توده زنده میکروبی و فعالیت آن

۳.بررسی اثر سطوح سرب بر برخی از شاخص‌های اکوفیزیولوژیک خاک

فصل اول

بررسی منابع

۱-۱-مروری بر مفهوم آلودگی و آلوده‌کننده‌های خاک

به طور کلی عاملی که باعث برهم زدن شرایط طبیعی محیط زیست شده و موجب تغییرات نامطلوب (آسیب یا تخریب) در آن شود، آلودگی نامیده می‌شود. به عبارت دیگر ماده آلوده‌کننده ماده‌ای است که در جایی قرار گیرد که به طور طبیعی نمی‌بایست قرار می‌گرفت و یا دارای غلظتی بیش از غلظت طبیعی باشد به‌نحوی که بر روی موجودات زنده اثر نامطلوب داشته باشد(عرفان‌منش، ۱۳۸۵).

آلاینده‌های آلی و غیرآلی چندی وجود دارند که در آب و خاک حائز اهمیت هستند. این آلاینده‌ها شامل انواع غیرآلی نظیر نیترات و فسفات، فلزات سنگین مانند کادمیوم، کرم و سرب، مواد شیمیایی آلی، اسیدهای غیرآلی و رادیونوکلیدها می‌باشند. منشأ این آلاینده‌ها کودهای شیمیایی، آفت‌کش‌ها، فروگذاشت اسیدی، مواد زاید (فاضلاب) و ریزش غبار رادیواکتیو است (روانبخش و حق‌نیا، ۱۳۸۸).

یکی از مهمترین مواد آلاینده‌ای که امروزه خطرات بسیار زیادی را برای جوامع انسانی ایجاد کرده است فلزات سنگین هستند. منابع این عناصر در طبیعت عبارتند از سنگ‌ها، کودهای شیمیایی، صنایع ذوب فلز، بقایای سوختن زغال سنگ‌ها و فاضلاب‌های صنعتی و شهری. افزایش روزافزون جمعیت و به دنبال آن افزایش حجم فاضلاب‌های شهری و صنعتی، باعث آلودگی طبیعت در اثر این مواد شده است. بنابراین انسان باید به دنبال راهکارهایی برای کاهش آلودگی این مواد باشد (روانبخش و حق‌نیا، ۱۳۸۸).

۱-۲-راههای ورود آلاینده‌ها به خاک:

۱-۲-۱- فاضلاب و لجن فاضلاب

پژوهش‌ها نشان داده‌اند که تخلیه فاضلاب خام در محیط زیست خطرات بهداشتی و زیست محیطی زیادی را به دنبال دارد. کنترل کیفیت فاضلاب خام به لحاظ حفاظت از محیط زیست به‌ویژه منابع محدود آب در بسیاری از کشورها به‌صورت تصفیه فاضلاب و رهاسازی آن در محیط و یا مصرف

دوباره در دهه‌های اخیر مورد توجه زیادی قرار گرفته است که هزینه‌های آن با افزایش مراحل تصفیه افزایش می‌یابد (آقایی‌فروشانی، ۱۳۸٤). لجن فاضلاب به دلیل دارا بودن مواد آلی زیاد و نیز برخی عناصر غذایی مثل نیتروژن و فسفر و همچنین بسیاری از ریزمغذی‌ها مثل آهن، روی، منگنز، مس، نیکل و غیره یک اصلاح کننده مناسب خواص فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک به حساب می‌آید که می‌تواند باعث افزایش تولید محصولات کشاورزی شود. اما لجن فاضلاب دارای بعضی خواص نامطلوب است که استفاده از آن را محدود می‌کند. مهمترین خواص نامطلوب لجن فاضلاب غلظت نسبتاً زیاد فلزات سنگین و وجود برخی پاتوژن‌های خطرناک موجود در فاضلاب‌های انسانی است (خدیوی‌بروجنی و همکاران، ۱۳۸٦).

۱-۲-۲- سموم و آفت‌کشهای شیمیایی

علف‌کشها و آفت‌کشهای شیمیایی که برای کنترل علفهای هرز و آفات به کار می‌روند اثرات نامطلوب مختلفی را در خاک موجب می‌شوند (شتی و ماگو ۱۹۹۸). این مواد اثرات نامطلوبی بر فعالیت‌های بیوشیمیایی خاک دارند و باعث کاهش بیوماس و تنفس میکروبی می‌شوند (روانی و گیلوک، ۱۹۹٦؛ فروستگارد و همکاران، ۱۹۹۳).

۱-۲-۳- کودهای دامی و کمپوست حاصل از زباله شهری

امروزه استفاده از کمپوست به‌عنوان کود آلی برای بهبود حاصلخیزی خاک رایج شده است ولی کمپوست حاصل از زباله شهری حاوی فلزات سنگین و کودهای دامی دامپروری‌های صنعتی حاوی آنتی‌بیوتیک‌هایی است که برای مقابله با بیماریها به دام‌ها تزریق می‌شود و این مواد همراه کمپوست و کود دامی وارد خاک می‌شوند و باعث بروز اثرات نامطلوبی بر جامعه میکروبی خاک می‌شوند (اسمیت و همکاران، ۲۰۰٤). در مطالعه‌ای که توسط هویسمن و همکاران (۱۹۹٤) انجام گرفت مشاهده شد خاکهایی که به مدت پنج سال کود دامی دریافت کرده بودند نسبت به خاکهایی که کود دامی دریافت نکرده بودند مس قابل عصاره‌گیری با DTPA و EDTA بیشتری داشتند.

