نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۲، شماره ۱، فروردین – اردیبهشت ۱۳۹۷، ص. ۱۸۳-۱۶۹

Journal of Water and Soil
Vol. 32, No. 1, Mar.-Apr. 2018, p. 169-183

# کارایی بنتونیت و شلتوک برنج طبیعی و اصلاح شده درناپویاسازی کادمیم و پیامد آن بر برخی ویژگی‌های زیستی خاک

سمانه عبدالرحیمی[۱]- نسرین قربانزاده[۲*]- حسن رمضانپور[۳]- محمد باقر فرهنگی[۴]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۸/۱۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۳۰

## چکیده

افزایش فعالیت‌های کشاورزی و به دنبال آن رهاسازی آلاینده‌ها از سامانه‌های کشاورزی و همچنین گسترش صنایع سبب ورود یون‌های فلزهای سنگین از جمله کادمیم به محیط زیست می‌شود. کاربرد جاذب‌ها از روش‌های مناسب برای ناپویاسازی فلزهای سنگین در خاک‌های آلوده می‌باشند. این پژوهش با هدف بررسی پیامد جاذب‌های طبیعی و اصلاح شده در ناپویاسازی کادمیم در خاک آلوده و پیامد آن بر برخی ویژگی‌های زیستی و شاخص‌های اکوفیزیولوژیک خاک در قالب طرح کاملا تصادفی با ۱۳ تیمار و سه تکرار انجام شد. تیمارها شامل بنتونیت (B)، بنتونیت اصلاح شده با آهن (B-Fe)، بنتونیت اصلاح شده با منگنز (B-Mn)، بنتونیت اصلاح شده با آهن و منگنز (B-Fe Mn)، شلتوک برنج (RH)، شلتوک برنج اصلاح شده با اسید فسفریک (RH-P)، هرکدام در دو سطح ۲ و ۵ درصد و تیمار شاهد بودند. نتایج آزمایش نشان داد که تنفس پایه میکروبی و فعالیت آنزیم فسفاتار در تیمار RH-P 5% به ترتیب به ۲/۶ و ۲/۲۵ برابر تیمار شاهد رسید. تنفس برانگیخته با سوبسترا و فعالیت آنزیم اوره‌آز در تیمار RH-P 5% بیشترین مقدار بود. فعالیت آنزیم دهیدروژناز نیز در تیمارهای RH-P 5% و 5% و B-FeMn 2 بیشترین مقدار را نشان داد. نتایج همچنین نشان داد که مقدار کادمیم محلول و تبادلی با افزودن جاذب‌ها کاهش یافت و در تیمار RH-P 5% نسبت به شاهد ۲/۵ برابر کاهش مشاهده شد. شاخص‌های اکوفیزیولوژیک خاک نیز که از شاخص‌های سلامت و کیفیت خاک می‌باشند در حضور جاذب‌ها بهبود یافتند، به گونه‌ای که سهم متابولیک در تیمارهای همراه با جاذب بنتونیت و شلتوک برنج بیشترین مقدار بود. بنابراین کاربرد جاذب‌ها می‌تواند یکی از راه‌کارهای مدیریتی موثر برای ناپویاسازی کادمیم و بهبود شرایط زیستی خاک باشد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم اوره‌آز، تنفس میکروبی، جاذب، شاخص اکوفیزیولوژیک

## مقدمه

زیست‌بوم‌های مختلف پیوسته با مقادیر زیادی از مواد شیمیایی پرخطر با ساختارها و سطوح مختلف سمیت آلوده می‌شوند. بنابراین سلامت انسان با مصرف غذا و آب آلوده در معرض خطر قرار می‌گیرد. فعالیت‌های صنعتی و کشاورزی انجام شده توسط بشر و بقایای ناشی از جنگ‌افزارها از منابع عمده آلودگی می‌باشند (۲۹). افزایش فعالیت‌های کشاورزی که جهت برآورده کردن نیازهای افزایش جمعیت می‌باشد رهاسازی آلاینده‌ها از سامانه‌های کشاورزی را سبب می‌شود که به عنوان یکی از عوامل افت کیفیت و سلامت خاک و آب مطرح می‌باشد. بنابراین برای مهار آسیب‌های زیست‌محیطی ایجاد شده از روش‌های مختلف پالایش منابع آب و خاک بهره‌گیری می‌شود. کادمیم از جمله عناصر پرخطر محسوب می‌شود که از طریق پساب‌های صنعتی صنایع باتری‌سازی، باتری‌های قابل شارژ و نیمه‌هادی‌ها وارد محیط زیست شده و می‌تواند در بدن ماهی‌ها و دیگر موجودات آبزی، گیاهان و دام‌ها تجمع یافته و به بدن انسان انتقال یابد (۳۹). بنابراین پالایش خاک‌های آلوده به کادمیم در راستای سلامتی انسان، امری بسیار مهم و اجتناب‌ناپذیر است.

فرآیندهای گوناگونی مانند رسوب شیمیایی، تبادل یونی و اسمز معکوس برای حذف فلزهای سنگین گزارش شده‌اند که مشکل اساسی این روش‌ها پرهزینه بودن آن‌ها است (۲۵). یکی از روش‌های پالایش خاک‌های آلوده، تثبیت یا ناپویاسازی آلاینده‌ها در خاک توسط جاذب‌ها است. در این روش غلظت کل آلاینده در خاک تغییر نمی‌کند، بلکه تنها بخش فعال آلاینده در خاک کاهش می‌یابد (۱۹).

۱، ۲، ۳ و ۴- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، استادیار، دانشیار و استادیار گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان
(*- نویسنده مسئول: (Email: nasrin.ghorbanzadeh@gmail.com
DOI: 10.22067/jsw.v32i1.67895

در میان مواد جاذب، کانی‌های رسی مختلف برای ناپویاسازی فلزها در خاک کاربرد دارند. بنتونیت به دلیل داشتن ویژگی‌های منحصر به فرد مانند سطح ویژه‌ی بسیار بالا، هزینه‌ی کم تهیه و دسترسی آسان و گنجایش تبادل کاتیونی بالابه عنوان ماده‌ای موثر جهت جذب فلزهای سنگین در خاک‌های آلوده شناسایی شده است (۱۵).

رس‌های اصلاح شده نسبت به رس‌های طبیعی آب‌گریز بوده و به عنوان جاذب‌های بسیار خوب برای جذب انواع مختلف های آلی و غیرقطبی شناخته شده‌اند (۱۰). اصلاح ویژگی‌های کیفی رس‌ها با دو روش جانمایی[1] که از مهم‌ترین مراحل پیلارد[2] کردن رس است و فعال‌سازی با اسید انجام می‌شود. جانمایی، وارد کردن یک گونه‌ی مهمان در فضای بین لایه‌ای کانی رسی با حفظ ساختار آن است. رس‌های پیلارد شده با اکسیدهای فلزی به دلیل بالا بودن پایداری حرارتی، سطح ویژه‌ی بالا و فعالیت کاتالیستی از اهمیت زیادی برخوردار هستند. واژه‌های جانمایی و پیلارد کردن مترادف و هم‌معنی هم به کار می‌روند.اگرچه به نظر می‌رسد که رس‌های جانمایی شده پایداری کمتری دارند. در حالی‌که رس‌های پیلارد شده به سبب تشکیل در شرایط دمای بالا و ایجاد ستون‌هایی در فضای بینلایه‌ای آن‌ها پایداری بیشتری دارند (۷ و ۳۱).

تیمار کانی‌های رسی با اسیدهای غیرآلی نیز بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. این تیمارها اغلب می‌توانند کاتیون‌های تبادلی را با یون‌های $H^+$ و $Al^{3+}$ و دیگر کاتیون‌های موجود در هر دو مکان‌های هشت وجهی و چهار وجهی جایگزین کنند (۷). کانی رسی بنتونیت خام دارای ویژگی قلیایی بوده و با اصلاح این کانی با آهن سه ظرفیتی ویژگی اسیدی به خود می‌گیرد (۹).

علاوه بر کانی‌های رسی، منابع ارزان و قابل دسترس طبیعی دیگر نیز از جمله کربن فعال، زغال سنگ، کک، چوب، ساقه گیاه آفتابگردان و شلتوک برنج[3] برای حذف کادمیم و دیگر فلزهای سنگین و سمی از محلول‌های آبی مناسب گزارش شده‌اند (۱). شلتوک برنج به طور عمده از پروتئین خام (۳۰٪)، لیگنین (۲۰٪)، همی‌سلولز (۲۵٪) و سلولز (۳۵٪) تشکیل شده است، که به دلیل داشتن چندین گروه عامل، سیلیکات آمورف و ساختار فیبری برای تثبیت کاتیون‌های فلزی مانند سرب و مس دو ظرفیتی مناسب می‌باشد (۳۵). ژانگ و همکاران (۴۰) گزارش نمودند که تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی[4] شلتوک برنج طبیعی واصلاح شده با اسید فسفریک تفاوت‌هایی را دارا هستند. در سطح شلتوک برنج طبیعی ساختمان منظم وجود دارد که بعد از اصلاح با تیمار اسیدی، شلتوک برنج ساختار سطحی نامنظم و متخلخل پیدا می‌کند. منافذ باز و حفره مانند روی سطح شلتوک برنج اصلاح شده با اسید فسفریک ورود آلودگی را به داخل حفره‌های آن تسهیل و سرعت جذب را افزایش می‌دهد. این پژوهشگران همچنین بیان کردند که طیف‌سنجی فلوروسانس پرتو ایکس[5] شلتوک برنج تیمار شده با اسید فسفریک افزایش نسبی در مقدار عناصر سدیم، سیلیسیم و فسفر و کاهش در مقدار عناصر پتاسیم و کلسیم در مقایسه با شلتوک برنج طبیعی دارد.

