

## اثر کرم‌خاکی و قارچ میکوریزا بر شکل‌های شیمیایی کادمیم در خاک‌های تحت کشت آفتابگردان

- فاطمه آقابابائی، دانشگاه شهرکرد (نویسنده مسئول)
- فایز رئیسی، دانشگاه شهرکرد
- علیرضا حسین‌پور، دانشگاه شهرکرد

تاریخ دریافت: بهمن ماه ۱۳۹۱ تاریخ پذیرش: تیر ماه ۱۳۹۳  
پست الکترونیک نویسنده مسئول: [Aghababaei\\_Fateme90@yahoo.com](mailto:Aghababaei_Fateme90@yahoo.com)

### چکیده

کادمیم یکی از عناصر سمی مهم خاک است که می‌تواند به راحتی وارد زنجیره غذایی موجودات زنده شود. وجود غلظت‌های بالای کادمیم در طولانی مدت یک خطر جدی برای کیفیت محیط‌زیست و سلامتی جانداران به‌ویژه انسان محسوب می‌شود. ریزجانداران و جانوران خاک از جمله عواملی هستند که بر تحرک و زیست‌فراهمی کادمیم در سیستم خاک-گیاه تأثیر دارند. کرم‌های خاکی و قارچ‌های میکوریزا از آن دسته‌اند و اثرشان بر شیمی کادمیم و تحرک یا تثبیت آن در خاک مشخص شده است. برای بررسی اثر این جانداران بر جزءبندی کادمیم در خاک، شکل‌های شیمیایی Cd در یک خاک آهکی آلوده شده به آن (۰، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم کادمیم بر کیلوگرم خاک)، با تیمارهای کرم‌خاکی (*Lumbricus rubellus*) و بدون کرم‌خاکی و قارچ میکوریزا آربسکولار (*Glomus intraradices*، *Glomus mosseae* و بدون میکوریزا) تحت کشت آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.)، در مدت ۹۰ روز اندازه‌گیری گردید. یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه سطح کادمیم، دو سطح کرم‌خاکی و سه سطح قارچ میکوریزا به صورت ۳×۲×۳ در سه تکرار انجام گرفت. نتایج نشان داد درصد کادمیم اجزاءتبادلی+محلول (۵/۷٪-) و پیوند شده با ماده آلی (۱/۳٪-) بسیار کم است. ولی درصد کادمیم کربناتی از کل کادمیم خاک بین ۸۷-۵۴ درصد است. همچنین حضور کرم‌خاکی کادمیم اجزاءتبادلی+محلول و پیوند شده با ماده آلی را در خاک افزایش می‌دهد ولی قارچ میکوریزا اثری بر این اجزاء ندارد. هر دو کرم‌خاکی و قارچ میکوریزا کادمیم کربناتی را در خاک کاهش دادند ولی تأثیری بر جزء سولفیدی نداشتند.

کلمات کلیدی: کادمیم، کرم‌خاکی، قارچ میکوریزا آربسکولار، جزءبندی کادمیم، خاک آهکی

**The influence of earthworm and arbuscular mycorrhizal fungi on Cadmium fractionation in sunflower (*Helianthus annuus* L.) cultivation**

By:

- F. Aghababaei, (Corresponding Author), Shahrekord University
- F. Raiesi, Shahrekord University
- A. Hosseinpur, Shahrekord University

Received: January 2013

Accepted: June 2014

Cadmium (Cd) is a trace element entering the food chain through crop uptake and animal food intake. A high concentration of Cd in the soil is a serious threat to both the environmental quality and human health over the long-term. So following the availability and mobility of Cd in soil is very important. Soil microorganisms and fauna are factors which may have an influence on the mobility and bioavailability of Cd in soil-plant systems. Specifically, both earthworms and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) have been found to affect Cd chemistry with changes in its immobilization and mobilization in Cd-polluted soils. To examine the effects of these organisms on soil Cd fractionation, chemical forms of Cd were measured in a calcareous soil artificially spiked with Cd (0, 10 and 20 mg Cd kg<sup>-1</sup>), inoculated with earthworm (*Lumbricus rubellus* L.), and AMF (*Glomus intraradices*, and *Glomus mosseae* species) under sunflower (*Helianthus annuus* L.) crop for 90 days. Three Cd, two earthworm and three mycorrhizal treatments were applied in a 3×2×3 factorial experiment with three replicates for each treatment. Results showed that the percentage of the total Cd content in exchangeable+soluble (0-5.7%) and organic (0-1.3%) forms were very low. But the percentage of carbonate fraction of the total Cd content was between 54-87%. Earthworm addition increased exchangeable+soluble and organic Cd, while AMF had no influence on these Cd fractions. Both earthworm and AMF species decrease carbonate fraction of Cd but they had no influence on sulfide fraction of Cd.

key Words: Cadmium; Earthworms; Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF); Cadmium fractionation; calcareous soil

**مقدمه**

نه تنها وجود کادمیم در خاک، آلودگی زنجیره غذایی را به دنبال خواهد داشت، بلکه رشد و فعالیت جانداران خاک را نیز دچار اختلال می‌کند. بسته به میزان قابلیت دسترسی یون کادمیم یا زیست‌فراهمی آن در خاک، شدت تأثیر آن تغییر می‌کند. تمام شکل‌های آلاینده‌های شیمیایی خاک قابلیت دسترسی یکسانی برای جذب شدن ندارند. زیست‌فراهمی و قابلیت دسترسی آلاینده‌ها در خاک به فرم شیمیایی و حلالیت عنصر سمی وابسته است (پلفیرین و همکاران، ۲۰۱۲). برخی از شکل‌های شیمیایی کادمیم در خاک قابلیت جذب بالاتری برای موجودات زنده و گیاهان دارند. اگر چه در برخی مطالعات گستره وسیعی از ویژگی‌های خاک که بر زیست‌فراهمی عناصر سمی مؤثر هستند گزارش شده‌اند، مانند مینرالوژی، pH، ماده آلی، رس، اکسیدهای آهن، منگنز، آلومینیوم و غلظت فسفر (روی، ۲۰۰۴؛ باستا و همکاران، ۲۰۰۵؛ دنیس و همکاران، ۲۰۰۷؛ فایربرادر و همکاران، ۲۰۰۷؛ راسل و همکاران، ۲۰۱۰ و پلفیرین و همکاران، ۲۰۱۱)، ولی شکل شیمیایی فلزات سنگین در محلول خاک به شدت به غلظت و میزان عنصر سنگین، pH و سایر یون‌های موجود (همراه) در محلول خاک وابسته است (داس و همکاران، ۱۹۹۷ و یو و همکاران، ۲۰۰۵). در واقع شرایط شیمیایی خاک یکی از عوامل تعیین کننده تحرک فلزات سنگین می‌باشد (ناهمانی و همکاران، ۲۰۰۷). از جمله ویژگی‌های مهم خاک که اثرات بسیار معنی‌دار بر زیست‌فراهمی عناصر سمی مانند Cd، Pb و Zn در خاک‌های کشاورزی دارند می‌توان به کربنات کل خاک، ماده آلی،

