تعیین مهم‌ترین شاخص‌های میکروبی به عنوان شاخص سلامت خاک در خاک‌های آلوده به کادمیوم و سرب

منیژه عیوضی‌نی[۱]، علی اشرف سلطانی طولارود[۲*]، حسین شهاب[۳]، اکبر قویدل[۴]، سمیه قاسمی[۵]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد رشته‌ی علوم و مهندسی خاک دانشکده‌ی کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی

۲*- نویسنده عهده دار مقاله- دانشیار گروه علوم و مهندسی خاک دانشکده‌ی کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی،

ایمیل نویسنده مسئول: Ali_soltani_t@yahoo.com

۳ و ۴- استادیار و دانشیار گروه علوم و مهندسی خاک دانشکده‌ی کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی

۵- دانشیار دانشکده‌ی منابع طبیعی و کویر شناسی دانشگاه یزد

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۲/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۲/۱۰

چکیده

آلودگی خاک با فلز سنگین کادمیم (Cd) و سرب (Pb) به دلیل اثرات سمی بالقوه آنها بر فعالیت و ترکیب جامعه زیستی خاک، در چند دهه گذشته بسیار مورد توجه قرار گرفته است. در این تحقیق، ۱۲ نمونه خاک آلوده به کادمیوم و سرب از عمق ۲۰ - ۰ سانتی‌متری از نقاط مختلف پالایشگاه نفت شهید تندگویان تهیه و برخی ویژگی‌های زیستی آنها از قبیل تنفس پایه، تنفس تحریک شده، جمعیت باکتری، جمعیت قارچ، کربن بیوماس میکروبی، فعالیت آنزیم اوره‌آز و ال- آسپارژیناز به عنوان شاخص‌های سلامت خاک اندازه‌گیری گردید. آلودگی موجود در محیط به عنوان عامل مشترک موثر بر مجموع عوامل زیستی خاک فرض و با استفاده از تجزیه مولفه‌های اصلی (PCA) مهمترین شاخص‌های زیستی که نشان دهنده سلامت خاک است استخراج شد. نتایج نشان داد دو عامل بیش از ۹۰ درصد کل تغییرات شاخص‌های سلامت خاک را تحت تاثیر قرار می‌دهد و دو شاخص جمعیت قارچ و فعالیت آنزیم اوره‌آز بیشترین همبستگی را با عامل اول دارند، بنابراین حساس‌ترین شاخص‌ها در برابر آلودگی خاک با کادمیوم و سرب می‌باشند. همچنین تنفس پایه و تنفس تحریک شده بیشترین همبستگی را با عامل دوم دارند و دومین دسته از ویژگی‌های زیستی از نظر حساسیت به آلودگی موجود در محیط هستند.

کلمات کلیدی:

"فلزات سنگین" ،" شاخص زیستی"، "تجزیه عامل "

Determination of The Most Important Microbial Indicators as Soil Health Index in Cadmium and Lead Contaminated Soils

Eivazi ney M[1], Soltani toularoud A. A[2*], Shahab H[3], Ghavidel A[4], Ghasemi S[5]

1. MSc Graduate, department of soil science and engineering, university of Mohaghegh Ardabili.

2*. Corresponding author, Associate professor, department of soil science and engineering, university of Mohaghegh Ardabili, Email: Ali_soltani_t@yahoo.com.

3&4. Assistant professor and Associate professor, department of soil science and engineering, university of Mohaghegh Ardabili.

5. Associate professor, Yazd University

Abstract:

Soil contamination with Cadmium (Cd) and lead (Pb) due to their potentially toxic effects on the soil biota activity and biodiversity, has been widely considered in recent decades. In this research, 12 soil samples contaminated with Cadmium and Lead were taken from the upper 20 cm at different points of the Shahid Tondgooian oil refinery and some biological properties such as basal soil respiration, induced soil respiration, bacterial population, mushroom population, Carbon microbial biomass, urease enzyme activity and L-asparaginase were measured as soil health indicators. Environment contamination assumed as a common factor that affecting the soil biological factors and using principal component analysis (PCA), the most important biological indicators that indicate soil health were extracted. The results showed that two factors affect more than 90% of total changes in soil health indices, and two indices of fungal population and enzyme activity have the highest correlation with the first factor, therefore, these are the most sensitive indices in soil contamination with cadmium and lead. Also basal soil respiration and induced soil respiration have the highest correlation with the second factor, and these two cases are the second sensitive group of soil biological properties to environmental pollution.

Keywords:

