

تأثیر لجن فاضلاب بر شاخص بیومس میکروبی خاک، فعالیت‌های آنزیمی و عملکرد گیاه ذرت

سعید حجتی، فرشید نوربخش و کاظم خاوازی^{۱*}

چکیده

ورود مواد آلی به خاک با تأثیر بر ویژگی‌های مختلف فیزیکی، شیمیایی، تغذیه‌ای و بیولوژیکی خاک می‌تواند سبب بهبود و یا افزایش رشد گیاهان شود. در اثر فرایندهای میکروبی و تحت تأثیر آنزیم‌های درون و برون سلولی، با تغییر شکل عناصر از شکل آلی به شکل معدنی، زمینه برای افزایش رشد گیاهان فراهم می‌شود. هدف از این مطالعه بررسی تأثیر سطوح و دفعات مختلف کوددهی با لجن فاضلاب بر فعالیت آنزیم‌های ال‌گلوتامیناز، فسفاتاز قلیایی، آریل سولفاتاز و بتاگلوکوزیداز، شاخص بیومس میکروبی و عملکرد گیاه ذرت است. به این منظور سطوح صفر، ۲۵ و ۱۰۰ مگاگرم برهکتار لجن فاضلاب (به عنوان سطوح کوددهی) و تعداد یک، ۲، ۳ و ۴ مرتبه کوددهی (به عنوان دفعات کوددهی بین سال‌های ۱۳۷۸ تا ۱۳۸۱) در نظر گرفته شد. آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی و در سه تکرار انجام گردید. نمونه‌های خاک ۶ ماه پس از چهارمین کوددهی از عمق ۰ تا ۱۵ سانتیمتری خاک برداشت گردید. نتایج نشان داد که کربن آلی و نیتروژن کل خاک با افزایش مقدار و دفعات کوددهی با لجن فاضلاب به صورت معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت. در هر یک از سطوح کودی نیز با افزایش دفعات کوددهی (از یک تا چهار بار) این روند افزایشی دیده شد. افزایش مقدار و دفعات کوددهی با لجن فاضلاب سبب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های ال‌گلوتامیناز، فسفاتاز قلیایی، آریل سولفاتاز، بتاگلوکوزیداز، شاخص بیومس میکروبی و عملکرد گیاه ذرت نسبت به تیمار شاهد شد. در هر یک از سطوح کودی بیشترین افزایش فعالیت‌های آنزیمی، شاخص بیومس میکروبی و عملکرد گیاه ذرت متعلق به تیمار چهار بار کوددهی بود. کمترین مقدار ویژگی‌های فوق در تیمار شاهد یافت گردید. بین فعالیت‌های آنزیمی و شاخص بیومس میکروبی و عملکرد گیاه ذرت همبستگی معنی‌داری مشاهده گردید. به طور کلی کاربرد لجن فاضلاب با افزایش کربن آلی و نیتروژن کل خاک و فعالیت‌های آنزیمی میزان عملکرد تنوع زیستی^۲ را در خاک‌های تیمار شده با لجن فاضلاب افزایش داد.

واژه‌های کلیدی: لجن فاضلاب، فعالیت‌های آنزیمی، شاخص بیومس میکروبی و عملکرد گیاه ذرت

مقدمه

تأمین مواد غذایی مورد نیاز گیاه بگذارد. کمبود مواد آلی در خاک‌های کشاورزی از یک سو و تولید انبوه مواد زائد و مشکلات زیست محیطی حاصل از آنها از سوی دیگر، ایجاب می‌کند که این مواد به نحو مطلوب و آگاهانه به عنوان کود آلی مورد استفاده قرار بگیرند. کاربرد لجن فاضلاب در زمین‌های کشاورزی می‌تواند منجر به آلودگی این اراضی به فلزات سنگین شود. اگر چه این کار مقادیر قابل توجهی از عناصر غذایی و مواد آلی به خاکها می‌افزاید اما در بسیاری از کشورها قوانینی برای محدودیت استفاده از لجن فاضلاب در

افزودن مواد آلی به خاک از راه‌های مختلف سبب بهبود و یا افزایش رشد گیاهان می‌شود. از جمله اثرات مواد آلی می‌توان به خاصیت تغذیه‌ای آن که حاصل حضور اکثر عناصر غذایی مورد نیاز گیاهان می‌باشد، اشاره نمود (ملکوتی، ۱۳۷۵). با توجه به کمبود مواد آلی در خاک‌های مناطق خشک و نیمه خشک و همچنین اثرات سوء ناشی از کشاورزی فشرده، استفاده از کودهای آلی مناسب می‌تواند اثرات مفیدی بر خواص فیزیکی و

۱- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار گروه خاک‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان و استادیار پژوهش

موسسه تحقیقات آب و خاک

* وصول: ۸۴/۱/۲۱ و تصویب: ۸۴/۱۰/۲۲

اراضی کشاورزی وجود دارد.

