

## بررسی زیست پالایی خاک‌های آلوده به کروم و کادمیوم توسط کرم‌های خاکی ایزنیا فوتیدا

الهام آسمان<sup>۱</sup>، غلامرضا مصطفایی<sup>۲\*</sup>، حسین سیاف<sup>۳</sup>، حسینعلی اصغرینیا<sup>۴</sup>، حسین اکبری<sup>۵</sup>، لیلا ایرانشاهی<sup>۶</sup>

تاریخ دریافت: ۹۴/۰۳/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۴/۰۶/۰۸

### چکیده:

**زمینه و هدف:** در زمینه ارزیابی خطرات زیست محیطی فلزات سنگین، کرم‌های خاکی جزء مهمی از خاک، و از لحاظ اکولوژیکی به عنوان یک بیواندیکاتور مهم برای سلامت و کیفیت خاک در نظر گرفته می‌شوند. از اینرو مطالعه حاضر با هدف کارایی کرم‌های خاکی ایزنیا فوتیدا در پالایش زیستی خاک‌های آلوده به کروم و کادمیوم انجام شد.

**روش بررسی:** تحقیق حاضر از نوع مطالعه تجربی است که بر روی خاک آلوده به کروم و کادمیوم انجام شد. غلظت آلودگی اولیه کروم و کادمیوم در خاک مورد مطالعه در دو غلظت وزنی ۰/۰۴ و ۰/۰۸ mg/g و همراه با شاهد مورد بررسی قرار گرفت. تعداد ۳۰ عدد کرم به نمونه‌های ۵۰۰ g خاک آلوده اضافه گردید. غلظت کروم و کادمیوم در خاک و بدن کرم‌ها در دو مقطع زمانی ۲۱ و ۴۲ روز اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری میزان غلظت کروم و کادمیوم از دستگاه ICP استفاده شد. نرم افزار مورد استفاده SPSS ۱۱/۵ version بود.

**یافته‌ها:** نتایج این مطالعه نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین میزان کاهش فلزات از خاک و تجمع فلزات کروم و کادمیوم در بدن کرم وجود داشت. همچنین کاهش قابل توجهی از نظر غلظت کروم خاک در روز ۲۱ و ۴۲ در طول مطالعه در مقایسه با غلظت اولیه ۰/۱ mg/g خاک مشاهده شد. از سوی دیگر غلظت کروم خاک بعد از ۴۲ روز از ۰/۱۴ به ۰/۱ mg/g رسید.

**نتیجه‌گیری:** در نهایت با استفاده از نتایج این تحقیق می‌توان گفت که با افزایش مرگ و میر کرم‌ها در خاک با غلظت ۰/۰۸ mg/g، استفاده از این فرایند به منظور زیست پالایی خاک از کروم توصیه نمی‌شود. همچنین اگرچه استفاده از این روش برای حذف کادمیوم از خاک در غلظت‌های ۰/۰۴ و ۰/۰۸ mg/g موثر است ولی نیاز به بررسی بیشتری دارد.

**واژگان کلیدی:** کروم، کادمیوم، ایزنیا فوتیدا، زیست پالایی

## مقدمه

در طول چند قرن گذشته افزایش بهره‌برداری از منابع طبیعی بوسیله فعالیت‌های بشر تاثیر منفی بر تعادل جهانی فلزات سنگین داشته که باعث افزایش تدریجی غلظت فلزات در اکوسیستم خاک شده است (۱). فلزات سنگین دارای ویژگی‌هایی نظیر: تجمع‌پذیری زیستی، سمیت بالا، ثبات شیمیایی، تجزیه‌پذیری ضعیف و نیز قابلیت انحلال زیاد در آب هستند که سبب آلودگی‌های وسیع در سطح خاک می‌شوند (۲، ۳). از جمله فلزات سنگین موجود در خاک می‌توان به کروم و کادمیوم اشاره کرد، کادمیوم فلزیست که موجب ضایعات کلیوی، جهش‌زایی، سرطان‌زایی و افزایش فشار خون می‌شود (۴). کروم یک عنصر ضروری برای انسان و حیوانات محسوب می‌شود ولی در مقادیر اضافی به خصوص به شکل  $Cr^{+6}$  برای سلامتی مضر بوده و موجب سرطان ریه و روده می‌شود (۵).

در زمینه ارزیابی خطرات زیست محیطی، کرم‌های خاکی جزء مهمی از خاک، و از لحاظ اکولوژیکی به عنوان یک بیواندیکاتور مهم برای سلامت و کیفیت خاک در نظر گرفته می‌شوند (۲، ۳). این موجودات می‌توانند غلظت بالایی از فلزات سنگین را در بدن خود تجمع دهند (۴). آنها بطور طبیعی در تماس با خاک قرار دارند به همین دلیل در سال‌های اخیر از این جانداران برای تصفیه خاک جهت حذف حشره‌کش‌های مورد استفاده در کشاورزی، فلزات سنگین و آلاینده‌های نفتی استفاده شده است (۵). استفاده از کرم‌های خاکی در پالایش زیستی خاک یک روش بیولوژیکی است، به طوری که غلظت آلاینده‌ها در خاک از طریق مکانیسم تجمع زیستی در بدن کرم خاکی کاهش پیدا می‌کنند (۶، ۷). کرم‌های خاکی بخش بزرگی از رژیم غذایی مهره‌داران زمینی را تشکیل می‌دهند و نقش مهمی در اکولوژی زمین بر عهده دارند (۸). به طور کلی حضور کرم‌های خاکی در خاک می‌تواند قابلیت دسترسی زیستی آلاینده‌ها و فعالیت میکروبی را بهبود ببخشد که منجر به تجزیه میکروبی بیشتر آلاینده‌های خاک می‌شود، همچنین از جمله مهم‌ترین

