بررسی اثر غلظت فلزهای سنگین در لجن فاضلاب بر فاکتور تجمع زیستی و زندمانی کرم خاکی گونه *Eisenia Fetida*

قاسم رحیمی[۱] و عیسی ابراهیمی[۲*]

[۱] **ایران، همدان،** دانشگاه بوعلی سینا همدان، گروه خاکشناسی

[۲] ایران، گیلان، دانشگاه گیلان، دانشکده کشاورزی، گروه علوم خاک

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۷/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۹/۰۶

چکیده

در سال‌های اخیر برای پاکسازی خاک آلوده به فلزهای سنگین از کرم‌های خاکی استفاده می‌شود. هدف از این مطالعه بررسی فاکتور تجمع زیستی و زنده‌مانی کرم خاکی در خاک آلوده به فلزهای سنگین است. ابتدا لجن فاضلاب حاوی فلزهای سنگین در مقادیر ۰، ۱۰، ۲۰، ۳۰،۴۰ و ۵۰ تن بر هکتار به خاک اضافه شد. کرم‌خاکی گونه *Eisenia fetida* به خاک‌های آلوده اضافه شد. بعد از دوره هشت هفته‌ای روزه غلظت کل فلزهای سنگین مختلف در خاک، تغییر وزن، مرگ و میر و فاکتور تجمع زیستی کرم-های خاکی بررسی شد. نمونه‌برداری از کرم‌های خاکی در هشت هفته انجام شد. بیش‌ترین مقدار جذب فلزهای سنگین توسط کرم‌های خاکی، مربوط به تیمار ۲۰ تن بر هکتار لجن فاضلاب بود. فاکتور تجمع زیستی فقط برای دو فلز روی و کادمیوم بزرگ‌تر از یک بود که نشان می‌دهد این گونه کرم خاکی توانایی تجمع این دو فلز را در خاک آلوده به فلزهای سنگین دارد. در طول دوره آزمایش، کاهش وزن در همه تیمارها دیده شد. با وجود کاهش وزن کرم‌های خاکی در همه تیمارها، بیش‌ترین تعداد مرگ و میر در تیمار شاهد دیده شد که عاری از لجن فاضلاب بود. به طور کلی نتایج نشان داد که استفاده از کرم‌های خاکی می-تواند نقش مهمی در پاکسازی فلزهای سنگین در خاک داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: آلودگی، پالایش، سرب، کادمیوم، لجن فاضلاب

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۳۶۴۱۱۸۰۳۵، پست الکترونیکی: Ebrahimi.soilphysic@yahoo.com

مقدمه

با پیشرفت صنعت، توسعه فناوری و افزایش جمعیت، گسترش آلودگی در مناطق صنعتی، معدنی و کشاورزی رشد چشم‌گیری داشته است. منابع طبیعی و زمین‌های کشاورزی در هر کشوری از جمله عوامل زیر بنایی اقتصادی آن کشور می‌باشند، اما با پیشرفت صنایع و کارخانه‌ها در دنیا سالانه مقادیر زیادی از آلاینده‌ها وارد محیط زیست شده و باعث بروز مشکلاتی در دنیا شده است. لذا هر گونه تغییر در ویژگی‌های اجزاء تشکیل دهنده محیط به صورتی که عملکرد طبیعی و تعادل زیستی آن را مختل کند و به شکل مستقیم و غیرمستقیم حیات موجودات زنده را به خطر اندازد آلودگی محیط‌زیست نامیده می‌شود (۴ و ۵). آلاینده‌ها با سلامت بشر مرتبط بوده و عناصر سنگین موجود در این آلاینده‌ها بیشترین نگرانی را به خود اختصاص می‌دهند، زیرا این عناصر سمی بوده و همچنین ماندگاری بالایی در طبیعت دارند (۲و ۱۰).

توجه به تأثیر اصلاح‌کننده‌های آلی و معدنی بر تثبیت فلزهای سنگین در خاک می‌تواند راه کار مفیدی در کنترل انتقال آلاینده‌ها باشد. از جمله اصلاح کننده‌های آلی می-توان به کرم‌های خاکی اشاره کرد. در بین میکروارگانیسم-های خاک، کرم‌های خاکی به عنوان فاکتورهای زیستی

گزارش شده‌اند که ممکن است بر تحرک و دسترسی زیستی فلزهای سنگین نقش داشته باشند (۲۴). کرم‌های خاکی می‌توانند در حل مشکل زباله‌های آلی کمک کنند. وجود زباله‌های آلی فاسد شونده باعث آلودگی منابع آب-های زیرزمینی می‌شود. کرم‌ها قادرند این زباله‌های آلی را خورده و در مقابل کود در اختیار ما قرار دهند (۲۶).

کرم‌های خاکی از اجزاء مهم زنده خاک بوده و از راه تجزیه مواد آلی و ترکیب آن با اجزاء خاک، منبع سرشار از مواد مغذی برای گیاهان ایجاد می‌کنند. همچنین با زیر و رو کردن خاک زیرین، محیط زراعی را تحت تأثیر قرار می‌دهند و طی این روند اختلاط خاک انجام شده و افزایش قابلیت نگهداری آب و بهبود تخلخل در خاک صورت می‌گیرد. کرم‌های خاکی سبب انتقال بقایای گیاهی و مواد آلی از سطح خاک به لایه‌های زیرین خاک می‌باشند و طی این روند بیش‌تر مواد آلی هضم شده شکسته و دفع می-شوند (۸). مدفوع کرم‌ها به طور معمول دارای pH بالاتر، نیترات، نیتروژن، کربنات‌کلسیم، مواد آلی و فسفر قابل-دسترس بیش‌تری نسبت به بقایای گیاهی می‌باشد. تعدادی از کرم‌های خاکی در شرایط نامساعد می‌میرند و اجساد آن‌ها در خاک مانده و پس از تجزیه مقدار زیادی ازت و مواد مغذی آزاد می‌شود (۱و ۶).