Frankenberger و همکاران (۱۹۸۳) گزارش کردند که اضافه کردن مقادیر کم لجن فاضلاب (کمتر از ۱۰ تن در هکتار) به خاک منجر به کاهش فعالیت آنزیم اوره‌آز شد. اما در مقادیر زیاد کاربرد لجن فاضلاب (۲۵ تا ۱۰۰ تن در هکتار)، فعالیت این آنزیم به طور مشخص افزایش یافت. این محققین، کاهش اولیه را به غلظت زیاد فلزات سنگین موجود در لجن فاضلاب و افزایش ثانویه را به افزایش میزان مواد آلی و عناصر غذایی مورد نیاز برای رشد میکروارگانیسم‌ها و در نتیجه تحریک فعالیت‌های میکروبی و سنتز آنزیم نسبت دادند (Frankenberger و همکاران، ۱۹۸۳). همچنین Gagnon و همکاران (۲۰۰۰) اثر اضافه کردن لجن کارخانه‌های کاغذسازی را طی یک تناوب زراعی ذرت شیرین- کلم بر فعالیت‌های آنزیمی خاک بررسی کردند. نتایج این آزمایش نشان داد که در تیمار لجن بلافاصله پس از اضافه کردن آن، فعالیت آنزیم‌های اسید و فسفاتاز قلیایی و آریل سولفاتاز نسبت به تیمارهای کود شیمیایی و شاهد افزایش یافت. این افزایش به بالا بودن مقدار کربن لجن و در نتیجه افزایش فعالیت میکروبی خاک و تولید آنزیم‌ها بوسیله آنها، نسبت داده شد. همچنین نتایج این مطالعه نشان داد که به تدریج از فعالیت‌های آنزیمی خاک کاسته شد و در نهایت سطح فعالیت آنزیمی خاک به سطح معادل تیمار شاهد کاهش یافت. این محققین کاهش فعالیت آنزیمی را به کاهش انرژی قابل دسترس میکروارگانیسم‌ها بر اثر تجزیه شدن لجن با گذشت زمان نسبت دادند (Gagnon و همکاران، ۲۰۰۰). بیشتر اطلاعات جمع آوری شده از اراضی تیمار شده با لجن فاضلاب به بررسی عناصر غذایی، آبشویی عناصر و فراوانی و قابلیت جذب آنها برای گیاهان اختصاص یافته و تأثیرپذیری آنزیم‌های مهم و اساسی خاک کمتر مورد توجه قرار گرفته است. بررسی این آنزیم‌ها در اراضی تیمار شده با لجن فاضلاب می‌تواند اطلاعات مفید و سودمندی از تأثیر این نوع از کودها بر تنوع زیستی خاک به عنوان یکی از شاخص‌های مهم پایداری اکوسیستم خاک ارائه دهد (Dick و Burns، ۲۰۰۲). از آنجا که عناصر افزوده شده به خاک از طریق لجن فاضلاب دارای منشأ آلی بودند، آنزیم‌هایی در نظر گرفته شد که در بازچرخ عناصر از شکل آلی به معدنی دخالت داشتند. بتاگلوکوزیداز آنزیمی است که دایمرهای بتا - دی گلوکوزیدی (سلوبیوز) را به گلوکز شکسته و زمینه را برای تأمین منبع کربن و انرژی میکروارگانیسم‌های هتروتروف خاک را مهیا می‌سازد. در حقیقت این آنزیم آخرین مرحله از مراحل برون سلولی کاتالیز مواد سلولزی

را در خاک انجام می‌دهد. آنزیم آل - گلوتامیناز پیوندهای کربن - نیتروژن غیر پپتیدی را از مولکول آل - گلوتامین شکسته و به معدنی شدن نیتروژن و تبدیل آن به اشکال قابل جذب گیاهی کمک می‌نماید. فسفاتاز قلیایی نیز باعث رهاسازی گروه‌های فسفات از قالب مولکولهای آلی در pHهای بالاتر از ۷ می‌شود. همچنین آنزیم آریل سولفاتاز گروه سولفات را از مولکول‌های آلی حلقوی جدا می‌نماید و برای گیاهان و سایر موجودات زنده خاک قابل استفاده باشد. هدف از این مطالعه بررسی تأثیر سطوح و دفعات مختلف کاربرد لجن فاضلاب بر شاخص بیومس میکروبی، فعالیت آنزیم‌های آل گلوتامیناز، فسفاتاز قلیایی، آریل سولفاتاز، بتا گلوکوزیداز و عملکرد گیاه ذرت است.