موارد کاربرد این موجودات شامل تصفیه در مدیریت مواد زاید، به عنوان جاذب بیولوژیک در سمیت‌زدایی و پالایش خاک از فلزات سنگین، هیدروکربن‌های مقاوم و برخی از آفت‌کش‌های آلی، افزایش جمعیت و تقویت فعالیت‌های آنزیمی میکروارگانیسم‌های مفید خاک، بهبود کیفیت خاک و توسعه کشاورزی است (۹، ۱۰).

در کشورهای مختلف با استفاده از کرم‌های خاکی تحقیقات زیادی انجام شده از جمله مطالعه *Darling* و همکاران (۲۰۰۵) نشان داد که میزان تراکم ترکیبات محلول سرب در کرم خاکی، بیشتر از ترکیبات کم محلول است (۱۱). مطالعه *Nahmani* و همکاران (۲۰۰۷) نشان داد که سرعت جذب فلزات ضروری در کرم خاکی ایزنیا فوئتیدا ارزش و تنوع کمتری نسبت به فلزات غیرضروری داشته است (۱۲). مطالعه *Spurgeon* و همکاران (۱۹۹۵) نشان داد که حضور کادمیوم، سرب، مس و روی باعث کاهش رشد و افزایش تلفات کرم خاکی ایزنیا فوئتیدا شده است (۱۳). بنابر مطالعات صورت گرفته (۲۰۱۵) مشخص شد، ارتباط معنی‌داری بین زنده ماندن، وزن و تولید کوکون با سطح آلودگی کروم، کادمیوم و زمان تماس مشاهده شد (۱۴، ۱۵).

به دلیل اینکه امروزه یکی از مهم‌ترین مشکلات زیست محیطی در سراسر دنیا آلودگی خاک‌های مناطق صنعتی و به ویژه زمین‌های کشاورزی به فلزات سنگین نظیر: سرب، کادمیوم، آرسنیک، جیوه، کروم و غیره است و بدلیل اینکه استفاده از کرم‌های خاکی روش بیولوژیکی مناسبی برای حذف است لذا این مطالعه به منظور تعیین کارایی کرم خاکی ایزنیا فوئتیدا (*Eisenia Fetida*) در پالایش زیستی خاک‌های آلوده به کروم و کادمیوم به اجرا درآمد.

## مواد و روش‌ها

این تحقیق یک مطالعه تجربی بود که با تعداد ۱۰۸ نمونه که ۵۴ نمونه مربوط به گلدان‌های آلوده به کروم و ۵۴ گلدان نیز مربوط به گلدان‌های آلوده به کادمیوم بود، در مقیاس آزمایشگاهی انجام شد.

### - کرم خاکی

کرم خاکی مورد استفاده، ایزنیا فوتئیدا (*Eisenia Fetida*)، از شاخه کرم‌های حلقوی، خانواده لومبریسیده، جنس ایزنیا و گونه فوتئیدا بود که از شرکت تولید کرم و کود ورمی کمپوست سلانه شهرستان کاشان تهیه شد.

### - خاک

خاک‌های مورد نیاز از زمین‌های کشاورزی شهرستان کاشان از عمق ۳۰-۰ cm برداشته شدند. میزان کروم، کادمیوم و برخی خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک‌ها مطابق روش‌های متداول در موسسه تحقیقات خاک و آب کشور (۱۵) اندازه‌گیری شدند (جدول شماره ۱).

نمونه‌های خاک، خشک و از الک ۲ mm (مش ۵۰) عبور داده شدند و تا شروع آزمایش در سایه نگهداری شدند.

### - تهیه غلظت‌های مورد نیاز کروم و کادمیوم

غلظت‌های مورد بررسی برای کروم و کادمیوم ۰/۰۴ mg/g و ۰/۰۸ mg/g خاک بود. جهت تهیه این غلظت‌ها ابتدا محلول ۴۰g/L کروم و کادمیوم از نمک‌های کرومات پتاسیم و سولفات کادمیوم ساخته شد. با توجه به اینکه خاک اولیه میزان ۰/۰۶ mg/g کروم داشت، بنابراین غلظت‌های صفر، ۰/۰۴ و ۰/۰۸ mg/g کروم به صورت ۰/۰۶، ۰/۱ و ۰/۱۴ mg/g تغییر پیدا کرد.

### - آماده‌سازی کرم

به منظور سازگاری کرم‌ها با محیط جدید و جلوگیری از تنش، قبل از شروع آزمایش، کرم‌ها به مدت ۱۰ روز در خاک مورد آزمایش نگهداری شدند. به خاک‌ها آب اضافه شد تا رطوبت آنها در حد ۵۰ درصد حفظ شود. پس از گذشت ۱۰ روز کرم‌ها از محیط سازگاری خارج و با آب مقطر شسته شده و سپس به مدت ۲۴ h روی کاغذ صافی مرطوب قرار داده شدند تا محتویات روده خود را پس دهند.