یکی از مهم‌ترین آلودگی‌های زیست‌محیطی که سلامت انسان و دیگر موجودات زنده را به خطر انداخته، آلودگی فلزات سنگین است. فلزات سنگین جزء آلاینده‌های مهم خاک هستند که پس از تجمع در خاک و جذب توسط گیاه وارد زنجیره غذایی شده و موجب بروز مسمومیت در جانداران می‌شوند. 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 (ایژساکرز، ۲۰۱۰). در میان فلزات سنگین آلوده کننده خاک، کادمیم اهمیت ویژه‌ای دارد. چراکه به‌سادگی توسط ریشه گیاه جذب می‌شود و سمیت آن تا ۲۰ برابر سایر فلزات سنگین است (ثواقبی و ملکوتی، ۱۳۷۹) و حتی قادر به ایجاد سمیت در محدوده‌های کم‌تر از محدوده تشخیص دستگاه‌های آزمایشگاهی است (ناکاشیما و همکاران، ۲۰۰۸). کادمیم به شدت بر سیستم‌های زیستی و حیاتی سلول زنده اثر منفی می‌گذارد. به‌دلیل قدرت تحرک بالای این عنصر در خاک‌ها و توانایی ایجاد مسمومیت شدید در موجودات زنده، حتی در غلظت‌های پایین، بسیار مورد توجه قرار گرفته است (داس و همکاران، ۱۹۹۷). به‌طور طبیعی در همه خاک‌ها مقدار کمی Cd وجود دارد ولی در برخی از محیط‌ها مقادیر بالای آن مشاهده شده است (آن، ۲۰۰۴). بنابراین مطالعه رهاسازی و تغییر و تبدیل Cd در محیط و تأثیری که بر رشد گیاهان و سایر جانداران دارد، حائز اهمیت است.

خاک به وسیله نمک کلرید کادمیم ( $CdCl_2$ ) اعمال شد. سپس به منظور ایجاد حالت تعادل و یا شبه تعادل بین کادمیم اضافه شده و خاک، و نزدیک تر 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 که تیمارهای میکوریزا را دریافت کرده بودند از سینی نشا به گلدان‌ها انتقال داده شدند. دو هفته پس از استقرار گیاهان تعداد ۴ عدد کرم خاکی لامبریکاس روبلوس (*Lumbricus rubellus* L) متعلق به گروه اکولوژیکی اندوجنیک به نیمی از گلدان‌ها اضافه شد. در تمامی واحدهای آزمایشی جهت جلوگیری از گرسنگی کرم‌های خاکی و افزایش مرگ و میر و حتی فرار آنها، معادل ۱/۵ درصد ماده آلی در خاک به شکل بقایای گیاه یونجه 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 اسپوره‌های قارچی، به خاک هر گلدان مقدار ۲۵ میلی‌لیتر از آن اضافه گردید (اشرودر و جانز، ۲۰۰۴). پس از گذشت ۳ ماه از دوره رشد آفتابگردان، خاک ریزسفر با تکان دادن بخش زیرزمینی گیاه جدا و برای عصاره‌گیری متوالی کادمیم مورد استفاده قرار گرفت.

شکل‌های شیمیایی کادمیم با روش عصاره‌گیری متوالی اسپوزیتو و همکاران (۱۹۸۲) جدا شدند. بدین ترتیب که ابتدا مقدار کادمیم کل خاک تعیین شد. برای این کار ۲ گرم خاک از هر نمونه با ۱۲/۵ میلی‌لیتر محلول  $HNO_3$  ۴ مولار به مدت یک شبانه روز در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس سوسپانسیون توسط سانتریفیوژ رسوب داده شد و مایع رویی توسط کاغذ صافی واتمن ۴۲ عصاره‌گیری گردید. در پایان غلظت کادمیم در آن با استفاده از دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد. کادمیم موجود در شکل‌های محلول و تبادل، پیوند شده با مواد آلی، کربنات‌ها و سولفیدها نیز به ترتیب با کمک عصاره‌گیری متوالی توسط ۲۵ میلی‌لیتر از معرف‌های زیر تعیین شدند.  $KNO_3$  ۰/۵ مولار به مدت ۱۶ ساعت و آب مقطر دیونیزه به مدت ۲ ساعت (این عصاره‌گیری ۳ بار تکرار شد و عصاره حاصل مخلوط گردید)،  $NaOH$  ۰/۵ مولار به مدت ۱۶ ساعت،  $Na_2EDTA$  ۰/۰۵ مولار به مدت ۶ ساعت و  $HNO_3$  ۴ مولار به مدت ۱۶ ساعت در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد. در طول عصاره‌گیری سوسپانسیون‌ها تکان داده شدند. سپس سوسپانسیون سانتریفیوژ شده و محلول رویی با استفاده از کاغذ صافی واتمن ۴۲ جدا گردید. در پایان غلظت  $Cd$  توسط دستگاه جذب اتمی تعیین شد. شایان ذکر است که استانداردهای مورد استفاده برای دستگاه جذب اتمی، همه در عصاره‌گیرهای مورد استفاده در محلول زمینه هر عصاره‌گیر ساخته شده و مورد استفاده قرار گرفتند (اسپوزیتو و همکاران، ۱۹۸۲).