Heavy metals, Bioindicator, Factor analysis

۱- مقدمه

خاک یکی از اجزای مهم محیط زیست بوده و نقش مهم و کلیدی در رشد و نمو گیاهان، تعیین سرنوشت آب در نظام چرخه ای آب در طبیعت و بازچرخ مواد ایفا می‌کند. سلامت خاک به تعادل زیست‌محیطی و عملکرد یک خاک و ظرفیت آن برای حفظ یک اکوسیستم متعادل با سطح تنوع زیستی بالا و پایین و حاصلخیزی اشاره می‌کند. این شاخص با بررسی و بکارگیری خواص فیزیکی، شیمیایی و زیستی، تعیین می‌کند که عملکرد کدام یک از این خواص برای استفاده از خاک و مدیریت آن در یک بازه زمانی معین مناسب است. ویژگی‌هایی از خاک که واکنش سریع به فعالیت‌های طبیعی یا انسانی نشان می‌دهند شاخص خوبی برای سلامت خاک در نظر گرفته می‌شوند. شاخص‌های میکروبی خاک، در مقایسه با بسیاری از خواص فیزیکی و شیمیایی که نیازمند زمان بیشتری برای تغییر می‌باشند، بسیار پویا بوده و به سرعت تحت تأثیر استفاده از خاک و مدیریت آن و یا هر گونه اختلال دیگر قرار می‌گیرند. به همین دلیل وضعیت فعالیت موجودات زنده‌ی خاک شاخص خوبی از سلامت آن بوده، به خصوص اگر این شاخص، مربوط به فرآیندهای زیست‌محیطی اتفاق افتاده در خاک باشد. این مساله بخصوص در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین به دلیل غیرقابل تجزیه بودن و تأثیرات اکولوژیکی و بیولوژیکی آنها حساسیت و اهمیت بیشتری دارد (Cardoso *et al*., 2013). امروزه افزایش غلظت بیش از حد مجاز فلزات سنگین سمی درنتیجه فعالیت‌هایی از قبیل استخراج معادن، ذوب فلزات، تولید سوخت و انرژی، کاربرد کودهای شیمیایی، آفت‌کش‌ها و فاضلاب‌ها، یکی از مشکلات مهم و جدی محیط زیست انسان می‌باشد. این فلزات بیشتر از راه تغییر تنوع گونه‌ای و فعالیت ریز جانداران بر بوم‌شناسی میکروبی خاک مؤثر واقع می‌شوند (Frostegard & Baath, 1996). از فلزات سنگین سمی می‌توان دو عنصر کادمیوم و سرب را نام برد. این فلزات نقش زیستی در طبیعت نداشته و افزایش غلظت آنها در خاک می‌تواند شاخص‌های زیستی خاک را تحت تاثیر قرار داده و سلامت خاک را کاهش دهد. در یک تحقیق، لندی و همکاران (Landi *et al*., 2000) کاهش شاخص‌های زیستی در حضور کادمیوم را گزارش نمودند. لیآو و همکاران (Liao *et al*., 2005) گزارش کردند که حضور کادمیوم در خاک می‌تواند باعث کاهش کربن بیوماس میکروبی و افت فعالیت‌ها ریزجانداران در این اکوسیستم گردد. در تحقیقات انجام شده توسط رنلا و همکاران (Renella *et al*., 2004) و لورنز و همکاران (Lorenz *et al*., 2006) تغییر ساختار جامعه و فعالیت میکروبی و کاهش شاخص‌های زیستی از قبیل کربن بیوماس میکروبی و فعالیت آنزیم‌ها در خاک‌های آلوده به فلزات کادمیوم و آرسنیک مشاهده شد.

یکی از روش‌های آماری به منظور کاهش تعداد داده و انتخاب مهم‌ترین عوامل موثر بر یک متغییر تجزیه عامل (FA[1]) می‌باشد (شهاب و همکاران، ۱۳۹۵). با استفاده از این روش می‌توان حساس‌ترین شاخص‌های زیستی نسبت به آلاینده را در خاک‌های آلوده انتخاب و به عنوان شاخص سلامت خاک معرفی نمود. محققین مختلف کارایی تجزیه عامل (FA) به روش تجزیه مولفه‌های اصلی (PCA[2]) در استخراج مهم‌ترین عوامل موثر بر کیفیت و سلامت خاک را بررسی و نشان داده‌اند که این روش می‌تواند از همبستگی درونی گروهی از ویژگی‌های خاک استفاده کرده و حساس‌ترین ویژگی‌ها به یک عامل مشترک را استخراج کند (Shahab *et al*., 2013؛ Ghaemi *et al*., 2014). در یک تحقیق کوچ (Kooch, 2016) کارایی روش تجزیه علیت را در تعیین شاخص‌های زیستی خاک نشان داد.

مطالعه گزارشات و مقالات علمی حاکی از آن است که تحقیقات زیادی در نقاط مختلف دنیا در خصوص بررسی شاخص‌های زیستی در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین انجام شده است، این در حالی است که شدت تاثیرپذیری شاخص‌های مزبور از کل آلودگی با این فلزات کمتر مورد توجه و بررسی قرار گرفته است و تحقیقات انجام شده در این زمینه بسیار نادر می‌باشد. در این مطالعه هفت شاخص میکروبی خاک شامل تنفس پایه، تنفس تحریک شده با بستره، کربن بیوماس میکروبی، جمعیت باکتری، جمعیت قارچ، فعالیت آنزیم اوره‌آز و فعالیت آنزیم ال-آسپارژیناز در خاک‌های آلوده به کادمیوم و سرب اندازه‌گیری و سپس با استفاده از تجزیه عامل به روش تجزیه مولفه‌های اصلی تاثیرپذیری هر شاخص از آلودگی با این فلزات تعیین و حساس‌ترین این شاخص‌ها زیستی انتخاب شد.

[1] Factor Analysis

مواد و روش ها

نمونه برداری و آماده‌سازی نمونه خاک‌ها

به منظور انجام این تحقیق، ۱۲ نمونه خاک از عمق ۲۰ - ۰ سانتی-متری از ۱۲ نقطه محوطه پالایشگاه نفت شهید تندگویان تهیه شد. نمونه‌ها پس از گذراندن از الک ۲ میلی‌متری و بسته‌بندی در کیسه-های پلاستیکی در داخل فلاسک یخ‌دار به آزمایشگاه منتقل و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و در تاریکی تا زمان اندازه‌گیری خصوصیات زیستی در یخچال نگه‌داری گردید. به منظور تعیین برخی از خواص فیزیکی و شیمیایی خاک، بخشی از خاک‌های تهیه شده در دمای آزمایشگاه هوا خشک شده و مورداستفاده قرار گرفت.