### - آماده‌سازی خاک

برای تهیه خاک آلوده به فلز کروم، ۵ mL / ۰ و ۱ mL از محلول ۴۰g/L کروم به گلدان‌های حاوی ۵۰۰g خاک به صورت یکنواخت اضافه شد که بدین ترتیب غلظت‌های ۰/۰۴ mg/g، ۰/۰۸ mg/g حاصل شد. همچنین برای تهیه خاک آلوده به کادمیوم نیز بدین ترتیب عمل کردیم. برای افزودن فلز سنگین به خاک، ابتدا خاک‌های هر گلدان روی صفحه پلاستیکی پخش و با استفاده از آب پاش دستی به خاک اضافه و رطوبت خاک‌ها در حد ۵۰ درصد تنظیم شد. سپس به هر گلدان ۳۰ عدد کرم اضافه شد. گلدان‌ها در دمای  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  در رطوبت ۷۰ درصد نگهداری شد.

برای تعیین میزان حذف فلزات سنگین از خاک و میزان تجمع بیولوژیکی فلزات سنگین در بدن کرم، پس از گذشت ۲۱ و ۴۲ روز از خاک و کرم خاکی نمونه‌برداری شد.

### - آماده‌سازی جهت اندازه‌گیری کروم و کادمیوم خاک

حدود ۴g از خاک هر گلدان را برداشته و پس از خشک و آسیاب کردن، ۱g از هر نمونه، با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۰۱g توزین و عمل هضم و عصاره‌گیری با مخلوط اسیدنیتریک غلیظ و اسید کلریدریک ۵۰ درصد بر روی اجاق برقی در دمای  $95^{\circ}\text{C}$  انجام شد. نمونه‌های مورد نظر با کاغذ صافی واتمن شماره ۱، صاف و تا زمان اندازه‌گیری در ظروف پلی اتیلنی نگهداری شد. همچنین به منظور ارزیابی خطا نمونه شاهد نیز با هر سری از نمونه‌ها آماده سازی شد (۱۹).

### - آماده‌سازی جهت اندازه‌گیری کروم و کادمیوم در بدن کرم خاکی

کرم‌های خاکی اضافه شده در پایان هر مرحله آزمایش (روز ۲۱ و روز ۴۲) از محیط خاک جدا شد و با آب شسته، سپس به مدت ۲۴ h در یک صافی کاغذی نمناک در پلیت شیشه‌ای بدون هیچ ماده غذایی قرار داده شد تا محتویات روده آنها تخلیه شود، سپس کرم‌ها جمع‌آوری و شستشوی مجدد داده شد و در ویال‌های درپوش دار قرار داده شدند. برای اندازه‌گیری

تعریف درصد مرگ و میر: در صورتیکه کلیه کرم‌های موجود در یک گلدان از بین رفته است آن گلدان به عنوان گلدان از بین رفته تلقی شده و برای محاسبه درصد مرگ و میر، تعداد گلدان‌های از بین رفته به کل گلدان‌ها تقسیم می‌گردد.

#### - تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای آنالیز داده‌ها فراوانی موارد مرگ و میر کرم‌ها در هر کدام از سطوح غلظت کروم و کادمیوم محاسبه شد. همچنین از آزمون t تک نمونه‌ای برای مقایسه مقادیر مشاهده شده با مقدار اولیه استفاده شد. نرم افزار مورد استفاده SPSS نسخه ۱۱/۵، سطح معنی‌داری  $p < 0/05$  بود.

عناصر از روش هضم با اسید (۱۶) استفاده شد. در این روش ابتدا بافت کرم‌ها پس از انجماد، در فور خشک گردید، سپس ۰/۵ g از آن توزین و داخل لوله آزمایش ریخته شد و به آن ۵ mL اسیدنیتریک غلیظ و ۱ mL هیدروژن پراکسید اضافه شد و سپس در دمای  $180-220^{\circ}\text{C}$  حرارت داده شد تا محلول شفافی حاصل گردد. نمونه‌ها پس از سرد شدن صاف گردید.

#### - روش اندازه‌گیری

جهت اندازه‌گیری میزان غلظت کروم و کادمیوم از دستگاه ICP مدل Optima 2100 DV ساخت کارخانه Perkin Elmer آزمایشگاه دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی کاشان استفاده شد.

جدول ۱- برخی خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک مورد آزمایش

Cr (mg/g)	Cd (mg/g)	% SP	EC Ds/m	PH	% TKN	% OC	% N	K (PPM)	P (PPM)	Physical Tests			
										S %	Si %	C %	Texture
۰/۰۶	۰	۲۲/۱۵	۱۵/۹۰	۷/۹۵۸	۲۰/۹۶	۰/۱۳	۰/۰۱	۸۶/۴۶	۳/۰۵	۷۵	۱۶	۹	Sandy Loam

جدول ۲- درصد مرگ کرم‌ها در غلظت‌های مختلف کروم و کادمیوم بر حسب میلی گرم بر گرم در دو مقطع زمانی متفاوت

نوع ماده معدنی	غلظت در خاک (mg/g)		زمان مواجهه (روز)
	۲۱	۴۲	
کروم	۰/۰۶	۰	۰
	۰/۱	۱۱/۱	۵۵/۶
	۰/۱۴	۴۴/۴	۷۷/۸
کادمیوم	۰	۰	۰
	۰/۰۴	۰	۱۱/۱
	۰/۰۸	۰	۳۳/۳

#### یافته‌ها

- تاثیر غلظت‌های مختلف کروم، کادمیوم و زمان بر درصد مرگ و میر کرم‌ها  
مطالعه حاضر یک نوع مطالعه تجربی بود که با تعداد ۱۰۸ نمونه در مقیاس آزمایشگاهی انجام شد. نتایج جدول ۲ نشان داد که با افزایش سطح غلظت کروم خاک افزایش واضحی در مرگ و میر کرم‌ها مشاهده شده است در حالیکه با افزایش غلظت کادمیوم خاک تغییر چندانی در مرگ و میر کرم‌ها مشاهده نشده است.

