نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۷، شماره ۵، آذر – دی ۱۳۹۲، ص. ۹۶۲-۹۴۹

Journal of Water and Soil
Vol. 27, No.5, Nov.-Dec. 2013, p. 949-962

اثر کرم‌خاکی و قارچ میکوریزا بر زیست‌توده میکروبی و فعالیت آنزیمی در خاک‌های آلوده شده به کادمیم در کشت آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.)

فاطمه آقابابایی[1*]- فایز رئیسی[2]- علیرضا حسین‌پور[3]

تاریخ دریافت:۱۳۹۱/۱۰/۳۰
تاریخ پذیرش:۱۳۹۲/۷/۷

چکیده

موجودات زنده خاک مانند کرم‌های خاکی و قارچ‌های میکوریزا آربسکولار نقش مهمی در پایداری اکوسیستم و زیست فراهمی عناصر به‌ویژه فلزات سنگین در خاک دارند. جهت بررسی اثرات این موجودات زنده بر زیست‌توده میکروبی، فعالیت آنزیمی و تنفس در خاک‌های آلوده شده به کادمیم، یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در شرایط گلخانه اجرا شد. اثرات کرم‌خاکی (*Lumbricus rubellus* و بدون کرم‌خاکی) و قارچ میکوریزا آربسکولار (*Glomus intraradices*, *Glomus mosseae* و بدون میکوریزا) به‌طور جداگانه و باهم بر ماده آلی، کربن آلی محلول، تنفس خاک، کربن زیست توده میکروبی، فعالیت آنزیم اوره‌آز، فسفاتاز قلیایی و پروتئین گلومالین خاک در خاک‌های آلوده شده با صفر، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک، در کشت گیاه آفتابگردان با سه تکرار مطالعه شد. نتایج نشان داد هر دو موجود کرم‌خاکی و قارچ میکوریزا در خاک‌های آلوده زنده ماندند. به‌طور کلی آلودگی کادمیم فعالیت‌های میکروبی خاک را کاهش داد. کرم خاکی کربن آلی محلول را در سطوح مختلف کادمیم ۱۰-۴ درصد افزایش داد. مقدار کربن زیست‌توده میکروبی در تیمارهای میکوریزایی ۲/۴-۱/۹ برابر تیمارهای غیرمیکوریزایی بود و نسبت آن به کربن آلی خاک از ۲۳ درصد در خاک‌های غیرآلوده تا ۵۳ درصد در خاک‌های آلوده افزایش یافت. آلودگی کادمیم نسبت فعالیت آنزیمی خاک به کربن زیست‌توده میکروبی را کاهش داد ولی کرم‌خاکی و قارچ میکوریزا این نسبت‌ها را به‌ترتیب ۱۸-۱۰ و ۵۴-۴۰ درصد در فسفاتاز قلیایی و ۹-۴ و ۵۵-۴۰ درصد در اوره‌آز کاهش دادند. در سطح ۲۰ mg kg^{-1} کادمیم تولید گلومالین توسط دو گونه قارچ اختلاف معنی‌دار داشت و در گونه *G. mosseae* ۱۵ درصد بیشتر بود. تنفس خاک نیز اگرچه با افزایش سطح آلودگی کاهش داشت ولی بر اثر فعالیت کرم‌خاکی و قارچ میکوریزا افزایش یافت.

واژه‌های کلیدی: کادمیم، کرم‌خاکی، قارچ میکوریزا آربسکولار، کربن زیست توده میکروبی، فسفاتاز قلیایی، اوره‌آز، تنفس خاک

مقدمه

آلودگی محیط‌زیست یکی از مهمترین دغدغه‌های بشر است که سلامت انسان‌ها و سایر موجودات زنده را به خطر انداخته است. یکی از انواع آلاینده‌های سمی مهم در محیط‌زیست، به‌ویژه خاک، آلودگی فلزات سنگین است. آلودگی خاک به فلزات سنگین به سرعت طی دهه‌های اخیر روبه افزایش بوده و در حال حاضر تقریباً ده درصد از خاک‌های کره زمین آلوده به فلزات سنگین هستند (۱۶). کادمیم یکی از فلزات سنگین بسیار سمی است و به شدت بر سیستم‌های زیستی و حیاتی سلول زنده اثر منفی می‌گذارد. این عنصر به دلیل قدرت تحرک بالا در خاک‌ها و توانایی ایجاد مسمومیت شدید در موجودات زنده، حتی در غلظت‌های بسیار پایین، به شدت حائز اهمیت است (۱۲). اگرچه کادمیم به‌طور طبیعی در همه خاک‌ها به مقدار اندک وجود دارد ولی سطوح بالای آن نیز در برخی از محیط‌ها مشاهده شده است (۳). غلظت طبیعی Cd قابل جذب در خاک برابر با ۱/۱-۰/۰۶ mg kg^{-1} می‌باشد و در خاک‌های آلوده به ۳۱۷ mg kg^{-1} نیز می‌رسد (۴۲). نتایج اغلب مطالعات نشان داده‌اند که افزایش غلظت Cd قابل جذب در خاک سبب کاهش فعالیت میکروبی، جمعیت میکروبی (زیست‌توده)، تنوع زیستی میکروبی، سرعت بازچرخ عناصر، تجزیه مواد آلی و فعالیت آنزیمی خاک می‌گردد (۳۱). لذا بسیار مهم است که فرایندهای متابولیکی خاک و آنزیم‌های کلیدی در چرخه عناصر غذایی مهم خاک در زمین‌های آلوده به فلزات سنگین مورد بررسی قرار گیرند (۴۰).

از سوی دیگر یک‌سری موجودات زنده در خاک قادر به تحریک و افزایش فعالیت‌های میکروبی خاک بوده و فعالیت انواع آنزیم‌ها را در

۱، ۲ و۳-به ترتیب دانشجوی دکتری و استادان گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد
(*- نویسنده مسئول: Email:aghababaei_fateme90@yahoo.com)

خاک تشدید می‌کنند. قارچ میکوریزا آربسکولار و کرم‌خاکی از جمله این موجودات هستند. آنها در تغییر و تحولات عناصر سنگین مؤثرند (۵ و ۶). پیش از این مشخص شده که قارچ‌های میکوریزا قادر به جذب کادمیم و ترسیب آن در دیوار سلولی خود هستند (۲۰ و ۲۵). گزارش‌های متعدد و گاهی متفاوت در خصوص تأثیر قارچ‌های میکوریزا بر جذب عناصر سنگین توسط خود آنها و یا توسط گیاه میزبان آنها وجود دارد (۲۰ و ۲۶). قارچ‌های میکوریزا موجب عدم اختلاف زیست‌توده اندام هوایی گل همیشه بهار در شرایط آلودگی کادمیم نسبت به شرایط بدون کادمیم شده و جذب آن را کاهش داده‌اند (۳۶). آنها همچنین نسبت کادمیم ریشه به اندام هوایی را افزایش می‌دهند (۱۱). جذب و انباشت زیستی فلزات سنگین به‌وسیله میسلیوم‌ها، اندام‌های زایشی و سایر اندام‌های گونه‌های اکتومیکوریزا به خوبی به اثبات رسیده است (۲۹). پروتئین‌های درشت موجود در سلول قارچ میکوریزا قادر به جذب فلزات سنگین مانند روی، مس و کادمیم می‌باشند و به این طریق آنها به عنوان یک مانع بیولوژیکی موجب کاهش تحرک فلزات سنگین و حرکت آنها به سوی بافت‌های گیاه می‌شوند (۱). ترکیبات دیواره سلولی قارچ‌های خاک مانند گروه‌های آزاد آمینو، هیدروکسیل، کربوکسیل و سایر گروه‌ها می‌توانند به عناصر سمی مانند Cu، Pb و Cd متصل و آنها را نگهدارند (۳۰). گنزالزچاوز و همکاران (۴۳) بیان کردند گلومالین، گلیکوپروتئین تولید شده توسط هیف‌های آربسکولار میکوریزا، قادر به توقیف و نگهداری این عناصر سمی می‌باشد. البته جذب فلزات سنگین به پایداری و عدم تخریب خاکدانه‌ها نیز بستگی دارد که گلومالین یکی از عوامل مؤثر بر پایداری این خاکدانه‌ها می‌باشد. اگرچه ریسه‌های برون سلولی قارچ‌های میکوریزا نقش مهمی در جذب فلزات سنگین و انتقال آنها به گیاه میزبان دارند (۱۳)، ولی گلومالین نقش حیاتی در انتخاب، جداسازی و توقیف فلزات سنگین و کاهش قابلیت دسترسی آنها برای گیاه دارد (۲۳). شاید تولید گلومالین توسط سیستم میکوریزایی برای پاک‌سازی خاک‌های آلوده به فلزات سنگین بسیار با اهمیت باشد، چراکه جذب این فلزات را توسط گیاهان کاهش می‌دهد (۳۲). با این وجود، اطلاعات دقیق در خصوص اثر و نقش قارچ‌های میکوریزا آربسکولار در خاک‌های آلوده به کادمیم بسیار اندک است.