پس از داده برداری، مقادیر کمتر از حد دقت دستگاه جذب اتمی صفر در نظر گرفته شدند. جهت تجزیه واریانس (ANOVA)، ابتدا داده‌ها برای تأمین پیش شرط‌های تجزیه واریانس (توزیع نرمال و همگنی واریانس) مورد ارزیابی قرار گرفتند. سپس مقایسه میانگین‌ها به روش توکی در سطح احتمال پنج درصد ( $P < 0.05$ ) توسط نرم افزار آماری Minitab16 انجام گرفت.

درصد شن،  $P_2O_5$ ، اکسیدهای آهن، منگنز و آلومینیوم آزاد و غلظت عناصر سمی اشاره کرد (پلفیرین و همکاران، ۲۰۱۲). فراهمی زیستی بالای کادمیم و احتمال ورود آن به زنجیره غذایی حتی در سطوح پایین آلودگی خاک با این فلز، سبب شده است که نیاز بیشتری نسبت به فهم عوامل مؤثر بر قابلیت استفاده این فلز و تغییر و تبدیل آن در خاک احساس شود (رجائی و کریمیان، ۱۳۸۶).

کادمیم در خاک‌های مناطق خشک و نیمه خشک معمولاً به شکل‌های محلول، تبدالی، پیوند شده با مواد آلی، کربنات‌ها و سولفیدها وجود دارد (اسپوزیتو و همکاران، ۱۹۸۲) و لازم است مشخص گردد که کدام یک از شکل‌های شیمیایی کادمیم بر قابلیت دسترسی آن برای گیاه و موجودات زنده خاک مؤثرتر و مهم‌تر است. این کار با جزءبندی کادمیم طی عصاره‌گیری متوالی امکان‌پذیر است. عصاره‌گیری متوالی یک روش ارزان قیمت برای پی بردن به گونه‌های مختلف عناصر سنگین و تعیین قابلیت دسترسی آنها در خاک می‌باشد (اسپوزیتو و همکاران، ۱۹۸۲). از سوی دیگر باید توجه داشته باشیم که برخی جانداران خاک‌زی با تغییر شرایط شیمیایی خاک، تحرک فلزات سنگین را افزایش یا کاهش می‌دهند (ناهمانی و همکاران، ۲۰۰۷ و یو و همکاران، ۲۰۰۵). مطالعات متعدد نشان داده‌اند موجودات زنده خاک مانند قارچ‌های میکوریزا، ریزوباکترهای محرک رشد گیاه (PGPR) و کرم‌های خاکی قادر به تغییر جزءبندی فلزات سنگین در خاک هستند (چنگ و ونگ، ۲۰۰۲؛ ما و همکاران، ۲۰۰۲؛ سیزمور و هادسون، ۲۰۰۹ و رویز و همکاران، ۲۰۰۹ و ۲۰۱۱). از این رو درک عوامل مؤثر بر قابلیت استفاده کادمیم و تغییر و تبدیل آن در خاک تحت تأثیر جانداران خاک‌زی از اهمیت فراوانی برخوردار است. گرچه در سال‌های اخیر با عصاره‌گیری متوالی، شکل‌های شیمیایی و قابلیت استفاده بالقوه کادمیم در خاک‌ها تا حدودی مشخص شده است (رجائی و کریمیان، ۱۳۸۶)، ولی ظرفیت اجزای مختلف خاک برای نگهداری کادمیم و تغییر و تبدیل شکل‌های شیمیایی آن تحت تأثیر جانداران خاک کمتر مورد توجه قرار گرفته است. از این رو پژوهشی به منظور بررسی نقش قارچ میکوریزا و کرم خاکی به تنهایی و باهم در کشت گیاه آفتابگردان (*Helianthus annuus* L)، بر تغییرات جزء بندی  $Cd$  در خاک آلوده شده به سطوح مختلف کادمیم انجام گرفت.

### مواد و روش‌ها

در این تحقیق سه فاکتور شامل قارچ میکوریزا آربوسکولار (*Glo-* *Glomus mosseae mus intraradices* و شاهد) به عنوان فاکتور اول، کرم خاکی (با کرم خاکی *Lumbricus rubellus* 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 (میکوریزا، کرم خاکی و سطوح کادمیم) آزمایش به صورت فاکتوریل  $3 \times 2 \times 3$  در قالب طرح کاملاً تصادفی در شرایط گلخانه اجرا شد.

برای سهولت جدا سازی ریشه گیاهان و خاک ریزوسفر و همچنین افزایش عفونت میکوریزا، خاکی با بافت لوم شنی از اراضی کشاورزی حاشیه رودخانه زاینده‌رود (Typic Calcixerepts) 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 استریل شد. تیمارهای صفر، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم

## نتایج و بحث

نتایج نشان داد بخش عمده کادمیم موجود در خاک با کربنات‌ها پیوند شده است (شکل ۱). این روند در کلیه سطوح تیمار کادمیم مشاهده می‌گردد. به طوری که در سطوح ۰، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم کادمیم بر کیلوگرم خاک به ترتیب ۸۷/۶، ۵۱/۴ و ۵۰/۹ درصد کادمیم جذب کربنات‌های خاک شده است (شکل ۱). نمودار ۱ نشان دهنده آن است که با افزایش کادمیم کل خاک به مقدار ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، جزء پیوند شده با کربنات‌ها بیشتر از بقیه بخش‌ها افزایش می‌یابد (۴/۶۵ و ۴/۹۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) و پس از آن جزء پیوند شده با سولفیدها در رده دوم قرار دارد (۳/۹۴ و ۴/۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک). ولی چنان‌که مشهود است دو بخش تبادل‌محل و پیوند شده با ماده آلی چندان تحت تأثیر مقدار کادمیم خاک در سطوح ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم کادمیم بر کیلوگرم خاک قرار نمی‌گیرند (شکل ۱). با توجه به آن‌که مکان‌های مناسب برای تبادل فلزات در خاک محدود هستند به نظر می‌رسد که این روند قابل انتظار است ولی باید به این نکته توجه داشت که درصد کادمیم بخش‌های تبادل‌محل و پیوند شده با ماده آلی در سطح ۱۰ میلی‌گرم کادمیم بر کیلوگرم خاک، بیشتر است (شکل ۱). به احتمال کادمیم اضافه شده به خاک در اثر روابط متقابل گیاه، موجودات زنده و شیمی خاک، ابتدا در بخش‌های تبادل‌محل و پیوند شده با ماده آلی قرار گرفته و پس از تکمیل شدن ظرفیت این بخش‌ها مابقی آن وارد اجزاء پیوند شده با کربنات‌ها و سولفیدها شده است. یو و همکاران (۲۰۰۵) نیز بیان کردند کلیه روابط متقابل بین ریشه، ریزجاندانان و جانوران در ریزوسفر اثرات مهمی بر جذب فلزات و رشد گیاهان دارند. روش‌های مختلف عصاره‌گیری متوالی کادمیم خاک نشان داده است بخش عمده کادمیم به شکل کربناتی است و ظرفیت نگهداری کادمیم در خاک‌های آهکی بیشتر است (رنلا و همکاران، ۲۰۰۴). از سوی دیگر افزایش  $CO_2$  خاک در اثر فعالیت جاندانان خاک‌زی موجب افزایش جزء کربناتی کادمیم می‌گردد (خدیبی و همکاران، ۱۳۸۶). رجائی و کریمیان (۱۳۸۶) نیز پس از جزء بندی کادمیم در یک خاک آهکی به روش عصاره‌گیری متوالی سینگ و همکاران (۱۹۸۸) بیان کردند که بخش عمده کادمیم اضافه شده به خاک در جزء پیوند شده با کربنات‌ها است و بخش‌های تبادل‌محل و پیوند شده با ماده آلی کمتر تحت تأثیر کادمیم کل خاک هستند. البته باید توجه داشت که مدت زمان آلودگی خاک به کادمیم و منبع آن نیز بر جزء بندی و مقدار کادمیم قابل جذب بسیار مؤثر است، لذا مقدار بیشتری از کادمیمی که همراه با کودهای شیمیایی سفر یا لجن فاضلاب به خاک وارد می‌شود پس از گذشت زمان طولانی به شکل قابل جذب برای گیاه در می‌آید (جلالی و عرفانیا، ۲۰۰۹؛ خوش‌گفتارمنش و همکاران، ۱۳۸۲ و اسلون و همکاران، ۱۹۹۷).

نتایج این مطالعه نشان داد جاندانان خاک‌زی مورد بررسی به‌طور عمده دارای اثرات متقابل معنی‌دار بر جزء بندی کادمیم نیستند و اثرات اصلی آنها نیز فقط بر برخی از اجزاء کادمیم در خاک معنی‌دار است (جدول ۲). این نشان می‌دهد که هر یک از این جاندانان به تنهایی قادر به تأثیر گذاری بر چگونگی جزء بندی کادمیم در خاک هستند و توزیع آن را در یک یا چند جزء خاک تحت تأثیر قرار می‌دهند. نتایج مطالعات گذشته نیز نشان داده است موجودات زنده خاک بر جزء بندی فلزات سنگین مؤثر هستند

(لوکاری و همکاران، ۲۰۰۶). طبق نتایج حاصل از این آزمایش نیز کرم‌خاکی بر جزء بندی کادمیم اثر داشت (جدول ۲). این جاندار قادر به افزایش مقدار کادمیم در بخش‌های سهل‌الوصول برای گیاه است (شکل ۲). طی کشت آفتابگردان کرم‌خاکی کادمیم تبادل‌محل و پیوند شده با ماده آلی را در سطوح بالای کادمیم (۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به ترتیب ۷/۶ و ۴۵/۳ درصد افزایش داد (داده‌ها نشان داده نشده). در حالی که کادمیم پیوند شده با کربنات‌ها را ۳/۴ درصد کاهش داد (شکل ۲). رویز و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند فعالیت کرم خاکی زیست‌فراهمی فلزات سنگین را در خاک افزایش می‌دهد. در گزارش‌های گذشته اظهار شده است که فعالیت کرم خاکی لامبریکاس ترستریس موجب افزایش Cu و Cd اجزاء محلول و تبادل‌محل می‌شود ولی در جزء متصل به اکسیدها کاهش دیده می‌شود (ال-فارمالی، ۲۰۰۲). این گونه کرم خاکی همچنین توانسته است در خاک‌های آلوده به فاضلاب غلظت Cu و Zn را در جزء محلول افزایش دهد ولی در اجزاء تبادل‌محل و متصل به ماده آلی کاهش داده است (کیزیلکایا، ۲۰۰۴).