جدول ۳- میانگین و انحراف معیار میزان کروم و کادمیوم موجود در خاک بر حسب غلظت کروم و کادمیوم اولیه در خاک و زمان اندازه گیری

۰/۱۴		۰/۱		۰/۰۶		غلظت کروم در خاک (mg/g)
P	$\bar{x} \pm SD$	P	$\bar{x} \pm SD$	P	$\bar{x} \pm SD$	
۰/۷۴۵	۰/۱۳۱۹±۰/۰۵۱۷	۰/۰۱۴	۰/۰۶۴±۰/۰۳۰	۰/۳۱۷	۰/۰۶۱±۰/۰۰۳	۲۱
۰/۰۱۰	۰/۰۹۹±۰/۰۰۶	۰/۰۴۸	۰/۰۶۵±۰/۰۲۱	۰/۳۱۷	۰/۰۶۱±۰/۰۰۳	۴۲
۰/۰۸		۰/۰۴		*		غلظت کادمیوم در خاک (mg/g)
P	$\bar{x} \pm SD$	P	$\bar{x} \pm SD$	P	$\bar{x} \pm SD$	
۰/۰۰۰۱	۰/۰۶۲۲±۰/۰۰۷۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۲۴۸±۰/۰۰۲۸	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱±۰/۰۰۰۰۱	۲۱
۰/۰۰۰۱	۰/۰۵۷۴±۰/۰۰۲۲	۰/۰۰۰۱	۰/۰۲۵۴±۰/۰۰۲۶	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱±۰/۰۰۰۰۱	۴۲

(P=۰/۷۴۵) و پس از ۴۲ روز به ۰/۱ mg/g (P=۰/۰۰۱) رسید که در این غلظت نیز تغییر معنی داری در سطح کروم خاک وجود نداشته است.

غلظت اولیه ۰/۰۴ mg/g کادمیوم خاک پس از ۲۱ روز زیست پالایی به ۰/۰۲۴ mg/g و پس از ۴۲ روز به ۰/۰۲۵ mg/g رسیده است (P=۰/۰۰۰۱) که حدود ۰/۰۲ mg/g حذف مشاهده شده است. در مورد غلظت ۰/۰۸ mg/g کادمیوم، این میزان پس از ۲۱ روز، ۰/۰۶۲ mg/g و پس از ۴۲ به ۰/۰۵۷ mg/g رسیده که به ترتیب حدودا ۰/۰۲ mg/g و ۰/۰۳ mg/g حذف مشاهده شده است (P=۰/۰۰۰۱).

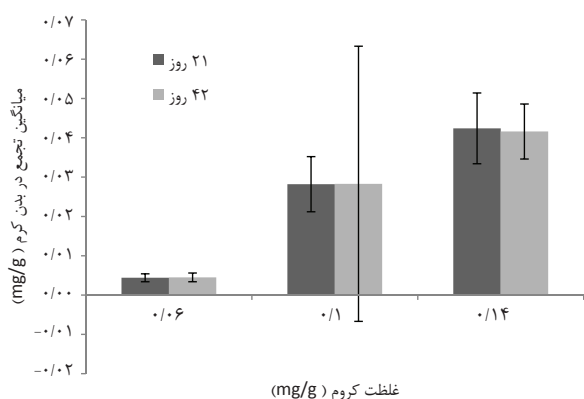
- تاثیر غلظت کروم، کادمیوم و زمان در میزان حذف فلزات از خاک و تجمع در بدن کرم ها

جدول ۳ نشان می دهد، در غلظت اولیه کروم خاک پس از ۲۱ و ۴۲ روز فرایند زیست پالایی توسط کرم تغییر معنی داری از نظر آماری در سطح کروم اولیه خاک مشاهده نشده است (P=۰/۳۱۷). در غلظت اولیه ۰/۱ mg/g کروم خاک پس از ۲۱ روز زیست پالایی به ۰/۰۶۴ mg/g (P=۰/۰۱۴) و پس از ۴۲ روز به ۰/۰۶۵ mg/g رسید (p=۰/۰۴۸) که حدودا ۰/۰۴ mg/g کاهش در کروم خاک وجود داشت. همچنین در غلظت ۰/۱۴ mg/g، کروم پس از ۲۱ روز به ۰/۱۳۱ mg/g

جدول ۴- میانگین و انحراف معیار میزان کروم و کادمیوم موجود در بدن کرم ها بر حسب غلظت کروم و کادمیوم اولیه در خاک و زمان اندازه گیری

