

## اثرات متقابل نفت خام و ترکیبات مختلف نیتروژن بر معدنی شدن کربن و زیست توده میکربی در خاک رسی

سمائه نمازی<sup>۱\*</sup>، فایز رئیسی<sup>۲</sup>، شجاع قربانی دشتکی<sup>۳</sup>

۱- کارشناس ارشد بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد

۲- دانشیار گروه خاک شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد  
f\_raiesi@yahoo.com

۳- استادیار گروه خاک شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد  
ghorbanish@gmail.com

تاریخ دریافت: ۸۹/۲/۲۷ تاریخ پذیرش: ۹۰/۱۲/۱

### چکیده

سمی بودن و آسیب های ناشی از آلودگی خاک به نفت خام و پاسخ رشد و فعالیت های میکربی خاکهای آلوده به توانایی دسترسی به نیتروژن و شکل آن بستگی دارد. هدف از این پژوهش، بررسی اثر مصرف همزمان نفت خام و ترکیبات مختلف نیتروژن بر معدنی شدن کربن و زیست توده میکربی است. بدین منظور، ابتدا نمونه های خاک در سطوح ۵ و ۱۰٪ نفت خام آلوده شدند. سپس، از نمک های نیتروژن دار نیترات پتاسیم، کلرید آمونیوم و مخلوطی از این دو نمک به منظور کاهش آثار سوء نفت خام بر فعالیت ریزجانداران خاک استفاده شد. این آزمایش به صورت فاکتوریل ۳×۴ در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار و در شرایط آزمایشگاهی طی ۱۲۶ روز انجام شد. نمونه ها تا پایان آزمایش در دمای ۲۵±۱ درجه سانتیگراد در داخل انکوباتور نگهداری شدند. معدنی شدن کربن هر هفت روز یک بار و کربن زیست توده میکروبی در فواصل ماهانه مورد سنجش قرار گرفت. نتایج نشان داد کاربرد نیتروژن در خاک رسی تأثیری بر میزان معدنی شدن تجمعی کربن نداشت (منظور از میزان معدنی شدن تجمعی کربن، همان کربن معدنی شده در انتهای ۱۲۶ روز انکوباسیون است). با وجود این، محدودیت کربن در این خاک سبب شد با افزودن نفت خام به خاک، فعالیت میکربی و به تبع آن معدنی شدن تجمعی کربن افزایش یابد. تمام تیمارهای نیتروژن به همراه سطح بالای آلاینده (۱۰٪ نفت خام) سبب افزایش کربن زیست توده میکربی خاک شدند، در حالی که در سطح ۵٪ نفت خام تیمارهای بدون نیتروژن و NO<sub>3</sub> موجب افزایش و تیمارهای NH<sub>4</sub> و NH<sub>4</sub>+NO<sub>3</sub> موجب کاهش کربن زیست توده میکربی شدند.

### کلید واژه

آلودگی خاک، ترکیبات نیتروژن، کربن زیست توده میکربی، معدنی شدن کربن، نفت خام.

### سر آغاز

ریزجانداران است و در خاکهای آلوده به هیدروکربن های نفتی، بازدارندگی و نیز تحریک کنندگی فعالیت میکربی گزارش شده است (Rivera-Espinoza and Dendooven, 2004; Yang, et al., 2007).

برای نمونه، افزایش سریع و همزمان تنفس خاک و زیست توده میکربی در خاک آلوده به فناترین مبین این است که رشد و فعالیت میکربی افزایش یافته است (Rivera-Espinoza and Dendooven, 2004)، در حالی که فعالیت میکربی خاک در خاکهای آلوده با هیدروکربن های نظیر نفتالین و پیرین محدود می شود (Yang, et al., 2007).

به نظر می رسد که خصوصیات خاک و نیز نوع هیدروکربن های نفتی، فعالیت و زیست توده میکربی را در خاکهای آلوده تحت تأثیر

فعالیت های صنعتی روزافزون بشر در چند دهه اخیر، آلودگی زیست بوم به طور عام و آلودگی خاک<sup>۱</sup> به طور خاص را به همراه داشته است. خاک یکی از مخازن اکوسیستم برای تجمع انواع آلاینده ها با ترکیبات سمی گوناگون در غلظت های نسبتاً بالا به شمار می آید. به همین دلیل ویژگی های گوناگون شیمیایی و بیولوژیکی خاک بر اثر آلودگی، بویژه آلودگی های نفتی عمیقاً تغییر می یابد که این اثر، تنوع زیستی و عملکرد خاک را تحت تأثیر قرار می دهد (Franco, et al., 2004; Singh, et al., 2009).

برخی مشتقات نفتی و نیز عناصر سمی مانند نیکل و وانادیم موجود در نفت ممکن است اثر بازدارندگی بر رشد و فعالیت میکربی داشته باشند. البته نوع آلاینده نفتی عامل مهم بر فعالیت

میکروبی مؤثر است. زمانی که آمونیوم و نیترات در خاک، و یا سوبسترای رشد به مقدار مساوی وجود داشته باشند، از نظر میزان مصرف انرژی ریزجانداران جذب آمونیوم را ترجیح می‌دهند (Paul and Clark, 1996; لکزیان، ۱۳۸۷).

جذب ترجیحی  $\text{NH}_4$  نسبت به  $\text{NO}_3$  توسط ریزجانداران به اثبات رسیده است. طی مطالعه‌ای در مراتع کالیفرنیا، ریزجانداران  $\text{NH}_4$  و  $\text{NO}_3$  را به ترتیب ۵ و ۲ برابر گیاهان جذب می‌کنند (Paul and Clark, 1996). نیترات نیز توسط ریزجانداران جذب می‌شود، ولی قبل از مشارکت نیتروژن در اسیدهای آمینه باید نیترات به آمونیوم تبدیل شود و این فرایند نیازمند صرف انرژی زیاد است (Paul and Clark, 1996; لکزیان، ۱۳۸۷).

با وجود این که هر دو شکل نیتروژن ( $\text{NO}_3$  و  $\text{NH}_4$ ) در غلظت‌های مناسب سبب افزایش تخریب زیستی آلاینده‌های آلی می‌شوند، اما آمونیوم و سایر شکل‌های احیایی مشابه، نسبت به نیترات و یا سایر شکل‌های اکسایشی نیتروژن برتری دارد (Jackson and Pardue, 1999).

با این حال، اثر کودهای نیتروژنه بر دینامیک کربن و تنفس خاک ممکن است متغیر بوده و شامل افزایش، یا کاهش (Fogg, 1988) و یا بدون هیچ تغییری (Van Vuuren and Van der Eerden, 1992; Matus, 1994; Hassink, 1995) باشد.

مشابه تأثیر کودهای نیتروژنه بر تجزیه کربن، بیوماس میکروبی خاک نیز ممکن است با افزایش کودهای نیتروژنه دستخوش تغییر شود. برای مثال، کاربرد نیتروژن سبب افزایش کربن بیوماس میکروبی می‌شود (Mahmood, et al., 1997; Graham, et al., 2002; Raiesi, 2004).

فعالیت‌های میکروبی از نظر چرخه عناصر غذایی در خاکها و آثاری که بر سایر خصوصیات خاک و نیز انتقال مواد و انرژی در بین اجزای مختلف اکوسیستم دارند، ضروری است. بنابراین، آثار سوء ناشی از آلاینده‌ها بر فعالیت میکروبی خاک در رشد و نمو گیاهی، حاصلخیزی خاک و عملکرد اکوسیستم پدیدار می‌شود. ریزجانداران خاک به هرگونه آشفتگی حساس هستند زیرا تنوع و فعالیت آنان به سرعت توسط چنین آشفتگی تغییر می‌یابد.

اندازه‌گیری مشخصه‌های میکروبی نظیر تنفس خاک و کربن زیست‌توده میکروبی، اطلاعاتی مربوط به حضور و فعالیت ریزجانداران مقاوم و نیز شدت، نوع و مدت تأثیر آلودگی هیدروکربنی بر فعالیت متابولیکی خاک را فراهم می‌کنند. این اندازه‌گیری‌ها به

قرار می‌دهد. برخی محققان دریافته‌اند که هیدروکربن‌های سبک سمی‌تر از هیدروکربن‌های سنگین هستند (Labud, et al., 2007). آلودگی خاک به بنزین نسبت به نفت خام یا دیزل، به طور کلی، تأثیرات بازدارندگی بیشتری بر کربن زیست‌توده میکروبی<sup>۲</sup> و فعالیت هیدرولازها دارد که این به علت ویژگی فرار این هیدروکربن است که تماس با ریزجانداران و آزیب‌ها را آسان می‌کند (Labud, et al., 2007).

با وجود این، فراوانی، و یا اضافه کردن عناصر غذایی به خاکهای آلوده به هیدروکربن‌های نفتی دارای اهمیت است (Jackson and Pardue, 1999; Margesin, et al., 2007; Minai-Tehrani and Herfatmanesh, 2007). زیرا توانایی دسترسی عناصر غذایی نقش مهمی در سازگاری و رشد میکروب‌ها، و استفاده آنها از هیدروکربن‌ها دارد (Singh, et al., 2009). با وجود نتایج متناقض درباره شکل عناصر غذایی، افزودن عناصر غذایی در غلظت مناسب سبب افزایش فعالیت و زیست‌توده میکروبی می‌شود (Jackson and Pardue, 1999).

معمولاً ورود مقدار عظیم منابع کربن (برای نمونه آلودگی هیدروکربنی) سبب تهی‌سازی مخازن قابل دسترس مواد غذایی معدنی اصلی مانند نیتروژن و فسفر می‌شود (Margesin, et al., 2007; لکزیان، ۱۳۸۷). چرا که مصرف آلاینده‌های کربن دار توسط ریزجانداران منجر به افزایش تقاضا برای نیتروژن و فسفر برای تبدیل کربن به زیست‌توده و ساخت اجزای سلولی می‌شود (Van Elsas, et al., 2007 and Singh, et al., 2009).