کرم‌های خاکی نیز به عنوان شاخص بیولوژیک خاک‌های آلوده ممکن است زیست‌فراهمی عناصر سنگین را کاهش و یا افزایش دهند (۱۵ و ۳۸). کرم‌های خاکی می‌توانند به صورت مستقیم یا غیر مستقیم از طریق تغذیه، حفر کانال، تولید فضولات و یا سایر فعالیت‌های متابولیک، بر وضعیت و گونه شیمیایی فلزات سنگین در خاک تأثیر بگذارند. این جانوران خاکزی گاهی سبب کاهش سمیت‌های محیطی از طریق جمع‌آوری عناصر سمی در بدن خود بوده‌اند (۴۸ و ۴۹). رابطه نزدیک بین غلظت فلزات سنگین در بافت‌های بدن کرم خاکی و غلظت آنها در محیط خاک وجود دارد (۵۰)، به‌طوری که غلظت کادمیم در بدن گونه‌های مختلف کرم‌های خاکی ۱۸۸-۶/۳ برابر محیط خاک است (۱۵). غلظت کادمیم در بدن کرم خاکی (*L. rubellus* L.) بیش از ده برابر محیط خاک است (۲۴). به‌طوری که تجزیه شیمیایی کرم‌های خاکی جمع‌آوری شده از مناطق آلوده به فلزات سنگین شاخصی برای تعیین زیست فراهمی فلز آلاینده در آن خاک‌هاست (۳۹). وانگ و همکاران (۵۳) دریافتند با افزایش مدت زمان آلودگی کادمیم در خاک، کرم‌های خاکی بیان ژن‌های مقاومت به مسمومیت کادمیم را در بدن خود افزایش می‌دهند. از جهت دیگر یو و همکاران (۵۶) دریافتند زمانی که آلودگی کادمیم تا سطح $20\ mg\ kg^{-1}$ افزایش یابد، کرم‌های خاکی جذب کادمیم را در ریشه گیاه کاهش می‌دهند. ولی رویز و همکاران (۴۴) نشان دادند فعالیت کرم خاکی زیست فراهمی فلزات سنگین را در خاک افزایش می‌دهد. افزایش زیست‌فراهمی فلزات سنگین موجب افزایش جذب آنها توسط میکروب‌های خاک و گیاه می‌گردد که مسمومیت آنها را به دنبال خواهد داشت. از این‌رو حضور کرم‌های خاکی از یک سو موجب افزایش فعالیت ریزجانداران می‌گردد ولی از سوی دیگر موجب افزایش احتمال مسمومیت خودش و آنها در خاک‌های آلوده می‌شود. لذا بررسی تأثیر کرم‌خاکی و قارچ میکوریزا بر تغییرات ویژگی‌های بیولوژیکی خاک در شرایط آلودگی کادمیم ضروری به نظر می‌رسد. این پژوهش به‌منظور بررسی نقش قارچ میکوریزا و کرم خاکی به تنهایی و باهم در کشت گیاه آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) بر تغییرات برخی ویژگی‌های بیولوژیکی خاک آلوده شده به سطوح مختلف کادمیم انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق سه فاکتور شامل قارچ میکوریزا (*Glomus intraradices*، *Glomus mosseae* و شاهد) به عنوان فاکتور اول، کرم خاکی (*Lumbricus rubellus* L.) (با و بدون کرم خاکی) به عنوان فاکتور دوم و سطوح مختلف کادمیم (۰، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک) به عنوان فاکتور سوم در سه تکرار مطالعه شد. جهت ارزیابی روابط بین ویژگی‌های خاک مورد نظر و تیمارهای اعمال شده (قارچ میکوریزا، کرم خاکی و سطوح کادمیم) آزمایش به صورت فاکتوریل ۳×۲×۳ در قالب طرح کاملاً تصادفی در شرایط گلخانه اجرا شد.

برای سهولت جدا سازی ریشه گیاهان و خاک ریزوسفر و همچنین افزایش کلونیزاسیون میکوریزا، خاکی با بافت لوم شنی از اراضی کشاورزی حاشیه رودخانه زاینده‌رود جمع‌آوری شد. این خاک پس از عبور از الک ۲ میلی‌متری توسط بخار آب و در اتوکلاو (دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۲ اتمسفر) به مدت یک ساعت سترون شد.

جدول ۱- برخی خصوصیات شیمیایی و فیزیکی خاک مورد آزمایش

شن	سیلت	رس	CCE	O.C	N_t	بافت	pH	ECe	P_{ava}	K_{ava}	Cd_{ava}	CEC
٪								$dS\ m^{-1}$	$mg\ kg^{-1}$			$Cmol+\ kg^{-1}$
۷۲	۱۲	۱۶	۱۹	۰/۲۸	۰/۰۶	لوم شنی	۸/۱	۰/۲۰	۵/۷	۱۶۸	۰/۰۲	۱۹/۷

تیمارهای صفر، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک به‌وسیله نمک کلرید کادمیم ($CdCl_2$) اعمال شد. سپس به منظور ایجاد حالت تعادل و یا شبه تعادل بین کادمیم اضافه شده و خاک، و نزدیک‌تر بودن خاک مورد آزمایش به شرایط طبیعی کلیه گلدان‌ها به مدت ۴ ماه در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ظرفیت مزرعه خوابانده شدند. برخی خصوصیات خاک مورد آزمایش در جدول ۱ گزارش شده است.

پس از اتمام زمان انکوباسیون، گیاهچه‌های آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) که تیمارهای میکوریزا (*G. intraradices*، *G. mosseae* و بدون میکوریزا) را دریافت کرده بودند از سینی نشا به گلدان‌ها انتقال داده شدند. مایه تلقیح قارچ میکوریزا از نوع خاک و در هر گرم از آن ۵۰ عدد اسپور قابل شناسایی قارچ و ۱۵ سانتی‌متر ریشه کلونیزه شده بود. دو هفته پس از استقرار گیاهان تعداد ۴ عدد کرم خاکی لامبریکاس روبلوس (*L. rubellus* L.) به طول ۷۱-۴۹ سانتی‌متر متعلق به گروه اکولوژیکی اندوجئیک به نیمی از گلدان‌ها اضافه شد. برای افزایش جمعیت میکروبی خاک، میزان ۱۰۰۰ گرم خاک تازه با ۳ لیتر آب مقطر استریل عصاره‌گیری شد و پس از عبور دادن سوسپانسیون حاصل از صافی ۲۵ میکرومتر جهت جداسازی کلیه اسپورهای قارچی، به خاک هر گلدان مقدار ۲۵ میلی‌لیتر از آن اضافه گردید (۴۵). پس از گذشت ۳ ماه از دوره رشد خاک ریزسفر با تکان دادن بخش زیرزمینی گیاه جدا و برای سنجش‌های بیولوژیکی مورد استفاده قرار گرفت.

در تمامی واحدهای آزمایشی برای ماندگاری کرم‌های خاکی معادل ۱/۵ درصد ماده آلی به شکل بقایای گیاه یونجه اضافه شد. در پایان آزمایش میزان ماده آلی (OM[1]) در خاک گلدان‌ها اندازه‌گیری و درصد آن تعیین گردید. برای اندازه‌گیری میزان ماده آلی خاک، مقدار کربن آلی با روش اکسایش تر تعیین شد (۴۱). برای تعیین کربن آلی محلول (DOC[2]) در خاک ابتدا عصاره تهیه و سپس غلظت کربن محلول در این عصاره‌ها تعیین شد. بدین ترتیب که از محیط اطراف ریزوسفر در هرگلدان یک نمونه یک گرمی توزین و مقدار ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۲ ساعت تکان داده شدند. برای آنکه فقط کربن موجود در محلول خاک عصاره‌گیری شود و نه کربن موجود در بدن موجودات زنده، سوسپانسیون با استفاده از کاغذ صافی غشائی با اندازه سوراخ‌های ۴ میکرومتر صاف شد (۲۱، ۲۷ و ۵۸). در پایان کربن موجود در این عصاره با روش اکسایش تر تعیین گردید (۴۱). تنفس خاک (تنفس ریشه به اضافه تنفس میکروبی) نیز به روش اندرسون (۵) در ۸ مرحله به صورت هفته‌ای طی دوره رشد و در جا اندازه‌گیری شد. تنفس خاک به صورت $g\ CO_2-C$ در مترمربع خاک به صورت هفتگی محاسبه شد. در پایان آزمایش گلخانه‌ای، زیست‌توده میکروبی (MBC[3]) در خاک گلدان‌ها به روش تدخین-عصاره‌گیری اندازه‌گیری شد.

میزان گلومالین ($Glom.$[4]) کل خاک با روش برادفورد (Bradford) با استفاده از استاندارد آلبومین سرم گاوی تعیین شد (۵۵). سپس برای آن‌که تنها گلومالین تولید شده در طول دوره آلودگی بررسی شود مقدار گلومالین موجود در خاک شاهد از کلیه تیمارها کسر و مقدار گلومالین در نمونه شاهد صفر در نظر گرفته شد. پس از جداسازی گلومالین و تعیین مقدار آن، دوباره در pH=۲/۵ حل و پس از هضم در اسید نیتریک غلیظ مقدار Cd آن توسط دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد (۲۳). فعالیت آنزیم اوره‌آز (Urease) با روش طباطبائی و برمنر (۵۱) و آنزیم فسفاتاز قلیایی (ALP[5]) به روش عیوضی و طباطبائی (۱۷) اندازه‌گیری گردید.

جهت تجزیه واریانس و استفاده از ANOVA، ابتدا داده‌ها برای تأمین پیش شرط‌های تجزیه واریانس (توزیع نرمال و همگنی واریانس) مورد ارزیابی قرار گرفت. داده‌های بعضی از ویژگی‌های اندازه‌گیری شده که فاقد توزیع نرمال بودند، با کمک روش Box-Cox تبدیل شدند. مقایسه میانگین‌ها به روش توکی در سطح احتمال پنج درصد ($p<۰/۰۵$) توسط نرم افزار آماری Minitab16 انجام گرفت. اگرچه تجزیه‌های آماری و مقایسه میانگین‌ها با داده‌های تبدیل شده انجام شد ولی میانگین‌ها و ضرایب همبستگی تبدیل نشده و اصلی گزارش شده‌اند.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که آلودگی کادمیم به غیر از درصد ماده آلی سایر ویژگی‌های خاک مورد بررسی را به‌طور معنی‌دار در سطح یک درصد ($p<۰/۰۱$) تغییر داد (جدول ۲) و چون

1- Organic Matter
2- Dissolvel Organic Carbon
3- Microbial Biomass Carbon
4- Glomalin
5- Alkaline Phosphatase

اثر متقابل سه گانه کادمیم، کرم‌خاکی و قارچ میکوریزا معنی‌دار نبود (جدول ۲)، لذا تجزیه و تحلیل آماری تیمارهای کرم‌خاکی و قارچ میکوریزا به‌طور جداگانه در سطوح مختلف کادمیم انجام گرفت (جدول ۳).