برای حذف آلودگی فلزهای سنگین از آب‌های آشامیدنی، جاذب شلتوک برنج اصلاح شده با اسید فسفریک بهتر از نوع اصلاح نشده گزارش شده زیرا جاذب‌های اصلاح نشده می‌توانند مشکلات بیشتری مانند گنجایش جذب پایین و بالا بودن اکسیژن مورد نیاز شیمیایی (COD) و بیوشیمیایی (BOD) ایجاد کنند (۳۸). بنابراین با توجه به فراوانی شلتوک برنج به عنوان یک محصول فرعی در کشاورزی و هزینه اندک تهیه آن به خصوص در استان گیلان و همچنین فراوانی کانی رسی بنتونیت در ایران، این پژوهش با هدف کاهش مقدار کادمیم در فاز محلول و تبادلی خاک آلوده در شرایط آزمایشگاهی در حضور این دو جاذب طراحی و اجرا شد. با توجه به این‌که ویژگی‌های زیستی خاک شاخصی از سلامت و کیفیت خاک می‌باشند، و به سرعت به تغییرها و تنش‌های محیطی پاسخ می‌دهند و از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی حساس‌ترند، در این پژوهش پس از اعمال جاذب‌ها به بررسی برخی ویژگی‌های زیستی و شاخص‌های اکوفیزیولوژیک خاک پرداخته شد تا پیامد حذف آلودگی بر سلامت خاک نیز مورد ارزیابی قرار گیرد. فرض شد که با اصلاح بنتونیت به وسیله آهن و منگنز و همچنین شلتوک برنج با اسید فسفریک که جاذب‌های قوی برای کادمیم محسوب می‌شوند، می‌توان کادمیم را از بخش قابل دسترس خاک خارج کرده و ویژگی‌های زیستی خاک را بهبود بخشید.

## مواد و روش‌ها

### تهیه و آماده‌سازی جاذب‌ها

کانی بنتونیت از شرکت زرین‌خاک قاین مشهد تهیه و به منظور حصول اطمینان از خلوص آنبا دستگاه پراش‌سنج پرتو ایکس[6] (زیمنس مدل D5000) آنالیز شد. به منظور اصلاح رس بنتونیتو تهیه۳ نوع بنتونیت اصلاح شده با آهن، منگنز و آهن- منگنز، در ابتدا بنتونیت خام به مدت ۲۴ ساعتدرتماس بامحلول ۰/۳ مولارکلرید سدیم (نسبت ۱ به ۶/۵ فاز جامد به مایع) قرارگرفت. فاز جامد توسط سانتریفیوژ در (۴۰۰۰rpm) و به مدت ۱۰ دقیقه از فاز مایع جدا و دردمای ۸۰ درجه

1- Intercalation
2- Pillaring
3- Rice Husk
4- Scanning electron micrographs
5- X-Ray fluorescence
6- X-Ray Diffraction

سلسیوس خشک شد. سپس رس اشباع شده با کلرید سدیم به مدت ۲۴ ساعت درتماس با محلول‌های یک مولار کلرید آهن ($6H_2O.FeCl_3$)، کلرید منگنز ($MnCl_2.6H_2O$) و مخلوط (۱:۱) آن‌ها ($MnCl_2.6H_2O + FeCl_3.6H_2O$) قرار گرفت (نسبت ۱به ۶/۵ فاز جامد به مایع) و بر روی شیکر دوار قرار داده شد و سپس با سانتریفوژ کردن فاز جامد از مایع جدا شد. فاز جامد جدا شده با آب مقطر شستشو داده شد و این فرآیند تا حذف کامل کلرید ادامه یافت. سپس فاز جامد در دمای ۶۰ درجه سلسیوس خشک شد و به منظور همگن‌سازی از الک ۰/۰۷ میلی‌متر عبور داده شد (۱۸).

شلتوک برنج از شالی‌کوبی واقع در شهرستان رودسر تهیه و پس از خرد شدن از الک ۰/۲ میلی‌متر عبور داده شد. به منظور رفع آلودگی‌های احتمالی، شلتوک برنج چندین بار با آب مقطر شسته و در دمای ۶۰ درجه سلسیوس به مدت ۲ ساعت خشک و نگه‌داری گردید (۱). برای تهیه شلتوک برنج اصلاح شده، به ۵ گرم از شلتوک خشک شده، ۵۰۰ میلی‌لیتر از محلول یک مولار $H_3PO_4$افزوده شد و در دمای آزمایشگاه به مدت ۲۴ ساعت بر روی شیکر (۱۵۰rpm) قرار داده شد. سپس مخلوط از کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ عبور داده شد و بخش جامد با آب مقطر تا ثابت شدن pH به ۶/۸ شستشو داده شد. پس از شستشو، جاذب اصلاح شده در آون (دمای ۸۰ درجه سلسیوس) به مدت ۴ ساعت خشک و در دمای آزمایشگاه در ظروف در بسته نگه‌داری شد (۴۰).

برخی از ویژگی‌های جاذب‌های بنتونیت و شلتوک برنج شامل pH (۲۸)، گنجایش تبادل کاتیونی با روش استات آمونیوم (۲۶) و کربن آلی شلتوک برنج به روش اکسیداسیون تر (۶ و ۲۷) اندازه‌گیری شدند.

### آماده‌سازی و آلوده کردن نمونه‌های خاک

یک نمونه خاک از عمق صفر تا۳۰ سانتی‌متر از بخش کلاچای شهرستان رودسر استان گیلاننمونه‌برداری شد و پس از انتقال به آزمایشگاه و هوا خشک کردن، برای آنالیزهای فیزیکی و شیمیایی از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شد. برخی از ویژگی‌های خاک شامل بافت خاک به روش هیدرومتری (۵)، pH و EC (درعصاره‌ی اشباع) (۲۸)، کربن آلی به روش اکسیداسیون تر (۶ و ۳۷)، گنجایش تبادل کاتیونی باروش استات آمونیوم (۲۶) و کربنات کلسیم معادل به روش تیتراسیون برگشتی (۱۶) اندازه‌گیری شدند. خاک هوا خشک با پودر نمک کلرید کادمیم ($CdCl_2.5H_2O$) به مقدار ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آلوده شد. خاک آلوده به کادمیم با نسبت‌های ۲ درصد و ۵ درصد از هر یک از جاذب‌های بنتونیت و شلتوک برنج طبیعی و اصلاح شده، همراه با خاک شاهد (بدون تیمار با بنتونیت و شلتوک برنج طبیعی و اصلاح شده) به مدت ۲ ماه در گلدان‌های پلاستیکی در شرایط رطوبت معادل ۷۰ درصد ظرفیت زراعی و در شرایط ثابت گلخانه‌ای (دمای حدود ۲۵-۲۴ درجه سلسیوس) نگه‌داری شدند. پس از طی زمان انکوباسیون ویژگی‌های زیستی خاک شامل تنفس میکروبی پایه (۳)، تنفس برانگیخته با سوبسترا (۲)، کربن زیست‌توده میکروبی از روش گازدهی با کلروفرم (تدخین- انکوباسیون) (۱۷) در نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم دهیدروژناز خاک به روش اندازه‌گیری تغییرشکل سوبسترای ۳،۵، ۲-تری فنیل تترازولیوم کلراید به ۵، ۲-۱ تری فنیل فورمازان (۳۳)، فعالیت آنزیم فسفاتاز به روش رنگ‌سنجی p- نیتروفنل (۳۲) و فعالیت آنزیم اوره‌آز به روش تعیین آمونیوم با روش تقطیر بخار (۲۳) درنمونه‌ها اندازه‌گیری شد. سهم متابولیکی ($qCO_2$)، از تقسیم تنفس پایه (مقدار $CO_2$-C به دست آمده از یک روز تنفس میکروبی بر حسب میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) بر مقدار کربن زیست توده‌ی میکروبی محاسبه شد (۲). قابلیت دسترسی به کربن از تقسیم تنفس پایه (مقدار $CO_2$-C به دست آمده از یک روز تنفس میکروبی بر حسب میلی‌گرم در کیلوگرم خاک در روز) بر تنفس بر انگیخته با سوبسترا (مقدار $CO_2$-C به دست آمده بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک در روز) محاسبه شد (۱۱). سهم میکروبی نیز از تقسیم کربن زیست توده‌ی میکروبی به کربن آلی خاک به دست آمد که شاخص مناسبی از وضعیت توزیع کربن فعال خاک بین بخش زنده و غیر زنده است و کیفیت کربن خاک را بیان می‌کند (۳).