به طور کلی، اضافه شدن مواد آلی با نسبت  $\text{C:N} > 30$  (مانند هیدروکربن‌ها) به خاک می‌تواند منجر به غیر متحرک شدن نیتروژن شود (لکزیان، ۱۳۸۷) و ادامه فعالیت میکروبی خاک را با مشکل روبرو سازد. اضافه شدن هیدروکربن‌هایی به میزان  $4 \text{gCkg}^{-1}$  خاک به خاک غیر آلوده، غیر متحرک شدن نیتروژن را تحریک می‌کند (Rivera-Espinoza and Dendooven, 2004).

مصرف کودهای نیتروژنه در شکل و غلظت مناسب در خاکهای آلوده به نفت خام ممکن است سبب کاهش آثار سوء نفت بر فعالیت ریزجانداران خاک شود، زیرا غلظت نیتروژن در نفت خام و ترکیبات آن بسیار اندک است.

بنابراین پیش‌بینی می‌شود فراوانی، و یا افزودن نیتروژن به خاکهای آلوده به نفت سبب بهبود رشد و فعالیت میکروبی آن شود و این که شکل نیتروژن موجود در خاک در بهبود نسبی رشد و فعالیت

EC متر (Klute, 1986)، کربنات کلسیم معادل به روش تیتراسیون برگشتی با سود (غازان‌شاهی، ۱۳۷۶) و بافت خاک به روش هیدرومتری (Gee and Bauder, 1986) اندازه‌گیری شدند (جدول شماره ۱).

#### جدول شماره (۱): مشخصات اولیه خاک مورد آزمایش

مشخصات اولیه	کلاس بافت خاک
رس (mg/g)	رس
سیلت (mg/g)	
شن (mg/g)	
کربنات کلسیم معادل (%)	
فسفر (mg/Kg)	
نیتروژن کل (%)	
کربن آلی (%)	
C:N	
شوری (dS/m)	
اسیدیته (pH)	

نفت خام مورد آزمایش به وسیله پالایشگاه نفت اصفهان تأمین و نتایج تجزیه شیمیایی آن برای بررسی انواع مشتقات نفتی از پالایشگاه دریافت شد (جدول شماره ۲). به منظور اندازه‌گیری معدنی شدن کربن و زیست‌توده میکربی، به ترتیب مقدار ۱۰۰ و ۲۰۰ گرم خاک خشک در قوطی‌های پلاستیکی یک لیتری ریخته شد. سپس، میزان ۵٪ و ۱۰٪ از نفت خام (معادل ۵ سی‌سی و ۱۰ سی‌سی از این ماده برای ۱۰۰ گرم خاک) به نمونه‌ها اضافه شد. در پایان، معادل ۳۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار از نمک‌های نیتروژن‌دار نیترات پتاسیم، کلرید آمونیوم و مخلوطی از نیترات پتاسیم و کلرید آمونیوم برای ۱۰۰ گرم خاک مورد آزمایش محاسبه شد.

مقدار محاسبه شده نیتروژن معادل ۷/۷۳۷ میلی‌گرم نمک نیترات پتاسیم، ۴/۰۹۴ میلی‌گرم نمک کلرید آمونیوم، و برای نمک

عنوان شاخص مناسب برای بیان اثر آلودگی بر سلامت خاک استفاده می‌شوند. به دلیل تفاوت در ویژگی‌های شیمیایی هیدروکربن‌های آلاینده و نیز شرایط خاک، اثر هیدروکربن‌های مختلف بر میزان زیست‌توده و فعالیت میکربی همواره یکسان نیست.

از سوی دیگر آلاینده‌ها منابع خوبی از نظر کربن آلی بوده و جوامع میکربی تجزیه کننده نفت در اکثر اکوسیستم‌های آلوده مشاهده شده‌اند (Labud, et al., 2007).

به طور کلی، هدف از این تحقیق ارزیابی آثار متقابل نفت خام و برخی ترکیبات نیتروژن بر معدنی شدن کربن و زیست‌توده میکربی در خاک رسی است. برای این منظور، ترکیبات مختلف نیتروژن (کلرید آمونیوم، نیترات پتاسیم، کلرید آمونیوم+نیترات پتاسیم) به همراه یک نمونه شاهد (بدون نیتروژن) و سه غلظت نفت خام (صفر، ۵ و ۱۰٪) به نمونه خاک رسی افزوده شد.

در این مطالعه فرضیه بر این است که آلوده شدن خاک به نفت خام سبب کاهش فعالیت‌های میکربی خاک می‌شود و مصرف کودهای نیتروژن‌دار در خاک‌های آلوده به نفت خام ممکن است باعث کاهش آثار سوء نفت بر زیست‌توده و فعالیت ریزجانداران خاک شود. همچنین شدت اثر نفت خام بر جوامع میکربی نه فقط به میزان بلکه به شکل نیتروژن نیز بستگی دارد.

#### مواد و روش بررسی

این تحقیق به منظور بررسی آثار متقابل نفت خام و ترکیبات مختلف نیتروژن بر تنفس و زیست‌توده میکربی خاک رسی تحت شرایط آزمایشگاهی اجرا شد. فاکتورهای آزمایش شامل سطوح صفر، ۵٪ و ۱۰٪ نفت خام و ترکیبات مختلف نیتروژن به صورت نیتراته، آمونیومی، نیتراته+آمونیومی (معادل ۳۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن معادل) و بدون نیتروژن (شاهد) بودند که به صورت فاکتوریل (۳×۴) و در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد.

پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه، خاک هواخشک و از الک دو میلیمتری عبور داده شد و سپس خصوصیات فیزیکی و شیمیایی نظیر نیتروژن کل به روش کج‌لدال (جعفری حقیقی، ۱۳۸۲)، فسفر به روش السن (غازان‌شاهی، ۱۳۷۶)، درصد کربن آلی به روش اکسایش تر با اسید سولفوریک و تیتراسیون برگشتی با سولفات فرو آمونیاکی (Skjemstad and Baldock, 2008)، pH و توانایی هدایت الکتریکی عصاره اشباع به ترتیب با استفاده از pH متر و

کردن متوالی کنترل شد. پس از بستن درب قوطی‌ها، نمونه‌ها در دمای ۲۵-۳۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت به حالت پیش انکوباسیون قرار گرفتند و در پایان پیش انکوباسیون نمونه‌ها تا انتهای آزمایش در انکوباتور و در دمای  $25 \pm 1$  درجه سانتیگراد نگهداری شدند. چندین نمونه خاک، ولی بدون نیتروژن و نفت خام و نیز چند قوطی خالی با شرایطی مشابه با شرایط نمونه‌ها به عنوان شاهد در آزمایش لحاظ شد.

مخلوط، معادل  $3/868$  میلی‌گرم نمک نترات پتاسیم و  $2/047$  میلی‌گرم نمک کلرید آمونیوم بود (وزن یک هکتار خاک معادل  $2800$  تن و وزن مخصوص ظاهری خاک رسی  $1/2$  گرم بر سانتیمتر مکعب منظور شد).

مقادیر ذکر شده در  $30$  سی‌سی آب-برای تنظیم رطوبت خاک در حدود  $70\%$  ظرفیت مزرعه- حل و به محتوی جارها اضافه و به طور کامل مخلوط شدند. این رطوبت تا پایان آزمایش با توزین

جدول شماره (۲): مشخصات نفت خام مورد آزمایش برخی اجزاء نفت خام

مقادیر	سایر ترکیبات نفت خام	درصد وزنی	هیدروکربن‌های نفتی
۱/۵۲	گوگرد (WT%)*	-	متان
<۱	سولفید هیدروژن	۰/۰۱	اتان
۰/۱۲	نیتروژن کل (WT%) <sup>۳</sup>	۰/۴۴	پروپان
۳۷	نمک (P.T.B)**	۰/۲۲	ایزو- بوتان
۰/۹	قیبر (WT%)	۰/۷۷	ان- بوتان
۵/۹۳	واکس (WT%)	۰/۰۹۵	ایزو- پنتان
۷۲	کربن آلی (WT%)	۰/۰۲۵	ان- پنتان
۰/۰۱	خاکستر (WT%)	ناچیز	۲- متیل پنتان
۹/۵	نیکل (mg/L)	ناچیز	۳- متیل پنتان
۲۹	وانادیم (mg/L)	ناچیز	ان- هگزان
۱/۷۵	آهن (mg/L)	-	ایزو- هپتان
<۱	سرب (mg/L)	-	ان- هپتان

\*Weight percent \*\*Pounds of salt per Thousand Barrels of crude oil

نرم افزار *Minitab 14* به روش Ryan-Joiner بر روی داده‌های آزمایش در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت، سپس برای اطمینان از همگن بودن واریانس‌ها تست لون<sup>۴</sup> با استفاده از نرم‌افزار مذکور در سطح احتمال ۵ درصد صورت پذیرفت.

جدول تجزیه واریانس دو طرفه<sup>۵</sup> داده‌ها به کمک نرم افزار *SigmaStat 3.5* محاسبه شد. سپس مقایسه میانگین آثار ساده و متقابل تیمارها به روش LSD فیشر در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. در پایان میانگین داده‌ها به همراه خطای استاندارد<sup>۶</sup> به صورت جدول گزارش شدند.

برای تعیین میزان معدنی شدن کربن از روش اندازه‌گیری میزان دی‌اکسیدکربن حاصل از معدنی شدن کربن از طریق تیتراسیون برگشتی سود باقیمانده (Anderson, 1982) و برای اندازه‌گیری کربن زیست‌توده میکربی از روش تدخین- انکوباسیون (Jenkinson and Powelson, 1976; Jenkinson and Ladd, 1981) استفاده شد.