دای و همکاران (۱۱) در مطالعه‌ای روی خاک آلوده به فلزهای سنگین Cd، Pb، Zn و Cu از دو گونه کرم خاکی *Aporrectodea caliginosa* و *Lumbricus rubellus* به منظور بررسی اثر DTPA بر استخراج فلزهای سنگین استفاده کردند. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد فاکتور تجمع زیستی در گونه *Aporrectodea caliginosa* نسبت به گونه *Lumbricus rubellus* بیش‌تر بود و گونه *Aporrectodea caliginosa* توانست مقدار بیش‌تری از فلزهای سنگین را در بافت بدن خود ذخیره نماید. آقابابایی و همکاران (۳) تأثیر کرم‌خاکی را بر جزءبندی کادمیوم در خاک آلوده با کادمیوم بررسی کردند. نتایج فاکتور تجمع زیستی نشان داد کرم‌خاکی توانایی جذب کادمیوم را در خاک آلوده دارد. رورات و همکاران (۲۳) توانایی کرم‌خاکی گونه *Dendrobaena Venata* را در خاک آلوده به لجن فاضلاب مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه‌ی آزمایشگاهی پس از ۸ هفته، زنده‌مانی و تولید مثل کرم‌های خاکی در خاک آلوده با لجن فاضلاب در دو مقدار ۲۵ و ۵۰ درصد بررسی شد. نتایج نشان داد کرم‌های خاکی که در معرض خاک آلوده با لجن فاضلاب ۲۵ درصد بودند تولید مثل بیش‌تری نسبت به خاک شاهد و لجن فاضلاب ۵۰ درصد داشتند. وزن کرم‌های خاکی در گروه ۲۵ درصد افزایش داشت در حالی که در تیمار شاهد که منبع غذایی نداشتند و هم‌چنین تیمار ۵۰ درصد که مقدار زیادی لجن فاضلاب دریافت کرده بودند، کاهش وزن مشاهده شد. سینگ و کالامهاد (۲۵) از کرم خاکی گونه *Eisenia Fetida*، در خاک آلوده به فلزهای سنگین استفاده کردند. به گفته آن‌ها این گونه کرم خاکی در کاهش دسترسی زیستی فلزهایی مانند روی، نیکل، سرب و کادمیوم موثر بود. مطالعات فراوانی نشان داده است که کرم خاکی توانایی بالایی در جذب فلزهای سنگین در خاک را دارا است (۱۳، ۱۹، ۲۱، ۲۶و ۳۰). هدف از انجام این مطالعه بررسی اثر زمان و مقدار آلودگی بر فاکتور تجمع زیستی کرم خاکی گونه *Eisenia Fetida* و برخی از ویژگی‌های کرم خاکی در یک خاک آلوده است.

مواد و روشها

آماده سازی: لجن به کار رفته در این مطالعه از شهرک صنعتی بوعلی واقع در استان همدان تهیه شد. جهت انجام این پژوهش، پنج تیمار لجن فاضلاب شامل مقادیر متفاوتی از لجن فاضلاب ((S0)۰، (S10)۱۰، (S20)۲۰، (S30)۳۰، (S40)۴۰ و (S50)۵۰ تن بر هکتار) با سه تکرار انتخاب شد. در نمونه شاهد تمام ویژگی ثابت نگه داشته شد و تنها اختلاف آن با سایر تیمارها نبود لجن فاضلاب است. در همه تیمارها خاک و لجن به خوبی با هم مخلوط شده و سپس در ظروف پلاستیکی ریخته شدند. به منظور تثبیت

لجن در خاک، به مدت ۴۲ روز ظروف به حال خود رها شدند و در طی این مدت رطوبت ظروف کنترل شد. جهت بررسی از کرم‌های خاکی گونه *Eisenia fetida* استفاده شد. در ابتدا کرم‌های خاکی توزین شده و در هر ظرف محتوی ۵۰۰ گرم خاک، ۱۲ عدد کرم خاکی قرار داده شد و ظروف در انکوباتور نگهداری شدند. در طول دوره آزمایش، زنده-مانی و وزن کرم‌های خاکی هر هفته به مدت هشت هفته بررسی شد. همچنین روی دیواره‌ها و درب ظروف سوراخ‌هایی ایجاد کرده و همواره مقدار رطوبت خاک حفظ شد. پس از گذشت هشت هفته، کرم‌های خاکی از خاک جمع‌آوری شده، وزن شدند. بعد از تخلیه کامل روده، جهت تجزیه شیمیایی بافت‌های بدن کرم خاکی، کرم‌ها به مدت ۳ ساعت در آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. جهت تجزیه فلزهای سنگین بافت بدن کرم خاکی، از روش کاتز و جنیس (۱۵) استفاده شد.