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس اثر کادمیم، کرم‌خاکی و قارچ میکوریزا در خاک آلوده به کادمیم بر ویژگی‌های خاک

ویژگی	فاکتور								C.V	MSe	Box-Cox λ
	کادمیم(Cd)	کرم‌خاکی(E)	قارچ میکوریز(AM)	Cd×E	Cd×AM	E×AM	Cd×E×AM				
●درصد ماده آلی خاک (OM%)	۰/۰۰۳۲	۰/۱۷۲۱**	۰/۰۰۱۵	۰/۰۰۰۹	۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۰۵		۶/۴۰	۰/۰۰۱۶	-۱/۴۷
●کربن آلی محلول (DOC)	۶۵۱۹**	۱۰۰۲**	۲۴۶*	۴۶/۷۴	۶۶/۰۲	۷۳/۹۶	۳۹/۲		۶/۸۴	۶۵/۸	۱/۳۲
DOC/OC	۰/۵۲۱**	۱/۳۹**	۰/۰۴۸	۰/۰۳۳	۰/۰۰۹	۰/۰۰۱	۰/۰۰۸		۹/۶۸	۰/۰۱۵	–
●کربن زیست‌توده میکروبی (MBC)	۹/۹۴**	۰/۱۲۰*	۲/۷۷**	۰/۰۲۱	۰/۰۱۲	۰/۰۲۲	۰/۰۱۷		۲/۷۲	۰/۰۲۶	۰/۱۷
MBC/OC●	۵/۰۳**	۰/۸۶۵**	۱/۴۰**	۰/۰۵۲	۰/۰۹۷**	۰/۰۱۴	۰/۰۰۴		۷/۲۱	۰/۰۲۰	۰/۶۸
●آنزیم فسفاتاز قلیایی (ALP)	۴/۳۰e-۱۳**	۴/۳۹e-۱۴**	۷/۴۱e-۱۵*	۱/۹۵e-۱۶	۱/۹۶e-۱۵	۱/۹۹e-۱۵	۱/۹۵e-۱۶		۱۲/۹	۱/۹۲e-۱۵	-۲/۹۳
ALP/MBC●	۰/۰۰۳۴**	۰/۰۰۲۹**	۰/۰۰۱۳**	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱		۷/۵۵	۰/۰۰۰۱	-۳/۰
آنزیم اوره‌آز(Urease)	۹/۶۹۲**	۶/۱۳۴**	۰/۵۱۵۸**	۰/۳۳۲۸**	۰/۳۶۴۹**	۰/۸۲۶۲**	۰/۶۴۶		۴/۰۱	۰/۰۳۷	–
Urease/MBC●	۶/۲۸**	۰/۰۱۷	۲/۷۳**	۰/۰۱۰	۰/۰۲۶	۰/۰۸۰	۰/۰۱۸		۶/۴۱	۰/۰۲۹	-۰/۱۵
گلومالین (Glom.)	۹۷/۷**	۱۰۶**	۱۱۳۱**	۱/۹۱	۳۴/۴*	۳۲/۶*	۲/۰۴		۳۴/۷	۹/۴۹	–
کادمیم گلومالین (Glom. Cd)	۱۱۱۹۳**	۷۵/۹	۱۱۱۶۰**	۴۱/۲	۲۸۵۸**	۲۱۲**	۶۸/۰		۲۲/۰	۳۶/۱	–

●= تبدیل شده به روش Box-Cox
*= معنی‌دار در سطح پنج درصد ($p<0/05$)
**= معنی‌دار در سطح یک درصد ($p<0/01$)

اثر کرم‌خاکی و قارچ میکوریزا بر ماده آلی کل (OM)، کربن آلی محلول (DOC) و نسبت DOC/TOC در سطوح مختلف کادمیم خاک

نتایج حاکی است اثر قارچ میکوریزا بر مقدار ماده آلی خاک معنی‌دار نبود ولی اثر کرم‌خاکی معنی‌دار ($p<0/01$) بود (جدول ۲ و ۳). کرم‌های خاکی با مصرف ماده آلی و هضم و جذب مقداری از آن، ماده آلی خاک را در تمام سطوح کادمیم ۲۰-۱۵ درصد کاهش دادند (جدول ۴). در سطوح مختلف کادمیم، کربن آلی محلول بین ۱۰-۴/۵ درصد افزایش یافت، ولی این افزایش تنها در خاک غیرآلوده (۸ درصد) و آلوده به ۲۰ $mg\ kg^{-1}$ کادمیم (۱۰ درصد) معنی‌دار بود (جدول ۴). سایر مطالعات نشان دادند که در خاک‌های غیرآلوده کرم‌های خاکی مقدار کربن آلی محلول را در خاک به میزان قابل توجهی افزایش می‌دهند (۱۰، ۲۸ و ۵۸). یکی از دلایل افزایش DOC در حضور کرم‌خاکی مصرف مواد آلی و اختلاط آنها با ذرات معدنی و مخاط دستگاه گوارش کرم و سپس دفع آنهاست (۱۵). معمولاً DOC در فضولات کرم‌خاکی بیشتر از خاک معمولی (بلعیده نشده) است (۲). کرم‌های خاکی می‌توانند به‌طور غیرمستقیم و از طریق افزایش رشد گیاه و متعاقب آن ترشحات ریشه سبب افزایش DOC در خاک شوند (۵۸). کرم‌های خاکی کربن آلی محلول را در سطوح متوسط آلودگی خاک کاهش داده و از این طریق جابه‌جایی فلزات سنگین مانند آرسنیک، سرب و مس متصل به مواد آلی محلول را در خاک کاهش می‌دهند (۹). آنها با افزایش DOC در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین به‌ویژه کادمیم کمپلکس‌های فلز-ماده آلی را افزایش می‌دهند (۸ و ۵۴). البته افزایش DOC در حفرات کرم‌خاکی در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین خیلی نوسان ندارد (۸). در این مطالعه، اثر تلقیح قارچ میکوریزا بر غلظت DOC معنی‌دار نبود (جدول ۳ و ۴). عدم تأثیر این قارچ‌ها بر DOC خاک می‌تواند ناشی از روش تغذیه آنها باشد، زیرا این گروه از قارچ‌ها هتروتروف واقعی محسوب نمی‌شوند تا مواد آلی خاک را تجزیه و به مواد ساده و محلول تبدیل نمایند، بلکه کربن مورد نیاز خود را از گیاه همزیست دریافت کرده و ترشح کربن آلی توسط گیاه را نیز کاهش می‌دهند.

یکی از شاخص‌هایی که می‌توان جهت تعیین منبع DOC و سهم آن در کل کربن آلی خاک استفاده نمود، نسبت کربن آلی محلول به کربن آلی کل است. نتایج نشان داد نسبت DOC/TOC خاک به شدت تحت تأثیر میزان کادمیم خاک قرار دارد (جدول ۲). به‌طوری که در خاک‌های آلوده ۲۳-۱۷ درصد بیشتر از خاک غیرآلوده است (جدول ۴). کرم‌خاکی نیز این نسبت را ۳۳-۲۳ درصد افزایش داد ولی مانند غلظت DOC اثر قارچ میکوریزا بر نسبت DOC/TOC معنی‌دار نبود (جدول ۳ و ۴). چون میزان ماده آلی اولیه خاک در این آزمایش به تقریب ثابت بود، به احتمال کرم‌خاکی با مصرف ماده آلی خاک و

کاهش مقدار آن و همچنین افزایش غلظت DOC، نسبت DOC/TOC را افزایش داده است. ولی در خاک‌های با سطوح مختلف ماده آلی، هر چه میزان کربن آلی خاک بیشتر شود غلظت DOC در خاک افزایش می‌یابد (۸). اگرچه قارچ میکوریزا نسبت DOC/TOC را در کلیه سطوح کادمیم افزایش داد ولی این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبود (جدول ۴).

اثر کرم‌خاکی و قارچ میکوریزا بر زیست توده میکروبی (MBC) و سهم میکروبی (نسبت MBC/TOC) در سطوح مختلف کادمیم خاک

نتایج نشان داد کرم‌خاکی تنها در تیمار ۱۰ mg kg^{-1} کادمیم سبب افزایش (۲۳ درصد) کربن زیست‌توده میکروبی گردید، در حالی‌که تلقیح قارچ میکوریزا در خاک‌های آلوده و غیرآلوده افزایش MBC را به‌همراه داشت (جدول ۴). با این وجود مقدار MBC خاک بین دو گونه قارچ یکسان بود (جدول ۴). مقدار MBC در تیمارهای میکوریزایی ۲/۴-۱/۹ برابر مقدار آن در تیمارهای غیرمیکوریزایی بود (جدول ۴). اصولاً قارچ‌های میکوریزا پس از اتمام چرخه زندگی از بین می‌روند و به کل زیست‌توده میکروبی اضافه می‌شوند. بنابراین دلیل افزایش MBC بر اثر تلقیح میکوریزایی می‌تواند اضافه شدن اجساد سلولی آنها باشد. همچنین افزایش میزان گلومالین بر اثر تلقیح میکوریزایی می‌تواند مؤید اثر مثبت این قارچها بر MBC باشد (جدول ۴). قارچ میکوریزا در کشت ذرت، کربن زیست‌توده میکروبی را در خاک‌های بدون آلودگی بیش از دو برابر افزایش داد (۳۵). کربن زیست‌توده میکروبی معمولاً ۵-۱ درصد کربن آلی خاک را تشکیل می‌دهد (۴۷). نسبت MBC/TOC (سهم میکروبی) در خاک‌های مختلف بسیار متفاوت است (۴۷). این نسبت برای ارزیابی میزان جذب کربن توسط میکروب‌ها و کیفیت و از این‌رو پی بردن به دینامیک ماده آلی خاک استفاده می‌شود (۳۷) و می‌تواند شاخصی برای موفقیت روش اصلاحی خاک‌های آلوده باشد (۴۷). طی این مطالعه نسبت کربن زیست‌توده میکروبی به کربن آلی خاک بر اثر تلقیح قارچ میکوریزا از ۲۳ درصد در خاک‌های غیرآلوده به ۵۳ درصد در خاک آلوده افزایش یافت (جدول ۴). ولی میزان افزایش بین دو گونه قارچ یکسان بود (جدول ۴). علت افزایش نسبت MBC/TOC بر اثر تلقیح قارچ می‌تواند صرفاً به دلیل افزایش MBC باشد بدون اینکه مقدار ماده آلی تغییر یابد.