در این تحقیق برای پی بردن به منابع تغییرات و آثار ساده سطح نفت خام و شکل نیتروژن و نیز آثار متقابل آنها بر شاخص‌های اندازه‌گیری شده، ابتدا تست نرمال بودن<sup>۳</sup> با استفاده از

## نتایج و بحث

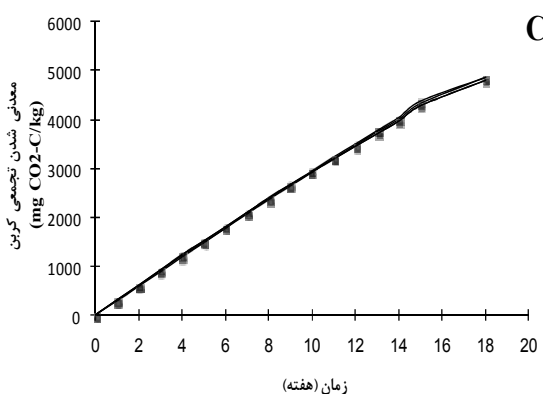
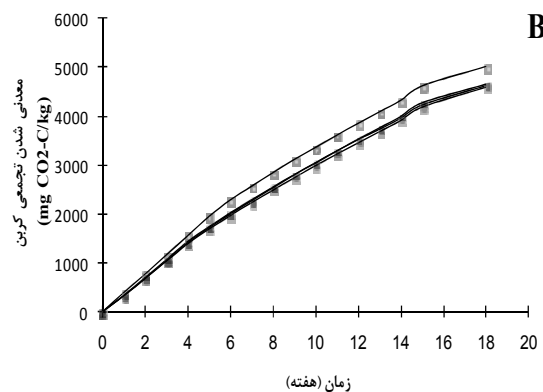
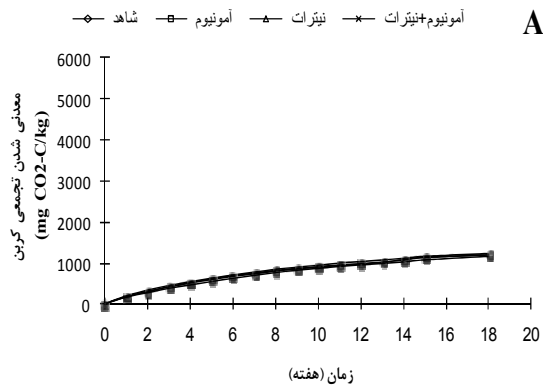
### روند معدنی شدن کربن

شکل شماره (۱) روند معدنی شدن کربن را در خاک رسی آلوده با سطوح متفاوت نفت خام نشان می‌دهد که در مدت ۱۲۶ روز انکوباسیون به صورت معدنی شدن تجمعی کربن قابل رؤیت است. کمترین مقدار کربن آلی معدنی شده در سطح صفر است و بین سطوح ۵ و ۱۰٪ نفت خام اختلاف محسوسی مشاهده نمی‌شود. شکل‌های شماره ۲-۱، ۲-۲، ۲-۳ اثر شکل‌های مختلف نیتروژن (بدون نیتروژن،  $\text{NH}_4$ ،  $\text{NO}_3$  و  $\text{NH}_4+\text{NO}_3$ ) را به ترتیب در سطوح صفر (شاهد)، ۵٪ و ۱۰٪ نفت خام طی ۱۲۶ روز انکوباسیون نشان می‌دهد.

همان طور که در شکل‌ها مشخص است در سطح صفر و ۱۰٪ نفت خام هیچ اختلاف محسوسی در سرتاسر دوره انکوباسیون بین تیمارهای مختلف نیتروژن مشاهده نمی‌شود.

اما در شکل شماره ۲-۲ تفاوتی از لحاظ کربن معدنی شده تجمعی در تیمار  $\text{NH}_4$  نسبت به سایر تیمارهای نیتروژن مشاهده می‌شود. این اختلاف که از ۳۰ روز پس از انکوباسیون قابل تشخیص است سبب می‌شود که این شکل از نیتروژن بیشترین میزان کربن معدنی شده را به خود اختصاص دهد.

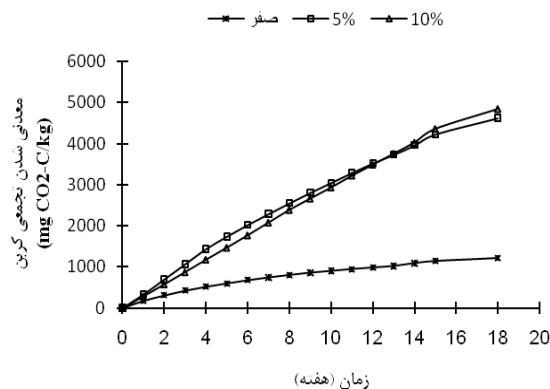
نتایج تجزیه واریانس (جدول شماره ۳) نشان می‌دهد که اثر شکل نیتروژن بر معدنی شدن کربن در خاک رسی معنی‌دار نیست ( $P > 0.05$ ).



شکل شماره (۲): اثر آمونیوم، نیترات و آمونیوم+نیترات بر روند معدنی شدن تجمعی کربن در خاک رسی تیمار شده با سطوح مختلف نفت خام (A، شاهد؛ B، 5% نفت خام؛ C، 10% نفت خام)

### کل معدنی شدن کربن<sup>۲</sup> یا تنفس میکروبی<sup>۱</sup> ( $\text{CO}_2\text{-C}$ )

برخی از پژوهشگران عدم تأثیر کوددهی نیتروژنه بر میزان تجزیه کربن خاک را به اثبات رسانده‌اند (Van Vuuren and Van der Eerden, 1992; Matus, 1994; Hassink, 1995).



شکل شماره (۱): اثر سطوح صفر، ۵ و ۱۰ درصد نفت خام بر روند معدنی شدن کربن

شدن نیتروژن در آن رخ می‌دهد- است ( Schimel and Wientraub, 2003). عدم پاسخ تنفسی به نیتروژن افزوده شده توسط ریزجانداران در خاک مورد مطالعه ممکن است به علت محدودیت همزمان کربن و نیتروژن در خاک رسی باشد، چراکه افزودن هم زمان نفت خام در سطح متوسط آلاینده و نیتروژن، بویژه به شکل  $\text{NH}_4$  سبب افزایش معدنی شدن کربن آلی شد (جدول شماره ۴). این در حالی است که اثر افزایش نفت خام بر معدنی شدن کل کربن طی ۱۲۶ روز انکوباسیون بسیار معنی‌دار ( $P < 0.001$ ) است. محدودیت کربن در خاک رسی باعث می‌شود با افزودن نفت خام به خاک فعالیت میکربی و به تبع آن معدنی شدن تجمعی کربن افزایش یابد. در مطالعه لا بود و همکاران نیز نفت خام سبب افزایش معدنی شدن کربن در خاک رسی شد ( Labud, et al., 2007). اثر متقابل نفت خام و شکل نیتروژن هم به دلیل معنی‌دار نشدن شکل نیتروژن، معنی‌دار نبود ( $P > 0.05$ ). نتایج متناقضی در این رابطه وجود دارد؛ در مطالعه‌ای در ارتباط با تخریب زیستی نفت و معدنی شدن کربن در یک خاک لوم رسی، کاربرد نیتروژن بویژه به شکل  $\text{NO}_3\text{-N}$  نسبت به  $\text{NH}_4\text{-N}$  موجب افزایش میزان معدنی شدن کربن شد (McGill and Nyborg, 1975).

به طور کلی در خاکهای آلوده به هیدروکربن‌های نفتی می‌توان شاهد هم اثر بازدارندگی و اثر تحریک‌کنندگی فعالیت میکربی بود که این موضوع به نوع و سطح هیدروکربن از یک سو و بافت خاک از سوی دیگر بستگی دارد. برای مثال، ریورا اسپینوزا و دندوون اظهار کردند که در خاک آلوده به فنانترین افزایش سریع تنفس خاک مشاهده شد، در حالی که در خاک آلوده با نفتالین و پیرین، معدنی شدن کربن کاهش یافت ( Rivera-Espinoza and Dendooven, 2004).

### درصد کربن معدنی شده به کل کربن خاک ( $\text{CO}_2\text{-C}/\text{C}_{\text{org}}$ )

اثر شکل نیتروژن بر نسبت  $\text{CO}_2\text{-C}/\text{C}_{\text{org}}$  معنی‌دار است (جدول شماره ۳). تیمار  $\text{NH}_4+\text{NO}_3$  سبب کاهش این نسبت در مقایسه با دو شکل دیگر نیتروژن شده است. به عبارت دیگر اثر  $\text{NH}_4$  و  $\text{NO}_3$  بتنهایی در افزایش نسبت کربن معدنی شده به کربن آلی در خاک رسی نسبت به زمانی که به صورت مخلوط در خاک وجود داشته باشند بیشتر است. اثر سطح نفت و نیز اثر متقابل نفت خام و شکل نیتروژن بر این نسبت بسیار معنی‌دار ( $P < 0.001$ ) است (جدول شماره ۳).

اظهار کرد که پاسخ‌های مختلف دینامیک کربن به افزایش کودهای نیتروژنه منعکس‌کننده شرایط محیطی متفاوت است ( Raiesi, 2004). به عقیده واکسمن و استیونس علت این که افزودن نیتروژن در برخی شرایط، افزایشی در میزان  $\text{CO}_2$  متصاعد شده حاصل نمی‌کند این است که نیتروژن عامل محدود کننده در فعالیت ریزجانداران نیست (Waksman and Stevens, 1929).

### جدول شماره (۳): نتایج تجزیه واریانس اثر ساده شکل نیتروژن، سطح نفت و آثار متقابل آنها بر $\text{CO}_2\text{-C}/\text{C}_{\text{org}}$ (اعداد جدول آماره F هستند)

منبع تغییر	df	$\text{CO}_2\text{-C}$	$\text{CO}_2\text{-C}/\text{C}_{\text{org}}$
شکل نیتروژن (N)	۳	۱/۵ n.s	۴/۵*
سطح نفت (P)	۲	۲۴۰۸***	۶۵۸۴***
(N×P)	۶	۱/۷ n.s	۵/۴***

\*, \*\*, و ns به ترتیب به مفهوم معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪، ۱٪، و غیر معنی‌دار است.  $\text{CO}_2\text{-C}$ ، معدنی شدن کربن طی ۱۲۶ روز انکوباسیون و  $\text{CO}_2\text{-C}/\text{C}_{\text{org}}$ ، نسبت کل کربن معدنی شده به کربن آلی خاک طی ۱۲۶ روز انکوباسیون.