اندازه گیری برخی خواص فیزیکو شیمیایی خاک‌ها

قبل از اندازه‌گیری شاخص‌های میکروبی، خصوصیات فیزیکی و شیمیایی متداول خاک نظیر pH خاک در گل اشباع به کمک دستگاه pH متر مدل ۶۲۰ متراهم، هدایت الکتریکی (EC) در عصاره گل اشباع با استفاده از هدایت سنج مدل متراهم، ماده آلی به روش والکلی و بلاک (Walkly & Black, 1934)، کربنات کلسیم کل معادل بر اساس روش تیتراسیون برگشتی با اسید و باز و بافت خاک به روش هیدورمتری (Gee & Orr, 2002) اندازه گیری شد.

اندازه گیری سرب و کادمیم خاک

مقدار کادمیم و سرب موجود در خاک‌های مورد نظر پس از عصاره-گیری با DTPA با استفاده از دستگاه جذب اتمی (Philips PU 9100X) مطابق روش لیندزی (Lindsay & Norvell, 1978) اندازه‌گیری گردید.

اندازه‌گیری برخی شاخص‌های زیستی خاک

تنفس پایه[1]

برای انجام این آزمایش، یک بشر کوچک حاوی ۲۰ میلی‌لیتر هیدروکسیدسدیم ۰/۰۵ نرمال داخل یک ظرف پلاستیکی با گنجایش یک لیتر که حاوی ۲۰ گرم خاک مرطوب (حدود ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه بود) قرار داده شد. درب ظرف کاملا عایق بندی شد تا از تبادل گازی با اتمسفر ممانعت شود و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس محتویات بشر به داخل یک ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتر حاوی ۲ میلی‌لیتر کلرید باریم ۰/۵ مولار و ۳ الی ۴ قطره معرف فنل فتالئین منتقل و با استفاده از اسیدکلریدریک ۰/۱ نرمال تیتر گردید. مقدار تنفس پایه خاک طبق رابطه ۱ برحسب میلی‌گرم CO_2 در گرم خاک در روز محاسبه گردید (Anderson, 1982).

$$\frac{(V_1 - V_2) * N_{HCL} * 22}{md} \quad \text{رابطه ۱}$$

که در آن، V_1 حجم اسید مصرفی برای نمونه شاهد (ml)، V_2 حجم اسید مصرفی برای نمونه خاک (ml)، N نرمالیته اسید کلریدریک و ۲۲ اکی والان گرم CO_2 می‌باشد.

تنفس تحریک‌شده با بستره

مقدار ۵۰ گرم از نمونه خاک توزین و داخل یک ظرف پلاستیکی با گنجایش حدود یک لیتر ریخته شد. یک میلی‌لیتر گلوکز ۱٪ به‌عنوان بستره به نمونه خاک اضافه نموده و هم‌زمان یک بشر کوچک حاوی ۱۰ میلی‌لیتر هیدروکسیدسدیم ۰/۱ نرمال درون ظرف قرار داده و پس از بستن کامل درب ظرف، به مدت ۶ ساعت به همان حالت در انکوباتور در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس محتویات بشر به ارلن انتقال یافت و با اسیدکلریدریک ۰/۱ نرمال تیتر و میزان تنفس تحریک‌شده با بستره بر اساس روش آلیف و نانی پیری[2] (Alef & Nannipieri, 1995) و طبق رابطه۱ محاسبه گردید.

کربن بیوماس میکروبی[3] (MBC)

به‌منظور اندازه‌گیری کربن بیوماس میکروبی ۱۰ گرم از خاک‌های مورد آزمایش توزین و در کف دسیکاتور حاوی یک کاغذ صافی مرطوب و ۵۰ میلی‌لیتر محلول کلروفرم قرار داده شد. دسیکاتور به پمپ خلا متصل و شرایطی ایجاد گردید که کلروفرم به مدت ۲ دقیقه بجوشد. سپس پمپ خاموش و پس از بستن شیر دسیکاتور نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در شرایط تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در مرحله بعد ۴۰ میلی‌لیتر سولفات پتاسیم ۰/۵ مولار به این نمونه‌ها اضافه و همراه با نمونه شاهد (خاک تدخین نشده با کلروفرم) به مدت ۳۰ دقیقه روی شیکر دورانی با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه تکان داده شد. سوسپانسیون حاصل از هر نمونه با استفاده از کاغذ صافی واتمن ۴۲ صاف گردید. به ۸ میلی‌لیتر از عصاره حاصل ۲ میلی‌لیتر دی‌کرومات پتاسیم ۶۶/۷ میلی‌مولار و ۱۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه در زیر هود شیمیایی قرار داده شد. نمونه‌ها پس از اضافه کردن ۲۲ میلی‌لیتر آب مقطر و ۴ قطره معرف دی فنیل آمین با استفاده از فروآمونیوم سولفات ۰/۰۴ مولار تیتر و در نهایت کربن بیوماس

[1] Basal respiration
[2] Alef and Nannipieri
[3] Microbial Biomass Carbon

میکروبی از اختلاف بین کربن معدنی خاک در نمونه‌های تدخین نشده و تدخین شده محاسبه گردید (Jenkinson & Powlson, 1976).