فاکتور تجمع زیستی: فاکتور تجمع زیستی (BAF) در کرم خاکی توسط فرمول زیر محاسبه شد (۷):

$$BAF = \frac{C_{HMV}}{C_{HMS}} \quad (1)$$

C_{HMV}: غلظت فلزهای سنگین در بدن کرم خاکی،
C_{HMS}: غلظت کل فلزهای سنگین در خاک

فلزهای سنگین به وسیله‌ی دستگاه جذب اتمی (AAS= Atomic Absorption Spectrometer) مدل واریان۲۲۰ اندازه‌گیری شدند. pH و هدایت الکتریکی نمونه‌ها در نسبت ۱ به ۵ لجن به آب و خاک به آب اندازه‌گیری شد. درصد کربن آلی لجن به روش سوزاندن در کوره اندازه-گیری شد. در این روش ۲ گرم لجن خشک را وزن کرده و به مدت ۶ ساعت در دمای ۵۴۰ درجه سانتی‌گراد در کوره قرار داده شد. تغییر در وزن خشک لجن فاضلاب قبل و بعد از خاکستر کردن جهت محاسبه محتوی ماده آلی لجن در نظر گرفته شد. ماده آلی خاک به روش والکی- بلک (Walkley- Black) اندازه‌گیری شد. بافت خاک بر پایه قانون استوکس (Stocks Law) و به روش هیدرومتر تعین شد.

شمارش کرم خاکی: شمارش کرم های خاکی هر هفته به صورت دستی انجام شد. در هر هفته، وزن و زنده‌مانی کرم‌های خاکی بررسی و نتایج ثبت گردید.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS انجام شد. نمودارها در محیط Excel 2016 ترسیم شدند.

نتایج

نتایج تجزیه شیمیایی خاک مورد استفاده در جدول ۱ آمده است. pH خاک ۷/۶ و هدایت الکتریکی آن ۰/۲ (دسی-زیمنس برمتر) اندازه‌گیری شد. بیشترین غلظت فلزهای سنگین مربوط به عنصر روی با ۶۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم از خاک بوده است.

جدول ۱- ویژگی‌های شیمیایی خاک مورد استفاده

پارامتر	واحد	مقدار
pH	-	۷/۶±۰/۰۲
هدایت الکتریکی	دسی‌زیمنس بر متر	۰/۲±۰/۰۴
کربن آلی	درصد	۱/۷±۰/۰۶
شن	درصد	۵۰/۸±۲/۱
سیلت	درصد	۲۹/۸±۱/۰۱
رس	درصد	۱۹/۳±۰/۸
روی	میلی‌گرم بر کیلوگرم	۶۷/۵±۲/۳
مس	میلی‌گرم بر کیلوگرم	۳۲±۲/۹
نیکل	میلی‌گرم بر کیلوگرم	۶۳±۲/۴
کادمیوم	میلی‌گرم بر کیلوگرم	۲±۰/۷
سرب	میلی‌گرم بر کیلوگرم	۴۸/۸±۲/۲

نتایج تجزیه شیمیایی و غلظت کل فلزهای سنگین در لجن فاضلاب در جدول ۲ آمده است. pH لجن فاضلاب ۷/۳ حدوداً خنثی و هدایت الکتریکی آن ۱/۷ (دسی‌زیمنس بر-متر) اندازه‌گیری شد و کربن آلی لجن فاضلاب ۲۴ درصد بود. با توجه به نتایج به دست آمده لجن فاضلاب می‌تواند حاصل‌خیزی خاک را بهبود دهد، چرا که از نظر ماده آلی

غنی می‌باشد. غلظت روی در لجن‌فاضلاب ۴۴۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اندازه‌گیری‌شد که در مقایسه با مقدار استاندارد روی (۲۸۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم) بیشتر می‌باشد. می‌توان گفت فلز روی زیست فراهمی نسبتاً بالایی در لجن دارد. در این مطالعه غلظت کل کادمیوم ۵/۲ میلی‌گرم برکیلوگرم بود که نسبت به حدود مجاز ارایه شده کم‌تر است.

جدول ۲- ویژگی‌های اندازه‌گیری شده در لجن فاضلاب

پارامتر	واحد	مقدار	استاندارد
pH	-	۷/۳±۰/۰۲	-
هدایت الکتریکی	دسی‌زیمنس بر متر	۱/۷±۰/۰۱	-
کربن آلی	درصد	۲۴±۱/۲	-
روی	میلی‌گرم بر کیلوگرم	۴۴۴۰±۵/۱	۲۸۰۰
مس	میلی‌گرم بر کیلوگرم	۴۰۵±۳/۲	۱۵۰۰
نیکل	میلی‌گرم بر کیلوگرم	۹۹/۵±۱/۹	۱۵۰
کادمیوم	میلی‌گرم بر کیلوگرم	۵/۲±۰/۰۱	۳۹
سرب	میلی‌گرم بر کیلوگرم	۱۲۴/۶±۱/۲	۳۰۰

استاندارد USEPA503 آژانس حفاظت محیط زیست امریکا

جذب فلزهای سنگین در بدن کرم خاکی: در جدول ۳ نتایج غلظت فلزهای سنگین مختلف در بدن کرم‌ها در تیمارهای مختلف لجن فاضلاب آمده است. تجزیه بافت بدن کرم‌های خاکی به عنوان نمونه شاهد قبل از اینکه کرم به خاک آلوده اضافه شود، جهت مقایسه با زمانی که کرم خاکی در معرض خاک آلوده به لجن فاضلاب قرارگیرد، و همچنین نتایج تجزیه شیمیایی بافت بدن کرم خاکی در خاک آلوده به مقادیر متفاوت لجن فاضلاب در جدول ۳ ارایه شده است. نتایج به دست آمده نشان داد که کرم خاکی در طول مدتی که در معرض خاک آلوده به مقادیر متفاوت لجن فاضلاب قرار گرفت، توانست فلزهای سنگین را در بافت بدن خود ذخیره کنند که این امر سبب کاهش غلظت فلزهای‌سنگین در خاک می‌شود. با توجه به جدول ۳ کرم خاکی در تیمار ۲۰ تن بر هکتار لجن - فاضلاب، بیشترین جذب را برای همه فلزهای سنگین به جز کادمیوم داشت. بیش‌ترین جذب برای کادمیوم مربوط به تیمار ۳۰ تن بر هکتار بود. هرچند لجن فاضلاب به عنوان آلاینده‌ی حاوی فلزهای سنگین، ممکن است تأثیرات منفی بر جامعه زنده خاک داشته باشد، اما مقدار متوسط لجن فاضلاب استفاده شده در خاک (۲۰ و ۳۰ تن بر هکتار لجن فاضلاب)، مقدار مناسبی از نظر تأمین ماده غذایی برای کرم خاکی بود.