این نتیجه بارها توسط بسیاری از پژوهشگران طی سالهای متمادی مورد تأیید قرار گرفت ( Broadbent and Norman, 1947; Alexander, 1977; Fogg, 1988; Vance and Chapin, 2001). با این حال، چنین استدلالی با مطالعات دینامیک نیتروژن که به طور قطعی بیان می‌دارند میکرب‌ها در خاکهای طبیعی معمولاً با محدودیت نیتروژن مواجه هستند مغایرت دارد (Schimel and Wientraub, 2003). برای مثال بسیاری از پژوهش‌های مزرعه‌ای و آزمایشگاهی غیر متحرک شدن خالص نیتروژن را نشان دادند ( Giblin, et al., 1991; Polglase, et al., 1992).

برخی مطالعات جذب  $\text{NO}_3^-$  را در حضور  $\text{NH}_4^+$  قابل اندازه‌گیری به اثبات رساندند ( Jackson, et al., 1989; Hart, et al., 2000; Chen and Stark, 1994; al., 1994). شیمیل و فایراستون نیز اظهار داشتند که ریزجانداران خاک برای جذب  $\text{NH}_4^+$  گلوتامین سنتتاز را استفاده می‌کنند (Schimel and Firestone, 1989). تمام این مطالعات شواهدی مبنی بر محدودیت نیتروژن برای دسترسی و استفاده میکربی - حتی در خاکهایی که غیر متحرک

**جدول شماره (۴): مقایسه میانگین (n=۳) آثار متقابل سطوح نفت خام و شکل‌های نیتروژن بر CO<sub>2</sub>-C (بر حسب mgkg<sup>-1</sup>) و CO<sub>2</sub>-C/C<sub>org</sub> (بر حسب %) در خاک رسی طی ۱۲۶ روز انکوباسیون (اعداد داخل پرانتز مقدار SE را نشان می‌دهند)**

LSD <sub>0.05</sub>	میانگین	شکل نیتروژن				سطح نفت (%)
		NH <sub>4</sub> +NO <sub>3</sub>	NO <sub>3</sub>	NH <sub>4</sub>	شاهد	
<b>CO<sub>2</sub>-C (LSD<sub>0.05</sub>=۲۴۷)</b>						
	۱۲۰۱(۱۰/۳)C	۱۱۴۷(۵/۹)C <sup>a</sup>	۱۲۴۳(۱۰/۲)B <sup>a</sup>	۱۲۰۷(۱۸/۸)B <sup>a</sup>	۱۲۰۸(۶/۴)B <sup>a</sup>	۰
	۴۷۱۸(۱۰/۱)B	۴۶۵۱(۲۴/۸)B <sup>b</sup>	۴۶۲۶(۹/۸)A <sup>b</sup>	۴۹۷۰(۱۷۹)A <sup>a</sup>	۴۶۲۶(۱۹۰)A <sup>b</sup>	۵
	۴۸۶۲(۵۹)A	۴۹۴۵(۲۸/۳)A <sup>a</sup>	۴۷۸۹(۶۶/۷)A <sup>a</sup>	۴۸۶۴(۴۸/۵)A <sup>a</sup>	۴۸۴۹(۹۲/۵)A <sup>a</sup>	۱۰
۱۴۲	-	۳۵۸۱(۱۹/۷)a	۳۵۵۳(۲۹)a	۳۶۸۰(۸۲)a	۳۵۶۱(۹۶/۵)a	میانگین
	۱۲۳					LSD <sub>0.05</sub>
<b>CO<sub>2</sub>-C/C<sub>org</sub> (LSD<sub>0.05</sub>=۰/۸)</b>						
	۳۰(۰/۲۶)A	۲۸/۷(۰/۱۵)A <sup>c</sup>	۳۱(۰/۲۵)A <sup>a</sup>	۳۰/۲(۰/۱۵)A <sup>b</sup>	۳۰/۲(۰/۱۶)A <sup>b</sup>	۰
	۱۳/۹(۰/۳)B	۱۳/۸(۰/۰۷)B <sup>b</sup>	۱۳/۷(۰/۰۳)B <sup>b</sup>	۱۴/۷(۰/۵۳)B <sup>a</sup>	۱۳/۷(۰/۵۶)B <sup>b</sup>	۵
	۷/۶(۰/۰۹)C	۷/۸(۰/۰۴)C <sup>a</sup>	۷/۵(۰/۰۱)C <sup>a</sup>	۷/۶(۰/۰۸)C <sup>a</sup>	۷/۶(۰/۱۴)C <sup>a</sup>	۱۰
۰/۵	-	۱۶/۷(۰/۰۹)b	۱۷/۴(۰/۱۳)a	۱۷/۵(۰/۴)a	۱۷/۱(۰/۳)ab	میانگین
	۰/۴					LSD <sub>0.05</sub>

مقایسه بین تیمارها در هر ستون با حروف بزرگ و در هر ردیف با حروف کوچک نشان داده شده است. اعداد با حداقل یک حرف مشترک فاقد تفاوت معنی دار بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ هستند.

با توجه به جدول شماره (۴) تمام تیمارهای نیتروژن و سطح

۱۰٪ نفت خام کمترین مقدار (حدود ۷/۶٪) و تیمار NO<sub>3</sub> و بدون نفت خام بیشترین مقدار (۳۱٪) این نسبت را نشان دادند.

در خاک غیر آلوده رسی، تیمار NO<sub>3</sub>، NH<sub>4</sub>+NO<sub>3</sub> و NH<sub>4</sub> به ترتیب سبب افزایش، کاهش و عدم تغییر این نسبت شدند. اما در سطح ۵٪ نفت خام تیمار NH<sub>4</sub> به علت جذب ترجیحی آن برای ریزجانداران موجب افزایش نسبت کربن معدنی شده به کل کربن خاک در مقایسه با سایر تیمارهای نیتروژن شد. در سطح ۱۰٪ نفت خام نیز هیچ یک از اشکال نیتروژن در تغییر این نسبت مؤثر نبودند (جدول شماره ۴).

مقایسه میانگین سطوح مختلف نفت خام (جدول شماره ۴)

نشان می‌دهد که با افزایش نفت خام به خاک نسبت CO<sub>2</sub>-C/C<sub>org</sub> کاهش یافته است.

این موضوع نشان‌دهنده نسبت بسیار بالای C:N (جدول شماره ۲) نفت خام بوده که بر میزان کربن آلی خاک بشدت می‌افزاید، به طوری که با وجود افزایش میزان CO<sub>2</sub>-C از سطح صفر به ۱۰٪ (جدول شماره ۴) باز هم کاهش نسبت فوق را در پی دارد.

### کربن زیست توده میکربی<sup>۲</sup> (MBC)

ریزجانداران مقاوم تر (باکتری‌های گرم منفی) قادر به استفاده از غلظت بالای نفت خام هستند و به همین دلیل بیوماس میکربی در سطح ۱۰٪ هنوز بیشتر از تیمار شاهد است. برخی دانشمندان نتایج متناقضی در این باره ارائه داده‌اند؛ برای نمونه، لا بود و همکاران کاهش بیوماس میکربی را در خاک رسی و شنی آلوده به نفت خام، روغن دیزل و بنزین به اثبات رساندند (Labud, et al., 2007).

برخی نیز اظهار داشتند که بیوماس میکربی در سطح متوسط تا زیاد آلاینده (۵۲۰۰ تا ۲۱۴۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) کاهش یافت، در حالی که سطوح پایین آلودگی (<۲۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) تأثیری بر بیوماس میکربی نداشت (Megharaj, et al., 2000).

فرانکو و همکاران دریافتند میزان رس و ماده آلی خاک رسی، ریزجانداران را در برابر آثار مضر هیدروکربنی محافظت کرده و بیوماس در این خاک کمتر تحت تأثیر قرار می‌گیرد. این محققان در بررسی خود نشان دادند نفت خام باعث کاهش MBC در اینسپتی‌سول‌ها<sup>۹</sup> (-۲۵٪)، افزایش اندک در انتی‌سول‌ها<sup>۱۰</sup> (+۵٪) و افزایش بسیار زیاد در مالی‌سول‌ها<sup>۱۱</sup> (+۵۳٪) شده است. در مالی‌سول‌ها به دلیل میزان رس و مواد آلی بالا ریزجانداران تحت تأثیر ترکیبات سمی هیدروکربنی قرار نگرفته و هیدروکربن‌های نفتی را به عنوان مخزن کربن مورد استفاده قرار دادند (Franco, et al., 2004).

مقادیر کربن زیست توده میکربی در خاک تیمار شده با NH<sub>4</sub> و سطوح متفاوت نفت خام پس از گذشت دو دوره انکوباسیون در شکل شماره (B-۳) ارائه شده است.

با چشم پوشی از زمان انکوباسیون مشاهده می‌شود که در تیمارهای NH<sub>4</sub> سطح ۵٪ نفت خام سبب کاهش ۱۱/۲ درصدی و سطح ۱۰٪ نفت خام موجب افزایش ۱۱۸ درصدی کربن زیست توده میکربی نسبت به تیمار شاهد شدند.

کاهش MBC در سطح ۵٪ ممکن است به علت تغییر در ترکیب جوامع میکربی باشد و به علت سطح متوسط کربن آلی و نیز وجود NH<sub>4</sub> این مخازن انرژی صرف معدنی شدن کربن شده (جدول شماره ۴) و زیست توده میکربی کاهش یافته است. در غلظت بالای آلاینده و وجود NH<sub>4</sub>، به نظر می‌رسد که فراوانی کربن و نیتروژن سبب افزایش زیست توده میکربی شده است.