جمعیت باکتری

به‌منظور شمارش جمعیت کل باکتری‌ها، ۱ گرم خاک به ۹ میلی لیتر آب استریل اضافه گردید. سوسپانسیون حاصل به مدت ۲۰ دقیقه روی شیکر با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه تکان داده شد. رقت-های ده‌دهی در آب استریل تا رقت $۱۰^{۸}$ تهیه و از هر رقت ۰/۱ میلی‌لیتر در ۳ تکرار روی محیط کشت نوترینت آگار حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر سیکلوهگزیمید پخش و پتری‌دیش‌ها در انکوباتور با دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. شمارش تعداد کلنی‌ها در ظرف مدت ۱ هفته از زمان کشت انجام شد.

جمعیت قارچ

برای تعیین جمعیت کل قارچ‌ها نیز از روش ذکرشده جهت تعیین جمعیت کل باکتری‌ها استفاده گردید، با این تفاوت که سری رقت تا $۱۰^{۵}$ تهیه و از رقت ۰/۱ میلی‌لیتر در ۳ تکرار روی محیط کشت مارتین آگار حاوی ۰/۱۴ گرم در لیتر رز بنگال و ۰/۰۶ گرم استرپتومایسین در لیتر پخش شد.

فعالیت آنزیم اوره آز

مقدار ۵ گرم خاک با ۰/۲ میلی‌لیتر تولوئن تیمار و پس از افزودن ۹ میلی‌لیتر بافر تریس (تریس هیدروکسی متیل آمینو متان pH =۹) و ۱ میلی‌لیتر محلول ۰/۲ مولار اوره (سوبسترا)، به مدت ۲ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد نگه‌داری شد. سپس ۳۵ میلی‌لیتر محلول $KCL-Ag_2SO_4$ (۲/۵ مولار نسبت به KCL و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نسبت به Ag_2SO_4) و ۱ میلی‌لیتر محلول اوره به نمونه اضافه و مقدار آمونیوم آزادشده در سوسپانسیون موجود به روش تقطیر با بخارآب تعیین و پس از کم کردن مقدار آمونیوم در تیمار شاهد برحسب میکروگرم آمونیوم آزادشده به ازای هر گرم خاک در دو ساعت خوابانیدن محاسبه گردید (Frankenberger & Tabatabai, 1991).

فعالیت آنزیم ال-آسپارژیناز

مقدار ۵ گرم خاک با ۰/۲ میلی‌لیتر تولوئن تیمار و پس از افزودن ۹ میلی‌لیتر بافر تریس (تریس هیدروکسی متیل آمینو متان pH =۹) و ۱ میلی‌لیتر محلول ۰/۵ مولار ال- آسپارژین (سوبسترا)، به مدت ۲ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد نگه‌داری شد. سپس ۳۵ میلی‌لیتر محلول $KCL-Ag_2SO_4$ (۲/۵ مولار نسبت به KCL و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نسبت به Ag_2SO_4) و ۱ میلی‌لیتر محلول ال - آسپارژین به نمونه اضافه و مقدار آمونیوم آزادشده در سوسپانسیون موجود به روش تقطیر با بخارآب تعیین و پس از کم کردن مقدار آمونیوم در تیمار شاهد برحسب میکروگرم آمونیوم آزادشده به ازای هر گرم خاک در دو ساعت خوابانیدن محاسبه گردید (Frankenberger & Tabatabai, 1991).

تجزیه و تحلیل آماری

آنالیز داده‌های حاصل از اندازه‌گیری با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS16 انجام گرفت. برای تایید مناسب بودن داده‌ها برای تحلیل عامل، شاخص اندازه کفایت نمونه‌گیری کایزر مایر آلکین (KMO) برای مجموعه داده‌های مورد نظر تعیین و سپس اقدام به تحلیل عامل گردید (نائبی، ۱۳۹۳).

در تحلیل عامل از همبستگی درونی بین مجموعه ویژگی‌های مورد بررسی استفاده شده و عامل مشترک بین مجموعه‌ای از ویژگی‌ها تشخیص داده می‌شود و فرض می‌شود تغییرات مجموعه‌ای از متغییرها ناشی از آن عامل مشترک است (نائبی، ۱۳۹۳). در تحلیل عامل به روش PCA ابتدا به ازاء هر متغییر که ویژگی مورد بررسی است، یک عامل ساخته می‌شود (۷ عامل اولیه در این پژوهش) سپس عامل‌هایی که مقدار ویژه بیش از یک دارند به عنوان عامل-های نهایی استخراج و ادامه تحلیل عامل با آنها صورت می‌گیرد (Chaplot, 2013). بیشترین واریانس داده‌ها مربوط به عامل‌های نهایی است و در هر عامل نهایی، می‌توان مهمترین ویژگی‌ها که بیشترین همبستگی با آن عامل دارند را تعیین کرد. به این ترتیب از بین مجموعه ویژگی‌های مورد بررسی که بر کیفیت زیستی خاک موثر بودند، مهمترین ویژگی‌ها انتخاب شدند (Deng, *et al.*, 2015). تحلیل‌های آماری مربوط به تجزیه عامل نیز با استفاده از نرم افزار SPSS16 انجام گردید.

نتایج و بحث

مقدار پ‌هاش (pH) و هدایت الکتریکی (EC) نمونه‌ها به ترتیب در محدوده ۷/۷-۶/۹ و ۱۵/۲۷-۳/۶۲ دسی زیمنس در متر، میزان ماده آلی ۱/۸۷-۳/۱ درصد و مقدار کربنات کلسیم معادل از ۲۳/۵۰ درصد تا ۳۷ درصد بود. نتایج نشان داد که خاک‌های مورد مطالعه دامنه‌ای از بافت‌های سبک تا سنگین را داشتند. کادمیوم نمونه‌ها بین ۰/۵۲ تا ۰/۸۴ میلی‌گرم در کیلوگرم و سرب نمونه‌ها بین ۶/۶ تا ۳۵۷/۶ میلی‌گرم در کیلوگرم بود که با توجه به مقدار استاندارد گزارش شده برای کادمیم ($\leq$ ۰/۳$mg.kg^{-1}$) و سرب ($\leq$ ۲۰۰$mg.kg^{-1}$)

(30)، نمونه خاک‌های مورد بررسی آلوده به این فلزات سنگین می‌باشند.