### آنالیز آماری

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۳ تیمار و سه تکرار انجام شد. تیمارها شامل بنتونیت (B)، بنتونیت اصلاح شده با آهن (B-Fe)، بنتونیت اصلاح شده با منگنز (B-Mn)، بنتونیت اصلاح شده با آهن و منگنز (B-Fe Mn)، شلتوک برنج (RH)، شلتوک برنج اصلاح شده با اسید فسفریک (RH-P) هر کدام در دو سطح ۲ و ۵ درصدو تیمار شاهد (C) بودند. نتایج به دست آمده از تمامی آزمایش‌ها در بخش‌های مختلف با استفاده از نرم افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. مقایسه میانگین داده‌های آزمایشی با یکدیگر با آزمون توکی در سطح ۵ درصد انجامو برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

## نتایج و بحث

برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش در جدول ۱ آورده شده است. مقدار شن، سیلت و رس خاک مورد آزمایش به ترتیب ۶۳/۱۵،۵ و ۲۱/۵ درصد بود. مقدار کادمیم کل در این خاک توسط دستگاه جذب اتمی به روش شعله قابل تشخیص نبود. برخی از ویژگی‌های شیمیایی دو جاذب بنتونیت و شلتوک برنج در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده

Table1- Some physical and chemical characteristics of the study soil

| بافت texture | کربنات‌های کلسیم معادل Calcium carbonates equivalent | کربن آلی Organic carbon | کادمیم کل Total cadmium | گنجایش تبادل کاتیونی Cationexchange capacity (CEC) | هدایت الکتریکی Electrical conductivity (ECe) | پی‌اچ (pH) | ویژگی‌های خاک Soil characteristics |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | ($g.Kg^{-1}$) | ($g.Kg^{-1}$) | ($mg.Kg^{-1}$) | ($cmol_c.Kg^{-1}$) | ($\mu S.cm^{-1}$) | | |
| Sandy loam | 100 | 19.8 | ND | 33.32 | 580 | 7.5 | |

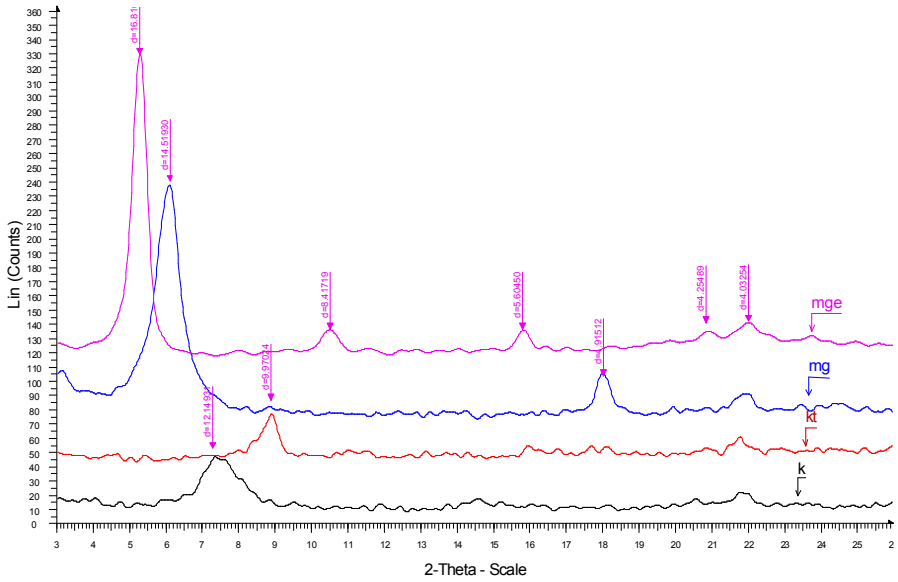
ND (Not Determined): غیر قابل تشخیص توسط دستگاه جذب اتمی

جدول ۲- برخی ویژگی‌های شیمیایی جاذب‌ها

Table 2– Some chemical characteristics of adsorbents

| کربن آلی Organic carbon | گنجایش تبادل کاتیونی (CEC) Cation exchange capacity | پی‌اچ (pH) | ویژگی جاذب Adsorbent characteristics |
|---|---|---|---|
| ($g.Kg^{-1}$) | ($cmol_c.kg^{-1}$) | | |
| - | 83.11 | 8.34 | بنتونیت Bentonite |
| 468 | 15.40 | 5.30 | شلتوک برنج Rice husk |

شکل ۱ طیف‌های XRD بنتونیت طبیعی را نشان می‌دهد. چنانچه در شکل ۱ نشان داده می‌شود با توجه به قله ۱۶/۸ در تیمار Mge و شدت آن در این تیمار می‌توان نتیجه گرفت که حدود ۹۵٪ بنتونیت خالص است که ماده اصلی آن مونت‌موریلونیت بوده و همچنین دارای مقداری رس‌های دیگر نیز به صورت ناخالصی می‌باشد (۸ و ۲۴).

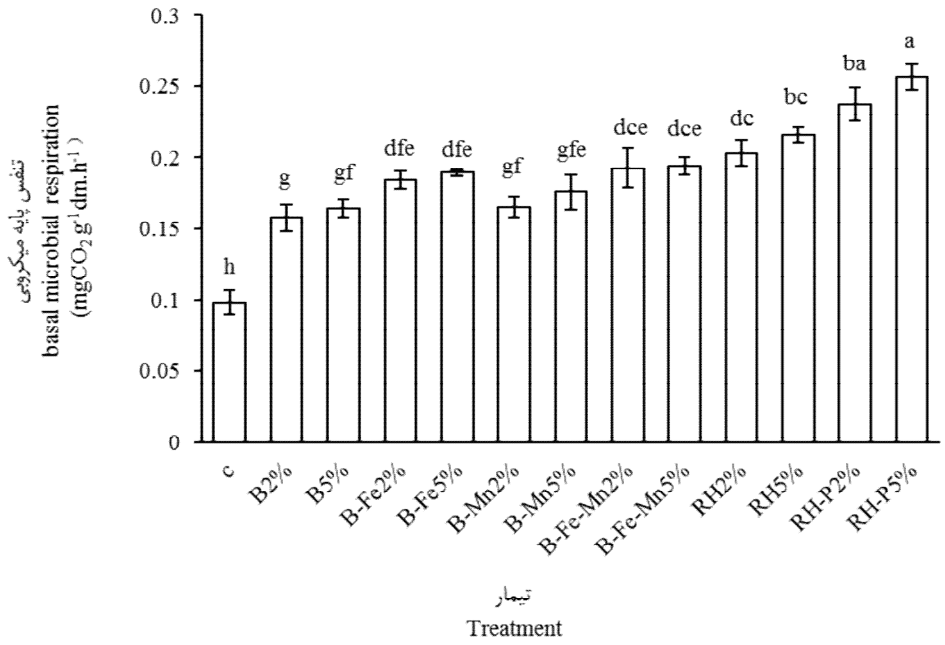



شکل ۱- طیف‌های XRD بنتونیت طبیعی. Mge: تیمار اشباع با منیزیم و اتیلن گلیکول، Mg: تیمار اشباع با منیزیم، Kt: تیمار اشباع با پتاسیم در حرارت ۵۵۰ درجه سلسیوس، K: تیمار اشباع با پتاسیم

Figure 1- XRD spectra of natural bentonite. Mge: Mg and ethylene glycol-saturated, Mg: Mg-saturated, Kt: K-saturated at 550˚C, and K: K-saturated treatments

### ویژگی‌های زیستی خاک

مقدار تنفس پایه میکروبی پس از گذشت ۲ ماه انکوباسیون در خاک آلوده به کادمیم در تیمارهای مختلف در شکل ۲ نشان داده شده است. افزودن بنتونیت و همچنین بنتونیت اصلاح شده به خاک آلوده به کادمیم سبب افزایش تنفس پایه نسبت به تیمار شاهد شد و مقدار افزایش تنفس با افزایش سطح ماده جاذب اگرچه بیشتر بود اما تفاوت چشم‌گیری ($P>0.05$) نشان نداد. افزودن بنتونیت اصلاح شده با مخلوط اکسید آهن و منگنز به عنوان جاذب آلودگی سبب بهبود مقدار تنفس میکروبی پایه در خاک آلوده شده است. درمقایسه دو جاذب با یکدیگر، پیامد جاذب شلتوک برنج به ویژه شلتوک اصلاح شده با فسفر بر بهبود تنفس میکروبی خاک بیشتر بود و در مقایسه با تیمار شاهد تفاوت آماری چشم‌گیری ($P\leq0.05$) داشت. به طوری که تنفس پایه میکروبی در تیمار RH-P 5% به ۲/۶ برابر تیمار شاهد رسید. افزایش تنفس میکروبی در تیمارهای مختلف تا حد زیادی به وسیله‌ی مقدار ماده‌ی آلی خاک و شدت فعالیت‌های زیستی قابل توجیه است. به عبارت دیگر، تجمع مواد آلی بیشتر در خاک بر جمعیت‌های میکروبی خاک نیز اثر می‌گذارد و سبب افزایش پتانسیل فعالیت‌های میکروبی در خاک می‌شود (۱۳). از این‌رو افزودن شلتوک برنج به خاک سبب افزایش کربن آلی شده و فعالیت‌های میکروبی خاک را افزایش داده است. بنابراین، مقدار تنفس خاک با افزودن جاذب شلتوک برنج بالا رفته است. اندرسون (۴) تنفس پایه میکروبی یا معدنی شدن کربن آلی خاک را شاخص مهمی در ارزیابی فعالیت جمعیت میکروبی کل خاک عنوان کرد. این شاخص نه تنها بیانگر وضعیت فعالیت میکروب‌های خاک است، بلکه مشخص‌کننده‌ی روند تعادل و چگونگی تجزیه‌ی ماده‌ی آلی، فعالیت آنزیمی و چرخه‌ی برخی عناصر غذایی در خاک نیز می‌باشد. از این‌رو در خاک شاهد به دلیل تجمع بیشتر غلظت کادمیم فعالیت جمعیت میکروبی کل خاک و در نتیجه‌ی آن تنفس پایه‌ی خاک نیز مقدار کمتری را نشان می‌دهد.