مواد و روشها

الف- توصیف منطقه مورد مطالعه و اعمال تیمارها

این تحقیق در ایستگاه تحقیقاتی دانشگاه صنعتی اصفهان واقع در لورک نجف آباد صورت گرفت. ارتفاع ایستگاه از سطح دریا ۱۶۳۰ متر و بر طبق تقسیم بندی کوپن دارای اقلیم خشک و نیمه خشک با تابستان‌های خنک و خشک می‌باشد. متوسط بارندگی و دمای سالانه منطقه با استفاده از آمار سال‌های ۱۳۳۹ تا ۱۳۸۰ به ترتیب ۱۴۰ میلی متر و ۱۴/۵ درجه سانتیگراد است. خاک منطقه آهکی بوده و بر روی تراس‌های بالایی رودخانه زاینده رود تشکیل شده و دارای افق سطحی اکریک و افق مشخصه تحت‌الارضی آرجیلیک است. این خاک متعلق به فامیل فاین لومی، می‌کسد، ترمیک، تیپیک هاپل آرجید^۱ می‌باشد. این آزمایش در قالب یک طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. سطوح صفر، ۲۵ و ۱۰۰ مگاگرم در هکتار لجن فاضلاب در پاییز سال ۱۳۷۸ به کرت‌هایی با ابعاد ۱۵×۳ متر اعمال گردید. لجن مورد استفاده از کارخانه تصفیه فاضلاب شمال اصفهان تأمین گردید که عمدتاً منشأ فاضلاب شهری دارد. در پاییز سال ۱۳۷۹ هر یک از کرت‌های کود داده شده به دو قسمت نامساوی ۱۲×۳ و ۳×۳ متر تفکیک شد و تنها قسمت بزرگتر (۱۲×۳) و معادل با مقدار سال اول لجن فاضلاب دریافت نمود. در پاییز سال ۱۳۸۰ کرت‌های ۱۲×۳ متری که دوبار لجن فاضلاب دریافت کرده بودند به دو کرت نامساوی ۹×۳ و ۳×۳ متری تقسیم شد. کرت بزرگتر (۹×۳) برای بار سوم و معادل با مقدار سال‌های اول و دوم، لجن فاضلاب دریافت کرد. در پاییز سال ۱۳۸۱، کرت‌های ۹×۳ متری که سه بار لجن فاضلاب دریافت کرده بودند به دو کرت نامساوی ۳×۳ و ۶×۳ متری تقسیم شده و کرت بزرگتر

ج- پردازش داده‌ها

تجزیه و تحلیل آماری شامل تجزیه واریانس و مقایسات میانگین با استفاده از نرم افزار SAS و رسم نمودارها با کمک نرم افزار Excel انجام شد. جهت تجزیه‌های تبیعی^۲ و رسم پلات مربوط به آنها، و تجزیه و تحلیل رگرسیون نیز از نرم افزار SYSTAT استفاده گردید (Turner و همکاران، ۲۰۰۱). برای نشان دادن همزمان خصوصیات اندازه‌گیری شده از نمودار تلفیقی (شکل ۱) استفاده شد. بدین منظور ابتدا هر یک از خصوصیات اندازه‌گیری شده به اعداد بین صفر تا یک تبدیل شدند (ماکزیمم مقدار هر خصوصیت برابر یک فرض گردید و سایر مقادیر به صورت نسبتی از آن محاسبه شد) و آنگاه در قالب یک دستگاه مختصات هم مبدا پنج محوره نشان داده شدند. سطح محصور هر یک از تیمارها نشان دهنده وسعت تلفیقی هر پنج خصوصیت می‌باشد.

نتایج و بحث

برخی خصوصیات مهم خاک مزرعه لورک در جدول ۱ نشان داده شده است. بررسی این خاک نشان داد که خاک مورد مطالعه دارای بافت لوم رسی سلیتی می‌باشد. از نظر شوری خاک، هدایت الکتریکی عصاره اشباع این خاک کمتر از ۴ دسی‌زیمنس بر متر بود که نشان دهنده غیر شور بودن این خاک است. با توجه به آهکی بودن مواد مادری این خاک، وجود مقادیر بالای کربنات کلسیم در آن امری طبیعی به نظر می‌رسد. از دلایل بالا بودن pH این خاک نیز می‌توان وجود مقادیر بالای کربنات کلسیم را ذکر کرد. خاک مورد مطالعه دارای فقر ماده آلی است (جدول ۱). لازم به ذکر است که لجن فاضلاب مورد استفاده در انجام این تحقیق غنی از عناصری مانند نیتروژن ($4/73 \text{ g kg}^{-1}$) و کربن آلی ($19/4 \text{ g kg}^{-1}$) بوده و دارای pH اسیدی ($\text{pH} = 7/4$) بود. هدایت الکتریکی لجن فاضلاب مورد استفاده نیز معادل $9/4$ دسی‌زیمنس بر متر بود. مقدار آهن، مس، روی، منگنز، کادمیوم، سرب، کروم، کبالت و نیکل نیز به ترتیب 17165 ، 130 ، 355 ، 710 ، 5 ، 113 ، $1/5$ ، 13 و 56 میلی‌گرم در کیلوگرم لجن خشک بود.

کربن آلی و نیتروژن کل خاک

کمترین مقدار کربن آلی خاک ($4/73 \text{ g kg}^{-1}$) در تیمار شاهد یافت گردید. در کلیه تیمارهای دریافت کننده کود، مستقل از سطح و دفعات کوددهی، کربن آلی نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌دار یافت (جدول ۲). در سطح 25 مگاگرم بر هکتار، با افزایش دفعات کوددهی، کربن آلی نیز افزایش یافت به گونه‌ای که در تیماری که چهار بار متوالی 25 مگاگرم بر هکتار لجن فاضلاب دریافت کرده بود

(6×3) برای بار چهارم و معادل با سال‌های قبل لجن فاضلاب دریافت نمود. همچنین در سال ۱۳۸۱ در کلیه قطعات تیمار شده، گیاه ذرت رقم سینگل کراس ۷۰۴ کشت و تأثیر عملیات فوق بر عملکرد آن مورد بررسی قرار گرفت.