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس اثر کادمیم، کرم‌خاکی و قارچ میکوریزا در خاک آلوده به کادمیم بر ویژگی‌های خاک

ویژگی	فاکتور							C.V	MSe	λ Box-Cox
	کادمیم(Cd)	کرم‌خاکی(E)	قارچ میکوریز(AM)	Cd×E	Cd×AM	E×AM	Cd×E×AM			
درصد ماده آلی خاک (OM%)C	۰/۰۰۳۲	۰/۱۷۲۱**	۰/۰۰۱۵	۰/۰۰۰۹	۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۰۵	۶/۴۰	۰/۰۰۱۶	-۱/۴۷
کربن آلی محلول (DOC)C	۶۵۱۹**	۱۰۰۲**	۲۴۶*	۴۶/۷۴	۶۶/۰۲	۷۳/۹۶	۳۹/۲	۶/۸۴	۶۵/۸	۱/۳۲
DOC/OC	۰/۵۲۱**	۱/۳۹**	۰/۰۴۸	۰/۰۳۳	۰/۰۰۹	۰/۰۰۱	۰/۰۰۸	۹/۶۸	۰/۰۱۵	-
کربن زیست‌توده میکروبی (MBC)C	۹/۹۴**	۰/۱۲۰*	۲/۷۷**	۰/۰۲۱	۰/۰۱۲	۰/۰۲۲	۰/۰۱۷	۲/۷۲	۰/۰۲۶	۰/۱۷
MBC/OCC	۵/۰۳**	۰/۸۶۵**	۱/۴۰**	۰/۰۵۲	۰/۰۹۷**	۰/۰۱۴	۰/۰۰۴	۷/۲۱	۰/۰۲۰	۰/۶۸
آنزیم فسفاتاز قلیایی (ALP)C	۴/۳۰e-۱۳**	۴/۳۹e-۱۴**	۷/۴۱e-۱۵*	-۱۶ ۱/۹۵e	۱/۹۶e-۱۵	-۱۵ ۱/۹۹e	۱/۹۵e-۱۶	۱۲/۹	-۱۵ ۱/۹۲e	-۲/۹۳
ALP/MBCC	۰/۰۰۳۴۴**	۰/۰۰۰۲۹**	۰/۰۰۱۳۷**	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۷/۵۵	۰/۰۰۰۰۱	-۳/۰
آنزیم اوره‌آز(Urease)C	۹/۶۹۲**	۶/۱۳۴**	۰/۵۱۵۸**	۰/۳۴۳۸**	۰/۳۶۴۹**	۰/۸۲۶۲**	۰/۰۶۴۶	۴/۰۱	۰/۰۳۷	-
Urease/MBCC	۶/۲۸**	۰/۰۱۷	۲/۷۳**	۰/۰۱۰	۰/۰۳۶	۰/۰۸۰	۰/۰۱۸	۶/۴۱	۰/۰۲۹	-۰/۱۵
گلومالین (Glom.)	۹۷/۷**	۱۰۶**	۱۱۳۱**	۱/۹۱	۳۴/۴*	۳۲/۶*	۲/۰۴	۳۴/۷	۹/۴۹	-
کادمیم گلومالین (Glom. Cd)	۱۱۱۹۳**	۷۵/۹	۱۱۱۶۰**	۴۱/۲	۲۸۵۸**	۲۱۲**	۶۸/۰	۲۲/۰	۳۶/۱	-

C= تبدیل شده به روش Box-Cox

*- معنی‌دار در سطح پنج درصد ($p<۰/۰۵$)

**- معنی‌دار در سطح یک درصد ($p<۰/۰۱$)

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس اثر کرم‌خاکی و قارچ میکوریزا در خاک آلوده به سطوح مختلف کادمیم بر ویژگی‌های خاک

ویژگی	فاکتور			C.V	MSe	λ Box-Cox
	کرم‌خاکی(E)	قارچ میکوریز(AM)	E×AM			
Cd=0 (mg kg^{-1})						
⊂درصد ماده آلی خاک (OM)	۰/۰۷۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	۶/۳۲	۰/۰۰۱۴	−۱/۴۷
⊂کربن آلی محلول (DOC)	۵۴۴*	۲۳۸	۹/۵۳	۶/۶۸	۸۷/۱	۱/۳۲
DOC/OC	۰/۷۷۰**	۰/۰۵۰	۰/۰۰۹	۸/۶۶	۰/۰۱۵	–
⊂کربن زیست‌توده میکروبی (MBC)	۰/۰۱۷	۰/۸۳۳**	۰/۰۰۳	۱/۳۰	۰/۰۰۷	۰/۱۷
MBC/OC⊂	۰/۴۵۹**	۰/۱۸۷**	۰/۰۰۳	۳/۸۳	۰/۰۰۸	۰/۶۸
⊂آنزیم فسفاتاز قلیایی (ALP)	۱/۵۴e−۱۴**	۸/۸۴e−۱۵*	۱/۴۵e−۱۵	۲۲/۴	۱/۶۳e−۱۵	−۲/۹۳
ALP/MBC⊂	۰/۰۰۰۱۵**	۰/۰۰۰۵۲**	۰/۰۰۰۰۰۴	۴/۳۸	۷/۸۵e−۶	−۳/۰
آنزیم اوره‌آز (Urease)	۳/۰۵**	۰/۲۰۲**	۰/۲۹۹**	۲/۳۸	۰/۰۱۸	–
Urease/MBC⊂	۰/۰۳۲	۰/۹۳۲**	۰/۰۱۲	۴/۲۵	۰/۰۰۷	−۰/۱۵
گلومالین (.Glom)	۵۶/۰	۲۲۷	۱۴/۰	۴۷/۴	۱۰/۲	–
کادمیم گلومالین (Glom. Cd)	۰	۰	۰	۰	۰	–
Cd=10 (mg kg^{-1})						
⊂درصد ماده آلی خاک (OM)	۰/۰۴۲۷**	۰/۰۰۰۶	۰/۰۰۰۳	۵/۵۹	۰/۰۰۱	−۱/۴۷
⊂کربن آلی محلول (DOC)	۱۱۰	۰	۱۶/۳	۴/۵۰	۲۵/۹	۱/۳۲
DOC/OC	۰/۲۶۵**	۰/۰۰۲	۰/۰۰۵	۵/۵۷	۰/۰۰۴	–
⊂کربن زیست‌توده میکروبی (MBC)	۰/۱۳۶*	۱/۱۶**	۰/۰۲۹	۲/۸۱	۰/۰۲۸	۰/۱۷
MBC/OC⊂	۰/۴۳۴**	۱/۰۲**	۰/۰۱۸	۸/۰۵	۰/۰۲۶	۰/۶۸
⊂آنزیم فسفاتاز قلیایی (ALP)	۱/۷۷e−۱۴**	۱/۱۰e−۱۵	۸/۷۲e−۱۶	۱۲/۳	۱/۸۵e−۱۵	−۲/۹۳
ALP/MBC⊂	۰/۰۰۰۱۹**	۰/۰۰۰۶۹**	۰/۰۰۰۰۳	۸/۶۳	۰/۰۰۰۰۲	−۳/۰
آنزیم اوره‌آز (Urease)	۳/۲۱**	۰/۰۹۲	۰/۲۰۰**	۳/۳۲	۰/۰۲۹	–
Urease/MBC⊂	۰/۰۰۰۳	۱/۲۷**	۰/۰۶۰	۷/۱۶	۰/۰۳۴	−۰/۱۵
گلومالین (.Glom)	۲۳/۳	۳۲۷**	۷/۷۶	۳۶/۸	۹/۷۵	–
کادمیم گلومالین (Glom. Cd)	۱۵۰	۷۲۰۳**	۱۱۸	۲۴/۰	۸۹/۳	–
Cd=20 (mg kg^{-1})						
⊂درصد ماده آلی خاک (OM)	۰/۰۶۲۱**	۰/۰۰۰۰۳	۰/۰۰۰۵	۷/۳۸	۰/۰۰۲	−۱/۴۷
⊂کربن آلی محلول (DOC)	۴۹۹*	۱۵۰	۱۲۴	۸/۶۱	۷۹/۳	۱/۳۲
DOC/OC	۰/۴۵۹**	۰/۰۱۵	۰/۰۰۴	۱۳/۸	۰/۰۲۴	–
⊂کربن زیست‌توده میکروبی (MBC)	۰/۰۷۲	۰/۹۹۹**	۰/۰۲۰	۵/۷۴	۰/۰۸۸	۰/۱۷
MBC/OC⊂	۰/۱۹۰	۰/۵۲۴**	۰/۰۲۵	۱۸/۸	۰/۰۶۷	۰/۶۸
⊂آنزیم فسفاتاز قلیایی (ALP)	۸/۵۸e−۱۵	۲/۹۸e−۱۵	۲/۳۳e−۱۶	۱۱/۲	۲/۹۹e−۱۵	−۲/۹۳
ALP/MBC⊂	۰/۰۰۰۰۵	۰/۰۰۰۳۱**	۰/۰۰۰۰۱	۱۶/۵	۰/۰۰۰۰۴	−۳/۰
آنزیم اوره‌آز (Urease)	۰/۶۹۵**	۱/۱۷**	۰/۵۶۱**	۶/۰۸	۰/۰۶۶	–
Urease/MBC⊂	۰/۰۰۷	۰/۶۹۷**	۰/۰۰۴	۹/۰۵	۰/۰۸۳	−۰/۱۵
گلومالین (.Glom)	۴۵/۸	۶۳۳**	۱۴/۰	۲۷/۸	۱۰/۱	–
کادمیم گلومالین (Glom. Cd)	۲/۸۴	۹۸۱۵**	۲۱۳**	۹/۳۸	۱۹/۹	–

⊂= تبدیل شده به روش Box-Cox

*- معنی‌دار در سطح پنج درصد (p<۰/۰۵)

**- معنی‌دار در سطح یک درصد (p<۰/۰۱)

جدول ٤- اثر اصلی کرم‌خاکی و قارچ میکوریزا در خاک آلوده به سطوح مختلف کادمیم بر ویژگی‌های خاک