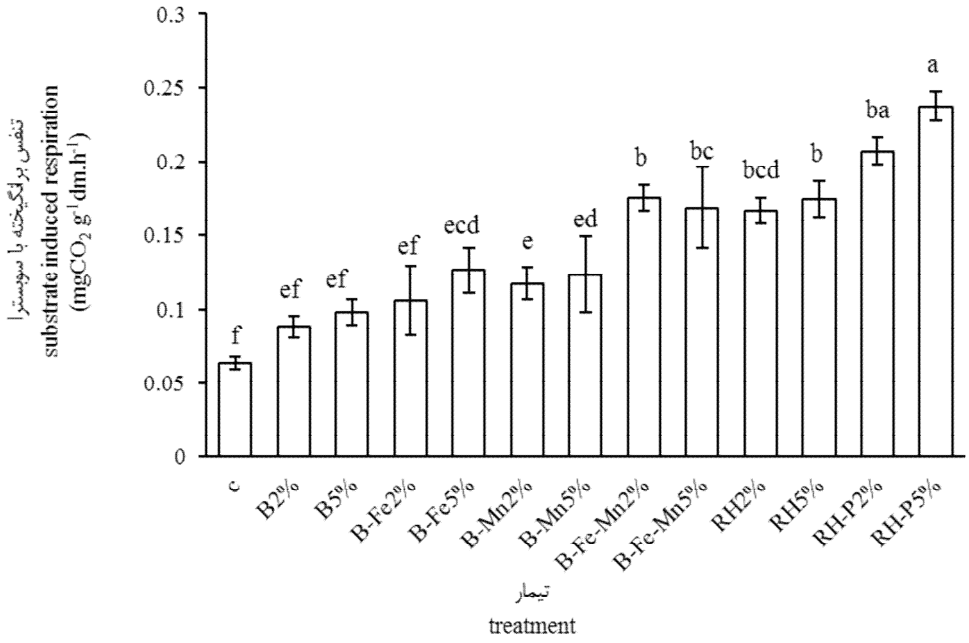



**شکل۲- پیامد تیمارهای مختلف بر مقدار تنفس میکروبی پایه در خاک آلوده به کادمیم. بودن حداقل یک حرف مشترک در روی ستون‌ها در تمامی شکل‌ها نشان دهنده نبود تفاوت آماری چشم‌گیر در سطح ۵٪ است. نوارهای خطا انحراف از معیار می‌باشند (n=3)**

**Figure2- Effect of different treatments on basal microbial respiration in cadmium contaminated soil. In all figures, different letters indicate significant differences at $P< 0.05$ (Tukey method) and error bars are deviations from the criteria (n=3)**

در شکل ۳ مقدار تنفس برانگیخته با سوبسترا در خاک آلوده در حضور تیمارهای مختلف نشان داده شده است. تنفس برانگیخته (ناشی از سوبسترا) شاخص بسیار مهمی از جمعیت فعال میکروبی خاک است (۴) و به همین دلیل با افزودن جاذب‌ها به ویژه شلتوک برنج به خاک آلوده و کم شدن غلظت آلودگی ودر نتیجه‌ی آن افزایش جمعیت فعال میکروبی خاک در تیمارهای مذکور مقدار تنفس برانگیخته با سوبسترا افزایش یافت. مقدار تنفس برانگیخته با سوبسترا درتیمارهای 5% و RH-P2 بیشترین مقدار را داشت و با تیمار شاهد

تفاوت آماری چشم‌گیری ($P\leq0.05$) را نشان داد. مقدار تنفس برانگیخته با سوبسترا در تیمارهای B2% و B5% و همچنین در تیمار B-Fe2% اگرچه نسبت به تیمار شاهد مقدار بیشتری داشت ولی تفاوت آماری چشم‌گیری ($P>0.05$) را نشان نداد. از آن‌جا که تنفس پایه ممکن است افزون بر آلودگی خاک تحت تاثیر عوامل دیگر مانند ماده آلی خاک نیز باشد، تنفس برانگیخته با سوبسترا بهتر می‌تواند پیامد تیمارها بر پویایی جامعه میکروبی خاک را نشان دهد. بنابراین با افزودن ماده ساده تجزیه شونده مانند گلوکز به خاک آلوده، دیده شد که اصلاح با بنتونیت و شلتوک برنج سبب افزایش فعالیت ریزجانداران خاک شد. لندی و همکاران (۲۲) گزارش کردند که فلزهای سنگین با ایجاد کمپلکس با سوبسترای مورد نیاز آنزیم‌ها و خارج نمودن سوبسترا از دسترس ریزجانداران، سبب کاهش تنفس خاک می‌شوند. بیشتر بودن مقادیر تنفس میکروبی برانگیخته با سوبسترا احتمالا به این دلیل است که تیمار شلتوک برنج کادمیم بیشتری را به عنوان عامل محدود کننده متابولیسم میکروبی جذب و ناکارآمد کرده و لذا تنفس برانگیخته افزایش یافته است.

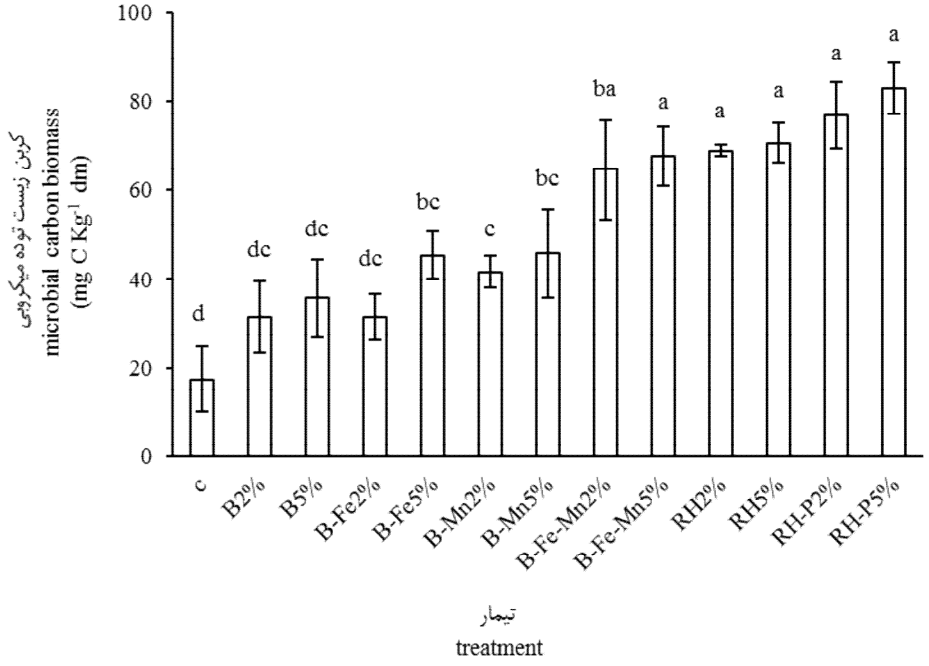



**شکل ۳- پیامد تیمارهای مختلف بر مقدار تنفس برانگیخته با سوبسترا در خاک آلوده به کادمیم**

**Figure3- Effect of different treatments on substrate induced respiration in cadmium contaminated soil**

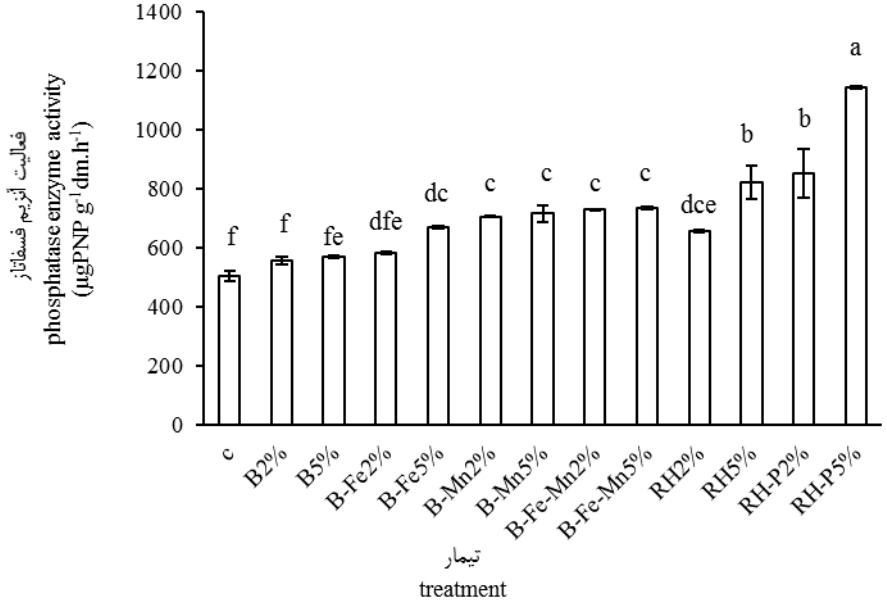
کربن زیست‌توده میکروبی خاک کارکرد ویژه‌ای در تجزیه مواد آلی، چرخه عناصر و پایداری زیست‌بوم دارد و به غلظت آلاینده‌ها در خاک حساس است (۳۰). کربن زیست‌توده میکروبی در تمامی تیمارها به جز تیمارهای B2% و B5% و B-Fe2% اختلاف افزایشی چشم‌گیری را با تیمار شاهد نشان داد (شکل ۴) که دلیل این امر می‌تواند جذب کادمیم توسط جاذب‌ها و همین‌طور بهبود شرایط خاک برای افزایش رشد میکروب‌ها باشد. کاظم‌علیلو و رسولی صدقیانی (۲۱) نیز گزارش نمودند که کربن زیست توده میکروبی در حضور غلظت‌های مختلف کادمیم در خاک کاهش یافت اما مقدار کاهش زیست توده میکروبی در رایزوسفر به دلیل بهبود شرایط برای رشد میکروب‌ها کمتر بود. افزودن شلتوک برنج طبیعی و اصلاح شده پیامد مثبت بیشتری نسبت به سایر تیمارها نشان داد که این امر می‌تواند به این دلیل باشد که هر قدر کربن آلی خاک بالا باشد شرایط مناسب‌تری برای ریزجانداران فراهم شده و زیست‌توده میکروبی خاک نیز افزایش می‌یابد (۱۴).