با توجه به آن‌که کرم‌های خاکی دارای غدد کلسی فروز هستند، انتظار می‌رود که فعالیت آنها بخش کربناتی کادمیم را افزایش دهد ولی با افزایش دوره کشت آفتابگردان و قرارگیری کرم‌خاکی در معرض کادمیم به مدت طولانی‌تر، به احتمال آلودگی کادمیم موجب مسمومیت شدیدتر کرم‌خاکی شده و فعالیت آن را کم کرده است. به طوری که در سطح ۱۰ میلی‌گرم کادمیم بر کیلوگرم خاک، بخش تبادل‌محل و پیوند شده با ماده آلی را بیشتر از سطح ۲۰ میلی‌گرم کادمیم بر کیلوگرم خاک افزایش داده است (داده‌ها نشان داده نشده). کرم‌خاکی ضمن عبور دادن خاک و مواد آلی از دستگاه گوارش خود، آن‌ها را به خوبی با یکدیگر مخلوط می‌کند و موجب اتصال بهتر و بیشتر یون‌های کادمیم با مواد آلی نیمه تجزیه شده می‌گردد. با ترشح آنزیم‌های دستگاه گوارش کرم‌خاکی و تجزیه نسبی بقایای گیاهی و مواد آلی موجود در خاک، تشکیل کلات‌های ماده آلی- فلز به صورت پیوندهای کووالانسی و الکترونی تسهیل می‌گردد. از این رو قابلیت دسترسی فلزات سنگین طی پروسه عبور خاک از دستگاه گوارش کرم‌های خاکی افزایش می‌یابد. این نشان می‌دهد به دنبال ورود کرم‌های خاکی توزیع فلزات سنگین در فراکشن‌های مختلف خاک به‌طور معنی‌داری تغییر می‌کند (دولیکر و رستریت، ۱۹۹۶؛ چنگ و وونگ، ۲۰۰۲؛ ما و همکاران، ۲۰۰۲؛ ون و همکاران، ۲۰۰۶ و یودویک و لستان، ۲۰۰۷). اگرچه کرم‌های خاکی ممکن است با خرد و مخلوط کردن خاک در دستگاه گوارش خود زیست‌فراهمی فلزات سنگین را تغییر دهند، مانند چنگ و وونگ (۲۰۰۲) که ثابت کردند فعالیت کرم‌های خاکی تأثیر معنی‌داری بر جزء بندی Zn در خاک دارد، ما و همکاران (۲۰۰۲) نیز نشان دادند غلظت Zn و Pb قابل دسترس پس از تلقیح کرم‌های خاکی به ترتیب ۴۸/۲٪ و ۲۴/۸٪ افزایش یافت. این در حالی است که رویز و همکاران (۲۰۱۱) اخیراً بیان داشتند کرم خاکی *Lumbricus terrestris* تأثیر اندکی بر جزء بندی فلزات سنگین در خاک دارد و فقط فلزات سنگین موجود در جزء پیوند شده با مواد آلی را افزایش می‌دهد. اما در یک مطالعه دیگر، کرم خاکی *Eisenia fetida* به‌طور معنی‌داری Cd موجود در جزء محلول در آب و تبادل‌محل را افزایش داد و سبب افزایش تحرک و قابلیت دسترسی آن گردید (رویز و همکاران، ۲۰۰۹). این جانداران ضمن تغذیه از ریزجاندانان خاک نیز می‌توانند

۳. ممکن است قارچ میکوریزا به دلیل گستردگی شبکه هیفها و تماس بیشتر با کادمیم پیوند شده با کربنات‌ها، آن‌ها را جذب و در ریشه‌های خود جمع کرده و یا حتی به گیاه همزیست انتقال دهد. این جانداران در تغییر و تحولات عناصر سنگین در خاک بسیار مؤثر هستند (آندراده و همکاران، ۲۰۱۰). گزارش شده که این قارچ‌ها قادر به جذب کادمیم و قرار دهی آن در دیوار سلولی خود می‌باشند (گاور و آدولیا، ۲۰۰۴ و ژانکنگ و ویزوتیویث، ۲۰۰۸). همچنین گزارش‌های متعدد و متفاوتی در خصوص اثرگذاری قارچ‌های میکوریزا بر جذب عناصر سنگین توسط خود آنها و یا توسط گیاه وجود دارد. به‌عنوان مثال جانوسکوا و همکاران (۲۰۰۵) نشان دادند برداشت Cd توسط گیاه تنباکو در واحد زیست‌توده اندام هوایی کاهش نشان می‌دهد. در حالی که گاور و آدولیا (۲۰۰۴) بیان داشتند تلقیح میکوریزایی گیاهان سوپر جاذب فلزات سنگین موجب افزایش جذب فلز سنگین شده و گیاه پالایی را به نحو بهتری انجام می‌دهد. درصد توزیع کادمیم در بخش‌های مختلف خاک نشان داد پس از آلودن خاک به کادمیم بخش سولفیدی در اثر فعالیت قارچ میکوریزا اندکی افزایش یافت هر چند این افزایش معنی‌دار نبود (شکل ۳). به‌نظر می‌رسد قارچ‌های میکوریزا با ترشح آنزیم‌هایی از ریشه‌های خود کادمیم بیشتری را در خاک به شکل محلول در می‌آورند ولی این کادمیم ممکن است دوباره به شکل‌های دیر انحلال مانند شکل سولفیدی تبدیل شود. لی و همکاران (۲۰۰۶) نیز بیان کردند قارچ‌ها می‌توانند ظرفیت Cd و Pb محلول در آب را در خاک افزایش دهند. در حالی که ما و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند در سطوح بالای آلودگی فلزات سنگین قارچ‌های میکوریزا جذب فلز توسط ریشه گیاه را کاهش می‌دهند. از این‌رو منطقی به‌نظر می‌رسد که پس از افزایش کادمیم در بخش محلول و عدم جذب توسط ریشه گیاه، یون‌های کادمیم دوباره به شکل رسوب‌های دیر انحلال درآیند.

جدول ۱- برخی خصوصیات شیمیایی و فیزیکی خاک مورد آزمایش

|           |                                |
|-----------|--------------------------------|
| pH        | ۸/۱۰                           |
| ECe       | ۰/۲۰ dS m <sup>-1</sup>        |
| CEC       | ۱۹/۷ cmol (+) kg <sup>-1</sup> |
| Organic C | ۲/۸ mg g <sup>-1</sup>         |
| Total N   | ۰/۶۰ mg g <sup>-1</sup>        |
| T.N.V     | ۱۹۰ mg g <sup>-1</sup>         |
| Pava.     | ۵/۷ mg g <sup>-1</sup>         |
| Kava.     | ۱۶۸ mg g <sup>-1</sup>         |
| Cdava.    | ND mg g <sup>-1</sup>          |
| Sand      | ۷۲۰ mg g <sup>-1</sup>         |
| Silt      | ۱۲۰ mg g <sup>-1</sup>         |
| Clay      | ۱۶۰ mg g <sup>-1</sup>         |