اثر شکل نیتروژن، نفت خام و اثر متقابل نفت خام×شکل نیتروژن بر کربن زیست توده میکربی پس از ۶۰ و ۹۰ روز انکوباسیون بسیار معنی‌دار ( $P < 0.001$ ) است (جدول شماره ۵).

شکل شماره ۳-A کربن زیست توده میکربی (بر حسب mgkg<sup>-1</sup>) را در خاک شاهد (بدون نیتروژن) تیمار شده با سطوح صفر، ۵ و ۱۰ درصد نفت خام پس از ۶۰ و ۹۰ روز انکوباسیون نشان می‌دهد.

### جدول شماره (۵): نتایج تجزیه واریانس اثر ساده شکل نیتروژن،

#### سطح نفت و آثار متقابل آنها بر کربن زیست توده میکربی

(MBC) (اعداد جدول آماره F هستند).

زمان (روز)		df	منبع تغییر
۹۰	۶۰		
۲۶***	۱۶/۹***	۳	شکل نیتروژن (N)
۶۴/۳***	۳۴/۵***	۲	سطح نفت (P)
۲۷/۷***	۱۲/۵***	۶	(N×P)

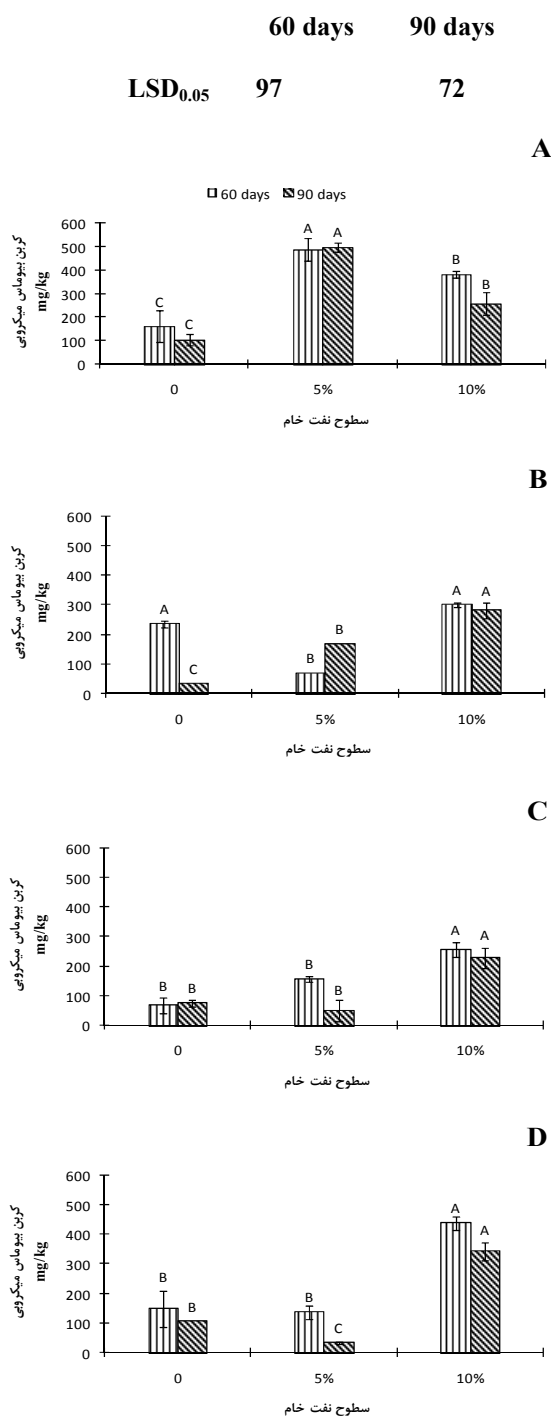
\*\*\* به مفهوم معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۱٪ می‌باشد.

به طور کلی و بدون در نظر گرفتن زمان انکوباسیون در تیمارهای بدون نیتروژن، سطوح ۵ و ۱۰٪ نفت خام سبب افزایش کربن زیست توده میکربی به ترتیب به میزان ۲۷۰ و ۱۴۱٪ نسبت به سطح صفر شدند.

افزایش کربن بیوماس میکربی به علت افزایش فعالیت ریزجانداران است که با مقادیر بالای عناصر غذایی و مواد آلی موجود در نفت خام تحریک شده است، می‌باشد.

با اضافه شدن تیمار ۱۰٪ به خاک ممکن است افزون بر به هم خوردن نسبت C:N تنوع جامعه میکربی نیز به علت ایجاد شرایط نامساعد (عدم تهویه، سمی بودن ترکیبات هیدروکربنی و غلظت بالای عناصر سنگین) تغییر کرده و به سمت باکتری‌های گرم منفی که در غلظت‌های بالای آلاینده مقاوم ترند پیش رود و این باعث کاهش بیوماس میکربی نسبت به تیمار ۵٪ شده است.





شکل شماره (۳) اثر سطوح مختلف نفت خام بر کربن زیست‌توده میکروبی در خاک رسی تیمار شده با شکل‌های مختلف نیتروژن (A، شاهد؛ B، NH<sub>4</sub>؛ C، NO<sub>3</sub>؛ D، NH<sub>4</sub>+NO<sub>3</sub>) طی ۹۰ روز انکوباسیون. در هر دوره انکوباسیون میانگین‌ها (n=۳) با حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار (P>0.05) بین سطوح مختلف نفت خام هستند. خطوط عمودی مقدار SE را نشان می‌دهند.

کربن زیست‌توده میکروبی در خاک تیمار شده با NO<sub>3</sub> و سطوح مختلف نفت خام پس از اتمام ۹۰ روز انکوباسیون در شکل (۳-۳) نشان داده شده است. به طور کلی می‌توان چنین گفت که با چشم پوشی از مدت زمان انکوباسیون در تیمارهای NO<sub>3</sub>، سطوح ۵ و ۱۰٪ نفت خام سبب افزایش کربن زیست‌توده میکروبی به ترتیب به میزان ۴۳٪ و ۲۳٪ نسبت به تیمار شاهد شدند.

در شکل شماره (۳-۳) که کربن زیست‌توده میکروبی را در خاک تیمار شده با NH<sub>4</sub>+NO<sub>3</sub> و سطوح متفاوت نفت خام پس از دوره‌های انکوباسیون نشان می‌دهد، مشاهده شد که در تیمارهای NH<sub>4</sub>+NO<sub>3</sub> سطح ۵٪ نفت خام موجب کاهش ۳۵ درصدی و سطح ۱۰٪ نفت خام سبب افزایش ۲۱۰ درصدی کربن زیست‌توده میکروبی نسبت به تیمار شاهد شدند.

این کاهش می‌تواند به دلیل کاهش کربن و منابع انرژی موجود در سطح متوسط آلاینده (۵٪) با گذشت زمان و انباشتگی فلزات سنگین موجود در آن، در خاک باشد.

در مورد سطح بالای آلاینده نیز فلزات سنگین ممکن است با گذشت زمان انباشته شده و خاصیت بازدارندگی داشته باشند. ولی به نظر می‌رسد که خاصیت تحریک‌کنندگی کربن سهل‌الوصول بیشتر در این سوبسترا به طور برجسته، تأثیر منفی فلزات سنگین و سایر ترکیبات سمی هیدروکربنی را خنثی کرده و موجب افزایش کربن زیست‌توده میکروبی شده باشد.

در مجموع می‌توان از شکل شماره (۳) این گونه برداشت کرد که در خاک تیمار نشده با نیتروژن، سطح متوسط نفت بیشتر از سایر سطوح زیست‌توده را افزایش داده است. این موضوع نشان می‌دهد که برای افزایش MBC به کربن نیاز است.

چنانچه نیتروژن به عنوان عنصر غذایی ضروری در خاک وجود داشته باشد، ریزجانداران خاک در سطح بالای نفت (۱۰٪) و بویژه در شکل NO<sub>3</sub> قادر به افزایش MBC هستند و آثار سطوح پایین‌تر نفت در خاکهای تیمار شده با هر شکل نیتروژن بی‌تأثیر است. نتیجه آنکه افزون بر میزان کربن بالا نیتروژن نیز باید فراوان باشد.

برپایه اطلاعات حاصل از پژوهش‌های برخی محققان، افزودن نیتروژن تأثیر مثبت و معنی‌دار بر کربن زیست‌توده میکروبی دارد. علت این است که استفاده از آلاینده‌های کربن‌دار و مواد آلی توسط ریزجانداران نیاز آنها را به نیتروژن و حتی فسفر برای اتصال کربن به زیست‌توده و ساخت اجزای سلولی می‌افزاید (Mahmood, et al., 1997; Graham, et al., 2002).

**جدول شماره (۶): نتایج تجزیه واریانس اثر ساده شکل نیتروژن، سطح نفت و آثار متقابل آنها بر متوسط MBC/C<sub>org</sub> و qCO<sub>2</sub> (اعداد جدول آماره F هستند).**

منبع تغییر	df	MBC/C <sub>org</sub>	qCO <sub>2</sub>
شکل نیتروژن (N)	۳	۳۷***	۱۵۳***
سطح نفت (P)	۲	۴۲۷***	۲۰۵***
(N×P)	۶	۱۷***	۴۷***

\*\*\* به مفهوم معنی دار در سطح احتمال ۰/۱٪ است. MBC/C<sub>org</sub> متوسط نسبت کربن زیست توده میکربی به کربن آلی خاک و qCO<sub>2</sub> متوسط ضریب متابولیسی طی ۹۰ روز انکوباسیون

در شرایط استرس، قسمت اعظم کربن جذب شده صرف تنفس و تولید انرژی لازم برای ابقای میکربی می شود و بنابراین سلول های جدید میکربی تشکیل نمی شوند. اثر شکل نیتروژن بر نسبت MBC/C<sub>org</sub> بسیار معنی دار ( $P < 0.001$ ) است (جدول شماره ۶). افزودن نیتروژن به خاک سبب افزایش این نسبت شده و میزان این افزایش، ۷۵، ۱۴۱ و ۱۹۵٪ به ترتیب برای تیمارهای NH<sub>4</sub>+NO<sub>3</sub>، NO<sub>3</sub> و NH<sub>4</sub> نسبت به تیمار شاهد است (شکل شماره ۴). به طور کلی افزودن نیتروژن به هر شکلی سبب تأمین نیاز ریزجانداران به نیتروژن شده و در نتیجه کربن آلی بیشتری به کربن زیست توده میکربی تبدیل می شود. جدول شماره ۶ نشان می دهد که اثر نفت خام بر نسبت MBC/C<sub>org</sub> نیز بسیار معنی دار ( $P < 0.001$ ) است.