در جدول (۱) میانگین شاخص‌های میکروبی اندازه‌گیری شده در خاک‌های مورد بررسی ارائه شده است.

جدول ۱- میانگین شاخص‌های میکروبی در خاک‌های مورد مطالعه

شاخص‌های زیستی	جمعیت باکتری (عدد در گرم خاک خشک)	جمعیت قارچ (عدد در گرم خاک خشک)	کربن بیومس (mg-c.g-1 soil)	ال- آسپاراژیناز (میکروگرم آمونیوم در گرم در ۲ ساعت)	اوره آز (میکروگرم آمونیوم در گرم در ۲ ساعت)	تنفس پایه (mgco2.g-1soil.day-1)	تنفس تحریک شده (mgco2.g-1soil.day-1)
مقدار اشتراک	۱۶۰۰۰۰۰۰۰۰	۲۸۷۹۰۰	٤۸۸	۱/۱۱	۱/۱	۰/۷٤	۱/٤٦

بررسی پژوهش‌های انجام شده نشان می‌دهد که در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین، شاخص‌های میکروبی تحت تأثیر این آلاینده‌ها قرار گرفته و با کاهش چشمگیر فعالیت ریزجانداران، مقدار این شاخص‌ها به‌طور چشمگیر کاهش می‌یابند (YU, 2015 Kelly, 1999 Wang, 2007 Brookes, 1995). بنابراین می‌توان فرض کرد آلوده ۷ شاخص زیستی مورد نظر در خاک‌های مورد بررسی این پژوهش، از آلودگی با فلزات سنگین کادمیوم و سرب موجود در محیط تاثیر گرفته‌اند و می‌توان آلودگی با این فلزات را به عنوان عامل مشترک بین خاک‌ها در نظر گرفت و از تجزیه عامل (FA) برای استخراج مهم‌ترین عوامل موثر بر شاخص‌های زیستی خاک استفاده نمود. با انتخاب مهم‌ترین عوامل، مهم‌ترین ویژگی‌های زیستی خاک که تحت تاثیر آلودگی خاک قرار گرفته اند انتخاب می‌شوند (نائبی، ۱۳۹۳). برای این منظور از تجزیه عامل به روش تجزیه مولفه‌های اصلی (PCA) استفاده گردید. مناسب بودن داده‌ها برای انجام تحلیل عامل، با شاخص کایزر-مایر-آلکین (KMO) مورد بررسی قرار گرفت. مشاهده شد شاخص KMO مجموعه داده‌ها ۰/۷۱۳ می‌باشد، بنابراین برای مجموعه ویژگی‌های مورد نظر خاک می‌توان از تحلیل عامل استفاده کرد (نائبی، ۱۳۹۳).

همچنین در جدول شماره ۲ ماتریس همبستگی بین شاخص‌های زیستی مورد بررسی ارائه شده است. مشاهده می‌شود در بین ۷ شاخص مورد بررسی همبستگی معنی دار و بالایی وجود دارد و فقط همبستگی بین شاخص‌های تنفس با جمعیت قارچ و آنزیم اوره‌آز معنی‌دار نشده است. بنابراین به طور کلی شاخص‌های مورد بررسی دارای همبستگی بالایی با همدیگر می‌باشند. وجود همبستگی درونی بین این شاخص‌ها باعث می‌شود تا عوامل مشترک بتوانند کل شاخص‌ها را تحت تاثیر قرار دهند، بنابراین با تجزیه مولفه‌های اصلی عوامل مشترک بین شاخص‌ها استخراج می‌گردد (نائبی، ۱۳۹۳).

جدول ۲- ماتریس همبستگی شاخص‌های زیستی

شاخص‌های زیستی	جمعیت باکتری	جمعیت قارچ	کربن بیومس	ال اسپیرژوناز	اوره آز	تنفس پایه	تنفس تحریک شده
جمعیت باکتری	۱						
جمعیت قارچ	-۰/۸۸**	۱					
کربن بیومس	۰/۹۹**	-۰/۸٤**	۱				
ال اسپاراژیناز	-۰/۹۹**	۰/۸۳**	-۱/۰**	۱			
اوره آز	-۰/٦٦*	۰/۹۱**	-۰/٦۲*	۰/٦۲*	۱		
تنفس پایه	۰/٦٤*	-۰/۲۹	۰/۷۲**	-۰/۷۳**	-۰/۱۳	۱	
تنفس تحریک شده	۰/٦۳*	-۰/۳٦	۰/۷۱**	-۰/۷۲**	-۰/۲۹	۰/۹۷**	۱

**: هبستگی معنی‌دار در سطح یک درصد *: همبستگی معنی‌دار در سطح پنج درصد

با انجام تحلیل عامل، جدول کل واریانس تبیین شده چرخش یافته برای داده‌ها در جدول ۳ ارائه شده است. برای استخراج عامل‌ها از روش تحلیل مولفه‌های اصلی (PCA) استفاده شده است. در نتیجه تجزیه و تحلیل داده-ها در این تحقیق ۲ عامل نهایی استخراج گردید که مقدار ویژه، درصد واریانس و درصد واریانس تجمعی این عامل‌ها نیز در جدول ارائه شده است. همان طور که مشاهده می‌شود عامل‌های نهایی مستخرج بیش از ۹۵ درصد کل تغییرات متغییرها (ویژگی‌های زیستی خاک) را تبیین می‌کنند، بنابراین عوامل نهایی مستخرج به خوبی می‌توانند برای کاهش حجم داده‌ها و انتخاب مهمترین ویژگی‌ها از بین کل ویژگی‌های مورد بررسی استفاده شوند (Di Stefano *et al.*, 2013 ؛Deng, *et al.*, 2015).