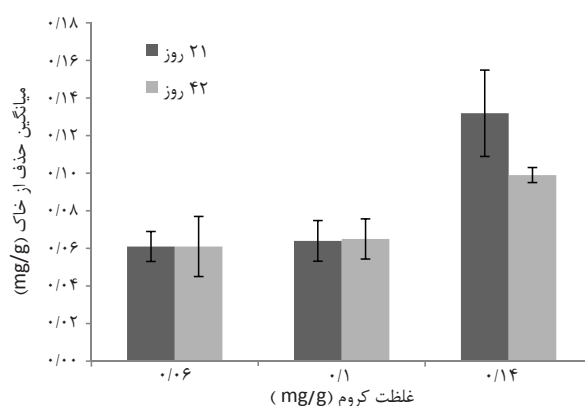
۰/۱۴		۰/۱		۰/۰۶		غلظت کروم در بدن کرم (mg/g)
P	$\bar{x} \pm SD$	P	$\bar{x} \pm SD$	P	$\bar{x} \pm SD$	
۰/۰۰۰۱	۰/۰۴۲۴±۰/۰۲۰	۰/۰۰۰۱	۰/۰۲۸۲±۰/۰۲۰	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۴۴±۰/۰۰۰۱	۲۱
۰/۰۴۹	۰/۰۴۱۶±۰/۰۱۰۷	۰/۰۰۲	۰/۰۲۸۳±۰/۰۱۲۹	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۴۵±۰/۰۰۰۱	۴۲
۰/۰۸		۰/۰۴		*		غلظت کادمیوم در بدن کرم (mg/g)
P	$\bar{x} \pm SD$	P	$\bar{x} \pm SD$	P	$\bar{x} \pm SD$	
۰/۰۴۳	۰/۱۴۸۴±۰/۰۸۵	۰/۰۰۰۱	۰/۱۷۱۸±۰/۰۵۶۵	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۲۵±۰/۰۰۰۲۲	۲۱
۰/۰۰۰۱	۰/۰۳۵۷±۰/۰۹۶	۰/۰۰۰۱	۰/۲۹۲۱±۰/۰۴۶۹	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۲۵±۰/۰۰۰۰۸	۴۲

و  $0.0416 \text{ mg/g}$  رسید (جدول ۴ و نمودار ۱ و ۲). همچنین از نظر تجمع کادمیوم در بدن کرم، در غلظت  $0.04 \text{ mg/g}$  پس از ۲۱ و ۴۲ روز تجمع به ترتیب به  $0.171 \text{ mg/g}$  و  $0.292 \text{ mg/g}$  و در غلظت  $0.08 \text{ mg/g}$  به  $0.148 \text{ mg/g}$  و  $0.357 \text{ mg/g}$  رسید (نمودار ۳ و ۴).

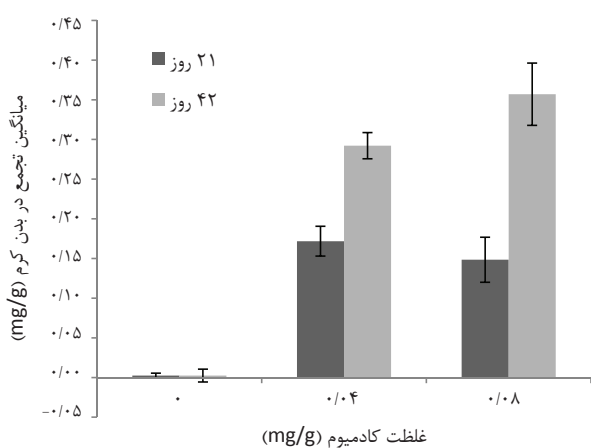


شکل ۲- میانگین تجمع کروم در بدن کرم خاکی بر حسب غلظت‌های اولیه در زمان‌های مختلف مورد بررسی

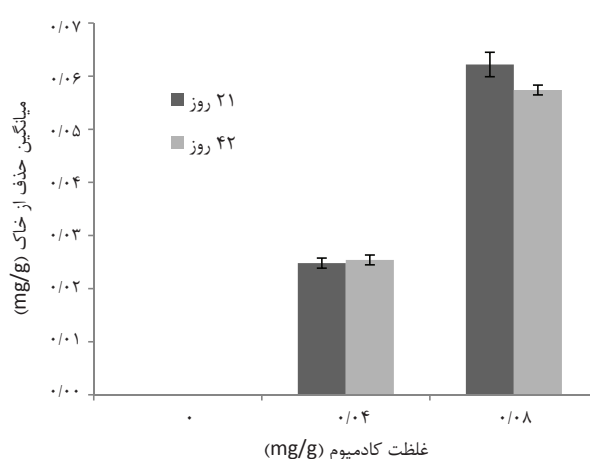
از نظر تجمع کروم در بدن کرم، پس از ۲۱ روز در غلظت  $0.06 \text{ mg/g}$  کروم خاک تجمعی مشاهده نشد ( $0.0044 \text{ mg/g}$ ). در غلظت  $0.1 \text{ mg/g}$  به  $0.0282 \text{ mg/g}$  و در غلظت  $0.14 \text{ mg/g}$  به  $0.0424 \text{ mg/g}$  رسید. پس از ۴۲ روز مجدداً در غلظت  $0.06 \text{ mg/g}$  تجمعی مشاهده نشد ( $0.0045 \text{ mg/g}$ ) در حالیکه غلظت  $0.1 \text{ mg/g}$  و  $0.14 \text{ mg/g}$  به ترتیب به  $0.0283 \text{ mg/g}$



شکل ۱- میانگین کروم موجود در خاک بر حسب غلظت‌های اولیه در زمان‌های مختلف مورد بررسی



شکل ۴- میانگین تجمع کادمیوم در بدن کرم خاکی بر حسب غلظت‌های اولیه در زمان‌های مختلف مورد بررسی



شکل ۳- میانگین کادمیوم موجود در خاک بر حسب غلظت‌های اولیه در زمان‌های مختلف مورد بررسی

## بحث

که با افزایش غلظت کادمیوم از  $0.04 \text{ mg/g}$  به  $0.08 \text{ mg/g}$  راندمان حذف این فلز ۱۶ درصد کاهش یافت که علت آن را می‌توان اثر سمی فلزات کروم و کادمیوم و نیز افزایش مرگ و میر کرم های خاکی دانست.