جدو ل ۳- غلظت کل فلزهای سنگین در بافت بدن کرم خاکی ($mg.kg^{-1}$)

تیمار ($t.ha^{-1}$)	روی	مس	نیکل	کادمیوم	سرب
شاهد	۸۷/۱±۱/۳^{c}	۱۹/۵±۱/۶^{a}	۴۷/۶±۰/۶^{ab}	۸/۱±۰/۴^{ab}	۵۵/۰±۱/۶^{ab}
۱۰	۹۹/۰±۱۲/۵^{bc}	۲۱/۱±۳/۶^{a}	۵۲/۵±۴/۱^{ab}	۸/۷±۰/۳^{ab}	۵۵/۴±۵/۱^{ab}
۲۰	۱۲۲/۷±۲۰/۹^{a}	۲۴/۴±۶/۲^{a}	۶۰/۲±۱۴/۸^{a}	۸/۴±۰/۷^{ab}	۶۳/۴±۷/۸^{a}
۳۰	۱۲۱/۲±۸/۹^{ab}	۱۸/۴±۰/۶^{a}	۵۱/۰±۴/۹^{ab}	۹/۳±۰/۵^{a}	۴۸/۰±۸/۳^{b}
۴۰	۱۱۸/۶±۸/۷^{ab}	۱۹/۰±۳^{a}	۴۷/۴±۱/۶^{ab}	۷/۷±۰/۴ ^{b}	۵۸/۶±۶/۶^{ab}
۵۰	۱۰۶/۱±۷/۸^{bc}	۲۰/۸±۰/۹^{a}	۴۴/۳±۲/۹^{b}	۸/۴±۰/۳^{ab}	۵۷/۶±۲/۷^{ab}

در هر ستون حروف غیر هم‌نام نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۱ درصد می‌باشد

فاکتور تجمع زیستی: نتایج مربوط به فاکتور تجمع زیستی در جدول ۴ نشان داده شده است. فاکتور تجمع زیستی میزان فلزهای تجمع یافته در بدن کرم‌خاکی را نشان می‌دهد. مقدار این فاکتور معمولاً با عدد یک مقایسه می‌شود.

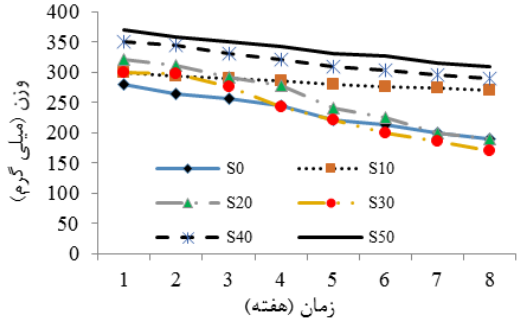
در صورتی که غلظت فلزهای سنگین در بافت بدن کرم خاکی بیش‌تر از خاک بستر باشد، مقدار فاکتور زیستی بزرگ‌تر از یک می‌شود و در صورتی که غلظت فلزهای سنگین در خاک بستر بیش‌تر از بافت بدن کرم خاکی باشد، این مقدار کم‌تر از یک می‌شود (۲۱). مقدار فاکتور زیستی برای کرم‌خاکی گونه *Eisenia fetida*، در تیمار شاهد و تیمارهای آلوده به مقادیر متفاوت لجن فاضلاب برای دو فلز روی و کادمیوم بزرگ‌تر از یک بود (جدول ۴). البته به جز تیمار ۵۰ تن بر هکتار لجن فاضلاب در فلز روی که مقدار آن برابر ۰/۹ به دست آمد.

جدول ۴- فاکتور تجمع زیستی در کرم خاکی

تیمار ($t.ha^{-1}$)	روی	مس	نیکل	کادمیوم	سرب
شاهد	۱/۳ ±۰/۰۶^{c}	۰/۶ ±۰/۰۷^{a}	۰/۷ ±۰/۰۳^{a}	۲/۴±۰/۰۶ ^{c}	۱/۱ ±۰/۰۲^{a}
۱۰	۱/۳ ± ۰/۰۲^{b}	۰/۶±۰/۰۴ ^{c}	۰/۵±۰/۰۶ ^{b}	۲/۶ ±۰/۰۵ ^{a}	۰/۳±۰/۰۱ ^{c}
۲۰	۱/۴ ±۰/۰۵ ^{a}	۰/۶± ۰/۰۴^{b}	۰/۵ ±۰/۰۵ ^{c}	۲/۳ ±۰/۰۶ ^{d}	۰/۳±۰/۰۲ ^{b}
۳۰	۱/۲± ۰/۰۲^{d}	۰/۴ ±۰/۰۱ ^{e}	۰/۴ ±۰/۰۳ ^{d}	۲/۵ ±۰/۰۴ ^{b}	۰/۲±۰/۱ ^{f}
۴۰	۱/۲±۰/۰۱ ^{e}	۰/۴±۰/۰۲ ^{e}	۰/۴±۰/۰۲^{e}	۱/۹±۰/۰۲^{f}	۰/۲ ±۰/۰۱^{d}
۵۰	۰/۹ ± ۰/۱^{f}	۰/۴ ±۰/۰۲^{d}	۰/۳ ±۰/۱ ^{f}	۲/۱±۰/۰۲ ^{e}	۰/۲ ±۰/۰۴^{e}

در هر ستون حروف غیر هم‌نام نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۱ درصد می‌باشد.