جدول ۳- کل واریانس تبیین شده دوران یافته داده‌های بیولوژیک خاک

عامل Component	عوامل اصلی: مقدار ویژه Eigenvalue	عوامل اصلی: ٪ واریانس عامل %of variance	عوامل اصلی: ٪ واریانس تجمعی ٪Cumulative	عوامل استخراج شده: مقدار ویژه Eigenvalue	عوامل استخراج شده: ٪ واریانس عامل %of variance	عوامل استخراج شده: ٪ واریانس تجمعی ٪Cumulative
۱	۵/۲۵	۷۵/۱	۷۵/۱	۵/۲۵	۷۵/۱	۷۵/۱
۲	۱/٤۳	۲۰/٤	۹۵/۵	۱/٤۳	۲۰/٤	۹۵/۵
۳	۰/۳۱	٤/۵	۹۹/۹٦			
٤	۰/۰۰۲	۰/۰۳۲	۹۹/۹۹۸			
۵	۰/۰۰۰	۰/۰۰۱	۹۹/۹۹۹			
٦	۰/۰۰۰	۰/۰۰۱	۱۰۰			
۷	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۱۰۰			

در جدول ۴ اشتراک هر متغییر با عامل‌های مستخرج ارائه شده است که نشان می‌دهد چه نسبتی از تغییرات هر ویژگی را عامل‌های نهایی مستخرج تبیین می‌کنند. این مقادیر از مجموع مجذور همبستگی هر ویژگی با عامل‌های نهایی به دست می‌آید و نشان دهنده رابطه متغییرها با این عوامل است. هر چه این اشتراک بیشتر باشد داده‌های ویژگی مورد نظر برای تحلیل عامل مناسب‌تر است و حداقل مقدار آن بایستی ۰/۳۰ باشد (نائبی، ۱۳۹۳). همان طور که مشاهده می‌شود برای تمام ویژگی‌ها بیش از ۹۰٪ تغییرات توسط عامل‌های نهایی تبیین می‌شود. بنابراین می‌توان با انتخاب ویژگی‌هایی که بیشترین همبستگی را با عامل‌های نهایی دارند مهم‌ترین ویژگی‌های موثر بر هر عامل را استخراج کرد و با تعیین مهم‌ترین ویژگی‌های موثر بر عامل-های نهایی، مهم‌ترین ویژگی‌های خاک که بیشترین تاثیر را بر کل تغییرات متغییرها دارند، انتخاب نمود (Deng, *et al.*, 2015).

جدول ۴- جدول اشتراک ویژگی‌های مورد بررسی با عومل

ویژگی های خاک	جمعیت باکتری	جمعیت قارچ	کربن بیومس	ال- آسپاراژیناز	اوره آز	تنفس پایه	تنفس تحریک شده
مقدار اشتراک	۰/۹۵	۱	۰/۹۷	۰/۹۷	۰/۸۷	۰/۹۹	۰/۹۲

در جدول ۵ برای هر مجموعه داده‌ها، ویژگی‌هایی از خاک که بیشترین همبستگی را با هر یک از عوامل نهایی دارند به همراه میزان همبستگی آن‌ها ارائه شده است. ویژگی‌ها و همبستگی آن‌ها از ماتریس اجزای چرخش یافته، در PCA داده‌های ویژگی‌های زیستی خاک استخراج شده است. با توجه به اینکه عامل اول بیشترین تغییرات کل متغییرها را تبیین می‌کند، گروه ویژگی‌هایی که بیشترین همبستگی را با آن عامل دارند مهم‌ترین ویژگی‌های خاک می‌باشند. پس از عامل اول، عامل دوم بیشترین تغییرات را تبیین می‌کند و گروه ویژگی‌های مربوط به آن عامل، دومین دسته از مهمترین ویژگی‌های

خاک هستند که متاثر از عامل آلودگی خاک می‌باشند. به این ترتیب مجموعه ویژگی‌هایی از خاک که بر کیفیت زیستی خاک موثر هستند و تحت تاثیر عامل آلودگی خاک قرار می-گیرند، به گروه‌هایی تقسیم می‌شوند که به ترتیب بیشترین اهمیت تا کمترین اهمیت را در تعیین تغییرات کل داده‌ها و در نتیجه کیفیت زیستی خاک دارند (شهاب و همکاران، ۱۳۹۵).