مقدار فعالیت آنزیم فسفاتاز در تیمار RH-P5% بیشترین مقدار بود و نسبت به تیمار شاهد ۲/۲۵ برابر افزایش نشان داد (شکل ۵). همچنین فعالیت این آنزیم در تیمارهای B2% و B5% و B-Fe 2% اگرچه نسبت به شاهد بیشتر بود ولی تفاوت آماری چشم‌گیری ($P>0.05$) با آن نشان نداد (شکل ۵). به طور کلی مقدار آنزیم فسفاتاز در تیمار شاهد به دلیل دارا بودن آلودگی بیشتر نسبت به تیمارهای همراه با بنتونیت و شلتوک برنج کمتر بود و تیمارهای بنتونیت و شلتوک برنج به خصوص تیمارهای اصلاح شده سبب بهبود فعالیت این آنزیم در خاک شده است.




**شکل ٤- پیامد تیمارهای مختلف بر مقدار کربن زیست توده میکروبی در خاک آلوده به کادمیم**

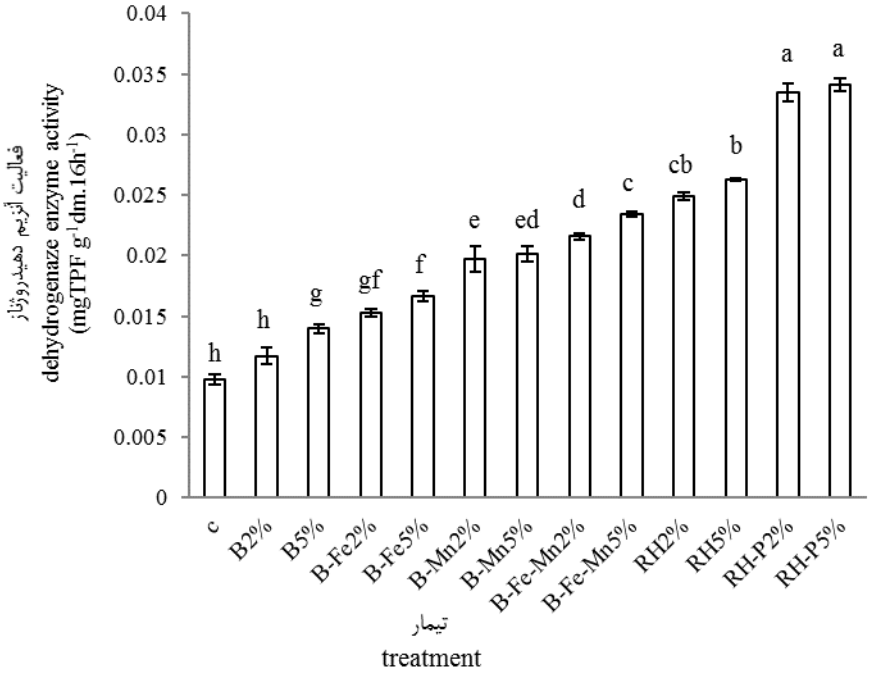
**Figure 4- Effect of different treatments on microbial carbon biomass in cadmium contaminated soil**




**شکل ٥- پیامد تیمارهای مختلف برفعالیت آنزیم فسفاتاز در خاک آلوده به کادمیم**

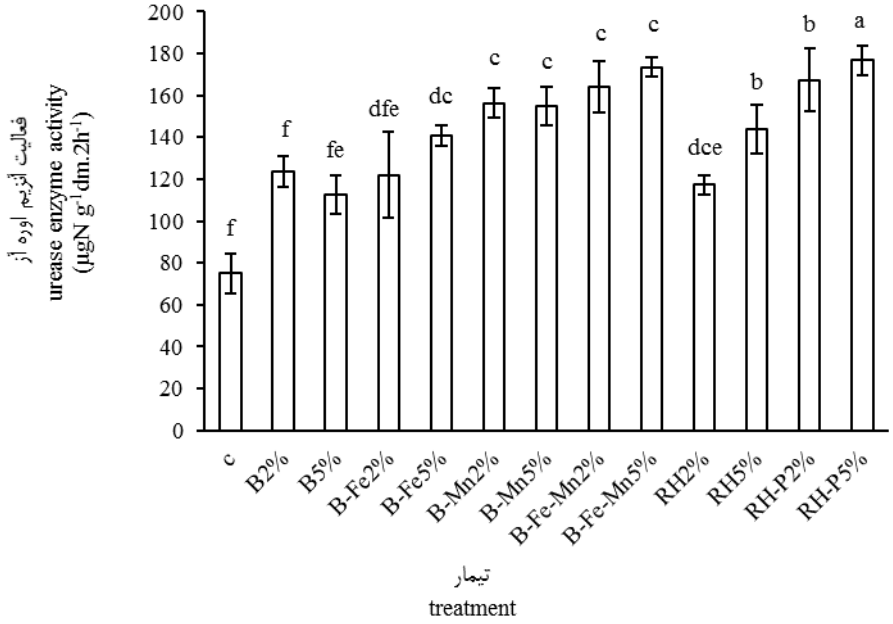
**Figure 5- Effect of different treatments on phosphates enzyme activity in cadmium contaminated soil**

فعالیت آنزیم دهیدروژناز در تیمارهای RH-P 5% و 5% و B-Fe Mn 2 در مقایسه با تیمار شاهد افزایش داشت. همچنین مقدار فعالیت این آنزیم در تیمار B-Fe 5% زیاد بود ولی در تیمار B 2% با تیمار شاهد تفاوت آماری چشم‌گیری ($P>0.05$) نشان نداد (شکل ۶). در تیمار شاهد به دلیل بالا بودن غلظت کادمیم نسبت به سایر تیمارها، فعالیت این آنزیم پایین بود و تیمارهای بنتونیت و شلتوک برنج به ویژه اصلاح شده آن‌ها بر افزایش فعالیت این آنزیم پیامد مثبتی داشتند که این امر می‌تواند به سبب کاهش آلودگی در خاک تحت تاثیر این تیمارها باشد.فعالیت آنزیم اوره‌آز نیز در همه تیمارها نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت (شکل ۷). بیشترین فعالیت آنزیم اوره‌آز در تیمارهای5% و RH-P 2 دیده شد.




**شکل ٦- پیامد تیمارهای مختلف برفعالیت آنزیم دهیدروژناز در خاک آلوده به کادمیم**

**Figure 6- Effect of different treatments on dehydrogenase enzyme activity in cadmium contaminated soil**




**شکل ۷- پیامد تیمارهای مختلف بر فعالیت آنزیم اوره‌آز در خاک آلوده به کادمیم**

**Figure 7- Effect of different treatments on urease enzyme activity in cadmium contaminated soil**

همان‌طور که در شکل‌های ۵، ۶ و ۷ دیده می‌شود فعالیت سه آنزیم اندازه‌گیری شده (فسفاتاز، دهیدروژناز و اوره‌آز) در همه تیمارها نسبت به شاهد افزایش یافت، که به نظر می‌رسد عامل آن کاهش غلظت آلاینده کادمیم در حضور اصلاح کننده‌ها باشد. فلزهای سنگین می‌توانند فعالیت آنزیم را به وسیله‌ی واکنش با ترکیب سوبسترا- آنزیم، تخریب پروتئین آنزیم و واکنش با مکان‌های فعال آن کاهش