ND: داده غیر قابل اعتماد با دستگاه جذب اتمی

کادمیم تجمع یافته در بدن آنها را به شکل یون‌های قابل انحلال آزاد سازند و آن را به شکل قابل جذب برای گیاه درآورند. مطالعات گذشته نشان داده است گونه کرم‌خاکی موجود و همچنین منبع آلاینده کادمیم بسیار بر افزایش کادمیم قابل جذب توسط گیاه مؤثر هستند (سیزمور و هادسون، ۲۰۰۹). به‌طوری که برخی گونه‌ها مانند *Eisenia fetida* و *Lumbricus terrestris* اگرچه کادمیم قابل جذب را افزایش می‌دهند ولی به دلیل تجمع آن در ساختار بدن خود، جذب کادمیم را در گیاه تغییر نداده یا کاهش می‌دهند (رویز و همکاران، ۲۰۱۱؛ رویز و همکاران، ۲۰۰۹ و ادواردز و بوهلن، ۱۹۹۶). از آنجا که مقدار کادمیم کل خاک بر فعالیت کرم‌های خاکی مؤثر است سطح غلظت آلاینده در خاک از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در کل مطالعات بسیار زیادی وجود دارد که نشان دهنده تأثیر کرم‌های خاکی بر قابلیت دسترسی فلزات سنگین است، که پاره‌ای از آنها افزایش (استیفنز و همکاران، ۱۹۹۴؛ رادا و همکاران، ۱۹۹۶؛ ما و همکاران، ۲۰۰۲ و ۲۰۰۳؛ کزیلیکایا، ۲۰۰۴ و ون و همکاران، ۲۰۰۴ و ۲۰۰۶) و پاره‌ای از آنها کاهش (لیو و همکاران، ۲۰۰۵؛ لوکاری و همکاران، ۲۰۰۶ و ما و همکاران، ۲۰۰۶) نشان داده‌اند. عصاره‌گیری متوالی طی پنج مرحله، نشان داده است در خاک و فضولات کرم خاکی *Aporrectodea caliginosa tuberculata* مقدار Zn و Cu در جزء محلول فضولات کرم بیشتر از جزء محلول توده خاک می‌باشد (سیزمور و هادسون، ۲۰۰۹). طی آزمایش دیگری با حضور کرم‌های خاکی *Eisenia fetida*، *Lumbricus rubellus* و کرم اندوجنیک *Oc-tolasion tyrtaeum* اختلاف کمی در غلظت Pb و Zn عصاره‌گیری شده از خاک‌های با و بدون کرم‌خاکی در هر جزء طی عصاره‌گیری ۶ مرحله‌ای نشان داده شد (یودویک و لستان، ۲۰۰۷ و یودویک و همکاران، ۲۰۰۷). ولی لوکاری و همکاران (۲۰۰۶) برای مقایسه روی و مس قابل عصاره‌گیری در خاک‌های با و بدون کرم‌خاکی *Aporrectodea caliginosa tuberculata* از عصاره‌گیری ۵ مرحله‌ای استفاده کردند و مشخص نمودند Zn و Cu موجود در جزء محلول در خاک‌های حاوی کرم خاکی کمتر از جزء متصل به اکسیدهای آهن و منیزیم و جزء متصل به ماده آلی خاک می‌باشد. مطالعه ون و همکاران (۲۰۰۴) نیز نشان داد که فعالیت کرم خاکی *Eisenia fetida* قابلیت دسترسی فلزات سنگین را افزایش می‌دهد، چرا که غلظت فلزات در اجزاء محلول، تبدالی و متصل به کربنات‌ها افزایش می‌یابد و موجب افزایش تحرک و قابلیت دسترسی آنها می‌شود. حضور یا عدم حضور قارچ میکوریزا هیچ یک از مقادیر کادمیم تبدالی+محلول، پیوند شده با ماده آلی و سولفیدی را تغییر نداد (شکل ۳)، ولی کادمیم کربناتی را ۸/۴۲ درصد کاهش داد (شکل

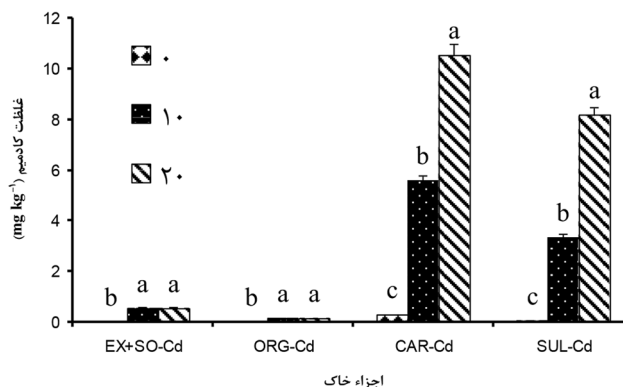
جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس اثر کادمیم، کرم‌خاکی و قارچ میکوریزا در خاک‌های آلوده به Cd طی کشت آفتابگردان بر جزءبندی کادمیم

| C.V  | اثرات متقابل |        |        |        | اثرات اصلی |        |         | درجه آزادی                       |
|------|--------------|--------|--------|--------|------------|--------|---------|----------------------------------|
|      | AMF×EW×Cd    | AMF×EW | AMF×Cd | EW×Cd  | AMF        | EW     | Cd      |                                  |
|      | ۴            | ۲      | ۴      | ۲      | ۲          | ۱      | ۲       |                                  |
| ۳/۱۵ | ۰/۱۷۰        | ۰/۱۰   | ۰/۱۹۰  | ۱۲/۹** | ۰/۴۵۰      | ۴۷/۰** | ۹۰/۷۳** | تبدالی و محلول (ex. and sol. Cd) |
| ۱۱/۴ | ۰/۰۸۰        | ۰/۰۵۰  | ۰/۲۸۰  | ۲۷/۳** | ۰/۵۹۰      | ۹۴/۰** | ۶۹۵**   | متصل به ماده آلی (org. Cd)       |
| ۳/۳۳ | ۰/۰۳۰        | ۰/۰۱۰  | ۵/۵۰** | ۱/۷۲   | ۲۵/۱**     | ۹/۸۵** | ۱۶۳۲۵** | متصل به کربنات‌ها (car. Cd)      |
| ۳/۴۶ | ۰/۱۶۰        | ۰/۳۶۰  | ۲/۰۱   | ۱/۳۳   | ۳/۳۳*      | ۲/۱۵   | ۵۴۹۰**  | متصل به سولفیدها (sul. Cd)       |
| ۲/۵۸ | ۰/۱۷۰        | ۰/۳۱۰  | ۱/۰۷   | ۰/۰۶۰  | ۱/۹۱       | ۰/۳۹۰  | ۱۷۶۴۹** | کادمیم کل (total Cd)             |