وزن کرم خاکی: نتایج مربوط به کاهش وزن کرم‌های خاکی در شکل ۱ ارایه شده است. کاهش وزن در کرم‌های خاکی در طول دوره آزمایش ادامه داشت و بیش‌ترین کاهش وزن مربوط به تیمارهای ۲۰ و ۳۰ تن بر هکتار لجن فاضلاب بود (شکل ۱). همان‌طور که در قسمت‌های قبلی اشاره شد، در این دو تیمار بیش‌ترین میزان جذب فلزهای سنگین وجود داشت. کرم‌های خاکی در تیمارهای ۲۰ و ۳۰ تن بر هکتار لجن فاضلاب، فعالیت بیش‌تری داشتند، هرچند آلودگی لجن فاضلاب سبب کاهش وزن کرم‌ها شد، اما کرم‌ها توانستند فلزهای سنگین بیشتری را جذب کنند.



شکل ۱- کاهش وزن کرم‌های خاکی در طول دوره آزمایش تحت تاثیر تیمارهای مختلف لجن فاضلاب

زنده‌مانی کرم خاکی: نتایج مربوط به زنده‌مانی کرم‌های خاکی در جدول ۵ ارایه شده است. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد خاک شاهد نسبت به تیمارهای مختلف لجن فاضلاب بیش‌ترین تعداد مرگ کرم‌های خاکی را داشت.

جدول ۵- زنده‌مانی کرم‌های خاکی در طول دوره آزمایش (۵۰۰ گرم خاک /تعداد)

تیمار ($t.ha^{-1}$)	شروع	هفته اول	هفته دو	هفته سه	هفته چهار	هفته پنج	هفته شش	پایان
شاهد	۱۲	۱۲	۱۰	۹	۷	۷	۶	۵
۱۰	۱۲	۱۲	۱۱	۱۱	۱۰	۱۰	۹	۹
۲۰	۱۲	۱۲	۱۲	۱۱	۱۰	۱۰	۱۰	۹
۳۰	۱۲	۱۲	۱۲	۱۱	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰
۴۰	۱۲	۱۲	۱۱	۱۱	۱۰	۱۰	۱۰	۹
۵۰	۱۲	۱۲	۱۲	۱۱	۱۱	۱۰	۱۰	۱۰

بحث

مطابق نتایج به دست آمده خاک اولیه از نظر فلزهای سنگین آلودگی ندارد و غلظت فلزهای سنگین خاک، کمتر از حد استاندارد می‌باشد. کرم خاکی علاوه بر تغذیه از ماده آلی لجن فاضلاب، در مقدار ۲۰ تن بر هکتار لجن توانست فعالیت بیش‌تر و در نتیجه تأثیر بیش‌تری در خاک داشته باشد که در نتیجه فعالیت بیش‌تر، کاهش فلزهای سنگین را به دنبال داشت. کرم‌های خاکی می‌توانند فلزهای سنگین را از خاک، در بافت بدن خود ذخیره کنند. به همین دلیل این موجودات به عنوان نشان‌گری جهت ارزیابی دسترسی زیستی فلزهای سنگین در خاک آلوده می‌باشند (۱۷). وانگ و همکاران (۲۹) بیان کردند که تجمع فلزهای در بدن کرم خاکی یک پدیده ویژه است. هرفلز یک مکانیسم و فرایند ویژه و مخصوص به خود را برای جذب و یا تجزیه در طول روده کرم‌خاکی دارد که فهمیدن این مکانیسم‌ها بسیار پیچیده می‌باشد.

در تیمار شاهد که عاری از لجن فاضلاب بود برای فلز سرب، مقدار فاکتور زیستی بیش‌تر از یک شد. در صورتی که برای فلزهای سنگین مس، نیکل و سرب، مقدار فاکتور زیستی تیمار شاهد کم‌تر از یک بود. مقدار فاکتور زیستی بستگی زیادی به گونه کرم‌خاکی دارد (۹). نتایج مطالعه دای و همکاران (۱۱) نشان داد بین دو گونه متفاوت کرم-خاکی *Aporrectodea caliginosa* و *Lumbricus rubellus*، مقدار فاکتور زیستی برای گونه *Aporrectodea caliginosa* بیش‌تر بود. آنها این تفاوت، را به تفاوت در توانایی گونه‌های مختلف کرم خاکی در تجمع فلزهای سنگین در بافت بدن خود، نسبت دادند.