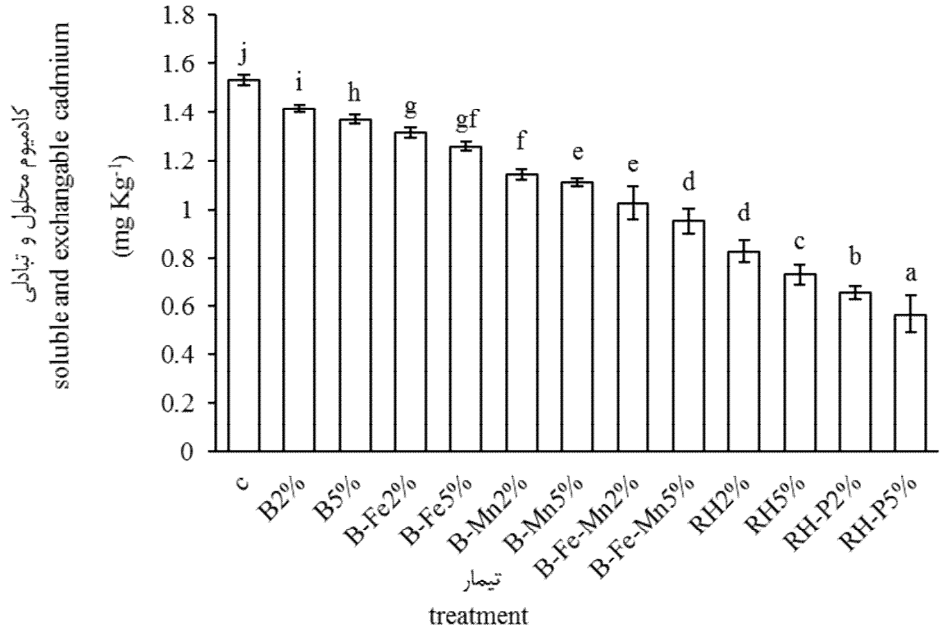
دهند. کادمیم علاوه بر این‌که مهار کننده‌ی آنزیم است می‌تواند پیامدهای زیان‌آوری بر ساختار غشاء و عملکرد آنزیم با اتصال به لیگاندهایی مانند فسفات و گروه‌های سیستئیل و هیستیدیل پروتئین داشته باشد (۳۶). تان و همکاران (۳۴) کاهش فعالیت دهیدروژناز و فسفاتاز قلیایی را در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیم و همچنین کیزیلکایا و همکاران (۲۰) کاهش فعالیت اوره‌آز را در خاک آلوده به فلزهای سنگین گزارش کردند. همچنین علت کم بودن فعالیت آنزیمی در خاک با آلودگی بیشتر(تیمار شاهد) می‌تواند کاهش جمعیت یا فراوانی ریزجانداران و باکتری‌های خاک باشد. کم بودن فراوانی ریزجانداران در خاک آلوده به کادمیم را می‌توان به تخریب DNA و RNA، مهار سنتز پروتئین، جلوگیری از فرآیندهای آنزیمی، مهار تقسیم سلولی به وسیله‌ی فلزهای سنگین و در نهایت آسیب-رسانی به سلول و فرآیندهای سلولی ریزجانداران نسبت داد (۲۱). با افزودن جاذب‌های بنتونیت به خاک آلوده به کادمیم مقدار فعالیت این آنزیم‌ها افزایش نشان داد. افزایش آنزیم‌های اوره‌آز و فسفاتاز که از آنزیم‌های خارج یاخته‌ای هستند را می‌توان این‌گونه توجیه کرد که این آنزیم‌ها به وسیله‌ی کانی رسی (بنتونیت) افزوده شده به خاک جذب و نگه‌داری می‌شوند و در نهایت فعالیت بیشتری نشان می‌دهند (۲۰). همچنین در تیمارهایی که جاذب شلتوک برنج به خاک آلوده به کادمیم اضافه شده مقدار فعالیت این آنزیم‌ها افزایش یافت که علت آن این است که رابطه‌ی مثبتی بین این آنزیم‌ها (اوره‌آز وفسفاتاز) با مقدار ماده‌ی آلی خاک وجود دارد (۱۲). بنابراین مقدار این آنزیم‌ها در تیمارهای همراه با شلتوک برنج مقدار بیشتری را نشان داد. دهیدروژناز از آنزیم‌های درون سلولی می‌باشد (۲۵)که فعالیت آن به شدت به اندازه‌ی جامعه‌ی ریزجانداران خاک وابسته است (۳۴). فعالیت این آنزیم در خاک، شاخصی برای سیستم زیستی اکسایش و کاهش محسوب می‌شود و به نوعی نشان‌دهنده‌ی تعداد کلی ریزجانداران است و می‌تواند مقیاس مناسبی برای اندازه‌گیری شدت متابولیسم میکروبی در خاک باشد (۳۲). بنابراین با افزودن این جاذب‌ها آلودگی کادمیم کاهش یافته و با کاهش آلودگی کادمیم شرایط خاک بهبود یافته وبرای فعالیت ریزجانداران خاک مناسب می‌شود و در نتیجه اندازه‌ی جامعه‌ی ریزجانداران خاک افزایش پیدا کرده و فعالیت این آنزیم نیز افزایش می‌یابد.

مقدار کادمیم در فاز محلول و تبادلی در تیمار شاهد در مقایسه با سایر تیمارها بیشتر بود و تفاوت آماری چشم‌گیری ($P\leq0.05$) را نشان داد (شکل ۸). مقدار کادمیم محلول و تبادلی در تیمار5% RH-P کمترین مقدار و نسبت به تیمار شاهد ۲/۵ برابر کاهش داشت. همچنین کاهش مقدار کادمیم در فاز محلول و تبادلی در تیمارهای بنتونیت و به ویژه تیمارهای بنتونیت اصلاح شده با آهن و منگنز مشاهده شد که نشان دهنده‌ی پیامد مثبت این تیمارها در ناپویاسازی کادمیم می‌باشد.

پژوهش‌ها نشان داده است که شلتوک برنج اصلاح شده پتانسیل جذب بیشتری برای فلزهای کادمیم، سلنیوم و سرب در مقایسه با شلتوک برنج اصلاح نشده داشته است (۱۳). تیمارهای بنتونیت اصلاح شده با آهن و منگنز بر ناپویاسازی کادمیم تا حدودی به یک اندازه بوده و تفاوت آماری چشمگیری ($P>0.05$) را نشان نمی‌دهد. رس‌های اصلاح شده با اکسیدهای فلزی نیز به دلیل سطح ویژه بالا در جذب فلزها از اهمیت زیادی برخوردار هستند. این رس‌های پیلارد شده قادر به جلوگیری از روی هم افتادن فضاهای بین لایه‌ای می‌شوند و لایه‌ها را به شکل ستون باز نگه می‌دارند و در نتیجه فضای بین لایه‌ای را شکل داده و جذب فلزی مانند کادمیم از محلول خاک را افزایش می‌دهند (۷). تاثیردر نتیجه مقدار پویایی کادمیم در تیمارهای بنتونیت و شلتوک برنج به ویژه در شکل اصلاح شده این تیمارها کاهش یافته است که این امر خود می‌تواند شاهدی بر ادعای موثر بودن این تیمارها در کاهش آلودگی در بخش قابل دسترس باشد.کاهش بیشتر مقدار کادمیم در شلتوک برنج اصلاح شده با اسید فسفریک احتمالابه سبب غلظت‌های بیشتر سیلیسیم و سدیم به راحتی تبادل‌پذیر در نوع اصلاح شده است. اصلی‌ترین گروه‌ها در شلتوک برنج اصلاح شده هیدروکسیل، کربونیل و هیدروکاربیل هستند که این گروه‌ها جذب سطحی یون‌های فلزی را افزایش می‌دهند (۴۰).

### شاخص‌های اکوفیزیولوژیک خاک

جدول ۳ برخی از شاخص‌های اکوفیزیولوژیک خاک شامل سهم متابولیک، سهم میکروبی و قابلیت دسترسی به کربن را نشان می‌دهد. اندرسون و دامش (۲) بیان کردند که شاخص سهم متابولیک برای مطالعه پیامد تنش ناشی از آلودگی‌های مختلف بر نیاز انرژی ریزجانداران خاک به کار می‌رود. لندی و همکاران (۲۲) گزارش کردند که ریزجانداران خاک در شرایط تنش به ازای هر واحد سوبسترای اضافه شده، کربن کمتری را صرف تشکیل زیست‌توده‌ی جدید می‌کنند و اغلب آن را برای تامین انرژی لازم برای ادامه‌ی حیات به کمک تنفس مصرف می‌کنند. با توجه به جدول ۳ با اعمال تیمارهای شلتوک برنج به خاک آلوده به کادمیم مقدار سهم متابولیکی کاهش یافت که این امر به سبب زیاد بودن مقدار کربن آلی تیمار شلتوک برنج است که با افزودن این تیمار به خاک مقدار کربن آلی خاک نیز افزایش پیدا کرد و به دنبال آن سوبسترای آلی مورد نیاز ریزجانداران خاک نیز افزایش یافت. سهم میکروبی در تیمار شاهد در مقایسه با سایر تیمارها کمتر شد. سهم میکروبی با آلوده شدن خاک کاهش می‌یابد (۲۱).




**شکل ۸- پیامد تیمارهای مختلف بر کادمیم محلول و تبادلی در خاک آلوده به کادمیم**

**Figure 8- Effect of different treatments on soluble and exchangeable cadmium in cadmium contaminated soil**

بنابراین در خاک شاهد به دلیل مقدار بیشتر آلودگی و کاهش فعالیت ریزجانداران خاک و به دنبال آن کاهش تنفس میکروبی خاک شاخص سهم میکروبی کاهش یافت. مقدار شاخص قابلیت دسترسی به کربن در حضور جاذب‌ها به ویژه جاذب شلتوک برنج کمتر از تیمار شاهد می‌باشد (جدول ۳). دلیل کاهش قابلیت دسترسی به کربن در تیمار شلتوک برنج کم بودن صورت کسر یعنی تنفس پایه نسبت به مخرج آن یعنی تنفس برانگیخته با سوبسترا است. اگرچه در تیمارهایی که مقدار آلودگی کمتر است مقدار تنفس پایه و تنفس برانگیخته با سوبسترا افزایش یافت ولی این افزایش در تنفس پایه در مقایسه با تنفس برانگیخته کمتر بود که این امر شاید به این دلیل باشد که در تیمارهایی که جاذب‌ها به آن اعمال شده با کم شدن آلودگی و بهبود شرایط خاک و همچنین افزایش سوبسترای کربن آلی مورد نیاز ریزجانداران، جمعیت میکروبی فعال خاک نیز افزایش یافته و از این‌رو مقدار افزایش تنفس برانگیخته در مقایسه با تنفس پایه خاک بیشتر بوده است.