\* = معنی‌دار در سطح پنج درصد ( $p < 0.05$ ) \*\* = معنی‌دار در سطح یک درصد ( $p < 0.01$ )

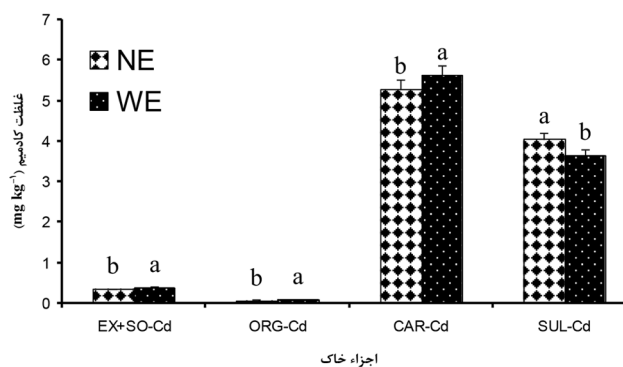
## منابع مورد استفاده

1. ثواقبی غ.ر. و ملکوتی م.ج. ۱۳۷۹. اثرات روی و کادمیم بر غلظت عناصر و ترکیب شیمیایی دانه گندم. مجله آب و خاک. ۶۵-۵۴: (۹)۱۲.
2. خدیوی ا.، نوربخش ف.، افیونی م. و شریعتمداری ح. ۱۳۸۶. شکل‌های مختلف سرب، نیکل و کادمیم در یک خاک آهکی تیمار شده با لجن فاضلاب. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی. ۵۳-۴۱: (۱)۱۱.
3. خوش‌گفتارمنش ا.ح.، شریعتمداری ح. و کریمی‌ان ن. ۱۳۸۲. اثرهای شوری آب آبیاری و کاربرد روی بر حلالیت کادمیم خاک و غلظت آن در گندم. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی. ۵۹-۵۳: (۴)۷.
4. رجائی م. و کریمی‌ان ن. ۱۳۸۶. اثر کادمیم اضافه شده و زمان خواباندن بر شکل‌های شیمیایی کادمیم در دو گروه بافتی خاک. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی. ۹۷-۱۰۸: (۱)۱۱.
5. An Y.J. 2004. Soil ecotoxicity assessment using cadmium sensitive plants. *Environmental Pollution*. 127:21-26.
6. Andrade S.A.L., Silveira A.P.D. and Mazzafera P. 2010. 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. Basta N.T., Ryan J.A. and Chaney R.L. 2005. Trace element chemistry in residual treated soil: key concepts and metal bioavailability. *Journal of Environmental Quality*. 34: 49-63.
8. Cheng J. and Wong M.H. 2002. Effects of earthworms on Zn fractionation in soils. *Biology and Fertility of Soils*. 36: 72-78.
9. Das P., Samantaray S. and Rout G.R. 1997. Studies on cadmium toxicity in plants. *Environmental Pollution*. 98:29-36.
10. Denys S., Caboche J., Tack K. and Delalain P. 2007. Bioaccessibility of lead in high carbonate soils. *Journal of Environmental Science and Health*. 42: 1331-1339.
11. Devliegher W. and Verstraete W. 1996. *Lumbricus terrestris* in a soil core experiment: effects of nutrient-enrichment processes (NEP) and gut-associated processes (GAP) on the availability of plant nutrients and heavy metals. *Soil Biology and Biochemistry*. 28: 489-496.
12. Edwards C.A. and Bohlen P.J. 1996. *Biology and ecology of earthworms*. 3rd (Ed.), Chapman and Hall, UK.
13. 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.
14. El-Gharmali A. 2002. Study of the effect of earthworm *Lumbricus terrestris* on the speciation of heavy metals in soils. *Environmental Technology*. 23: 775-780.
15. Fairbrother A., Wenstel R.W., Sappington K. and Wood W. 2007. Framework for metals risk assessment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 68: 145-227.
16. Gaur A. and Adholeya A. 2004. Prospects of arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of heavy metal contaminated soils. *Current Science*. 86:528-534.
17. Jalali M. and Arfania H. 2009. Distribution and fractionation of cadmium, copper, lead, nickel, and zinc in



شکل ۱- توزیع کادمیم در اجزاء خاک در سطوح مختلف کادمیم

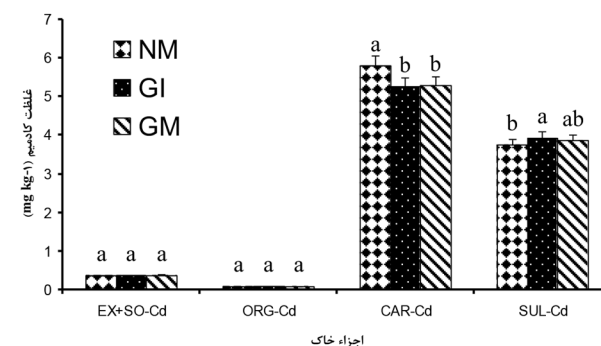
EX+SO-Cd, ORG-Cd, CAR-Cd و SUL-Cd به ترتیب تبادل و محلول، پیوند شده با مواد آلی، پیوند شده با کربنات‌ها و پیوند شده با سولفیدها. ۱۰ و ۲۰ سطوح آلودگی کادمیم به میلی‌گرم در کیلوگرم خاک.



اجزاء خاک

شکل ۲- اثر کرم‌خاکی بر غلظت کادمیم (mg kg<sup>-1</sup>) در اجزاء خاک در خاک‌های آلوده به کادمیم طی رشد گیاه آفتابگردان

EX+SO-Cd, ORG-Cd, CAR-Cd و SUL-Cd به ترتیب تبادل و محلول، پیوند شده با مواد آلی، پیوند شده با کربنات‌ها و پیوند شده با سولفیدها. NE و WE به ترتیب بدون کرم‌خاکی و با کرم‌خاکی.