تیمار	کرم‌خاکی		قارچ میکوریزا		
	NE	WE	NM	GI	GM
Cd=0 (mg kg^{-1})					
درصد ماده آلی خاک (OM %)	۱/۹۱a	۱/۵۳b	۱/۷۶a	۱/۷۴a	۱/۶۶a
کربن آلی محلول (DOC mg kg^{-1})	۱۳۴b	۱۴۵a	۱۳۳a	۱۴۵a	۱۴۱a
DOC/OC %	۱/۲۲b	۱/۶۳a	۱/۳۲a	۱/۴۷a	۱/۴۹a
کربن زیست‌توده میکروبی (MBC mg kg^{-1})	۷۳۷a	۷۷۷a	۴۷۴b	۹۳۱a	۸۶۶a
MBC/OC %	۶/۶۹b	۸/۸۰a	۴/۱۷b	۹/۴۰a	۹/۱۰a
آنزیم فسفاتاز قلیایی (ALP mg P-Nitrophenol kg^{-1} soil h^{-1})	۱۹۲a	۱۷۰b	۱۶۶b	۱۸۷a	۱۹۰a
ALP/MBC (µg P-Nitrophenol mg^{-1}MBC h^{-1})	۲۸۱a	۲۳۵b	۳۵۳a	۲۰۲b	۲۲۱b
آنزیم اوره‌آز (Urease mg NH4^{+}-N kg^{-1} soil h^{-1})	۵/۱۹b	۶/۰۱a	۵/۷۳a	۵/۳۹b	۵/۶۸a
Urease/MBC (µg NH4^{+}-N mg^{-1}MBC h^{-1})	۷/۸۲a	۸/۵۵a	۱۲/۲a	۵/۸۰b	۶/۵۹b
گلومالین (Glom. mg g^{-1}soil)	۸/۵۱a	۴/۹۸b	۰b	۸/۱۸a	۱۲/۱a
کادمیم گلومالین (Glom. Cd µg g^{-1}glom.)	۰a	۰a	۰a	۰a	۰a
Cd=10 (mg kg^{-1})					
درصد ماده آلی خاک (OM %)	۱/۸۰a	۱/۵۳b	۱/۶۹a	۱/۶۵a	۱/۶۴a
کربن آلی محلول (DOC mg kg^{-1})	۱۱۰a	۱۱۵a	۱۱۳a	۱۱۳a	۱۱۳a
DOC/OC %	۱/۰۶b	۱/۳۱a	۱/۱۷a	۱/۲۰a	۱/۱۹a
کربن زیست‌توده میکروبی (MBC mg kg^{-1})	۳۷۰b	۴۵۴a	۲۳۴b	۵۲۸a	۴۷۴a
MBC/OC %	۳/۵۹b	۵/۱۵a	۲/۴۳b	۵/۶۸a	۵/۰۱a
آنزیم فسفاتاز قلیایی (ALP mg P-Nitrophenol kg^{-1} soil h^{-1})	۱۴۷a	۱۳۸b	۱۴۱a	۱۴۲a	۱۴۵a
ALP/MBC (µg P-Nitrophenol mg^{-1}MBC h^{-1})	۴۴۶a	۳۶۴b	۶۲۲a	۲۸۴b	۳۰۸b
آنزیم اوره‌آز (Urease mg NH4^{+}-N kg^{-1} soil h^{-1})	۴/۶۷b	۵/۵۱a	۵/۲۲a	۴/۹۸a	۵/۰۷a
Urease/MBC (µg NH4^{+}-N mg^{-1}MBC h^{-1})	۱۴/۲a	۱۴/۸a	۲۲/۹a	۹/۸۹b	۱۰/۷b
گلومالین (Glom. mg g^{-1}soil)	۹/۶۳a	۷/۳۵a	۰b	۱۲/۰a	۱۳/۴a
کادمیم گلومالین (Glom. Cd µg g^{-1}glom.)	۴۲/۲a	۳۶/۴a	۰b	۵۲/۷a	۶۵/۳a
Cd=20 (mg kg^{-1})					
درصد ماده آلی خاک (OM %)	۱/۸۰a	۱/۴۹b	۱/۶۵a	۱/۶۵a	۱/۶۴a
کربن آلی محلول (DOC mg kg^{-1})	۹۷/۹b	۱۰۸a	۹۷/۳a	۱۰۶a	۱۰۵a
DOC/OC %	۰/۹۴۶b	۱/۲۵a	۱/۰۴a	۱/۱۳a	۱/۱۲a
کربن زیست‌توده میکروبی (MBC mg kg^{-1})	۱۷۱a	۱۷۸a	۱۰۹b	۳۰۷a	۲۰۷a
MBC/OC %	۱/۶۳a	۲/۰۶a	۱/۱۶b	۲/۱۹a	۲/۱۹a
آنزیم فسفاتاز قلیایی (ALP mg P-Nitrophenol kg^{-1} soil h^{-1})	۱۲۹a	۱۲۵a	۱۲۶a	۱۲۶a	۱۲۹a
ALP/MBC (µg P-Nitrophenol mg^{-1}MBC h^{-1})	۸۶۳a	۷۸۲a	۱۱۸۶a	۶۲۹b	۶۵۲b
آنزیم اوره‌آز (Urease mg NH4^{+}-N kg^{-1} soil h^{-1})	۳/۹۸b	۴/۳۳a	۳/۸۷b	۳/۹۸b	۴/۶۱a
Urease/MBC (µg NH4^{+}-N mg^{-1}MBC h^{-1})	۲۵/۹a	۲۶/۹a	۳۵/۹a	۱۹/۸b	۲۳/۶b
گلومالین (Glom. mg g^{-1}soil)	۱۲/۷a	۱۰/۱a	۰c	۱۳/۸b	۲۰/۳a
کادمیم گلومالین (Glom. Cd µg g^{-1}glom.)	۴۵/۶a	۴۶/۹a	۰b	۶۶/۲a	۷۲/۵a

میانگین‌های هر ردیف برای هر تیمار با حروف مشابه بر اساس آزمون توکی در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌دار ندارند

NE و WE به ترتیب بدون کرم‌خاکی و با کرم‌خاکی؛ NM، GI و GM به ترتیب بدون قارچ میکوریزا، قارچ گونه *G. intraradices* و *G. mosseae*.

بنابراین تلقیح این قارچ‌ها می‌تواند در ترسیب کربن در خاک مؤثر باشد، زیرا افزایش این نسبت تجمع کربن در خاک را نیز نشان می‌دهد (۳۷). کرم‌خاکی نسبت MBC/TOC را ۲۴-۱۹ درصد افزایش داد، ولی این افزایش در سطح $20\ mg\ kg^{-1}$ کادمیم اختلاف معنی‌دار نداشت (جدول ۴). در تیمار کرم‌خاکی بیشترین مقدار نسبت MBC/TOC، ۸/۸ درصد در خاک‌های غیرآلوده و حاوی کرم‌خاکی و کمترین مقدار آن ۱/۰۶ درصد در خاک‌های تیمار $10\ mg\ kg^{-1}$ کادمیم و بدون کرم‌خاکی بود (جدول ۴). بنابراین، دلیل تغییر این نسبت در حضور کرم‌خاکی می‌تواند ناشی از تغییر در کیفیت ماده آلی خاک باشد. به عبارت دیگر کرم‌های خاکی سبب کاهش C/N ماده آلی و در نتیجه افزایش جذب کربن توسط ریزجانداران می‌شوند (۸ و ۴۷). ولی عدم تغییر این نسبت در غلظت بالای کادمیم می‌تواند ناشی از کاهش رشد و تکثیر میکروب‌ها و در نتیجه عدم تغییر MBC باشد (جدول ۴). در اکثر گزارش‌ها رابطه کربن آلی خاک و کربن زیست‌توده میکروبی معمولاً مثبت و معنی‌دار است ولی در مطالعه حاضر این رابطه مشاهده نشد (داده‌ها گزارش نشده). بنابراین کمیت ماده آلی خاک تأثیری بر زیست‌توده میکروبی ندارد، بلکه کیفیت ماده آلی است که نقش مهمتری در تشکیل زیست‌توده میکروبی دارد. علاوه بر این، عدم وجود این رابطه ممکن است ناشی از کوتاه بودن مدت آزمایش باشد. گارسیا و همکاران (۱۹) بیان کردند عدم وجود این رابطه نشان می‌دهد میکروب‌های خاک هنوز به شرایط تعادل و توازن نرسیده‌اند.

اثر کرم‌خاکی و قارچ میکوریزا بر سرعت تنفس خاک در سطوح مختلف کادمیم خاک

نتایج این مطالعه حاکی است سرعت تنفس خاک طی آزمایش تا هفته پنجم همواره افزایش یافته است (شکل ۱) که می‌تواند ناشی از افزایش رشد ریشه و تنفس آن باشد. در ادامه آزمایش، سرعت تنفس خاک همواره ثابت باقی مانده است که نشان می‌دهد رشد ریشه‌های گیاه کند بوده و یا متوقف شده است (شکل ۱). در تیمارهای مختلف، متوسط تنفس خاک بین ۷۴ تا ۱۱۰ گرم CO_2-C در متر مربع در روز متغیر بود (جدول ۵). آلودگی خاک به کادمیم باعث کاهش محسوس سرعت تنفس خاک بین ۸/۴ تا ۲۰/۲ واحد گردید که میزان کاهش به حضور کرم‌خاکی و قارچ میکوریزا و یا عدم حضور آنها بستگی دارد (جدول ۵). کاهش سرعت تنفس خاک را می‌توان به کاهش رشد گیاه، فعالیت کرم‌خاکی و فعالیت میکروبی خاک بر اثر مصرف کادمیم نسبت داد. نتایج تحقیق حاضر نشان داد تلقیح کرم‌خاکی و قارچ میکوریزا طی آزمایش به درجات مختلف سرعت تنفس خاک را در سطوح گوناگون آلودگی کادمیم افزایش می‌دهند (جدول ۵).

کرم‌خاکی به تنهایی سبب افزایش تنفس خاک شده است که می‌تواند ناشی از تحریک رشد گیاه و فعالیت هتروتروفی خاک باشد. اغلب مطالعات افزایش رشد ریشه و تحریک فعالیت میکروبی را بر اثر حضور کرم‌خاکی در خاک‌های غیرآلوده (۱۰، ۲۲، ۳۴ و ۴۶) و آلوده به عناصر سنگین مانند کادمیم (۵۶) و سرب (۳۸) گزارش کرده‌اند. فعالیت کرم‌خاکی به‌طور متوسط فعالیت میکروبی خاک را تا ۲۰ درصد افزایش می‌دهد (۱۸).