با افزایش نفت خام به خاک (شکل شماره ۴) از سطح صفر به ۱۰٪ این نسبت کاهش یافته است. علت کاهش نسبت کربن توده زنده میکربی به کربن آلی خاک در نفت خام بواسطه افزایش مقدار کربن سهل الوصول و بالا بودن نسبت C:N خاکهای تیمار شده با نفت خام است که ممکن است باعث ایجاد محدودیت برای رشد ریزجانداران شود.

دیای و همکاران نیز اظهار داشتند که در شرایط تنش، کربن زیست توده میکربی سریع تر از کل کربن آلی خاک کاهش می یابد (Ndiaye, et al., 2000). اثر متقابل نفت خام × شکل نیتروژن هم بر این نسبت بسیار معنی دار ( $P < 0.001$ ) است (جدول شماره ۶).

سطح ۱۰٪ نفت خام و تیمارهای نیتروژن کمترین (حدود ۰/۱٪) و سطح صفر نفت خام و تیمار NH<sub>4</sub> بیشترین (۳/۱٪) اثر را بر این نسبت دارند. در شکل شماره (۴-A) مشاهده می شود که در

اما در آزمایش بیدریک و همکاران میزان کربن در خاکهای تیمار شده افزایش داشت با نیتروژن تغییری در کربن زیست توده میکربی مشاهده نشد (Biederbeck, et al., 1984).

کاپیسز و همکاران نشان دادند که در محیط های کشت حاوی یون نترات و آمونیوم تفاوتی در تولید زیست توده وجود نداشت. آنها همچنین نشان دادند که در نمونه حاوی NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> یون های آمونیوم ممکن است مانع جذب یون های نترات شوند (Kwapisz, et al., 2008). در تحقیق هی و همکاران نیز استفاده از سولفات آمونیوم سبب کاهش کربن زیست توده در خاکهای تحت چرا شده است (He, et al., 1997).

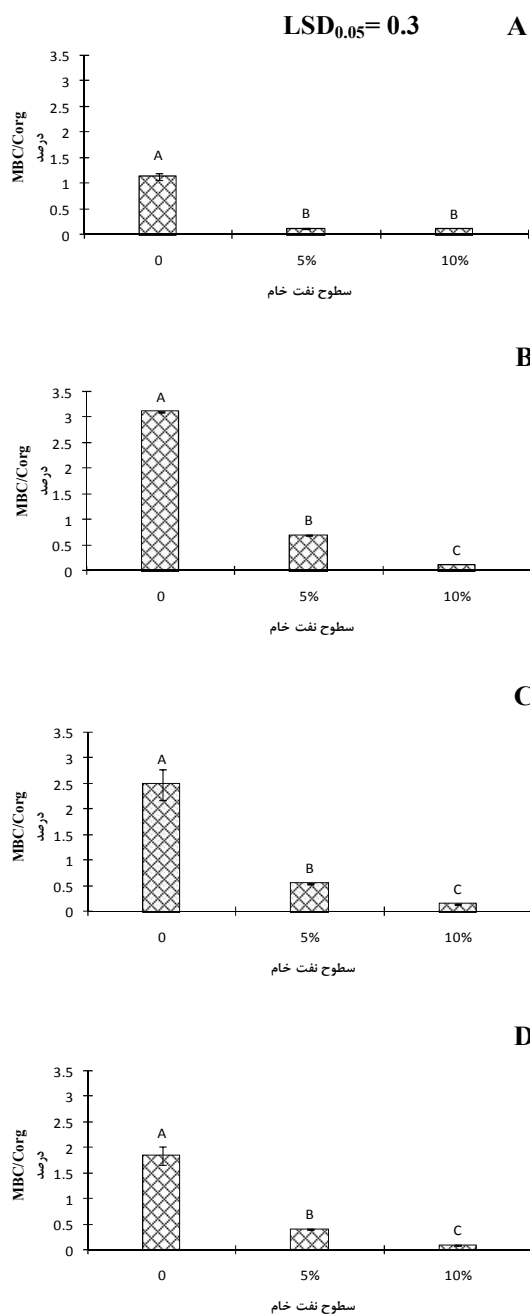
هاتچینز و همکاران اثر بازدارندگی نترات را بر تجزیه هیدروکربنی گزارش دادند (Hutchins, et al., 1991). پاسخ های متفاوت کربن زیست توده میکربی به افزایش کود نیتروژنه به خاک آشکار کننده شرایط متفاوت خاکی کنترل کننده فعالیت های میکربی است (Raiesi, 2004).

به طور کلی افزودن کودهای نیتروژنه مخازن عناصر غذایی به سهولت قابل معدنی شدن را افزایش می دهند. این افزایش ممکن است یک بازخورد مثبت را برای رشد گیاه به همراه داشته باشد و موجب افزایش تولید محصول در خاکهای فقیر از نیتروژن می شود (Raiesi, 2004).

### درصد کربن زیست توده میکربی به کربن آلی خاک (MBC/C<sub>org</sub>)

یکی از شاخص های بیولوژیکی خاک، نسبت کربن توده زنده میکربی به کربن آلی خاک است. این شاخص افزون بر کیفیت سوبسترا نشان دهنده فراوانی و توانایی دسترسی ریزجانداران خاک به سوبسترا است. بنابراین هر اندازه کربن سهل الوصول سوبسترا بیشتر و نیز میزان و شکل نیتروژن معدنی قابل جذب برای ریزجانداران مناسب باشد، این نسبت نیز افزایش می یابد. افزایش این نسبت در خاک نشان دهنده افزایش میزان کربن خاک و در نتیجه بهبود کیفیت خاک از لحاظ فقر کربن آلی است (Moscatteli, et al., 2007).

به بیان ساده تر، افزایش نسبت MBC/C<sub>org</sub> مبین تبدیل بیشتر کربن خاک به زیست توده میکربی و در نتیجه حفظ کربن در خاک است. یکی از عوامل مؤثر در کاهش این نسبت، استرس های محیطی است.



**شکل شماره (۴): اثر سطوح مختلف نفت خام بر درصد**

**MBC/C<sub>org</sub> در خاک رسی تیمار شده با شکل‌های مختلف**

**نیتروژن** (A, شاهد; B, NH<sub>4</sub>; C, NO<sub>3</sub>; D, NH<sub>4</sub>+NO<sub>3</sub>) طی ۹۰ روز انکوباسیون. میانگین‌ها (n=۳) با حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار ( $P>0.05$ ) بین سطوح مختلف نفت خام هستند. خطوط عمودی مقدار SE را نشان می‌دهند.

سطوح ۵ و ۱۰٪ نفت خام در مقایسه با تیمار شاهد این نسبت کاهش یافته و بین این دو سطح تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. همچنین شکل‌های شماره (۴-B, ۴-C و ۴-D) نشان می‌دهند که سطوح ۵ و ۱۰٪ نفت خام در خاکهایی که نیتروژن دریافت کرده‌اند و سبب کاهش معنی‌دار MBC/C<sub>org</sub> نسبت به تیمار شاهد شده‌اند و بین تمام سطوح تفاوت معنی‌دار است.

ویتر و کانال عوامل مؤثر بر این شاخص را اقلیم، تناوب زراعی و خاک‌ورزی، pH، بافت خاک و کمیت و کیفیت کربن افزوده شده به خاک برشمرده و گزارش کردند که این نسبت بین ۲/۳ تا ۲/۹ در خاکها و شرایط مختلف متغیر است (Witter and Kanal, 1998).

موسکاتلی و همکاران نیز گزارش کردند بالا بودن این نسبت در خاک نشان می‌دهد که کسر زیادی از کربن زیست‌توده میکربی خاک باوجود مقدار زیاد و قابل دسترس سوبسترا تأمین می‌شود. آنها مقدار این نسبت را در خاکها و شرایط مختلف کشت ۱/۳ تا ۲/۵ گزارش کردند (Moscatteli, et al., 2007).

آندرسون بیان کرد افزایش نسبت فوق نشان می‌دهد که کربن موجود در خاک بر اثر افزودن سوبستراهای آلی به خاک صرف رشد میکربی (و نه تنفس و تولید انرژی) شده است. بنابراین هنگامی که تنفس جامعه میکربی خاک کاهش می‌یابد، کربن بیشتری صرف تولید زیست‌توده میکربی شده و در نتیجه نسبت فوق افزایش می‌یابد.