لاکاری و همکاران (۱۸) در مطالعه خود روی کرم خاکی گونه *Eisenia Andrei* در خاک آلوده به آلاینده‌های معدنی، نتیجه گرفتند فاکتور تجمع زیستی برای فلزهای کروم و سرب کم‌تر از یک بود. که نشان دهنده عدم تجمع زیستی این دو فلز در بدن کرم‌خاکی است. اما این فاکتور برای کبالت و نیکل بیش‌تر از یک بود. در این مطالعه، مقدار فلز روی و کادمیوم جذب شده در بدن کرم خاکی نسبت به سایر عناصر بیش‌تر بود. همچنین این گونه کرم خاکی توانست مقدار بیش‌تری از این دو فلز را از خاک جذب بدن خود کند که همین امر سبب افزایش مقدار فاکتور زیستی بیش‌تر از یک برای دو فلز روی و کادمیوم شد. نتایج این مطالعه مشابه نتایج مورگان و مورگان (۲۰) بود که گزارش کردند فاکتور تجمع زیستی کرم‌خاکی برای فلز کادمیوم و روی بزرگ‌تر از یک بود. ساتار و همکاران (۲۷) گزارش کردند معدنی شدن ماده آلی در طول فعالیت و حضور کرم‌خاکی در خاک آلوده به فلزهای سنگین، دسترسی زیستی فلزهای سنگین را افزایش می‌دهد. این نتایج مطابق با یافته‌های وانگ و همکاران (۲۹) و هو و همکاران (۱۴) می‌باشد که دریافتند معدنی شدن مواد آلی در نتیجه اضافه شدن کرم خاکی به خاک آلوده، نقش مستقیمی در تحرک و دسترسی زیستی فلزهای سنگین دارد.

باتوجه به این‌که در طول دوره آزمایش هیچ ماده غذایی به خاک‌ها اضافه نشد، تنها منبع تغذیه‌ای کرم‌های خاکی، لجن فاضلاب اضافه شده به خاک بود. کرم‌های خاکی از لجن فاضلاب که ماده آلی زیادی داشت، به عنوان منبع تغذیه‌ای استفاده کردند. در تیمار ۴۰ و ۵۰ تن بر هکتار لجن فاضلاب که بیش‌ترین مقدار ماده آلی را داشتند، کم‌ترین کاهش وزن در کرم‌های خاکی دیده شد. کرم‌های خاکی در تیمار ۱۰ تن بر هکتار لجن فاضلاب در طول دوره آزمایش روند کاهش وزن منظمی را داشتند. در تیمار شاهد که هیچ لجن فاضلابی اضافه نشده بود، کاهش وزن کرم‌های خاکی تقریباً مشابه تیمارهای ۲۰ و ۳۰ تن لجن فاضلاب دیده شد. که احتمالاً این کاهش وزن در تیمار شاهد، به دلیل عدم وجود منبع تغذیه برای کرم‌ها بود. کور و همکاران (۱۶) بیان کردند وزن کرم‌های خاکی به طور مستقیم به میزان تغذیه کرم و جذب مواد غذایی تجزیه شده، بستگی دارد. همچنین گومز براندون و همکاران (۱۲) در مطالعه

خود نتیجه گرفتند رشد در کرم‌های خاکی به جامعه میکروبی و مقدار ماده غذایی در دسترس بستگی دارد.

نتایج مطالعه سینگ و کالامهاد (۲۵) نشان داد در طول دوره آزمایش، در خاک آلوده به فلزهای سنگین، وزن کرم‌های خاکی گونه *Eisenia fetida*، کاهش پیدا کرد. این پژوهشگران در آزمایش خود از کود دامی در خاک استفاده کردند و مشاهده کردند گروهی از کرم‌ها که بیش‌ترین مقدار کود دامی در بستر آن‌ها وجود داشت، در اواسط دوره آزمایش افزایش وزن پیدا کردند اما در نهایت، در پایان آزمایش به دلیل آلوده بودن خاک به فلزهای سنگین و کاهش فعالیت و تحمل کرم‌های خاکی، کاهش وزن در همه تیمارها مشاهده شد.

با توجه به میزان مرگ و میر کرم‌های خاکی در طول دوره آزمایش، می‌توان نتیجه گرفت لجن فاضلاب موجود در خاک، سبب کاهش میزان مرگ و میر شد. هرچند لجن فاضلاب دارای مقادیر زیادی فلزهای سنگین بوده است اما کرم‌های خاکی توانستند علاوه بر جذب فلزهای سنگین، در خاک آلوده زنده بمانند، زیرا کرم‌های خاکی از لجن فاضلاب به عنوان منبعی برای تغذیه استفاده کرده‌اند و در خاک شاهد که فاقد لجن فاضلاب بود، کرم‌های خاکی منبع تغذیه‌ای نداشتند که شاید همین دلیل سبب افزایش مرگ و میر در خاک شاهد شد. برینزا و همکاران (۷) در مطالعه‌ای نتیجه گرفتند که در خاک‌هایی که آلوده به فلز روی بودند، مرگ و میر کرم‌ها در طول دوره آزمایش افزایش پیدا کرد. همچنین آنها بیان کردند میزان زنده‌مانی و تحمل کرم‌های خاکی به گونه کرم‌خاکی، نوع فلز سنگین و مقدار فلزهای‌سنگین در خاک بستگی دارد. سیزمور و همکاران (۲۶) نیز نتیجه گرفتند که ممکن است وزن کرم-های خاکی در ابتدای آزمایش، بر مرگ کرم‌ها تأثیر گذار باشد. این پژوهشگران در مطالعه خود مشاهده کردند، در تیمارهایی که کرم‌های خاکی اضافه شده به آن در شروع آزمایش، وزن کم‌تری نسبت به سایر گروه‌ها داشتند، تعداد بیش‌تری از کرم‌های خاکی از بین رفتند. ویگ و همکاران (۲۸) در مطالعه خود مشاهده کردند بعد از گذشت ۳۰ روز از شروع آزمایش به تدریج جمعیت کرم‌های خاکی در خاک آلوده به فلزهای سنگین کاهش پیدا کرد. آن‌ها گزارش کردند که مرگ کرم‌های خاکی احتمالاً به دلیل تمام شدن ماده غذایی موجود در خاک بوده است، چرا که در طول دوره آزمایش هیچ ماده غذایی به خاک اضافه نشد و کرم‌های خاکی به مرور زمان با مصرف ماده آلی خاک و نبود ماده غذایی اضافه، از بین رفتند.