جدول ۵: ماتریس اجزای دوران یافته

ویژگی های خاک	عوامل مستخرج	
	۱	۲
جمعیت باکتری	-۰/۷۸	۰/۵۸
جمعیت قارچ	۰/۹۸	-۰/۱۹
کربن بیومس	-۰/۷۲	۰/٦۷
ال اسپیرژوناز	۰/۷۲	-۰/٦۸
اوره آز	۰/۹۳	-۰/۰۱۲
تنفس پایه	-۰/۱	۰/۹۹
تنفس تحریک شده	-۰/۱۹	۰/۹٤

مشاهده می‌شود جمعیت قارچ و فعالیت آنزیم اوره آز بیشترین همبستگی را با عامل اول و تنفس پایه و تنفس تحریک شده بیشترین همبستگی را با عامل دوم دارند. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت در این مطالعه مهم‌ترین دسته از ویژگی‌های ریزجانداران خاک که بر کیفیت زیستی موثرند، جمعیت قارچ و فعالیت آنزیم اوره آز است دسته دوم جمعیت باکتری و فعالیت ال- آسپاراژیناز و دسته سوم تنفس پایه و تنفس تحریک شده می‌باشد و کمترین اهمیت را کربن بیومس دارد که کمترین همبستگی را با هر دو عامل نشان می‌دهد. نایت و همکاران (Knight *et al*., 2013) نیز با استفاده از PCA مجموعه ای از ویژگی‌های خاک از جمله مقدار ماده آلی، نیتروژن بیومس میکروبی و نیتروژن قارچ را مهمترین ویژگی-های سلامت خاک در خاک‌های مناطق مسکونی تشخیص دادند و بیان کردند که این عوامل بیشترین حساسیت را به آلودگی این مناطق داشت. همچنین گزارش شده است که در خاک‌های تیمار شده با انواع کود آلی و غیر آلی به مدت ۱۰ سال، تجزیه PCA نشان داد که در مجموع گروه کودهای آلی نسبت به گروه غیر آلی تاثیر بیشتری بر افزایش سلامت خاک داشتند و شاخص زیستی جمعیت میکروبی تاثیر مثبتی از کودهای آلی گرفته و موجب افزایش سلامت خاک شده است (Igalavithana *et al*., 2017). کوچ (Kooch, 2016) در مناطق جنگلی استان مازندران با استفاده از روش PCA، از بین مجموعه شاخص‌های زیستی خاک کربن آلی را در ارتباط با تنفس میکروبی و غلظت نیتروژن را در مورد معدنی شدن نیتروژن، موثرترین مولفه‌های سلامت خاک تشخیص داد.

با مقایسه نتایج پژوهش حاضر با مطالعات مشابه می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از روش PCA کارایی لازم را در تعیین بهترین شاخص‌های زیستی موثر در سلامت خاک دارد و نوع شاخص‌های زیستی استخراج شده بستگی به شرایط محیطی، به‌ویژه نوع آلاینده‌های خاک دارد. در این پژوهش جمعیت قارچ و فعالیت آنزیم اوره آز به عنوان حساس‌ترین شاخص زیستی که تحت تاثیر آلودگی کادمیوم و سرب قرار می‌گیرند تشخیص داده شدند و می‌توان در مناطقی که احتمال وجود این نوع آلاینده‌ها در خاک وجود دارد، از این دو شاخص به عنوان شاخصی از تغییرات کیفیت خاک استفاده کرد.

منابع

- شهاب ح،. امامی ح، حق‌نیا غ ح، اسمعلی ا. (۱۳۹۵). تعیین مؤثرترین ویژگی‌های فیزیکی و مکانیکی خاک بر افزایش سطح مقطع آبکندها در استان اردبیل. نشریه آب و خاک. ۳۰(۶): ۲۰۷۷-۲۰۶۰.
- نایبی، ه. (۱۳۹۳). آمار پیشرفته کاربردی همراه با SPSS. انتشارات دانشگاه تهران، تهران. ۴۰۱ص.

- Alef K. and Nannipieri P. (1995). Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry. Academic Press, London. 576 pp.
- Amouei A.I, Mahvi A.H, Naddafi K. and Hajian K. (2005). Effect of chemical additives on the availability of heavy metals (Pb, Cd, Zn) in soil. Journal of Babol University of Medical Sciences; 7(4): 26-31.
- Anderson J.P.E. 1982. Soil respiration in: Methods of Soil Analysis, Part 2: Chemical and Microbiological Properties, Edited by Page, AL., R.H. Miller, and D.R. Keeney, Agronomy Monograph, pp. 831-871.
- Babich R.J., Bewley, F. and Stozky G. (1983). Application of the ecological dose concept to the impact of heavy meatals on some microbe- mediated ecologic processes in soil. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 12: 421-426.
- Brookes P.C. (1995). The use of microbial parameters in monitoring soil pollution by heavy metals. Biology and Fertility of Soils, 19(4): 269-279.
- Brookes P.C., Heijnen C.E., McGrath S.P. and Vance E.D. (1986). Soil microbial biomass estimates in contaminated with metals. Journal of Environmental Sciences, 18(4): 383-388.
- Cardoso E.J.B.N., Vasconcellos R.L.F., Bini D., Miyauchi M.Y.H., Santos C.A., Alves P.R.L., Paula A.M., Nakatani A.S., Pereira J.M. and Nogueira M.A. (2013). Soil health: looking for suitable indicators. Whatshould be considered to assess the effects of use and management on soil health? Scientia Agricola;70:274-89. https://doi.org/10.1590/S0103-90162013000400009.
- Chaplot V. (2013). Impact of terrain attributes, parent material and soil types on gully erosion. Geomorphology, 186:1-11.
- Deng Q., Qin F., Zhang B., Wang H., Luo M., Shu C., Liu H. and Liu G. (2015). Characterizing the morphology of gully cross-sections based on PCA: A case of Yuanmou Dry-Hot Valley. Geomorphology, 228: 703-713.
- Di Stefano C., Ferro V., Pampalone V. and Sanzone F. (2013). Field investigation of rill and ephemeral gully erosion in the Sparacia experimental area, South Italy. Catena, 101: 226–234.
- Dong W., Cui Y. and Liu X. (2001). Instances of soil and crop heavy metal contamination in china. Soil and Sediment Contamination: An International Journal, 10(5): 497-510.
- Frankenberger Jr W. T. and Tabatabai M. A. (1991). Factors affecting L- glutaminase activity in soils. Soil Biology and Biochemistry, 23: 875-879.
- Frostegard A. and Baath E. (1996). The use of phospholipids fatty acid analysis to estimate bacterial and fungal biomass in soil. Biology and Fertility of Soils, 22: 59-65.
- Gee, G.W. and Orr D. (2002). Partical- size analysis. Soil Science Society of America. Madison, 16: 255-293.
- Ghaemi M., Astaraei A.R., Emami H, Nassiri Mahalati M. and Sanaeinejad S.H. (2014). Determining soil indicators for soil sustainability assessment using principal component analysis of Astan Quds- east of Mashhad- Iran. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 14: 987-1004.
- Igalavithana A.D., Lee S.S., Nabeel Khan Niazi N.K., Lee Y.H., Kim K.H., Jeong-Hun Park J., Deok Hyun Moon D.H. and Ok Y.S. (2017). Assessment of Soil Health in Urban Agriculture: Soil Enzymes and Microbial Properties. Sustainability, 9:1-14.
- Jenkinson D.S. and Powlson D.S. (1976). The effect of biotical treatments on metabolism in soil, V. A method for measuring soil biomass, Soil Biology and Biochemistry, 8:189-202.