۱-۲-٤- پساب صنایع

امروزه افزایش روزافزون جمعیت و همزمان با آن پیشرفت سریع فناوری در بخش‌های مختلف صنعت که پایه‌گذار انقلاب نوین صنعتی در جامعه بشری است، به عنوان مهم‌ترین عوامل تخریب منابع زیست محیطی به شمار می‌روند که در صورت عدم توجه جدی به مقوله توسعه پایدار در بخش محیط زیست، در آینده‌ای نه چندان دور شاهد وضعیتی فاجعه‌بار در این حوزه خواهیم بود. کنترل آلاینده‌های زیست‌محیطی از طریق سیستم‌های مناسب به عنوان یکی از راهکارهای مهم و قابل توجه در راستای تحقق این هدف آرمانی می‌تواند بسیار سودمند باشد (عرفان‌منش، ۱۳۸۵). با پیشرفت سریع صنایع مختلف مثل معدن کاوی، ذوب فلزات، صنایع تولید کود، آفت کش‌ها و صنایع پتروشیمی فلزات موجود در پساب این صنایع به‌طور مستقیم و غیرمستقیم به‌طور فزاینده‌ای وارد محیط زیست شده‌اند (انصاری و مالک، ۲۰۰۷). فعالیت‌های صنعتی و کشاورزی منجر به انتشار فلزات سنگین در محیط و آلودگی خاک، آبهای زیرزمینی، رسوبات و آبهای سطحی می شوند (بهره‌مند و همکاران، ۱۳۸۱).

۱-۳-ویژگی‌های فلزات سنگین

فلزات سنگین عناصر کم‌مقدار هستند که حداقل پنج برابر سنگین‌تر از آب هستند. همچنین آن‌ها عناصری با پایداری بالا (غیر قابل تجزیه در بدن) و دارای توانایی تجمع زیستی در زنجیره غذایی بوده و قابلیت انتقال به انسان را دارند (اوستان، ۱۳۸۳).

امروزه فلزات سنگین یکی از مهمترین عوامل ایجاد کننده مشکلات زیست محیطی می‌باشند. بعضی از فلزات مثل کبالت، مس، نیکل، روی، منگنز و آهن برای اکثر گیاهان و جانوران ضروری می‌باشند. یکی از مهمترین وظایف این عناصر نقش آنها در آنزیم‌ها می‌باشد. همچنین این کاتیون‌ها پایداری غشاء را افزایش می‌دهند و ممکن است در ساختمان اسیدهای نوکلئیک نیز نقش مهمی را ایفا کنند. اما اگر غلظت این فلزات در محیط به مقدار زیادی افزایش یابد برای گیاهان، جانوران، ریزجانداران و انسان ایجاد سمیت می‌کنند (گله‌دار، ۱۳۸۷).

فلزات سنگین حتی در غلظت‌های کم، سمی، سرطان‌زا یا جهش‌زا هستند و بنابراین یک مشکل

مهم و مورد توجه جامعه جهانی هستند. این فلزات در پسماند تعدادی از کارخانه‌های شیمیایی مانند خمیر کاغذ، پتروشیمی، پالایشگاه و کودسازی وجود دارند و باعث اثرات سمی قابل‌ملاحظه روی محیط دریافت‌کننده می‌شوند. (گله‌دار، ۱۳۸۷).

پساب خام معمولاً به عنوان تأمین‌کننده آب اراضی کشاورزی استفاده می‌شود و یا به‌طور مستقیم وارد آب‌های جاری می‌شود و از این طریق مجدداً برای اهداف کشاورزی استفاده می‌گردد. اگرچه این ماده تولید محصول را افزایش می‌دهد اما در بلندمدت باعث تجمع فلزات سنگین در خاک و گیاه می‌شود. فعالیت‌های صنعتی و کشاورزی منجر به انتشار فلزات سنگین در محیط و آلودگی خاک، آب زیرزمینی، رسوبات و آب سطحی می‌شوند (بهره‌مند و همکاران، ۱۳۸۱). بنابراین باید غلظت این عناصر را در محیط زیست تا حد مطلوب کاهش داد.

بر خلاف سایر آلاینده‌ها، دفع فلزات سنگین از محیط بسیار مشکل می‌باشد زیرا این فلزات به‌طور شیمیایی یا بیولوژیکی تخریب نمی‌شوند و غیرقابل تجزیه هستند اما می‌توانند اکسید یا احیا شده و یا به‌وسیله مواد آلی کمپلکس شوند. بنابراین، باید از روش‌های قابل‌اعتمادی برای پالایش مکان‌های آلوده به این فلزات استفاده کرد (گله‌دار، ۱۳۸۷).

فلزات سنگین در سه گروه اصلی زیر طبقه‌بندی می‌شوند (اوستان، ۱۳۸۳):

۱) فلزات سمی (Sn, Co, As, Cu, Cd, Ni, Zn, Pb, Hg)

۲) فلزات قیمتی (Ru, Au, Ag, Pt, Pd)

۳) فلزات رادیواکتیو (U, Th, Ra, Am) (۱۸).

ویژگی‌های فلزات سنگین سمی به شرح زیر است:

سمیت آن‌ها تا مدت طولانی در محیط باقی می‌ماند. بعضی از فلزات سنگین می‌توانند در محیط از شکلی با سمیت کمتر به شکل‌های با سمیت بالاتر درآیند که جیوه نمونه‌ای از آنها است. تجمع زیستی و افزایش زیست‌فراهمی فلزات سنگین در زنجیره‌های غذایی می‌تواند به فعالیت‌های طبیعی فیزیکی صدمه وارد کند و در نهایت حیات انسانی را در معرض خطر قرار دهد (اوستان، ۱۳۸۳).

تنها ظرفیت شیمیایی و گونه فلزات تغییر می‌کند اما مقدار آنها حتی با روش‌های بیولوژیک