ب- مراحل آزمایشگاهی

شش ماه پس از چهارمین کوددهی با در نظر گرفتن حدود نیم متر به عنوان حاشیه، نمونه‌برداری مرکب از عمق ۰-۱۵ سانتیمتری خاک انجام شد. جهت نمونه‌برداری مرکب، از نقاط مختلف کرت نمونه‌های خاک گرفته شد و سپس با یکدیگر مخلوط شدند. پس از انتقال نمونه‌های خاک به آزمایشگاه و هوا خشک شدن (به مدت یک هفته در محیط آزمایشگاه) نمونه‌های خاک به طور جداگانه کوبیده و از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شدند.

فعالیت آنزیم‌های ال-گلوتامیناز، فسفاتاز قلیایی، آریل سولفاتاز و بتاگلوکوزیداز با استفاده از روش‌های بیان شده بوسیله طباطبایی (Tabatabai، ۱۹۹۴) اندازه‌گیری شد. برای تعیین شاخص بیومس میکروبی از روش پرتوتابی-جذب استفاده شد (Turner و همکاران، ۲۰۰۱؛ Wang و همکاران، ۲۰۰۱). در این روش ابتدا نمونه‌های خاک به میزان ۵ گرم توزین و رطوبت هر نمونه در ۶۰ درصد گنجایش رطوبتی خاک^۱ تنظیم گردید و سپس با استفاده از دستگاه میکروویو، به مدت ۲ دقیقه با انرژی ۱۰۰۰ وات پرتوتابی شد (Wang و همکاران، ۲۰۰۱). پس از آن به هر یک از نمونه‌های پرتوتابی شده ۲۰ میلی لیتر سولفات پتاسیم نیم مولار افزوده گردید و آنگاه نمونه‌ها به مدت یک ساعت با دور ۲۵۰ دور در دقیقه در وضعیت افقی بوسیله دستگاه شیکر تکان داده شدند. پس از آن سوسپانسیون موجود برای مدت ۷ دقیقه با سرعت 4000 دور در دقیقه سانتریفوژ و سپس با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ صاف گردید. میزان جذب نور عصاره‌های فوق در طول موج 280 نانومتر (محدوده فرابنفش) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل UV-160A Shimadzu اندازه‌گیری شد (Turner و همکاران، ۲۰۰۱).

برخی از خصوصیات لجن فاضلاب و همچنین ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه از قبیل بافت خاک، کربن آلی، نیتروژن کل، ظرفیت تبادل کاتیونی، درصد کربنات کلسیم معادل، pH و هدایت الکتریکی با استفاده از روش‌های معمول و استاندارد تعیین گردیدند (Page و همکاران، ۱۹۸۲).

از ۲ سال از آخرین کوددهی، بخش نیتروژن قابل معدنی شدن^۱ خارج شده و یا بوسیله گیاه جذب شده و یا آبشویی گردیده است. در این راستا Hernandez و همکاران (۲۰۰۲) نیز افزایش معنی‌دار نیتروژن کل خاک را در نتیجه افزودن لجن فاضلاب گزارش نمودند. همچنین Adegbedi و Briggs (۲۰۰۳) نشان دادند که کاربرد لجن فاضلاب، معدنی شدن نیتروژن را افزایش می‌دهد. به طور کلی از آنجا که لجن فاضلاب کودی غنی از نیتروژن است، افزایش نیتروژن کل قابل پیش بینی است، لیکن لازم است در آینده سیتیک معدنی شدن نیتروژن از این منبع کودی مورد بررسی قرار گیرد.

شاخص بیومس میکروبی

الگوی تغییرات شاخص بیومس میکروبی نیز مانند مانند الگوی تغییرات کربن آلی خاک است (جدول ۲). اگرچه بین تیمار شاهد و تیماری که تنها یک بار در سال ۱۳۷۸ به میزان ۲۵ مگاگرم بر هکتار لجن فاضلاب دریافت نموده اختلاف معنی‌داری وجود ندارد لیکن همچنان کمترین میزان شاخص بیومس میکروبی در تیمار شاهد مشاهده می‌شود. در هر یک از سطوح کودی با افزایش دفعات کوددهی بر میزان شاخص بیومس میکروبی خاک افزوده شد به گونه‌ای که بیشترین مقدار آن در تیماری که ۴ بار پیاپی به میزان ۱۰۰ مگاگرم بر هکتار کود دریافت کرده بود، مشاهده گردید (جدول ۲). چنین به نظر می‌رسد که هم سویی الگوی تغییرات شاخص بیومس میکروبی و کربن آلی خاک از آنجا است که با افزایش کربن آلی در واقع بر میزان سوبستراهای (منابع کربن، انرژی، نیتروژن و غیره) مورد نیاز جمعیت‌های میکروبی هتروتروف افزوده شده و لاجرم جمعیت میکروبی افزایش می‌یابد. چنان که انتظار می‌رود، افزونی جمعیت میکروبی عمدتاً تابع کربن لیبایل (ناپایدار) کود است لذا در تیمارهایی که دفعات متعدد کود دریافت کرده و از آخرین بار کوددهی زمان کمتری می‌گذرد، به دلیل حضور مقادیر بیشتر کربن لیبایل (ناپایدار)، جمعیت بیشتری مورد حمایت قرار می‌گیرد (Albiach و همکاران، ۲۰۰۰).