نتیجه‌گیری

کرم‌های خاکی در نتیجه فعالیت خود در خاک آلوده به لجن فاضلاب، ضمن استفاده از لجن فاضلاب به عنوان ماده غذایی، فلزهای سنگین موجود در خاک را در بافت-های بدن خود ذخیره کردند. بیش‌ترین مقدار جذب فلزهای سنگین توسط کرم‌های خاکی، مربوط به تیمار ۲۰ تن برهکتار لجن فاضلاب بود. فاکتور تجمع زیستی فقط برای دو فلز روی و کادمیوم بزرگ‌تر از یک بود که نشان می‌دهد این گونه کرم خاکی (*Eisenia fetida*) توانایی تجمع این دو فلز را در خاک آلوده به فلزهای‌سنگین دارد. در طول دوره آزمایش، کاهش وزن کرم‌های خاکی در همه تیمارها دیده شد. که دلیل آن عدم وجود ماده غذایی و همچنین آلوده بودن خاک به فلزهای‌سنگین بود. با وجود کاهش وزن کرم‌های خاکی در همه تیمارها، بیشترین تعداد مرگ و میر در تیمار شاهد دیده شد که عاری از لجن فاضلاب بود. کرم‌های خاکی گونه *Eisenia fetida* توانستند آلودگی فلزهای سنگین را در خاک تحمل کنند و از لجن فاضلاب به عنوان ماده غذایی استفاده کنند.

منابع

۱- رسایی، ن. م.، بیابانی، ع.، قلی‌زاده، ع.، وفایی تبار، م. ا.، و اعتصامی، م.، ۱۳۹۵. مطالعه کرم خاکی *Eisenia fetida* و اثرات آن بر ویژگی‌های شیمیایی ورمی کمپوست تولیدی در بسترهای مختلف گیاهی، مجله پژوهشهای جانوری (مجله زیست شناسی ایران)، ۲۹(۲)، صفحات ۱۷۸-۱۸۵.

۲- محمدی گلنگش، م.، کوپی، م.، و بانی، ع.، ۱۳۹۸. توانایی تجمع فلزات سنگین در پوسته دوکفه‌ای *Cerastoderma lamarcki* در سواحل جنوب غربی دریای خزر، استان گیلان، مجله پژوهشهای جانوری (مجله زیست شناسی ایران)، ۳۲(۲)، صفحات ۱۲۹-۱۴۱

3- Aghababaei, F., Raiesi, F., and Hosseinpur, A., 2014. The influence of earthworm and mycorrhizal co-inoculation on Cd speciation in a contaminated soil, Soil Biology and Biochemistry, 78, PP: 21-29 .

4- Alamgir, M., 2016. The effects of soil properties to the extent of soil contamination with metals. In Environmental Remediation Technologies for Metal-Contaminated Soils , PP:1-19. Springer .

5- Alloway, B., 1990. Heavy Metal in soils Blackie Glasgow UK .

6- Bohlen, P. J., and Edwards, C. A., 1995. Earthworm effects on N dynamics and soil respiration in microcosms receiving organic and inorganic nutrients, Soil Biology and Biochemistry, 27(3), PP: 341-348 .

7- Brinza, L., Quinn, P. D., Schofield, P. F., Mosselmans, J. F. W., and Hodson, M. E., 2013. Incorporation of strontium in earthworm-secreted calcium carbonate granules produced in strontium-amended and strontium-bearing soil, Geochimica et Cosmochimica Acta, 113, PP: 21-37 .

8- Caravaca, F., and Roldan, A., 2003. Assessing changes in physical and biological properties in a soil contaminated by oil sludges under semiarid Mediterranean conditions, Geoderma, 117(1-2), PP: 53-61 .

9- Cortet, J., Gomot-De Vauflery, A., Poinsot-Balaguer, N., Gomot, L., Texier, C., and Cluzeau, D. 1999. The use of invertebrate soil fauna in monitoring pollutant effects. European Journal of Soil Biology, 35(3), PP: 115-134 .

10- Cui, Y., Zhu, Y. G., Zhai, R., Huang, Y., Qiu, Y., and Liang, J., 2005. Exposure to metal mixtures and human health impacts in a contaminated area in Nanning, China. Environment international, 31(6), PP: 784-790 .

11- Dai, J., Becquer, T., Rouiller, J. H., Reversat, G., Bernhard-Reversat, F., Nahmani, J., and Lavelle, P., 2004. Heavy metal accumulation by two earthworm species and its relationship to total and DTPA-extractable metals in soils. Soil Biology and Biochemistry, 36(1), PP: 91-98 .

12- Gómez-Brandón, M., Lores, M., and Domínguez, J., 2013. Changes in chemical and microbiological properties of rabbit manure in a continuous-feeding vermicomposting system. Bioresource technology, 128, PP: 310-316 .

13- Hashemi, H., Khodabakhshi, A., Alinia, B., and Abbasi, F., 2018. Bioremediation of lead and zinc contaminated soils by compost worm, Journal of Health Sciences and Surveillance System, 6(2), PP: 58-63 .

14- Hsu, M., Selvaraj, K., and Agoramoorthy, G., 2006. Taiwan's industrial heavy metal pollution threatens terrestrial biota, Environmental pollution, 143(2), PP: 327-334 .