یافته‌های این مطالعه نشان داد که با افزایش زمان تماس کرم‌ها با کروم و کادمیوم در غلظت‌های پایین این فلزات تغییر چندانی در میزان راندمان حذف ایجاد نمی‌شود اما در مقابل با افزایش زمان مواجهه کرم‌ها با این فلزات در غلظت‌های بالا میزان حذف افزایش می‌یابد به طوری که راندمان حذف کادمیوم از ۲۱ روز تا ۴۲ روز حدود ۶ درصد و کروم حدود ۲۳ درصد افزایش یافت که مطالعه Davies و همکاران (۲۰۰۳) نیز این موضوع را تایید می‌کند (۲۲).

نتایج مطالعه Zaltauskaite و همکاران (۲۰۱۰) حاکی از این بود که با افزایش غلظت سرب میزان مرگ و میر کرم‌های خاکی افزایش می‌یابد اما در مورد کادمیوم مرگ و میر قابل توجهی رخ نداد (۱۰). بر اساس آنالیزهای آماری انجام شده در مطالعه حاضر مشخص شد که بین میزان غلظت کروم خاک و میزان مرگ و میر کرم‌های خاکی ارتباط معنی‌داری وجود دارد ( $p < 0.05$ )، به طوری که با افزایش غلظت کروم میزان مرگ و میر نیز افزایش می‌یابد که این امر به دلیل سمیت بالای کروم برای کرم‌ها است. در مقابل، بر اساس یافته‌ها با افزایش غلظت کادمیوم خاک، تغییر چندانی در مرگ و میر کرم‌ها مشاهده نشد که علت آن سم‌زدایی فلز کادمیوم توسط پروتئین‌های متالوتیونین در کانال‌های غذایی پشتی (Posterior alimentary) کرم‌های خاکی است (۲۳). تفاوت‌های گزارش شده در مطالعات انجام شده از اثر عناصر، بر پارامترهای رشدی کرم خاکی به دلیل زمان‌های تماس متفاوتی است که جانوران در مواجهه با آلاینده قرار می‌گیرند، به طوری که زمان‌های آزمایش از چند ساعت تا چند هفته متغیر است (۱۵). غلظت فلزات در بدن کرم، زمانی می‌تواند به حد سمیت برسد که زمان تماس کرم با آن طولانی گردد. مطالعه Jamshidi و همکاران (۲۰۱۳) و Haghparast و همکاران (۲۰۱۳) نیز این مطلب را تایید کرده است (۱۴).

هدف این مطالعه، بررسی کارایی کرم‌های خاکی ایزنیا فوتئیدا در پالایش زیستی خاک‌های آلوده به کروم و کادمیوم بود که به صورت یک مطالعه تجربی در مقیاس آزمایشگاهی انجام شد. بر اساس مطالعات صورت گرفته مشخص شده است که کرم‌های خاکی از توانایی بالایی جهت زیست پالایی خاک‌های آلوده برخوردارند (۳، ۴، ۱۷، ۱۸). البته Ma و همکاران (۱۹۸۳) طی مطالعه خود نشان داد که میزان تجمع فلزات در بدن کرم خاکی تا حدی بستگی به غلظت فلزات داخل خاک دارد (۱۹). طبق نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر میزان تجمع کادمیوم در بدن کرم خاکی بیشتر از میزان کروم بود. Aleagha و همکاران (۲۰۱۳) نیز در مطالعه خود نشان داد که در مدت زمان ۱۴ روز میزان تجمع کادمیوم بیشتر از میزان تجمع کروم در بدن کرم بوده است (۲۰). مطالعات قبلی نیز این موضوع را تایید کردند، طبق نتایج آنها کرم‌های خاکی توانایی بالایی جهت تجمع پذیری زیستی کادمیوم دارند (۴، ۲۱) البته در برخی موارد به دلیل مرگ و میر کرم‌های خاکی در اثر ناسازگاری محیطی و یا سمیت بیش از حد فلزات در طول فرایند زیست پالایی، میزان تجمع فلز مورد نظر در بدن کرم خاکی کمتر از میزان حذف آن از خاک است. در برخی موارد نیز میزان تجمع فلز مورد نظر در بدن کرم خاکی بیشتر از میزان حذف آن از خاک بوده که احتمالاً به دلیل بالا بودن حجم خاک نسبت به تعداد کرم خاکی بوده است.