بیشتر بودن مقدار این شاخص در تیمار شاهد نشان می‌دهد مقدار تنفس پایه در مقایسه با تنفس برانگیخته بیشتر بوده که به نظر می‌رسد که اگرچه در تنفس برانگیخته سوبسترای گلوکز به خاک افزوده شده ولی برای ریزجانداران فعال خاک به سهولت قابل دسترس نبوده‌است و فلز سنگین سبب ایجاد تاخیر در رشد نمایی میکروب‌های فعال خاک شده است (۱۹).

## نتیجه‌گیری

یافته‌های این پژوهش نشان داد که کادمیم با غلظت ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نقش سمی و بازدارنده بر فعالیت‌های زیستی خاک دارد و افزودن جاذب‌های بنتونیت و شلتوک برنج به ویژه به شکل اصلاح شده سبب ناپویاسازی کادمیم و به دنبال آن بهبود ویژگی‌های زیستی و شاخص‌های اکوفیزیولوژیک خاک شده است. افزایش فعالیت میکروبی خاک در نتیجه افزودن این جاذب‌ها فعالیت‌های آنزیمی خاک را نیز افزایش داد. افزودن جاذب‌های بنتونیت طبیعی در سطوح ۲ و ۵ درصد تا حدودی مقدارکادمیم را در بخش محلول و تبادلی کاهش دادند ولی با اصلاح این کانی رسی با آهن و یا منگنز و همچنین آهن و منگنز به صورت مخلوط با هم در سطوح ۲ و ۵ درصد مقدار کادمیم در فاز محلول و تبادلی خاک کمتر شد. البته تیمار این کانی رسی با آهن در مقایسه با بنتونیت تیمار نشده (طبیعی) تفاوت آماری چشمگیری را نشان نداد و این امر در تیمارهای اصلاح شده با منگنز نیز مشاهده شد. در تیمارهایی که از مواد اصلاحی آهن و منگنز به صورت مخلوط با هم استفاده شد وضعیت بهتری در ناپویاسازی کادمیم ایجاد کرد که در هر دو سطح تقریبا با هم مشابه بود. با توجه به این امر توصیه می‌شود از بنتونیت اصلاح شده با آهن ومنگنز به صورت مخلوط با هم استفاده شود که به دلیل تفاوت نداشتن بین دو سطح و با توجه به صرفه اقتصادی بهتر است از این تیمار در سطح ۲ درصد استفاده شود.

**جدول ۳- پیامد تیمارها بر برخی از شاخص‌های اکوفیزیولوژیکی خاک مطالعه شده**

**Table 3- The Effects of treatments on some ecophysiological indexes of studied soil**

| تیمارها<br>Treatments | قابلیت دسترسی به کربن<br>Carbon availability | سهم میکروبی<br>Microbial quotient | سهم متابولیک<br>Metabolic quotient |
|---|---|---|---|
| شاهد (Control) | $0.06^{bac}$ | $13.88^{c}$ | $8.16^{a}$ |
| بنتونیت طبیعی ۲٪<br>B2% | $0.07^{a}$ | $21.20^{bac}$ | $5.01^{ba}$ |
| بنتونیت طبیعی ۵٪<br>B5% | $0.06^{ba}$ | $21.43^{bac}$ | $4.59^{ba}$ |
| بنتونیت- آهن ۲٪<br>B-Fe2% | $0.07^{a}$ | $17.02^{bc}$ | $5.86^{ba}$ |
| بنتونیت-آهن ۵٪<br>B-Fe5% | $0.06^{bac}$ | $23.9^{bac}$ | $4.16^{ba}$ |
| بنتونیت- منگنز ۲٪<br>B-Mn2% | $0.05^{bac}$ | $20.58^{bac}$ | $3.97^{ba}$ |
| بنتونیت- منگنز ۵٪<br>B-Mn5% | $0.05^{bac}$ | $20.69^{bac}$ | $3.83^{ba}$ |
| بنتونیت-آهن+منگنز ۲٪<br>B-Fe+Mn2% | $0.04^{c}$ | $28.29^{a}$ | $2.98^{b}$ |
| بنتونیت-آهن+منگنز ۵٪<br>B-Fe+Mn5% | $0.04^{bc}$ | $26.84^{ba}$ | $2.87^{b}$ |
| شلتوک برنج ۲٪<br>RH2% | $0.05^{bc}$ | $26.46^{ba}$ | $2.95^{b}$ |
| شلتوک برنج ۵٪<br>RH5% | $0.05^{bc}$ | $24.99^{bc}$ | $3.06^{b}$ |
| شلتوک برنج- اسید فسفریک ۲٪<br>RH-$H_3PO_4$2% | $0.04^{bc}$ | $23.84^{bac}$ | $3.09^{ba}$ |
| شلتوک برنج- اسید فسفریک ۵٪<br>RH-$H_3PO_4$5% | $0.04^{c}$ | $23.85^{bac}$ | $3.09^{ba}$ |

میانگین‌های با حروف غیرمشترک در هر ستون دارایاختلاف چشم‌گیر ($P\leq0.05$) هستند

The means with dissimilar letters in each columns are significantly different at $P<0.05$

افزودن جاذب‌های شلتوک برنج و همچنین شلتوک برنج اصلاح شده با فسفر در هر دو سطح ۲ و ۵ درصد در مقایسه با جاذب بنتونیت (طبیعی و اصلاح شده) به مقدار بیشتری سبب ناپویاسازی کادمیم شد که ارجحیت آن را نسبت به جاذب بنتونیت نشان می‌دهد. لذا کاربرد این جاذب‌ها می‌تواند یکی از راه‌کارهای مدیریتی ارزان قیمت، موفق و موثر برای ناپویاسازی کادمیم در خاک بوده و بنابراین خطر جذب گیاهی، شستشو و ورود کادمیم به سفره‌های آب زیرزمینی و چرخه‌ی غذایی را کاهش دهد.

## منابع


1- Ajmal M., Rao R.A.K., Anwar Sh., Ahmad J., and Ahmad R. 2003. Adsorption studies on rice husk: removal and recovery of Cd (II) from wastewater, Bioresource Technology, 86: 147–149.

2- Anderson T.H. and Domsch K.H. 1990. Application of eco-physiological quotients ($qCO_2$ and Dq) on microbial biomasses from soils of different cropping histories, Soil Biology and Biochemistry, 22(2): 251-255.

3- Anderson T.H., and Domsch K.H. 1993. The metabolic quotient from $CO_2$ ($qCO_2$) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils, Soil Biology and Biochemistry, 25: 393-395.

4- Anderson J.P.E. 1982. Soil respiration. In: Methods of Soil Analysis, Part 2: Chemical and Microbiological Properties, Page A.L., and Miller, R.H. (Eds.), American Society of Agronomy Madison, 831-871.

5- ASTM D 422 (American Society for Testing and Materials), 2007, Standard test method for particle-size analysis of soil, Annual Book of ASTM Standards, 2-7 pp.

6- Bao S.D. 2005. Soil Agricultural Chemistry Analysis. China Agriculture Press, Beijing, pp. 257–270.

7-Bhattacharyya K.G. and Gupta S.S. 2008. Adsorption of a few heavy metals on natural and modified kaolinite and