فعالیت آنزیم ال-گلوتامیناز

کمترین مقدار فعالیت آنزیم ال-گلوتامیناز در تیمار شاهد مشاهده شد. بین تیمار شاهد و تیماری که در سال ۱۳۷۸ تنها یک بار کوددهی شده بود اختلاف معنی‌داری دیده نشد. کاهش مواد قابل تجزیه پس از گذشت چهار سال از کوددهی باعث کاهش شاخص بیومس میکروبی به عنوان شاخصی از سطح فعالیت میکروبی شده است که منجر به کاهش سستز این آنزیم

کربن آلی به $20/2 \text{ g kg}^{-1}$ افزایش یافت که تقریباً ۵ برابر تیمار شاهد بود (جدول ۲). در سطح ۱۰۰ مگاگرم بر هکتار نیز با افزایش دفعات کوددهی، روند افزایش کربن آلی خاک ملاحظه گردید. در تیماری که چهار بار متوالی به میزان ۱۰۰ مگاگرم بر هکتار لجن فاضلاب دریافت کرده بود، کربن آلی خاک به $43/3 \text{ g kg}^{-1}$ افزایش یافت که این میزان در مقایسه با تیمار شاهد در حدود ۱۰ برابر افزایش نشان داد (جدول ۲). نکته جالب توجه آن است که کربن آلی در خاک‌هایی که تنها یک بار در سال ۱۳۷۸ به میزان ۲۵ و ۱۰۰ مگاگرم بر هکتار لجن فاضلاب دریافت کرده بودند، با هم اختلاف معنی‌دار نشان ندادند ($7/5$ در مقابل $9/4$ گرم بر کیلوگرم). چنین به نظر می‌رسد که با گذشت زمان از کوددهی، بخش تجزیه پذیر لجن فاضلاب تجزیه شده و تنها بخش مقاوم به تجزیه در خاک باقی می‌ماند که این بخش قادر نیست اختلاف معنی‌داری بین سطوح ۲۵ و ۱۰۰ مگاگرم بر هکتار ایجاد نماید. در سایر دفعات کوددهی بین سطوح ۲۵ و ۱۰۰ مگاگرم بر هکتار اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. تجدید ذخایر کربن آلی خاک بوسیله لجن فاضلاب باعث حفظ اختلاف بین کربن آلی در تیمارهای ۲۵ و ۱۰۰ مگاگرم بر هکتار شده است. چنین پیش بینی می‌شود که با قطع کوددهی و با گذشت زمان و تجزیه بخش لیبایل (ناپایدار) کربن آلی، اختلاف بین تیمارهایی که سطوح مختلف لجن فاضلاب دریافت نموده‌اند کاهش یابد. همچنین Olivera و همکاران (۲۰۰۰) اظهار داشتند که پس از گذشت یک سال از کاربرد لجن فاضلاب، مقدار کربن آلی خاک افزایش یافت. در انتهای سال دوم، تنها در کرت‌هایی که در سال اول لجن فاضلاب دریافت نموده بودند، سطح کربن آلی خاک کاهش یافت اما در کرت‌هایی که دو سال متوالی لجن دریافت کرده بودند یک افزایش تجمعی در مقدار کربن آلی خاک مشاهده شد. این نتیجه با نتایج تحقیق حاضر هم‌مانگی دارد. تأثیرپذیری نیتروژن کل خاک از کوددهی با لجن فاضلاب کمایش مانند کربن آلی خاک است. چنان‌که با افزایش دفعات کوددهی میزان نیتروژن کل افزایش می‌یابد. این وضعیت در دو سطح ۲۵ و ۱۰۰ مگاگرم بر هکتار به‌طور مشابه دیده شد (جدول ۲). کمترین مقدار نیتروژن کل در تیمار شاهد ($0/66 \text{ g kg}^{-1}$) و بیشترین آن در تیماری بود که چهار بار متوالی ۱۰۰ مگاگرم بر هکتار لجن فاضلاب دریافت کرده بود ($6/65 \text{ g kg}^{-1}$). این اختلاف حدوداً ۱۰ برابری در مورد کربن آلی نیز مشاهده گردید. تیمارهایی که تنها یک یا دو بار کود دریافت کرده‌اند (سال‌های ۱۳۷۸ و ۱۳۷۹) مستقل از سطح کود دریافت شده، اختلاف بزرگی با هم ندارند زیرا پس از گذشت بیش

فعالیت آنزیم آریل سولفاتاز

آنزیم آریل سولفاتاز نیز تحت تأثیر تعداد و سطح کوددهی است (جدول ۴). تأثیرپذیری این آنزیم از سطح کربن آلی، گوگرد آلی و بیومس میکروبی بوسیله Farrel و همکاران (۱۹۹۴) گزارش گردیده است. استرهای سولفاتی با حضور مواد آلی بیشتر افزایش یافته و تولید این آنزیم را القا می‌نمایند (Farrel و همکاران، ۱۹۹۴)، به علاوه حضور مولکول‌های برون سلولی این آنزیم به صورت جذب سطحی شده و ایموبیلیزاسیون آنها در حضور کربن آلی بیشتر، افزایش می‌یابد. لذا با افزایش سطح و دفعات کوددهی، فعالیت این آنزیم فزونی یافته است (جدول ۲). به علاوه ارتباط خطی که بین فعالیت این آنزیم و شاخص بیومس میکروبی وجود دارد (جدول ۳) حاکی از آن است که با افزایش جمعیت میکروبی، سنتز این آنزیم افزایش می‌یابد.