بر اساس نتایج بدست آمده در این مطالعه، در غلظت  $\text{mg/g}$   $0.06$  کروم خاک هیچ حذفی صورت نگرفت که علت آن احتمالاً بدلیل پایین بودن غلظت کروم در خاک و عدم تماس کافی کرم‌ها با فلز مورد نظر است. از سوی دیگر، در غلظت  $\text{mg/g}$   $0.1$  در طی ۲۱ روز حدود ۳۵ درصد کاهش در غلظت کروم خاک وجود داشت که این افزایش راندمان به دلیل در دسترس بودن میزان بیشتر یون‌های فلزی در خاک آلوده است. بر اساس نتایج، با افزایش غلظت کروم خاک از  $\text{mg/g}$   $0.1$  به  $\text{mg/g}$   $0.14$  راندمان حذف حدود ۳۰ درصد کاهش یافت. در مورد حذف کادمیوم نیز نتایج مشابهی بدست آمد به طوری

کروم توصیه نمی‌شود. همچنین نتایج حاکی از آن است که کارایی کرم‌های حاکی در حذف کادمیوم نسبت به کروم بیشتر بوده و نیاز به بررسی بیشتری دارد. از نتایج دیگر این مطالعه، وجود ارتباط معنادار بین افزایش غلظت کروم و کادمیوم و زنده ماندن کرم‌ها است.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله بر خود لازم می‌دانند از مسئولین دانشگاه علوم پزشکی کاشان به دلیل کمک‌های مادی و معنوی برای انجام این مطالعه کمال تشکر و قدردانی به عمل آورند. لازم به ذکر است، این مقاله حاصل بخشی از پایان نامه با عنوان بررسی زیست پالایی خاک‌های آلوده به کروم و کادمیوم توسط کرم‌های حاکی ایزنیا فوئیدیا در مقطع کارشناسی ارشد در سال ۹۳ و کد ۹۲۱۱۱ است که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی و درمانی کاشان اجرا شده است.

### منابع

1. Kızılkaya R. The role of different organic wastes on zinc bioaccumulation by earthworm *Lumbricus terrestris* L. (*Oligochaeta*) in successive Zn added soil. *Ecological Engineering*. 2005;25(4):322-31.
2. Sizmur T, Hodson ME. Do earthworms impact metal mobility and availability in soil?—A review. *Environmental Pollution*. 2009;157(7):1981-89.
3. Nahmani J, Hodson ME, Devin S, Vijver MG. Uptake kinetics of metals by the earthworm *Eisenia fetida* exposed to field-contaminated soils. *Environmental Pollution*. 2009;157(10):2622-28.
4. Li L, Xu Z, Wu J, Tian G. Bioaccumulation of heavy metals in the earthworm *Eisenia fetida* in relation to bioavailable metal concentrations in pig manure. *Bioresource Technology*. 2010;101(10):3430-36.
5. Schreck E, Geret F, Gontier L, Treilhou M. Neurotoxic effect and metabolic responses induced by a mixture of six pesticides on the earthworm *Aporrectodea caliginosa nocturna*. *Chemosphere*. 2008;71(10):1832-39.
6. Matscheko N, Lundstedt S, Svensson L, Harju J, Tysklind M. Accumulation and elimination of 16

(۱۵). بنابراین اثرات بالقوه فلزات ممکن است در آزمایش‌های کوتاه مدت نادیده گرفته شود یا کم برآورد شود (۲۴) که شاید به همین دلیل است که مطالعه Debra Kennett و همکاران (۲۰۰۲) نشان داد که علی‌رغم سطوح بالای آلودگی فلزی خاک، هیچ مرگ و میر قابل توجهی در کرم‌های حاکی در هیچ یک از نمونه‌های خاک آزمایش شده وجود ندارد (۲۵).

از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به عدم استفاده از غلظت‌های بالای فلز کروم با توجه به افزایش مرگ و میر کرم‌های حاکی اشاره نمود.

### نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این مطالعه حاکی از آن است که کرم‌های حاکی ایزنیا فوئیدیا می‌توانند فلز کروم و کادمیوم را حذف کنند ولی با توجه به افزایش مرگ و میر کرم‌ها در خاک با غلظت  $mg/g$  ۰/۰۸، استفاده از این فرایند به منظور زیست پالایی خاک از

- polycyclic aromatic compounds in the earthworm (*Eisenia fetida*). *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2002;21(8):1724-29.
7. Slizovskiy IB, Kelsey JW. Soil sterilization affects aging-related sequestration and bioavailability of p, p'-DDE and anthracene to earthworms. *Environmental Pollution*. 2010;158(10):3285-89.
8. Kayser A, Wenger K, Keller A, Attinger W, Felix H, Gupta S, et al. Enhancement of phytoextraction of Zn, Cd, and Cu from calcareous soil: The use of NTA and sulfur amendments. *Environmental Science & Technology*. 2000;34(9):1778-83.
9. Sun H, Li J, Wang C, Wang L, Wang Y. Enhanced microbial removal of pyrene in soils in the presence of earthworms. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*. 2011;20(6):617-30.
10. Zaltauskaite J, Sodiene I. Effects of total cadmium and lead concentrations in soil on the growth, reproduction and survival of earthworm *Eisenia fetida*. *Ekologija*. 2010;56(1-2):10-16.
11. Edwards C, Bohlen PJ. *Biology and Ecology of Earthworms*. 3rd ed. London: Springer Science &