montmorillonite: A review, Advances in Colloid and Interface Science, 140(2): 114–131.
8- Borchardt, G. 1989. Minerals in Soil Environments, SSSA Book Series, Smectites. vol. 1, pp. 675-727.
9- Brigatti M.F., Galan E. and Theng B.K.G. 2006. Structures and mineralogy of clay minerals, Developments in Clay Science, 1: 19-86.
10- Cruz-Guzmán M., Celis R., Hermosın M.C., Koskinen W.C., Nater E.A. and Cornejo J. 2006. Heavy metal adsorption by montmorillonites modified with natural organic cations, Soil Science Society of America Journal, 70(1): 215–221.
11- Cheng W., Coleman D.C., Carroll C.R. and Hoffman C.A. 1993. In situ measurement of root respiration and soluble c concentrations in the rhizosphere, Soil Biology and Biochemistry, 25(9): 1189- 1196.
12-Doelman P. and Haanstra L. 1989. Short and long term effects of heavy metals on phosphatase activity in soils: An ecological dose response model approach, Biology and fertility of soils, 8: 235-241.
13- Ebrahimzad S.A., Asgharzad N.A. and Najafi N.A. 2013. Influence of some soil ecophysiological indexes on land use change in the Seddouz plain (Naghdeh - West Azerbaijan), Journal of Agricultural Science and Sustainable Production, 23(4): 133-149. (In Persian with English abstract).
14- Gianfreda L. and Rao M.A. 2004. Potential of extra cellular enzymes in remediation of polluted soils: a review, Enzyme and Microbial Technology, 35: 339–354.
15- Hartley W. and Lepp N. 2008. Remediation of arsenic contaminated soils by CaO application, evaluated in terms of plant productivity, arsenic and phytotoxic metal uptake, Science of the Total Environment, 390: 35-44.
16- Horváth B., Opara-Nadi O., and Beese F. 2005. A simple method for measuring the carbonate content of soils, Soil Science Society of America journal, 69: 1066–1068.
17- Jenkinson D.S., and Ladd J.N. 1981. Microbial Biomass in Soil: Measurement and Turnover. In E. A. Paul, and J. N. Ladd (Eds.), Soil Biochemistry. vol. 5, pp. 415-471.
18- Jimenez-Cedillo M.J., Olguín M.T., Fall C.H., and Colín A. 2011. Adsorption capacity of iron- or iron manganese-modified zeolite-rich tuffs for As(III) and As(V) water pollutants, Applied Clay Science, 54(3): 206-216.
19- Kumpiene J., Ore S., Renella G., Mench M., Lagerkvist A. and Maurice C. 2006. Assessment of zerovalent iron for stabilization of chromium, copper, and arsenic in soil, Environmental Pollution, 144(1): 62-69.
20- Kizilkaya R., Askin T., Bayrakli B. and Saglam M .2004. Microbological characteristics of soils contaminated with heavy metals, European Journal of Soil Biology, 40: 95-102.
21- KazemAlilo S., RasuoliSedghiyani M.H. 2013. Evaluation of some biological indices of soil in presence of microorganisms stimulating plant growth and soil cadmium contamination, Iranian Journal of Soil and Water Research. 44(1): 57-68. (In Persian)
22- Landi L., Renella G., Moreno J.L., Flachini L. and Nannipieri P. 2000. Influence of cadmium on the metabolic quotient, L: D-glutamic acid respiration ratio and enzyme activity; microbial biomass ratio under laboratory conditions, Biology and Fertility of Soils, 32: 8–16.
23- Mulvaney R.L. 1996. Nitrogen-inorganic forms. In: Sparks D.L., editor. Methods of Soil Analysis, Part 3. Chemical Methods. SSSA Book Ser. 5. Soil Science Society of America; Madison, WI. pp. 1123–1184.
24- Moore D.M., Reynolds R.C. 1997. X-ray Diffraction and the Identification and Analysis of Clay Minerals, Oxford University Press, pp. 378.
25- Neto A.F.A., Vieira M.G.A. and Silva M.G.C. 2012. Cu(II) adsorption on modified bentonitic clays: different isotherm behaviors in static and dynamic systems, Materials Research, 15(1): 114-124.
26- Page, A.L., R.H. Miller, D.R. Keeney. 1992. Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Methods Soil Sci. Soc. Am. Agron. Monograph, 2nd ed., vol. 9, pp. 325–340.
27- Qiang L., Xu-lai Y. and Xi-feng Z. 2008. Analysis on chemical and physical properties of bio-oil pyrolyzed from rice husk, Journal of Analytical and Applied Pyrolysis, 82: 191-198.
28- Sparks D.L., Page A., Helmke P. and Loeppert R.H. 1996. Methods of Soil Analysis. Part 3-Chemical methods, Soil Science Society of America. Inc.
29- Schutz T., Dolinska S. and Mockovciakova A. 2013. Characterization of bentonite modified by manganese oxides, Universal Journal of Geoscience, 1(2): 114–119.
30- Shirzadeh N., Aliasgharzad N. and Najafi N. 2013. Changes in carbonation, ecophysiological identifiers, base and induced respiration soil in incubation with different lead levels, Journal of Water and Soil Science. 23(2): 111-124. (In Persian with English abstract).
31- Ionescu C., Hoeck V. and Simon V. 2011. Effect of the temperature and the heating time on the composition of an illite-rich clay: an XRPD study, Study of. University Babes-Bolyai Physics, 56(2): 70.
32- Tabatabai M.A. and Bremner J.M. 1969. Use of p-nitrophenylphosphate for assay of soil phosphatase activity, Soil Biology Biochemistry, 1: 301–307.
33- Tabatabai M.A. 1982. Soil enzymes Methods of soil analysis. Part 2. American Society of Agronomy, Madison, WI, USA, pp. 539–579.
34- Tan X., Liu Y., Yan K., Wang Z., Lu G., He Y. and He W. 2007. Differences in the response of soil dehydrogenase activity to Cd contaminated are determined by the different substrates used for its determination, Soil Science, 169:

324-332.
35- Vieira M.G.A., Almeidaneto A.F., Dasilva M.G.C., Carneiro C.N. and Melofilho A.A. 2014. Adsorption of lead and copper ions from aqueous effluents on rice husk ash in a dynamic system, Brazilian Journal of chemical engineering, 31(2): 519–529.
36- Vig K., Megharaj M., Sethunathan N. and Naidu R. 2003. Bioavailability and toxicity of cadmium to microorganisms and their activities in soil: a review, Advances in Environmental Research, 8: 121-135.
37- Walkley A. and A.I. Black. 1934. Examination of the degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic and titration method, Soil Science, 34: 29–38.
38- Wan Ngah W.S. and Hanafiah M.A.K.M. 2008. Removal of heavy metal ions from wastewater by chemically modified plant wastes as adsorbents: A review, Bioresource Technology, 99: 3935-3948.
39- Wu P., Wu W., Li S., Xing N., Zhu N., Li P., Wu J., Yang C. and Dang, Z. 2009. Removal of $Cd^{2+}$ from aqueous solution by adsorption using Fe-montmorillonite, Journal of Hazardous Materials. 169(1): 824–830.
40- Zhang Y., Zheng R., Zhao J., Ma F., Zhang Y. and Meng Q. 2014. Characterization of $H_3PO_4$ treated rice husk adsorbent and adsorption of copper (II) from aqueous solution. Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International Volume, Article ID 496878, 8 pages.

Journal of Water and Soil
Vol. 32, No. 1, Mar.-Apr. 2018, p. 169-183

نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۲، شماره ۱، فروردین –اردیبهشت ۱۳۹۷، ص. ۱۸۳-۱۶۹

# Efficiency of Natural and Modified Bentonite and Rice Husk on Immobilization of Cadmium and Its Effect on Some Biological Properties of Soil

**S. Abduolrahimi[1]- N. Ghorbanzadeh[2*]- H. Ramezanpuor[3]- M.B. Farhangi[4]**

Received: 06-11-2017
Accepted: 20-01-2018

**Introduction:** Rapid development of industrialization, heavy metal and radionuclide contaminants from industrial activities have posed a major threat to the environment owing to their toxicity, non-biodegradability and persistent accumulation. So various ecosystems are continuously contaminated with high levels of high-risk chemicals with different structures and levels of toxicity. Cadmium is one of the high-risk elements that enters the environment and can accumulate in the body of fish and other aquatic organisms, plants and livestock and be transferred to the human body. Therefore, the remediation of contaminated soils with cadmium in order to protect human health is very important. One method for remediation of pollutants is immobilization of them in the soil by adsorbents. Among the absorbents, bentonite has been identified for its unique properties, including high surface area and cation exchange capacity and adsorptive affinity for organic and inorganic ions, low cost and ease of access. If the physical and chemical properties of natural bentonites are improved by a special modification process, the adequate supplies for environmental purposes can be obtained. Among the biosorbents, rice husk has also been reported to be suitable for adsorption of cadmium and other heavy metals. This research was designed with the aim of decreasing the amount of cadmium in the soluble and exchangeable phase of a polluted soil under laboratory conditions in the presence of bentonite and rice husk. Considering that biological properties of the soil are an indicator of soil health and quality, so, after application of adsorbents, biological properties and some soil ecophysiological indices were also investigated.

**Materials and Methods**: The experiment was done with 13 treatments and 3 replications in a completely randomized design. Treatments were bentonite (B) and modified bentonite with iron (B-Fe), manganese (B-Mn), iron and manganese together (B-Fe-Mn), rice husk (RH), modified rice husk with phosphoric acid (RH-P) in two levels (2 and 5%) and control treatment (without adding adsorbent). Modification of bentonite was done with iron chloride (FeCl3.6H2O), manganese chloride (MnCl2.6H2O) and a mixture of FeCl3.6H2O and MnCl2.6H2O. Some of the characteristics of bentonite and rice husk adsorbents including pH, electrical conductivity, cation exchange capacity and organic carbon were measured. The contaminated soil with CdCl2 was treated with adsorbents and incubated for 2 months under constant lab conditions. After the incubation time, soil biological properties such as basal respiration, substrate-induced respiration (SIR), microbial biomass carbon (MBC), activity of some enzymes and also some ecophysiological indexes were measured.

**Results and Discussion:** The results showed that the basal respiration, SIR, MCB, activity of phosphatase, dehydrogenase and urease were less in the control treatment. The basal respiration and phosphatase activity in RH-P 5% treatment were 2.6 and 2.25 times more than those in the control, respectively. SIR and urease activity were highest in RH-P 5% treatment. The application of adsorbents to contaminated soil reduced soluble and exchangeable cadmium fraction. The lowest amount of soluble and exchangeable fraction of cadmium was in RH-P 5% treatment that showed 2.5 times reduction in comparison to control. In other words, immobilization of cadmium from these fractions improved soil conditions and caused increasing of biological soil properties and activity of microorganisms. The metabolic quotient was higher in the control treatment, probably due to lower microbial content, and decreased by adding adsorbents. Microbial quotient in control treatment was lower than other treatments which prove again the lower biomass carbon of control treatment. Carbon availability that is the ratio of basal respiration to SID, also was more in control in comparison to other treatments, perhaps due to the suppress or inhibition of dormant or zymogenous microbes by cadmium in the control treatment which can be stimulated to growth in the SIR experiment.

**Conclusions:** The results of this study revealed that cadmium with concentration of 30 mg kg-1has a toxic and inhibitory effect on the microbial activity of the soil. The addition of bentonite and rice husk adsorbents in particular modified form reduced mobility of cadmium and thus improved the biological properties of the soil

1, 2, 3 and 4- M.Sc. Student, Assistante Professor, Associate Professor and Assistante Professor, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, University of Guilan, Iran, Respectively
(*- Corresponding Author Email: nasrin.ghorbanzadeh@gmail.com)

and also had a positive effect on ecophysiological indexes.

The use of these adsorbents can be a cost effective, succeeded, and operative management strategy for immobilization of cadmium in contaminated soils that reducing the risk of plant reclamation, washing and entry into groundwater and food cycle.

**Keywords:** Adsorbente, Ecophysiological index, Enzyme activity, Microbial respiration