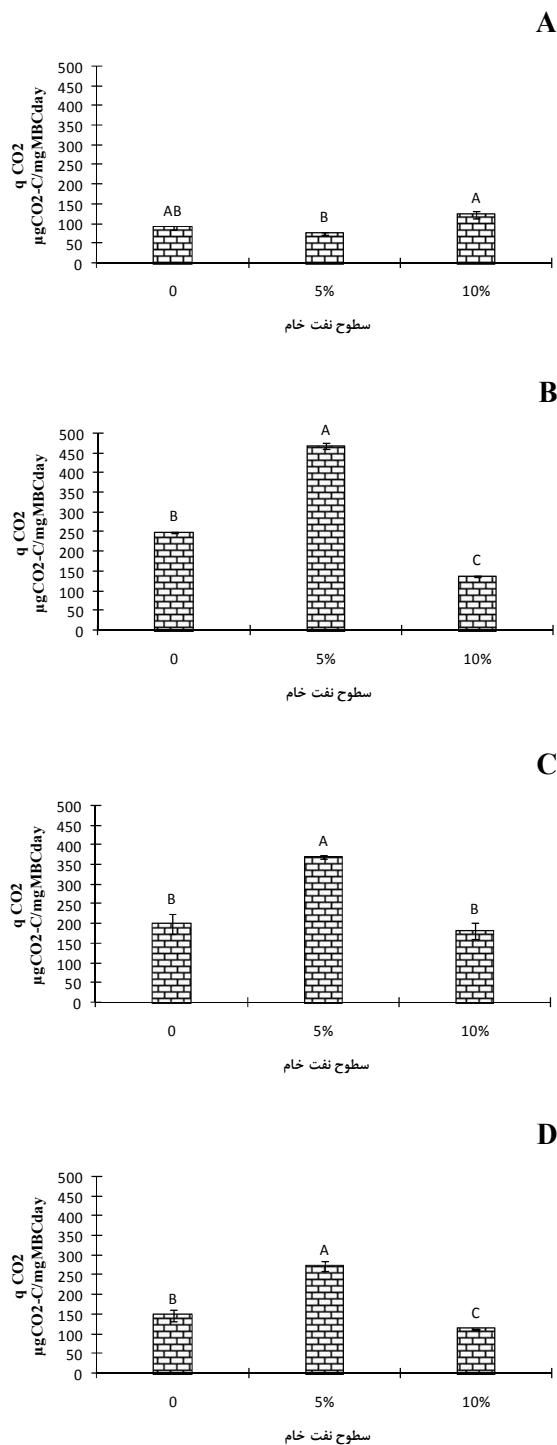
وی گزارش کرد این نسبت مبین کربن موجود برای رشد میکربی است و در اراضی مختلف مقدار آن بین ۲ تا ۴/۴ متغیر است (Anderson, 2003).

### **ضریب سوخت و سازی<sup>۱۲</sup> (qCO<sub>2</sub>)**

این ضریب نشان دهنده مقدار کربن متصاعد شده (تنفس پایه)<sup>۱۲</sup> از هر واحد کربن زیست‌توده میکربی در واحد زمان است. معمولاً از این نسبت به عنوان شاخص مناسب، برای تعیین وضعیت تنش در اکوسیستم خاک استفاده می‌شود.

تحت شرایط تنش (مانند آلودگی) این ضریب افزایش می‌یابد، زیرا ریزجانداران خاک برای حفظ توده زنده خود به صرف انرژی بیشتری نیازمند هستند.

همچنین افزایش مقدار qCO<sub>2</sub> نشان می‌دهد که آلاینده‌ها سبب تغییر در اجتماع میکربی شده و یکی از تنش‌زاترین عوامل محیطی‌اند (Anderson, 2003).



شکل شماره (۵): اثر سطوح مختلف نفت خام بر  $qCO_2$  در خاک

رسی تیمار شده با شکل‌های مختلف نیتروژن (A، شاهد؛ B،  $NH_4$ ؛ C،  $NO_3$ ؛ D،  $NH_4+NO_3$ ) طی ۹۰ روز انکوباسیون. میانگین‌ها ( $n=3$ ) با حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار ( $P>0.05$ ) بین سطوح مختلف نفت خام هستند. خطوط عمودی مقدار SE را نشان می‌دهند.

جدول شماره (۶) نشان می‌دهد که اثر شکل نیتروژن بر این ضریب بسیار معنی‌دار ( $P<0.001$ ) است. مقایسه میانگین‌ها در شکل شماره (۵) مشخص می‌کند که تمام اشکال نیتروژن سبب افزایش  $qCO_2$  شدند.

این میزان افزایش در مقایسه با تیمار بدون نیتروژن ۸۴٪، ۱۵۸٪ و ۱۹۵٪ به ترتیب برای تیمارهای  $NH_4+NO_3$ ،  $NO_3$  و  $NH_4$  است. علت آن است که با افزایش نیتروژن و کاهش C:N، کربن خاک بیشتر صرف تولید انرژی و افزایش معدنی شدن کربن شده است.

شایان ذکر است که میزان تنفس بالا افزون بر این‌که نشان دهنده سطح بالای حاصلخیزی در اکوسیستم است، می‌تواند بیان کننده آشفستگی و اختلالات اکولوژیکی آن نیز باشد (Corstanje, et al., 2007). اثر نفت خام نیز بر  $qCO_2$  بسیار معنی‌دار ( $P<0.001$ ) است (جدول شماره ۶).

سطوح ۵ و ۱۰٪ نفت خام به ترتیب سبب افزایش ۷۳ درصدی و کاهش ۱۹/۳ درصدی این نسبت شدند.

جدول شماره (۶) همچنین نشان می‌دهد که اثر متقابل نفت خام×شکل نیتروژن نیز بسیار معنی‌دار ( $P<0.001$ ) است. با توجه به شکل شماره (۵)، تیمار بدون نیتروژن و سطح ۵٪ نفت خام کمترین مقدار ( $75/6 \mu gCO_2-C \cdot mg^{-1}MBC \cdot day^{-1}$ ) و تیمار  $NH_4$  و سطح ۵٪ نفت خام بیشترین مقدار ( $468$ ) را به خود اختصاص دادند.

شکل شماره (۵-۸) نشان می‌دهد که در تیمارهای بدون نیتروژن، سطح ۱۰٪ نفت خام سبب افزایش معنی‌دار ضریب سوخت و سازی در مقایسه با تیمار ۵٪ می‌شود و بین تیمار شاهد (سطح صفر) با سطوح ۵ و ۱۰٪ نفت خام تفاوت معنی‌دار وجود ندارد. در شکل شماره (۵-۸، B-۵، C-۵ و D-۵) مشاهده می‌شود که تیمارهای نیتروژن سبب افزایش  $qCO_2$  در سطح ۵٪ و کاهش آن در سطح ۱۰٪ نفت خام نسبت به تیمار بدون نیتروژن (شکل شماره ۵-۸) شده‌اند.

کاهش  $qCO_2$  در اثر افزایش نیتروژن طی تجزیه نفت خام ۱۰٪ به دلیل تأمین نیتروژن مورد نیاز رشد میکروبی و افزایش بهره‌وری مصرف کربن با میکروکروبی‌های خاک است. موسکاتلی و همکاران گزارش کردند که ضریب سوخت و سازی خاک، کارایی میکروکروبی‌ها را در استفاده از کربن و انرژی نشان داده و بیان‌کننده درجه محدودیت سوپسترا برای فعالیت ریزجانداران خاک است.

شدت اثر نفت خام بر فعالیت جوامع میکربی خاک رسی مورد مطالعه به کاربرد نیتروژن و شکل آن بستگی ندارد. تمام تیمارهای نیتروژن به همراه سطح ۱۰٪ نفت خام موجب افزایش کربن زیست‌توده میکربی شدند، اما در سطح ۵٪ نفت خام تیمارهای بدون نیتروژن و  $\text{NO}_3$  افزایش و تیمارهای  $\text{NH}_4$  و  $\text{NH}_4 + \text{NO}_3$  کاهش کربن زیست‌توده میکربی را نشان دادند.

این تحقیق نشان داد که خاکهایی با میزان مواد آلی و رس بالا با آلاینده‌های هیدروکربنی کمتر تحت تأثیر قرار می‌گیرند و نیز استفاده از شاخص‌های بیولوژیکی برای ارزیابی آثار نفت خام بر کیفیت و سلامت خاک بسیار مؤثر خواهند بود.

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله از حمایت‌های مالی دانشگاه شهرکرد تقدیر به عمل می‌آید. همچنین از مدیر عامل محترم پالایشگاه نفت اصفهان جناب آقای مهندس آقائزاد به علت همکاری در فراهم کردن نفت خام مورد استفاده در این تحقیق تشکر و قدردانی می‌شود.

### یادداشت‌ها

- 1-Soil Pollution
- 2-Microbial Biomass Carbon (MBC)
- 3-Normality Test
- 4-Leven's Test
- 5-Two-Way ANOVA
- 6-Standard Error (SE)
- 7-Total Carbon Mineralization
- 8-Microbial Respiration
- 9-Inceptisols
- 10-Entisols
- 11-Mollisols
- 12-Metabolic quotient
- 13-Basal Respiration

آنها همچنین اظهار داشتند بالا بودن این ضریب در خاک می‌تواند مبین مصرف کربن خاک جهت تولید انرژی بیشتر باشد، در حالی که پایین بودن آن مصرف کربن خاک جهت رشد میکربی نشان می‌دهد (Moscatteli, et al., 2007).

به طور کلی هر تغییری که در ضریب سوخت و سازی ایجاد می‌شود، ممکن است ناشی از تغییر در سوبستراهای مورد استفاده یک جامعه میکربی بدون آشفستگی، تغییر در ترکیب جوامع میکربی، یا تغییر در وضعیت فیزیولوژیکی جامعه باشد. برخی محققان بیان داشتند که خاکهای تحت آشفستگی نسبت به سایر خاکها مقادیر  $q\text{CO}_2$  بزرگتری نشان می‌دهند (Fernandes, et al., 2005; Suman, et al., 2006; Corstanje, et al., 2007).

فرانکو و همکاران هم اظهار کردند که در مالی‌سول‌ها  $q\text{CO}_2$  کمتر از سایر خاکها افزایش می‌یابد. آنها همچنین کمپوست را به عنوان مؤثرترین ماده اصلاحی در افت  $q\text{CO}_2$  که توانایی کاهش شرایط آشفستگی ناشی از آلودگی نفتی را دارا است، معرفی کردند (Franco, et al., 2004).