فعالیت آنزیم بتاگلوکوزیداز

کمترین سطح فعالیت بتاگلوکوزیداز در تیمار شاهد یافت شد. از آنجا که این آنزیم مولکول‌های سلوبیوز را به گلوکز می‌شکند، می‌تواند منعکس کننده حضور نوع خاصی از سویسترای کربن دار در خاک باشد. Deng و Tabatabai (۱۹۹۶) نشان دادند که فعالیت این آنزیم به شدت تحت تأثیر مدیریت بقایای گیاهی قرار می‌گیرد. در سیستم‌های بدون شخم که بقایای گیاهی روی سطح خاک قرار می‌گیرد به دلیل تأثیر القاکننده سویسترای این آنزیم بر سنتز آنزیم، فعالیت آن افزایش می‌یابد (Deng و Tabatabai، ۱۹۹۶). نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که علی‌رغم آن که لجن فاضلاب یک ترکیب نا همگن بوده و به اندازه بقایای گیاهی حاوی مشتقات سلولز نیست، با این وجود، این کود بر سطح فعالیت بتاگلوکوزیداز تأثیر افزایش‌دهنده داشته است. این که مکانیسم افزایش فعالیت این آنزیم در تیمارهای لجن فاضلاب بیشتر تحت تأثیر حضور سلوبیوز موجود در این کود است یا ناشی از تحریک عمومی جمعیت میکروبی است، موضوعی است که لازم است در آینده مورد مطالعه قرار بگیرد. به هر حال افزایش سطح و دفعات کوددهی باعث افزایش فعالیت این آنزیم در خاک گردید (جدول ۲) و این افزایش از روندی مشابه با تغییرات کربن آلی و شاخص بیومس میکروبی برخوردار بود (جدول ۳).

رفتارهای مشابه چهار آنزیم مورد مطالعه، حکایت از آن دارد که عوامل کنترل کننده این آنزیم‌ها در خاک مشابه می‌باشند. از آنجا که آنزیم‌های فوق هر یک مسئول انجام فرآیند هیدرولیز آنزیمی بخشی از ترکیبات آلی هستند افزایش همه آنها حاکی از آن است که جمعیت

گردیده است. الگوی تغییرات آنزیم ال-گلوتامیناز تابعی از تغییرات مواد آلی است. بین فعالیت آنزیم ال-گلوتامیناز و کربن آلی خاک همبستگی معنی‌داری وجود دارد (جدول ۳). وجود ارتباط خطی معنی‌دار بین فعالیت آنزیم ال-گلوتامیناز و کربن آلی خاک پیش از این بوسیله گزارش شده است (Frankenberger و Tabatabai، ۱۹۹۱). این محققین وجود ارتباط معنی‌دار بین کربن آلی و فعالیت آنزیم ال-گلوتامیناز را به نقش کربن آلی در تأمین نیازمندی‌های جامعه میکروبی و سپس به نقش مواد آلی در جذب و ایموبیلیزه کردن مولکول‌های آنزیم و حفاظت آن در خاک نسبت دادند. وجود چنین ارتباطی در مورد آنزیم ال-آسپاراژیناز نیز گزارش شده است (Nourbakhsh، ۲۰۰۲). در مطالعه حاضر، با توجه به افزایش شاخص بیومس میکروبی در اثر کوددهی، می‌توان اظهار داشت که با افزایش کربن قابل تجزیه، امکان افزایش رشد جمعیت میکروبی فراهم شده و این جمعیت سطح بالاتری از فعالیت آنزیم ال-گلوتامیناز را ایجاد کرده است. بین شاخص بیومس میکروبی و فعالیت آنزیم ال-گلوتامیناز همبستگی معنی‌داری ملاحظه گردید (جدول ۳). از سوی دیگر شواهدی در دست است که نشان می‌دهد حضور کربن آلی بیشتر در خاک، علاوه بر آن که امکان فعالیت بیشتر میکروب‌ها را در خاک فراهم می‌کند، جذب مولکول‌های آنزیم را روی سطوح کلونیدهای آلی فراهم و باعث می‌شود که مولکول‌های آنزیم به صورت برون سلولی به فعالیت خود ادامه دهند. حضور مولکول‌های آنزیم روی سطوح کلونیدهای آلی باعث تداوم تأثیر آنها و حفاظت آنها در مقابل صدمات ناشی از فعالیت پروتئازهای خاک می‌شود (Nannipieri و همکاران، ۱۹۹۶).

فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی

الگوی تأثیرپذیری آنزیم فسفاتاز قلیایی نیز تحت تأثیر سطح و دفعات کوددهی است (جدول ۴). کمترین و بیشترین فعالیت این آنزیم نیز به ترتیب در تیمار شاهد و تیماری که چهار بار پیاپی به میزان ۱۰۰ مگاگرم برهکتار کوددهی شده است، ملاحظه می‌شود. وجود ارتباط معنی‌دار بین فعالیت این آنزیم با کربن آلی و شاخص بیومس میکروبی (جدول ۳)، مکانیسم‌های عنوان شده در مورد آنزیم ال-گلوتامیناز را تقویت می‌نماید. وجود ارتباط معنی‌دار بین فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی و کربن آلی خاک پیش از این نیز گزارش شده است. حضور ترکیبات آلی بیشتر در خاک منجر به افزایش مقدار ترکیبات استری فسفات و در نتیجه، باعث القای تولید آنزیم فسفاتاز غلیایی در خاک می‌شود (Tabatabai، ۲۰۰۳).