اثر کرم‌خاکی و قارچ میکوریزا بر فعالیت آنزیم اوره‌آز و فسفاتاز قلیایی

آلودگی کادمیم فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز قلیایی و اوره‌آز خاک را به ترتیب ۳۰-۲۱ و ۲۵-۹ درصد کاهش داد (جدول ۴). نتایج نشان داد تلقیح کرم‌خاکی در خاک‌های آلوده و غیرآلوده بین ۳ تا ۱۱/۶ درصد کاهش فعالیت آنزیم فسفاز قلیایی را به‌دنبال دارد ولی این کاهش در تیمار $20\ mg\ kg^{-1}$ کادمیم معنی‌دار نیست (جدول ۴). درصد کاهش فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی بر اثر تلقیح کرم‌خاکی، با افزایش کادمیم در هر سطح به تقریب به نصف تقلیل می‌یابد (جدول ۴). برعکس فعالیت آنزیم اوره‌آز با تیمار کرم‌خاکی در خاک‌های آلوده و غیرآلوده ۱۵-۹ درصد افزایش نشان داد (جدول ۴). اثر متقابل کرم‌خاکی و قارچ میکوریزا نیز فعالیت اوره‌آز را ۲۷-۱۷ درصد افزایش داد که این افزایش درسطوح بالای آلودگی کادمیم بیشتر بود (داده‌ها گزارش نشده). هنگام عبور ماده آلی خاک از دستگاه گوارش کرم‌های خاکی و تخریب مواد سخت تجزیه شونده، غذای مناسبی برای میکروب‌ها فراهم می‌شود (۱۵). این تجزیه نسبی افزایش فعالیت میکروبی و ترشح آنزیم‌ها را در فضولات کرم‌خاکی به‌دنبال دارد. در خاک‌های غیرآلوده کرم‌خاکی فعالیت آنزیم‌ها به‌ویژه فسفاتاز قلیایی و اوره‌آز را در خاک بالا می‌برد (۳۴ و ۵۲). در خاک‌های آلوده نیز کرم‌خاکی فعالیت فسفاتاز قلیایی و اوره‌آز را به‌ویژه در مدفوع کرم نسبت به شاهد افزایش می‌دهد ولی روند کاهشی در سطوح مختلف آلاینده وجود دارد (۳۳).

نسبت فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی به واحد کربن زیست‌توده میکروبی در سطوح ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک به ترتیب ۳۶ و ۶۹ درصد نسبت به خاک غیرآلوده افزایش داشت (جدول ۴). کرم‌خاکی این نسبت را ۱۸-۱۰ درصد کاهش داد ولی مقدار کاهش در سطح $20\ mg\ kg^{-1}$ کادمیم (۱۰ درصد) معنی‌دار نشد (جدول ۴). قارچ میکوریزا نیز نسبت فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی به واحد کربن زیست‌توده میکروبی را ۵۴-۴۰ درصد کاهش داد که در خاک‌های آلوده بیشتر بود (جدول ۴).

جدول ۵- اثر کرم‌خاکی و قارچ میکوریزا بر سرعت تنفس خاک (gCO_2-C m^{-2} day^{-1}) در خاک غیرآلوده و آلوده به کادمیم طی رشد گیاه

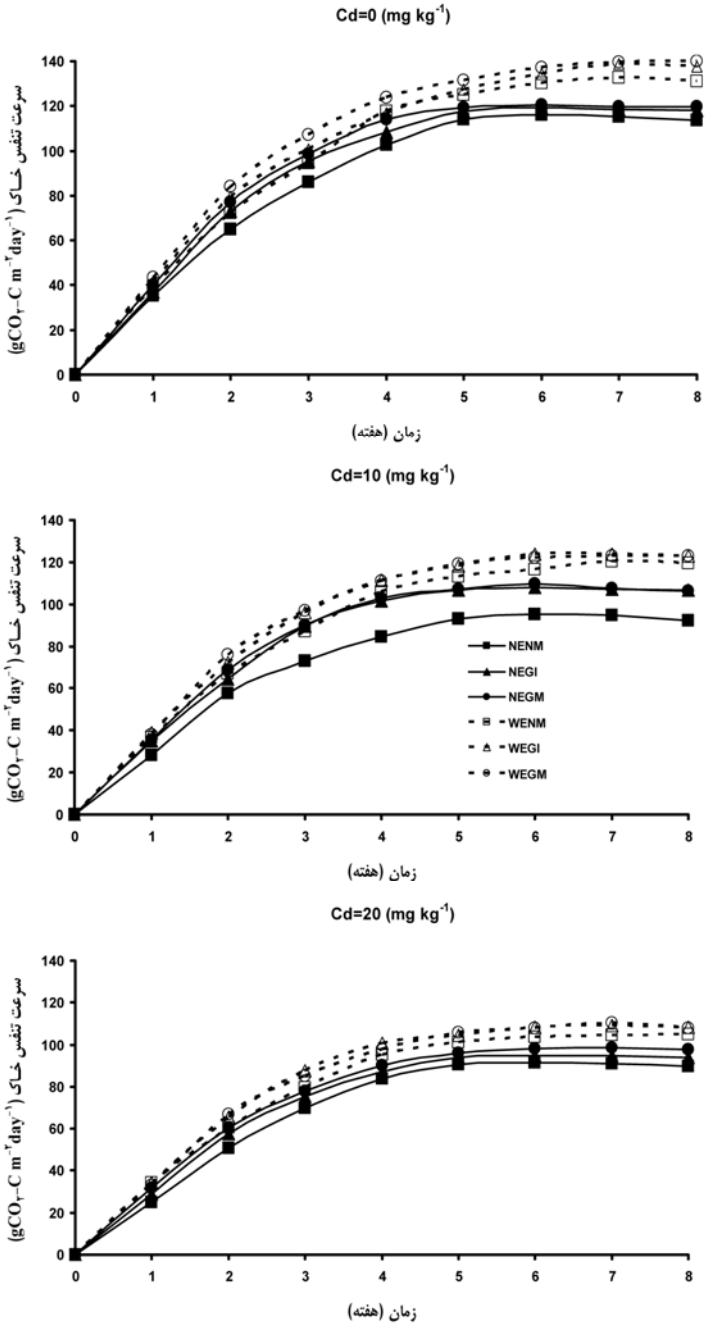
تیمار	هفته دوم	هفته چهارم	هفته ششم	هفته هشتم	میانگین
Cd=0 (mg kg^{-1})					
NENM	۶۵/۱d	۱۰۳d	۱۱۶c	۱۱۴d	۹۳/۵d
NEGI	۷۲/۹c	۱۰۸c	۱۱۹c	۱۱۸cd	۹۸/۴cd
NEGM	۷۷/۳bc	۱۱۴b	۱۲۱c	۱۲۰c	۱۰۱bc
WENM	۷۲/۳c	۱۱۸b	۱۳۰b	۱۳۱b	۱۰۵ab
WEGI	۷۹/۷ab	۱۱۷b	۱۳۴ab	۱۳۷a	۱۱۰a
WEGM	۸۴/۱a	۱۲۴a	۱۳۷a	۱۴۰a	۱۰۲bc
میانگین مربعات	۱۳۳**	۱۶۶**	۲۳۰**	۳۶۱**	۹۲/۷**
میانگین مربعات خطا	۳/۳۳	۳/۱۷	۴/۵۰	۴/۱۳	۴/۰۳
Cd=10 (mg kg^{-1})					
NENM	۵۷/۸d	۸۴/۷d	۹۵/۴d	۹۲/۳c	۷۷/۴d
NEGI	۶۴/۷c	۱۰۲c	۱۰۸c	۱۰۶b	۹۰/۰c
NEGM	۶۸/۶bc	۱۰۳c	۱۱۰c	۱۰۷b	۹۱/۱bc
WENM	۶۷/۲c	۱۰۶bc	۱۱۶b	۱۲۰a	۹۵/۸ab
WEGI	۷۲/۲ab	۱۱۲a	۱۲۴a	۱۲۳a	۱۰۱a
WEGM	۷۵/۸a	۱۱۱ab	۱۲۲a	۱۲۳a	۹۱/۰bc
میانگین مربعات	۱۱۷**	۲۸۷**	۳۳۷**	۴۵۱**	۱۸۵**
میانگین مربعات خطا	۳/۱۷	۳/۴۵	۳/۷۶	۳/۶۷	۴/۲۶
Cd=20 (mg kg^{-1})					
NENM	۵۰/۸c	۸۳/۷d	۹۱/۳d	۸۹/۹d	۷۴/۰d
NEGI	۵۷/۷b	۸۷/۲cd	۹۴/۹cd	۹۳/۷c	۷۸/۲cd
NEGM	۶۰/۶b	۹۰/۲c	۹۸/۲bc	۹۷/۸b	۸۱/۴bc
WENM	۶۰/۵b	۹۵/۲b	۱۰۳ab	۱۰۵ab	۸۵/۴ab
WEGI	۶۵/۵a	۱۰۱a	۱۰۸a	۱۰۸a	۸۹/۸a
WEGM	۶۶/۹a	۹۷/۷ab	۱۰۸a	۱۰۸a	۸۱/۸bc
میانگین مربعات	۱۰۱**	۱۲۸**	۱۴۷**	۱۷۹**	۹۰/۵**
میانگین مربعات خطا	۲/۵	۳/۰۰	۴/۱۰	۳/۵۰	۴/۳۳

میانگین‌های هر ستون در هر سطح کادمیم با حروف مشابه بر اساس آزمون توکی در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌دار ندارند

NE و WE به ترتیب بدون کرم‌خاکی و با کرم‌خاکی؛ NM، GI و GM به ترتیب بدون قارچ میکوریزا، قارچ گونه *G. intraradices* و *G. mosseae*.

به احتمال قارچ‌های میکوریزا با افزایش زیست‌توده و یا فعالیت میکروبی خاک در شرایط تنش ناشی از آلودگی کادمیم این نسبت را کاهش داده‌اند. ولی با توجه به آنکه کرم‌های خاکی کربن زیست‌توده میکروبی را در سطح ۱۰ mg kg^{-1} کادمیم افزایش معنی‌دار داده‌اند ولی نسبت فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی به واحد کربن زیست‌توده میکروبی کاهش یافته، به نظر می‌رسد که کرم‌خاکی می‌تواند حین تشکیل خاکدانه‌ها بخشی از آنزیم‌ها را محبوس نماید و یا با تولید آنزیم‌های پروتئاز آنها را تجزیه کند (جدول ۴). در حالی‌که با افزایش سطح کادمیم در خاک این اثر از بین رفته است و به احتمال به دلیل کاهش فعالیت کرم‌های خاکی در اثر آلودگی کادمیم می‌باشد (جدول ۴). از سوی دیگر به جز ریزجانداران موجودات دیگری مانند جانوران و گیاهان می‌توانند منشاء آنزیم فسفاتاز قلیایی در خاک باشند. از این‌رو ممکن است کاهش نسبت فعالیت آنزیم به کربن زیست‌توده میکروبی به دلیل کاهش ترشح آن از ریشه گیاه و یا ریسه‌های قارچ میکوریزا در اثر آلودگی کادمیم باشد. نتایج نشان داد نسبت فعالیت آنزیم اوره‌آز به واحد کربن زیست‌توده میکروبی در خاک‌های آلوده به کادمیم ۶۹-۴۴ درصد افزایش داشت (جدول ۴). کرم‌خاکی و قارچ میکوریزا این نسبت را به ترتیب ۹-۴ و ۵۵-۴۰ درصد کاهش دادند (جدول ۴) ولی

تنها اثر قارچ معنی‌دار ($p<۰/۰۱$) بـود (جـدول ۳). قـارچ میکـوریزا بـا افزایش زیست‌توده میکروبی خاک نسبت فعالیـت آنـزیم را بـه واحـد کربن زیست‌توده میکروبی کاهش داد. ولی کرم‌خاکی با تثبیت آنـزیم توسط ذرات خاک و یا تجزیه آن در اثر ترشح پروتئاز تأثیری بـر ایـن نسبت نداشت.