- Jurandy Bran Nogueira Cardoso, E., Leandro Figueiredo Vasconcellos R., Bini D., Yumi Horta Miyauch M., Alcantara dos Santos C., Roger Lopes Alves P., Monteiro de Paula A., Shigueyoshi Nakatani A., de Moraes Pereira J., Antonio Nogueira M. (2013). Soil health: looking for suitable indicators. What should be considered to assess the effects of use and management on soil health?. Scienetia Agricola: 274 -289.
- Kelly J.J., Haggblom L. and Tate III R.L. (1999). Changes in soil microbial communities over time resulting from one time application of zinc: a laboratory microcosm study. Soil Biology and Biochemistry, 31: 1455-1465.
- Knight A., Cheng Z., Grewal S.S., Islam K.R., Kleinhenz M.D. and Grewal P.S. (2013). Soil health as a predictor of lettuce productivityand quality: A case study of urban vacant lots. Urban Ecosystems, 10:3-22.
- Kooch Y. (2016). Application of Statistical Method of Path Analysis to Describe Soil Biological Indices. Journal of Water and Soil, 29(6):1542-1552.
- Laiyuan Z., Liming L. and Yang J. (2010). Assessment of heavy meatals contamination of paddy soil in Xiangyin country, China. 19th World Congress of Soil Science, Soil Solution for a Changing World.
- Landi L., Renella G., Moreno J.L., Falchini L. and Nannipieri P. (2000). Influence of cadmium on the metabolic quotient, L, D-glutamic acid espirration ratio and enzyme activity, microbial biomass ratio under laboratory conditions. Biology and Fertility of Soils, 32:8-16.
- Liao M., Yun-kuo L., Xiao-min Z. and Chang-yong H. (2005). Toxicity of cadmium to soil microbial biomass and its activity: Effect of incubation time on Cd ecological dose in paddy soil. Journal of Zhejiang University SCIENCE A, 5: 324-330.
- Lindsay W. L. and Norvell W. A. (1978). Development of DTPA soil test for zinc, iron, manganese and copper. Soil Science Society American Journal, 42: 421-428.
- Lindsay W.L. and Norvell W.A. (1978). Development of DTPA soil test for zinc, iron, manganese and copper. Soil Science Society American Journal, 42: 421-428.
- Lorenz N., Hintemann T., Kramarewa T., Katayama A., Yasuta T., Marschner P. and Kandeler E. (2006). Response of microbial activity and microbial community composition in soil to long–term arsenic and cadmium exposure. Soil Biology and Biochemistry, 38, 1430-1437.
- Rahimi B, Nejatkhah M P. (2010). Availability, Accumulation and Elimination of Cadmium by Artemia urmiana in Different Salinities. J. BIOL. ENVIRON. SCI. 4(12):149-157.
- Renella G., Mench M., van der Lelie D., Pietramellara G., Ascher J., Ceccherini M.T., Landi L. and Nannipieri P. (2004). Hydrolase activity microbial biomass and community structure in long-term Cd-contaminated soils.Soils contaminated with metals. Soil Biology and Biochemistry, 18: 383–388.
- Shahab H,. Emami H,. Haghnia G.H. and Karimi A. (2013). Pore Size Distribution as a Soil Physical Quality Index for Agricultural and Pasture Soils in Northeastern Iran. *Pedosphere*. 23: 312-320.
- W.T. Frankenberger. J.r. and Tabatabai M. A. (1991). Factors affecting L- glutaminase activity in soils. Soil Biology and Biochemistry, 23: 875-879.
- Walkly A. and Black I.A. (1934). An examination of Degtijaref method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid in soil analysis. I. Experimental. Soil Science Society of America Journal, 79: 459- 465.
- Wang Y., Shi J., Lin Q., Chen X. and Chen Y. (2007). Heavy metal availability and impact on on activity of soil microorganisms along a Cu/Zn contamination gradient. Journal of Environmental Sciences, 19(7): 848-853.
- YU L. and Ch J. (2015). Effect of heavy metals Cu, Cd, Pb and Zn on enzyme activity and microbial biomass carbon in brown soil. Advanced Materials Research, 1073/1076: 726-730.