را در خاک افزایش می‌دهد. همین محقق با استفاده از روش عصاره‌گیری مرحله‌ای دریافت که افزایش فلزات سنگین فوق‌الذکر بیش از آن که در بخش قابل جذب (قابل عصاره‌گیری با AB-DTPA) صورت گیرد در بخش کربناتی و محبوس شده اتفاق می‌افتد (خدیوی، ۱۳۸۲). یافته‌های تحقیق حاضر با یافته‌های خدیوی موافقت دارد زیرا اگر فلزات فوق‌عمدتاً به بخش قابل جذب راه یافته بودند، انتظار می‌رفت از شاخص بیوس میکروبی و فعالیت‌های آنزیمی کاسته شده و به طور کلی میزان عملکرد زیستی کاهش یابد، حال آنکه یافته‌های تحقیق حاضر نشان می‌دهد فعالیت جمعیت میکروبی (شاخص بیوس میکروبی) و آنزیم‌های چهارگانه مورد مطالعه بیش از آنکه تحت تأثیرات کاهنده و ممانعت‌کننده فلزات سنگین موجود در لجن فاضلاب باشند، تحت تأثیر افزایش و تحریک‌کننده کربن آلی قابل تجزیه، آمینواسیدهای فراوان، ترکیبات غنی از استرهای فسفری و گوگردی واقع شده و لذا افزایش یافته‌اند.

میکروبی خاک با دریافت کود لجن فاضلاب از سطح فعالیت بالاتری برخوردار شده و امکان سنتز مقادیر بیشتر آنزیم‌های چهارگانه فوق‌فراهم آمده است. چنین به نظر می‌رسد که لجن فاضلاب تنوع عملکرد زیستی خاک را افزایش داده است و این افزایش در هیدرولیز آنزیمی ترکیبات آلی در چهار چرخه نیتروژن، فسفر، گوگرد و کربن به خوبی رویت گردید. همچنان که قبلاً ذکر شد برای نشان دادن همزمان خصوصیات اندازه‌گیری شده از نمودار تلفیقی (شکل ۱) استفاده شد. در این نمودار سطح محصور هر یک از تیمارها نشان‌دهنده وسعت تلفیقی هر پنج خصوصیت می‌باشد. افزایش سطح محصور نشان از افزایش عملکرد جامعه زیستی خاک است (Dick و Burns، ۲۰۰۲). بیشترین سطح محصور منحنی، که حاکی از بیشترین میزان فعالیت‌های آنزیمی و میکروبی است، در نتیجه کاربرد لجن فاضلاب به میزان ۱۰۰ مگاگرم بر هکتار دیده می‌شود (شکل ۱).

خدیوی (۱۳۸۲) دریافت که استفاده از لجن فاضلاب غلظت کل فلزات سنگین سرب، نیکل و کادمیوم

جدول ۱- برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه

واحد	مقادیر	خصوصیات
g kg ⁻¹	۵	کربن آلی
g kg ⁻¹	۰/۶۶	نیتروژن کل
g kg ⁻¹	۳۹۵/۳	کربنات کلسیم معادل
g kg ⁻¹	۱۳۶	شن
g kg ⁻¹	۵۰۶/۸	سیلت
g kg ⁻¹	۳۵۷/۲	رس
Cmol ⁽⁺⁾ kg ⁻¹	۳۳/۶	ظرفیت تبادل کاتیونی
dS m ⁻¹	۱/۶	EC _e
-	۸/۳	pH