### نتیجه‌گیری کلی

به طور کلی می‌توان چنین نتیجه گرفت که کاربرد نیتروژن به علت فراهمی آن در خاک رسی تأثیری بر میزان معدنی شدن تجمع کربن، یا تنفس میکربی ندارد، اما با افزودن نفت خام به خاک فعالیت میکربی و به تبع آن معدنی شدن تجمع کربن افزایش می‌یابد. البته این نکته دارای اهمیت است که میزان تنفس بالای جوامع میکربی همیشه نشان دهنده سطح بالای حاصلخیزی و باروری در اکوسیستم نیست، بلکه می‌تواند بیان کننده آشفستگی و اختلالات اکولوژیکی آن نیز باشد.

افزودن همزمان نیتروژن و نفت خام به خاک بر میزان معدنی شدن کربن نیز تأثیر معنی‌دار نداشت. بنابراین، می‌توان گفت که

### منابع مورد استفاده

جعفری حقیقی م. ۱۳۸۲. روشهای تجزیه خاک، نمونه‌برداری و تجزیه‌های مهم فیزیکی و شیمیایی با تأکید بر اصول تئوری و کاربردی. انتشارات ندای ضحی.

غازان‌شاهی ج. ۱۳۷۶. آنالیز خاک و گیاه. انتشارات مترجم.

لکزبان ا. ۱۳۸۷. میکربیولوژی خاک. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.

- Anderson, J.P.E. 1982. Soil respiration. In: Page A.L. and Miller R.H. (Eds.). *Methods of soil analysis Part 2. chemical and microbiological properties*. American Society of Agronomy, Madison, WI. pp. 831-871.
- Anderson, T.H. 2003. Microbial eco-physiological indicators to assess soil quality. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 98: 285-293.
- Biederbeck, V.O., R.P., Campbell Zentner. 1984. Effect of crop rotation and fertilization on some biological properties of a loam in southwestern Saskatchewan. *Canadian Journal of Soil Science* 64: 355-367.
- Broadbent, F.E., A.G., Norman. 1947. Some factors affecting the availability of organic nitrogen in soil—a preliminary report. *Soil Science Society of America Proceedings* 11: 264-267.
- Chen, J., J.M., Stark. 2000. Plant species effects and carbon and nitrogen cycling in a sagebrush-crested wheatgrass soil. *Soil Biology and Biochemistry* 32: 47-57.
- Corstanje, R., et al. 2007. Soil microbial eco-physiological response to nutrient enrichment in a sub-tropical wetland. *Ecological Indicators* 7: 277-289.
- Fernandes, S.A.P., et al. 2005. Effect of sewage sludge on microbial biomass, basal respiration, metabolic quotient and soil enzymatic activity. *Applied Soil Ecology* 30: 65-77.
- Fogg, K. 1988. The effect of added nitrogen on the rate of decomposition of organic matter. *Biology Review* 63: 433-462.
- Franco, I., et al. 2004. Microbiological resilience of soils contaminated with crude oil. *Geoderma* 121: 17-30.
- Giblin, A.E., et al. 1991. Biogeochemical diversity along a riverside toposequence in arctic Alaska. *Ecological Monographs* 61: 415-435.
- Gee, G.W., J.W., Bauder. 1986. Particle size analysis. In: Klute A. (Ed.). *Methods of soil analysis. Part 1. Physical and mineralogical methods*. Agronomy, Madison, WI. pp. 383-411.
- Graham, M.H., R.J., Haynes, J.H., Meyer. 2002. Soil organic matter content and quality: effects of fertilizer applications, burning and trash retention on a long-term sugarcane experiment in South Africa. *Soil Biology and Biochemistry* 34: 93-102.
- Hart, S.C., et al. 1994. Dynamics of gross nitrogen transformations in an old-growth forest: the carbon connection. *Ecology* 75: 880-891.
- Hassink, J. 1995. Organic matter dynamics and N mineralization in grassland soils. PhD thesis. Wageningen Agricultural University. The Netherlands. pp. 250.
- He, Z.L., et al. 1997. Seasonal responses in microbial biomass carbon, phosphorus and sulphur in soils under pasture. *Biology and Fertility of Soils* 24: 421-428.
- Hutchins, S.R., et al. 1991. Biodegradation of aromatic hydrocarbons by aquifer micro-organisms under denitrifying conditions. *Environmental Science and Technology* 25: 68-76.
- Jackson, L.E. J.P., Schimel and M.K., Firestone. 1989. Short-term partitioning of nitrate and ammonium between plants and microbial biomass in annual grassland. *Soil Biology and Biochemistry* 21: 409-415.
- Jackson, W.A., J.H., Pardue. 1999. Potential for enhancement of biodegradation of crude oil in Louisiana salt marshes using nutrient amendments. *Water, Air and Soil Pollution* 109: 343-355.
- Jenkinson, D.S., J.N., Ladd. 1981. Microbial biomass in soil: measurement and turnover. In: Paul E.A. and Ladd J.N. (Eds.). *Soil Biochemistry* 5 pp. 415-471.

- Jenkinson, D.S., D.S., Powlson .1976. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. V. A method for measuring soil biomass. *Soil Biology and Biochemistry* 8: 209-213.
- Klute, A. 1986. *Methods of soil analysis part 1, physical and mineralogical*. American Society of Agronomy, Madison.
- Kwapisz, E., et al .2008. The effect of nitrate and ammonium ions on kinetics of diesel oil degradation by *Gordonia alkanivorans S7*. *International Biodeterioration and Biodegradation* 61: 214–222.
- Labud, V., C., Garcia , T., Hernandez .2007. Effect of hydrocarbon pollution on the microbial properties of a sandy and a clay soil. *Chemosphere* 66:1863-1871.
- Mahmood, T., et al .1997. Carbon availability and microbial biomass in soil under an irrigated wheat-maize cropping systems receiving different fertilizer treatments. *Biology and Fertility of Soils* 25: 63-68.
- Margesin, R., M., Hammerle , D., Tschirko .2007. Microbial activity and community composition during bioremediation of diesel-oil-contaminated soil: Effects of hydrocarbon concentration, fertilizers, and incubation time. *Microbial Ecology* 53: 259-269.
- Matus, F.J. 1994. Crop residue decomposition, residual soil organic matter and nitrogen mineralization in arable soils with contrasting textures. PhD thesis. Wageningen Agricultural University, The Netherlands, pp. 141.
- McGill, W.B. , M., Nyborg .1975. Reclamation of wet forested soils subjected to oil spills, Rept. Contract OSP3-0073 for Northern forest research center, Edmonton, Alberta Institute of Pedology, Pub. G-75-1, University of Alberta, Edmonton.
- Megharaj, M., et al .2000. Influence of petroleum hydrocarbon contamination on microalgae and microbial activities in a long-term contaminated soil. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 38: 439-445.
- Minai-Tehrani, D., A., Herfatmanesh .2007. Biodegradation of aliphatic and aromatic fractions of heavy crude oil-contaminated soil: A pilot study. *Bioremediation Journal* 11: 71-76.
- Moscatteli, C., et al .2007. Microbial indicators related to soil carbon in mediterranean land use systems *Soil and Tillage Research* 97: 51-59.
- Ndiaye, E.L., et al .2000. Integrative biological indicators for detecting change in soil quality. *American Journal of Alternative Agriculture* 15:20-36.
- Paul, E.A. , F.E., Clark .1996. *Soil microbiology and biochemistry*. (2<sup>nd</sup> ed.). Academic. New York.
- Polglase, P.J. P.M., Attiwill , M.A., Adams .1992. Nitrogen and phosphorus cycling in relation to stand age of *Eucalyptus regnans*. *Plant and Soil* 142:167-176.
- Raiesi, F. 2004. Soil properties and N application effects on microbial activities in two winter wheat cropping systems. *Biology and Fertility of Soils* 40: 88-92.
- Rivera-Espinoza, Y. , L., Dendooven .2004. Dynamics of carbon, nitrogen and hydrocarbons in diesel-contaminated soil amended with biosolids and maize. *Chemosphere* 54:379-386.
- Schimel, J.P. , M.K., Firestone .1989. Inorganic nitrogen incorporation by coniferous forest floor material. *Soil Biology and Biochemistry* 21: 41-46.

Schimel, J.P. , M.N. ,Weintraub .2003. The implications of exoenzyme activity on microbial carbon and nitrogen limitation in soil: a theoretical model. *Soil Biology and Biochemistry* 35: 549-563.

Singh, A. R.C. , Kuhad , O.P. ,Ward .2009. *Advances in Applied Bioremediation. Soil Biology. Volume 17. p. 365.*

Skjemstad, J.O. , J.A. ,Baldock .2008. Total and organic carbon. In: Carter M.R. and Gregorich E.G. *Soil Sampling and Methods of Analysis. (2nd Ed.). CRC Press (Taylor and Francis Group). Canadian Society of Soil Science. pp. 225-238*

Suman, A. ,et al .2006. Microbial biomass turnover in Indian subtropical soils under different sugarcane intercropping systems. *Agronomy Journal* 98: 698-704.

Vance, E.D. , F.S. III. ,Chapin .2001. Substrate limitations to microbial activity in taiga forest floors. *Soil Biology and Biochemistry* 33: 173-188.

Van Elsas, J.D. J.K. ,Jansson , J.T.,Trevors .2007. *Modern Soil Microbiology. (2<sup>nd</sup> ed.). CRC Press (Taylor and Francis Group).Boca Raton. p. 646.*

Van Vuuren, M.M.I. ,L.J. ,Van der Eerden .1992. Effects of three rates of atmospheric nitrogen deposition enriched with 15N on litter decomposition in a peatland. *Soil Biology and Biochemistry* 24: 527-532.

Waksman, S.A. , K.R. ,Stevens .1929. Contribution to the chemical composition of peat: V. The role of microorganisms in peat formation and decomposition. *Soil Science* 28: 315-340.

Witter, E. , A.,Kanal .1998. Characteristics of the soil microbial biomass in soils from a long-term field experiment with different levels of C input. *Applied Soil Ecology* 10: 37-49.

Yang, H. ,et al .2007. Influences of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) on soil microbial community composition with or without Vegetation. *Journal of Environmental Science and Health Part A. 42: 65-72.*