شکل ۱- اثر کرم‌خاکی و قارچ میکوریزا بر سرعت تنفس خاک (gCO_2-C m^{-2} day^{-1}) در خاک غیرآلوده و آلوده به کادمیم طی رشد گیاه (NE و WE به ترتیب بدون کرم‌خاکی و با کرم‌خاکی؛ NM، GI و GM به ترتیب بدون قارچ میکوریزا، قارچ گونه *G. intraradices* و *G. mosseae*)

یکی از شاخص‌های تعیین میزان تنش آلودگی در خاک‌ها مقدار ترشح آنزیم‌ها از میکروب‌های خاک است (۳۸). با افزایش انواع تنش، هر میکروب سعی در ترشح مقدار بیشتری آنزیم جهت مقابله با شرایط نامساعد محیطی دارد تا بتواند هیدرولیز ترکیبات آلی را به منظور کسب انرژی از طریق تنفس بدست آورد (۴۷). به احتمال کرم‌خاکی و قارچ میکوریزا با کاهش تنش ناشی از آلودگی کادمیم برای میکروب‌های خاک، ترشح آنزیم را توسط آنها کاهش می‌دهند.

اثر آلودگی کادمیم خاک بر تولید گلومالین و غلظت کادمیم در آن

آلودگی کادمیم تولید گلومالین توسط قارچ‌های میکوریزا را در سطوح ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک به ترتیب ۲۱ و ۴۱ درصد نسبت به خاک غیرآلوده افزایش داد (جدول ۴). بین دو گونه قارچ میکوریزا، *G. mosseae* گلومالین بیشتری تولید کرد (۳۳–۱۱ درصد) ولی تنها در سطح کادمیم $20\ mg\ kg^{-1}$ با گونه *G. intraradices* اختلاف معنی‌دار داشت (جدول ۴). غلظت کادمیم موجود در گلومالین خاک در سطح $20\ mg\ kg^{-1}$ کادمیم ۱۵ درصد بیشتر از سطح $10\ mg\ kg^{-1}$ بود (جدول ۴). کرم‌خاکی مقدار گلومالین خاک را ۴۲–۲۱ درصد کاهش داد ولی تنها در خاک غیرآلوده (۴۲ درصد) اثر آن معنی‌دار بود (جدول ۴). ممکن است کاهش مقدار گلومالین با تیمار کرم‌خاکی بر اثر مصرف هیف‌های قارچ و یا گلومالین توسط کرم‌ها رخ داده باشد. ترشح گلومالین توسط قارچ‌های میکوریزا می‌تواند بخشی از کادمیم محلول و تبادلی خاک را به شکل غیر قابل جذب تبدیل کرده و آن را از دسترس سایر موجودات زنده خاک دور نگه دارد. اگرچه گستردگی شبکه هیف‌های قارچی ممکن است جذب فلزات سنگین توسط گیاهان را افزایش دهد ولی ترشح گلومالین از آنها شرایط را برای رشد و زندگی موجودات زنده خاک اعم از گیاه و میکروب بهبود می‌دهد. با کاهش جزء محلول و تبادلی کادمیم، زیست فراهمی فلز کاهش یافته و مسمومیت‌های ناشی از آن کم می‌شود (۱۲). گنزالزچاوز وهمکاران (۲۳) و همچنین درایور و همکاران (۱۴) نیز بیان کردند که گلومالین قادر به توقیف و نگهداری عناصر سمی در خاک است.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاصل از این آزمایش، به‌طور کلی آلودگی کادمیم خاک موجب کاهش معنی‌دار فعالیت میکروبی در خاک می‌گردد. علاوه بر سرعت و میزان کلی تنفس خاک، زیست‌توده میکروبی خاک نیز کاهش معنی‌دار پیدا می‌کند. این روند کاهش فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز و فسفاتاز قلیایی را در پی خواهد داشت. ولی حضور کرم‌خاکی و قارچ میکوریزا بر روند تغییرات مشاهده شده اثرگذار است. به‌طوری‌که تنش‌های ناشی از آلودگی کادمیم را کاهش می‌دهند. کرم‌های خاکی علاه بر آنکه بخشی از کادمیم را در بدن خود جذب و ذخیره می‌کنند، با تولید خاکدانه‌های غنی از مواد آلی، برای میکروب‌ها ریز مکان‌هایی در خاک ایجاد می‌کنند که برای فعالیت بسیار مناسب هستند. قارچ‌های میکوریزا نیز نه تنها با ترشح آنزیم‌های فسفاتاز در خاک و افزایش زیست‌توده میکروبی بلکه با تولید گلومالین در خاک اثرات مضر آلودگی کادمیم را کاهش می‌دهند. این موجودات همچنین موجب افزایش رشد گیاه و به‌ویژه اندام زیرزمینی گیاه شده و احتمالاً مقاومت آن را در برابر آلودگی کادمیم بالا می‌برند. با این حال بررسی سایر جنس‌های کرم‌خاکی و گونه‌های قارچ میکوریزا، در کشت گیاهان مختلف و بررسی روابط بین آنها ضروری به‌نظر می‌رسد.

سپاسگزاری

از دانشگاه شهرکرد به دلیل پشتیبانی مالی از این تحقیق قدردانی می‌گردد.

منابع

1- Adriaensen K., Van der Lelie D., Van Laere A., Vangronsveld J. and Colpaert J.V. 2004. A zinc-adapted fungus protects pines from zinc stress, New Phytologist, 161: 549–555.
2- Aira M., Monroy F. and Domínguez J. 2006. Changes in microbial biomass and microbial activity of pig slurry after the transit through the gut of the earthworm *Eudrilus eugeniae* (Kinberg, 1867), Biology and Fertility of Soils, 42: 371–376.
3- An Y.J. 2004. Soil ecotoxicity assessment using cadmium sensitive plants, Environmental Pollution, 127:21–26.
4- Anderson J. P. E. 1982. Soil respiration. *In*: Page A.L. Miller R.H. (Ed.), Methods of soil analysis part 2, chemical and microbiological properties. American Society of Agronomy, Madison, WI, pp. 831–871.
5- Anderson J.M. and Ingram J.S.I. 1993. Tropical Soil Biology and Fertility: A Handbook of Methods. 2nd ed., CAB. International, Oxfordshire, Wallingford, UK., ISBN: 85198-821.
6- Andrade S.A.L., Silveira A.P.D. and Mazzafera P. 2010a. Arbuscular mycorrhiza alters metal uptake and the physiological response of *Coffea arabica* seedlings to increasing Zn and Cu concentrations in soil, Science of the Total Environment, 408:5381–5391.

7- Andrade S.A.L., Gratão P.L., Azevedo R.A., Silveira A.P.D., Schiavinato M.A. and Mazzafera P. 2010b. Biochemical and physiological changes in jack bean under mycorrhizal symbiosis growing in soil with increasing Cu concentrations, Environmental and Experimental Botany, 68:198–207.
8- Beesley L. and Dickinson N. 2011. Carbon and trace element fluxes in the pore water of an urban soil following greenwaste compost, woody and biochar amendments, inoculated with the earthworm *Lumbricus terrestris*, Soil Biology and Biochemistry, 43: 188–196.
9- Beesley L., Moreno-Jiménez E., Gomez-Eyles J.L., Harris E., Robinson B. and Sizmur T. 2011. A review of biochars' potential role in the remediation, revegetation and restoration of contaminated soils, Environmental Pollution, 159: 3269–3282.
10- Briones M.J.I., Barreal M.E., Harrison A.C. and Gallego P. 2011. Earthworms and nitrogen applications to improve soil health in an intensively cultivated kiwifruit orchard, Applied Soil Ecology, 49: 158– 166.
11- Carvalho L.M., Cacador I. and Martins-Louca M.A. 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi enhance root cadmium and copper accumulation in the roots of the salt marsh plant *Aster tripolium* L., Plant and Soil, 285:161–169.
12- Das P., Samantaray S. and Rout G.R. 1997. Studies on cadmium toxicity in plants, Environmental Pollution, 98:29–36.
13- Dodd J.C., Boddington C.L., Rodríguez A., Gonzalez-Chavez C. and Mansur I. 2000. Mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) from different genera: form, function and detection, Plant and Soil, 226:131–151.
14- Driver J.D., Holben W.E. and Rilling M.C. 2005. Characterization of glomalin as a hyphal wall component of arbuscular mycorrhizal fungi, Soil Biology and Biochemistry, 37:101–106.
15- Edwards C.A. and Bohlen P.J. 1996. Biology and Ecology of Earthworms. 3nd ed., Chapman and Hall, UK., ISBN: 0412561603.
16- 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.
17- Eivazi F. and Tabatabai M.A. 1977. Phosphatases in soils, Soil Biology and Biochemistry, 9:167–172.
18- Ernst G., Henseler I., Felten D. and Emmerling C. 2009. Decomposition and mineralization of energy crop residues governed by earthworms, Soil Biology and Biochemistry, 41: 1548–1554.
19- Garcia C., Roldan A. and Hernandez T. 2005. Ability of different plant species to promote microbiological processes in semiarid soil, Geoderma, 124: 193–202.
20- Gaur A. and Adholeya A. 2004. Prospects of arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of heavy metal contaminated soils, Current Science, 86:528–534.
21- Ghani A., Dexter M. and Perrott K.W. 2003. Hot-water extractable carbon in soils: a sensitive measurement for determining impacts of fertilisation, grazing and cultivation, Soil Biology and Biochemistry, 35: 1231–1243.
22- Giannopoulos G., Pulleman M.M. and van Groenigen J.W. 2010. Interactions between residue placement and earthworm ecological strategy affect aggregate turnover and N_2O dynamics in agricultural soil, Soil Biology and Biochemistry, 42: 618–625.
23- Gonzalez-Chavez M.C., Carrillo-Gonzalez R., Wright S.F. and Nichols K.A. 2004. The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potentially toxic elements, Environmental Pollution, 130: 317–323.
24- Hobbelen P.H.F., Koolhaas J.E. and van Gestel C.A.M. 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.
25- Jankong P. and Visoottiviseth P. 2008. Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation on plants growing on arsenic contaminated soil, Chemosphere, 72: 1092–1097.
26- Janouskova M., Pavlikova D., Macek T. and Vosatka M. 2005. Influence of arbuscular mycorrhiza on the growth and cadmium uptake of tobacco with inserted metallothionein gene, Applied Soil Ecology, 29:209–214.
27- Jones D.L. and Willett V.B. 2006. Experimental evaluation of methods to quantify dissolved organic nitrogen (DON) and dissolved organic carbon (DOC) in soil, Soil Biology and Biochemistry, 38: 991–999.
28- Jouquet P., Bernard-Reversat F., Bottinelli N., Orange D., Rouland-Lefevre C., Duc T.T. and Podwojewski P., 2007. Influence of changes in land use and earthworm activities on carbon and nitrogen dynamics in a steepland ecosystem in Northern Vietnam, Biology and Fertility of Soils, 44: 69–77.
29- Kalac P. 2010. Trace element contents in European species of wild growing edible mushrooms: A review for the period 2000–2009, Food Chemistry, 122: 2–15.
30- Kapoor A., Viraraghavan T. and Cullimore D.R. 1999. Removal of heavy metals using the fungus *Aspergillus niger*, Bioresource Technology, 70:95-104.
31- Karaca A., Naseby D.C. and Lynch J.M. 2002. Effect of cadmium contamination with sewage sludge and phosphate fertiliser amendments on soil enzyme activities, microbial structure and available cadmium, Biology and Fertility of Soils, 35:428–434.
32- Khan A.G. 2005. Role of soil microbes in the rhizospheres of plants growing on trace element contaminated soils in phytoremediation, Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 18:355–364.