15- Katz, S., and Jenniss, S., 1983. Regulatory compliance monitoring by atomic absorption spectroscopy .

16- Kaur, A., Singh, J., Vig, A. P., Dhaliwal, S., and Rup, P. J. 2010. Cocomposting with and without Eisenia fetida for conversion of toxic paper mill sludge to a soil conditioner. Bioresource technology, 101(21), PP: 8192-8198 .

17- Lapinski, S., and Rosciszewska, M. 2008. The impact of cadmium and mercury contamination on reproduction and body mass of earthworms. Plant Ssoil and Environment, 54(2), PP: 61.

18- Lukkari, T., Teno, S., Väisänen, A., and Haimi, J., 2006. Effects of earthworms on decomposition and metal availability in contaminated soil: microcosm studies of populations with different exposure histories. Soil Biology and Biochemistry, 38(2), PP: 359-370 .

19- Ma, Y., Dickinson, N., and Wong, M., 2002. Toxicity of Pb/Zn mine tailings to the earthworm Pheretima and the effects of

burrowing on metal availability. Biology and Fertility of Soils, 36(1), PP: 79-86 .

20- Morgan, J., and Morgan, A., 1999. The accumulation of metals (Cd, Cu, Pb, Zn and Ca) by two ecologically contrasting earthworm species (Lumbricus rubellus and Aporrectodea caliginosa): implications for ecotoxicological testing, Applied Soil Ecology, 13(1), PP: 9-20 .

21- Latif, R., Malek, M., and MacKenzie, K., 2011. Eiseniella tetraedra (Savigny) (Oligochaeta: Lumbricidae) as a bioindicator of heavy metals, Toxicological and Environmental Chemistry, 93(8), PP: 1643-1649.

22- Pattnaik, S., and Reddy, M. V., 2011. Heavy metals remediation from urban wastes using three species of earthworm (Eudrilus eugeniae, Eisenia fetida and Perionyx excavatus), Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology, 3(14), PP: 345-356 .

23- Rorat, A., Kacprzak, M., Vandenbulcke, F., and Płytycz, B., 2013. Soil amendment with municipal sewage sludge affects the immune system of earthworms Dendrobaena veneta, Applied Soil Ecology, 64, PP: 237-244 .

24- Ruiz, E., Alonso-Azcárate, J., and Rodríguez, L., 2011. Lumbricus terrestris L. activity increases the availability of metals and their accumulation in maize and barley, Environmental pollution, 159(3), PP: 722-728.

25- Singh, J., and Kalamdhad, A. S., 2013. Effect of Eisenia fetida on speciation of heavy metals during vermicomposting of water hyacinth. Ecological engineering, 60, PP: 214-223 .

26- Sizmur, T., Palumbo-Roe, B., Watts, M. J., and Hodson, M. E., 2011. Impact of the earthworm Lumbricus terrestris (L.) on As, Cu, Pb and Zn mobility and speciation in contaminated soils, nvironmental pollution, 159(3), PP: 742-748 .

27- Suthar, S., Sajwan, P., and Kumar, K., 2014. Vermiremediation of heavy metals in wastewater sludge from paper and pulp industry using earthworm Eisenia fetida. Ecotoxicology and environmental safety, 109, PP: 177-184 .

28- Vig, A. P., Singh, J., Wani, S. H., and Dhaliwal, S. S., 2011. Vermicomposting of tannery sludge mixed with cattle dung into valuable manure using earthworm Eisenia fetida (Savigny). Bioresource technology, 102(17), PP: 7941-7945 .

29- Wang, L., Zhang, Y., Lian, J., Chao, J., Gao, Y., Yang, F., and Zhang, L., 2013. Impact of fly ash and phosphatic rock on metal stabilization and bioavailability during sewage sludge vermicomposting. Bioresource technology, 136, PP: 281-287 .

30- Wen, B., Hu, X., Liu, Y., Wang, W, Feng, M., and Shan, X., 2004. The role of earthworms (Eisenia fetida) in influencing bioavailability of heavy metals in soils, Biology and Fertility of Soils, 40(3), PP: 181-187.

Investigating the effect of time and concentration of heavy metals in the soil on the bioaccumulation factor and Survival of *Eisenia foetida*

Rahimi Gh.[1] and Ebrahimi E.[2]

[1] **Dept. of Soil science, Faculty of Agriculture, Bu Ali Sina University, Hamadan, I.R. of Iran**

[2] **Dept. of Soil Science, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, I.R. of Iran**

Abstract

In recent years, earthworms have been used to clean soil contaminated with heavy metals. The aim of this study was to investigate the Bioaccumulation factor of earthworms in soils contaminated with heavy metals. The sewage sludge added to soil at levels of 0, 10, 20, 30, 40 and 50 tons per hectare. Earthworm (*Eisenia foetida*) was added to the polluted soil in order to study the effect of organic amendments. The total concentration and fractionation of heavy metals, the weight and mortality of earthworm were evaluated after 42 days. Sampling of earthworms was performed at eight weeks. The maximum accumulation of heavy metals by earthworms was found in 20 tons per hectare treatment. Bioaccumulation factor was more than 1 for the zinc and cadmium which shows the ability of earthworm (*Eisenia foetida*) for accumulation of these metals in the contaminated soil with heavy metals. The loss of weight was found for all treatment during the experimental period. Despite earthworm weight loss in all treatments, the highest number of deaths was observed in the control group which were free of sewage sludge. In general, the results showed that the use of earthworms could play an important role in clearing heavy metals in the soil.

Key words: Pollution, Refining, Lead, Cadmium, Sewage Sludge