اجزاء خاک

شکل ۳- اثر قارچ میکوریزا بر غلظت کادمیم (mg kg<sup>-1</sup>) در اجزاء خاک

در خاک‌های آلوده به کادمیم طی رشد گیاه آفتابگردان

EX+SO-Cd, ORG-Cd, CAR-Cd و SUL-Cd به ترتیب تبادل و محلول، پیوند شده با مواد آلی، پیوند شده با کربنات‌ها و پیوند شده با سولفیدها. NM, GI و GM به ترتیب بدون میکوریزا، قارچ گونه *Glomus intraradices* و قارچ گونه *Glomus mosseae*.

- a calcareous sandy soil receiving municipal solid waste. Environ. Monit. Assess 250-241 : 173 ..
18. Jankong P. and Visoottiviseth P. 2008. Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation on plants growing on arsenic contaminated soil. Chemosphere. 72: 1092-1097.
  19. 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.
  20. 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.
  21. Li Q., Jiang Y. and Liang W. J. 2006. Effect of heavy metals on soil nematode communities in the vicinity of a metallurgical factory. J. Environ. Sci. 18: 323-328.
  22. Liu X., Hu C. and Zhang S., 2005. Effects of earthworm activity on fertility and heavy metal bioavailability in sewage sludge. Environment International. 31: 874-879.
  23. Lukkari T., Teno S., Vaeisaenen A. and Haimi J. 2006. Effects of earthworms on decomposition and metal availability in contaminated soil: microcosm studies of populations with different exposure histories. Soil Biology and Biochemistry. 38: 359-370.
  24. Ma Y., Dickinson N.M. and Wong M.H. 2002. Toxicity of Pb/Zn mine tailings to the earthworm *Pheretima* and the effects of burrowing on metal availability. Biol. Fertil. Soils. 36: 79-86.
  25. 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.
  26. Nahmani J., Hodson M.E. and Black S. 2007. A review of studies performed to assess metal uptake by earthworms. Environmental Pollution. 145:424-402 ..
  27. Nakashima T., Okada T., Asahi J., Yamashita A., Kawai K., Kasai H., Matsuno K., Gamou S. and Hirano T. 2008. 8-Hydroxydeoxyguanosine generated in the earthworm *Eisenia fetida* grown in metal-containing soil. Mutation Research. 654:138-144.
  28. Pelfrène A., Waterlot C., Mazzuca M., Nisse C., Cuny D., Richard A., Denys S., Heyman C., Roussel H., Bidar G. and Douay F. 2012. Bioaccessibility of trace elements as affected by soil parameters in smelter-contaminated agricultural soils: A statistical modeling approach. Environmental Pollution. 160: 130-138.
  29. Rada A., El Gharmali A., Elmeray M. and Morel, J.L. 1996. Bioavailability of cadmium and copper in two soils from the sewage farm of Marrakech city (Morocco): effect of earthworms. Agricultura Mediterranea. 126: 364-368.
  30. Renella G., Landi L. and Nannipieri P. 2004. Degradation of low molecular weight organic acids complexed with heavy metals in soil. Geoderma. 122: 311-315.
  31. Roussel H., Waterlot C., Pelfrene A., Pruvot C., Mazzuca M. and Douay, F. 2010. Cd, Pb and Zn oral bioaccessibility of urban soils contaminated in the past by the atmospheric emissions of two lead and zinc smelters. Archives of Environmental Contamination and Toxicology. 58: 945-954.
  32. Ruby M.V. 2004. Bioavailability of soil-borne chemicals: abiotic assessments tools. Human and Ecological Risk Assessment. 10: 647-656.
  33. 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.
  34. Ruiz E., Rodríguez L. and Alonso-Azcárate J. 2009. Effects of earthworms on metal uptake of heavy metals from polluted mine soils by different crop plants. Chemosphere. 75: 1035-1041.
  35. Schroeder, M.S., Janos, D.P., 2004. Phosphorus and intraspecific density alter plant responses to arbuscular mycorrhizas. Plant and Soil 264, 335-348.
  36. Singh J. P., Karwasra S. P. S. and Singh M. 1988. Distribution and forms of copper, iron, manganese, and zinc in calcareous soils of India. Soil Sci. 146: 359-366.
  37. Sizmur T. and Hodson M.E. 2009. Do earthworms impact metal mobility and availability in soil? – a review. Environ. Pollut 1989-1981 : 157 ..
  38. Sloan J. J., Dowday R. H., Dolan M. S. and Linden D. R. 1997. Long-term effect of biosolids applications on heavy metal bioavailability in agricultural soils. J. Environ. Qual. 26: 966-974.
  39. Soil Survey Staff, 2010. Keys to Soil Taxonomy, 11th Ed. USDA-Natural Resources Conservation Service, Washington, DC.
  40. Sposito G., Lund L. J. and Chang A. C. 1982. Trace metal chemistry in arid-zone field soils amended with sewage sludge: I. Fractionation of Ni, Cu, Zn, Cd and Pb in soil phases. Soil Sci. Soc. Am. J. 46: 260-264.
  41. Stephens P.M., Davoren C.W., Doube B.M. and Ryder M.H. 1994. Ability of the earthworms *Aporrectodea rosea* and *Aporrectodea trapezoides* to increase plant growth and the foliar concentration of elements in wheat (*Triticum aestivum* cv. spear) in a sandy loam soil. Biology and Fertility of Soils. 18: 150-154.
  42. Udovic M. and Leštan D. 2007. The effect of earthworms on the fractionation and bioavailability of heavy metals before and after soil remediation. Environmental Pollution. 148: 663-668.
  43. Udovic M., Plavc Z. and Leštan D., 2007. The effect of earthworms on the fractionation, mobility and bioavailability of Pb, Zn and Cd before and after soil leaching with EDTA. Chemosphere. 70: 126-134.
  44. 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. Biol. Fertil. Soils. 40: 181-187.
  45. Wen B., Liu Y., Hu X.Y. and Shan X.Q. 2006. Effect of earthworms (*Eisenia fetida*) on the fractionation and bioavailability of rare earth elements in nine Chinese soils. Chemosphere. 63: 1179-1186.
  46. Yu X., Cheng J. and Wong M.H., 2005. Earthworm-mycorrhiza interaction on Cd uptake and growth of ryegrass. Soil Biol. Biochem. 37: 195-201.