33- Kizilkaya R. 2004. Cu and Zn accumulation in earthworm *Lumbricus terrestris* L. in sewage sludge amended soil and fractions of Cu and Zn in casts and surrounding soil, Ecological Engineering, 22: 141–151.
34- Kizilkaya R. and Hepsen S. 2007. Microbiological properties in earthworm cast and surrounding soil amended with various organic wastes, Communications in Soil Science and Plant Analysis, 38: 2861–2876.
35- Li H., Li X., Dou Z. and Zhang J. 2012. Earthworm (*Aporrectodea trapezoides*)–mycorrhiza (*Glomus intraradices*) interaction and nitrogen and phosphorus uptake by maize, Biology and Fertility of Soils, 48: 75–85.
36- Liu L.Z., Gong Z.Q., Zhang Y.L., and Li P.J. 2011. Growth, cadmium accumulation and physiology of marigold (*Tagetes erecta* L.) as affected by arbuscular mycorrhizal fungi, Pedosphere, 21: 319–327.
37- Liu Y., Wei X., Guo X., Niu D., Zhang J., Gong X. and Jiang Y. 2012. The long-term effects of reforestation on soil microbial biomass carbon in sub-tropic severe red soil degradation areas, Forest Ecology and Management, 285: 77–84.
38- Ma Y., Dickinson N.M. and Wong M.H. 2006. Beneficial effects of earthworms and arbuscular mycorrhizal fungi on establishment of leguminous trees on Pb/Zn mine tailings, Soil Biology and Biochemistry, 38:1403–1412.
39- Maleri R.A., Reinecke A.J. and Reinecke S.A. 2008. Metal uptake of two ecophysiologically different earthworms (*Eisenia fetida* and *Aporrectodea caliginosa*) exposed to ultramafic soils, Applied Soil Ecology, 38: 42–50.
40- Naseby D.C. and Lynch J.M. 1998. Impact of wild type and genetically modified *Pseudomonas fluorescens* on soil enzyme activities and microbial population structure in the rhizosphere of pea, Molecular Ecology, 7:617–625.
41- Nelson D.W. and Sommers L.E. 1996. Total carbon, organic carbon, and organic matter. In Methods of Soil Analysis, part 3, Chemical Methods, Sparks. D. L. (Ed.) Soil Science Society of America: Madison, WI, SSSA Book Serie 5: 153–188.
42- Peer W.A., Baxter I.R., Richards E.L., Freeman J.L. and Murphy A.S. 2006. Phytoremediation and hyperaccumulator plants. *In*: Tamas M.J. and Martinoia E. (Ed.), Molecular biology of metal , Topics in current genetics, 14:299–340.
43- Rillig M.C., Ramsey P.W., Morris S. and Paul E.A. 2003. Glomalin, an arbuscular mycorrhizal fungal soil protein, respond to land-use change, Plant and Soil, 253:293–299.
44- 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, 159:722–728.
45- Schroeder M.S. and Janos D.P. 2004. Phosphorus and intraspecific density alter plant responses to arbuscular mycorrhizas, Plant and Soil, 264: 335–348.
46- Simek M. and Pizl, V. 2010. Soil CO_2 flux affected by *Aporrectodea caliginosa* earthworms, Central European Journal of Biology, 5: 364–370.
47- Sinha S., Masto R.E., Ram L.C., Selvi V.A., Srivastava N.K., Tripathi R.C. and George J. 2009. Rhizosphere soil microbial index of tree species in a coal mining ecosystem, Soil Biology and Biochemistry, 41: 1824–1832.
48- Sizmur T. and Hodson M.E. 2009. Do earthworms impact metal mobility and availability in soil? – A review. Environmental Pollution 157:1981–1989.
49- Spurgeon D.J., Weeks J.M. and Van Gestel C.A.M. 2003. A summary of eleven years progress in earthworm ecotoxicology: the 7th international symposium on earthworm ecology, Cardiff, Wales, 2002, Pedobiologia, 47: 588–606.
50- Suthar S., Singh S. and Dhawan S. 2008. Earthworms as bioindicator of metals (Zn, Fe, Mn, Cu, Pb and Cd) in soils: Is metal bioaccumulation affected by their ecological category?, Ecological Engineering, 32: 99–107.
51- Tabatabaei M.A. and Bremner J.M. 1972. Assay of urease activity in soil, Soil Biology and Biochemistry, 4: 479–487.
52- Tao J., Chen X., Liu M., Hu F., Griffiths B. and Li H. 2009. Earthworms change the abundance and community structure of nematodes and protozoa in a maize residue amended rice–wheat rotation agro-ecosystem, Soil Biology and Biochemistry, 41: 898–904.
53- Wang X., Chang L., Sun Z. and Ma. H. 2010. Characterization of genes expressed in response to cadmium exposure in the earthworm *Eisenia fetida* using DDRT-PCR, Ecotoxicology and Environmental Safety, 73: 1214–1220.
54- 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: 181–187.
55- Wright S.F. and Upadhyaya A. 1996. Extraction of an abundant and unusual protein from soil and comparison with hyphal protein of arbuscular mycorrhizal fungi, Soil Science, 161:575–586.
56- Yu X., Cheng J. and Wong M.H. 2005. Earthworm–mycorrhiza interaction on Cd uptake and growth of ryegrass, Soil Biology and Biochemistry, 37:195–201.
57- Yu J.G., Hu F., Li H.X. and Mi C.Y. 2008. Earthworm (*Metaphire guillelmi*) effects on rice photosynthates distribution in the plant-soil system, Biology and Fertility of Soils, 44: 641–647.
58- Zhang J., Song C. and Wang S. 2007. Dynamics of soil organic carbon and its fractions after abandonment of cultivated wetlands in northeast China, Soil and Tillage Research, 96: 350–360.

Journal of Water and Soil
Vol. 27, No.5, Nov.-Dec. 2013, p. 949-962

نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۷، شماره ۵، آذر – دی ۱۳۹۲، ص. ۹۶۲-۹۴۹

The Influence of Earthworm and Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Microbial Biomass Carbon and Enzyme Activity in a Soil Contaminated with Cadmium in Sunflower (*Helianthus annuus* L.) Cultivation

F. Aghababaei[1]*- F. Raiesi[2]- A. Hosseinpur[3]

Received: 19-01-2013
Accepted: 29-09-2013

Abstract

Soil biota such as earthworms and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) play an important role in the stability of ecosystem, and the bioavailability of soil elements, in particular heavy metals, in soils. To examine the effects of these organisms, a 3×2×3 factorial experiment arranged as randomized complete design was set up to study the individual and combined influence of earthworms (*Lumbricus rubellus* L.) and AMF (*Glomus mosseae* and *Glomus intraradices*) on soil organic matter (OM), dissolve organic carbon (DOC), soil respiration, microbial biomass carbon (MBC), soil enzyme activity and glomalin production in a calcareous soil contaminated with 0, 10, 20 mg of Cd kg^{-1} soil cropped with sunflower (*Helianthus annuus* L.) with three replications. Both earthworms and mycorrhizal fungi were able to survive in all the treatments with added Cd. Results showed that Cd pollution decreased all the measured microbial activities and properties in soil. Earthworm treatment increased DOC by 4-10% at all Cd levels. The amount of soil MBC in mycorrhizal treatments was greater (1.9-2.4 times) than that in non-mycorrhizal treatment, and AMF inoculation increased MBC/TOC ratio from 23% to 53% in Cd-polluted soils. Earthworm and AMF enhanced soil enzyme activity/MBC ratio, 10-18 and 40-54% for soil alkaline phosphatase and 4-9 and 40-55% for soil urease, respectively. The glomalin production increased at 20 mg kg^{-1} and was about 15% greater in *G. mosseae* than in *G. intraradices* species. Although soil respiration was decreased substantially with Cd pollution, inoculation of either earthworms or AMF enhanced soil respiration when compared with the corresponding controls.

Keywords: Cadmium, Earthworm, Arbuscular mycorrhizal fungi, Microbial biomass carbon, Alkaline phosphatase, Urease and Soil respiration.

1, 2, 3- PhD Student and Professors of Soil Science Department, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran, Respectively
(*-Corresponding Author Email: aghababaei_fateme90@yahoo.com)