- Business Media; 1996.
12. Nahmani J, Hodson ME, Black S. A review of studies performed to assess metal uptake by earthworms. *Environmental Pollution*. 2007;145(2):402-24.
  13. Spurgeon DJ, Hopkin S. Extrapolation of the laboratory-based OECD earthworm toxicity test to metal-contaminated field sites. *Ecotoxicology*. 1995;4(3):190-205.
  14. Jamshidi Z, Golchin A. The effect of different levels of chromium and exposure time on growth parameters of earthworms. *KAUMS Journal (FEYZ)*. 2013;16(7):625-26.
  15. Haghparast RJ, Golchin A, Kahneh E. Effect of different cadmium concentrations on growth of *Eisenia fetida* in a calcareous soil. *Journal of Water and Soil*. 2013;27(1):24-35.
  16. Li L-Z, Zhou D-M, Wang P, Allen HE, Sauve S. Predicting Cd partitioning in spiked soils and bioaccumulation in the earthworm *Eisenia fetida*. *Applied Soil Ecology*. 2009;42(2):118-23.
  17. Suthar S, Singh S, Dhawan S. Earthworms as bioindicator of metals (Zn, Fe, Mn, Cu, Pb and Cd) in soils: Is metal bioaccumulation affected by their ecological category? *Ecological Engineering*. 2008;32(2):99-107.
  18. Hirano T, Tamae K. Earthworms and soil pollutants. *Sensors*. 2011;11(12):11157-67.
  19. Ma W, Edelman T, Van Beersum I, Jans T. Uptake of cadmium, zinc, lead, and copper by earthworms near a zinc-smelting complex: Influence of soil pH and organic matter. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 1983;30(1):424-27.
  20. Alegha MM, Ebadi G. Study of heavy metals bioaccumulation in the process of vermicomposting. *African Journal of Biotechnology*. 2013;10(36):6997-7001.
  21. Lapinski S, Borowiec F, Pospiech N, Soltyk-Stepanska M. Heavy metals accumulation in the body of earthworm *Eisenia fetida* (Sav.) used in animal nutrition. *Animal Biology*. 2002;4:205-209.
  22. Davies NA, Hodson ME, Black S. The influence of time on lead toxicity and bioaccumulation determined by the OECD earthworm toxicity test. *Environmental Pollution*. 2003;121(1):55-61.
  23. Morgan J, Morgan A. Heavy metal concentrations in the tissues, ingesta and faeces of ecophysiologically different earthworm species. *Soil Biology and Biochemistry*. 1992;24(12):1691-97.
  24. Bengtsson G, Gunnarsson T, Rundgren S. Effects of metal pollution on the earthworm *Dendrobaena rubida* (Sav.) in acidified soils. *Water, Air, and Soil Pollution*. 1986;28(3-4):361-83.
  25. Kennette D, Hendershot W, Tomlin A, Sauve S. Uptake of trace metals by the earthworm *Lumbricus terrestris* L. in urban contaminated soils. *Applied Soil Ecology*. 2002;19(2):191-98.

## Bioremediation of the soils contaminated with cadmium and chromium using by the earthworm *Eisenia fetida*

E. Aseman<sup>1</sup>, Gh.R. Mostafaii<sup>2\*</sup>, H. Sayyaf<sup>3</sup>, H.A. Asgharnia<sup>4</sup>, H. Akbari<sup>5</sup>, L. Iranshahi<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Department of Environmental Health, Faculty of Health, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

<sup>2</sup> Department of Environmental Health, Faculty of Health, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

<sup>3</sup> Department of Environmental Health, Faculty of Health, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

<sup>4</sup> Department of Environmental Health, Faculty of Paramedicine, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

<sup>5</sup> Department of Biostatistics and Public Health, Faculty of Health, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

<sup>6</sup> Department of Environmental Health, Faculty of Health, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

Received: 2 June 2015; Accepted: 30 August 2015

### ABSTRACT

**Background and Objectives:** In the field of environmental risk assessment, the earthworms are considered as the major component of the soil, and are important bio- indicators to measure the environmental health and quality of the soil. Hence, the present study aimed to prove the biological effectiveness of *Eisenia fetida* earthworms in Bioremediation the soils contaminated with chromium and cadmium.

**Methods and Materials:** The study batch experiments were conducted on the soil samples contaminated. The initial concentration of chromium and cadmium in soil was 0.04, and 0.08 mg/g. 30 worms with were added to each 500 g soil samples. Chromium and cadmium concentration in soil and in the body of worms was measured at two time periods of 21 and 42 days. ICP spectrometry we used to measure the concentration of chromium and cadmium. The data were analyzed using SPSS version 11.5 software.

**Results:** There was a significant correlation between the reduction of chromium and cadmium metals in the soils and the accumulation of chromium and cadmium metals in the worm's body. A significant decline of chromium levels of the soil was observed in the days 21 and 42 during the study compared to the initial amount of 0.1 mg/g. On the other hand, chromium concentration of the soil decreased from 0.14 to 0.1 mg/g after 42 days.

**Conclusion:** said the research indicated that increased mortality of worms in the soil at a concentration of 0.08 mg/g of chromium, using the worms for bioremediation is not recommended. Although, this method is effective to remove cadmium from the soils having cadmium with concentrations of 0.04 and 0.08 mg/g but it needs further investigation.

**Keywords:** Chromium, Cadmium, *Eisenia fetida*, Bioremediation

---

\*Corresponding Author: Mostafaii\_gr@kaums.ac.ir

Mob: +989131622128