EC_e = هدایت الکتریکی عصاره اشباع

جدول ۲- اثر کاربرد لجن فاضلاب بر شاخص‌های مورد مطالعه

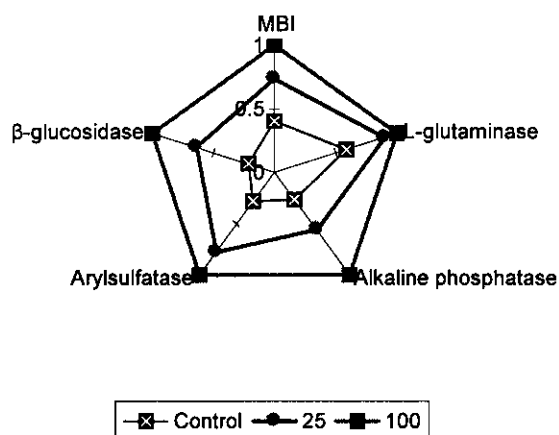
شاخص تیمار کودی (Mg/ha)	TN g kg ⁻¹	OC g kg ⁻¹	MBI Absorbance	L-glutaminase mg N-NH ₄ ⁺ kg ⁻¹ soil 2hr ⁻¹	Alkaline phosphatase mg PNP kg ⁻¹ soil hr ⁻¹	Arylsulfatase mg PNP kg ⁻¹ soil hr ⁻¹	βglucosidase mg PNP kg ⁻¹ soil hr ⁻¹	Yield Mg ha ⁻¹
۰ (شاهد)	۰/۶۶ f	۴/۷g	۰/۲۵۷f	۱۷۶/۹ f	۱۰۶/۶g	۱۲۹/۱g	۴۳/۶h	۱۰/۴c
۲۵	۱/۱۸ef	۷/۵ f	۰/۲۸۷f	۱۸۶/۴ef	۱۷۰/۶f	۲۲۴/۱f	۶۸/۳g	۲۳/۹ed
۲۵+۲۵	۱/۷۲de	۸/۲ f	۰/۲۴۹f	۲۳۲/۰d	۱۹۴/۵f	۲۹۷/۴de	۱۲۸/۹e	۳۷/۹cd
۲۵+۲۵+۲۵	۲/۰۶ d	۱۱/۴e	۰/۵۷۴d	۳۰/۱۹ c	۲۳۵/۲e	۴۶۳/۷c	۱۴۹/۳d	۴۴/۶bcd
۲۵+۲۵+۲۵+۲۵	۲/۹۳ c	۲۰/۲ c	۰/۷۳۳b	۳۵۸/۶ b	۳۱۹/۵c	۵۴۵/۹b	۱۷۳/۷c	۵۶/۴bc
۱۰۰	۱/۶۵de	۹/۴ f	۰/۴۳۰e	۲۱۵/۳de	۲۴۱/۷e	۲۸۰/۷e	۱۰۹/۳f	۵۱/۵bc
۱۰۰+۱۰۰	۲/۱۶ d	۱۷/۶ d	۰/۵۴۰d	۲۴۲/۸ d	۲۷۵/۸d	۳۴۴/۳d	۱۳۲/۶e	۵۳/۵bc
۱۰۰+۱۰۰+۱۰۰	۴/۶۹ b	۳۱/۵ b	۰/۶۲۳c	۳۵۲/۳ b	۴۳۲/۲b	۴۸۱/۷c	۲۴۵/۱b	۶۵/۱b
۱۰۰+۱۰۰+۱۰۰+۱۰۰	۶/۶۵ a	۴۳/۳ a	۰/۸۷۴a	۴۰۱/۶ a	۶۹۹/۸a	۸۱۷/۱a	۳۳۰/۹a	۱۰۵/۷a

*- میانگین‌هایی که در هر ستون در یک حرف مشترک هستند در سطح ۰/۰۵ آزمون دانکن تفاوت معنی‌دار ندارند.
*- واحد وزنی تیمارهای کود آلی مگاگرم بر هکتار می‌باشد.

جدول ۳- روابط همبستگی بین شاخص های اندازه گیری شده در این مطالعه

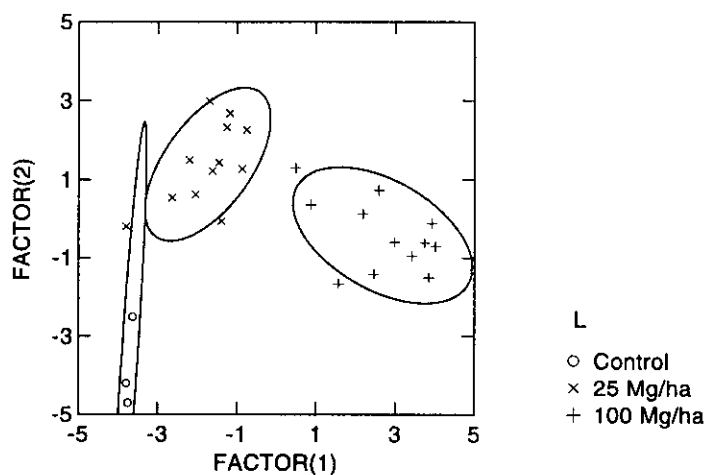
ردیف	تیمار/ شاخص	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸
۱	کربن آلی								
۲	نیتروژن کل	۰/۹۷***							
۳	ال گلوتامیناز	۰/۸۲***	۰/۸۲***						
۴	آلکالین فسفاتاز	۰/۹۷***	۰/۹۷***	۰/۸۲***					
۵	آریل سولفاتاز	۰/۸۷***	۰/۸۸***	۰/۸۸***	۰/۹۰***				
۶	بتاگلوکوزیداز	۰/۹۵***	۰/۹۷***	۰/۸۷***	۰/۹۶***	۰/۹۲***			
۷	بیومس میکروبی	۰/۸۳***	۰/۸۰***	۰/۸۷***	۰/۸۳***	۰/۹۱***	۰/۸۳***		
۸	عملکرد	۰/۸۶***	۰/۸۳***	۰/۶۹***	۰/۸۸***	۰/۷۹***	۰/۸۳***	۰/۷۶***	۱

*** نشان دهنده معنی دار شدن در سطح ۰/۰۰۱ می باشد.



شکل ۱- نمودار تلفیقی شاخص بیومس میکروبی و فعالیت آنزیم های مورد مطالعه در سه سطح لجن فاضلاب

Canonical Scores Plot



شکل ۲- نمودار تجزیه های تبیعی تأثیر سطح کوددهی

عملکرد گیاه ذرت

نتیجه کاربرد لجن فاضلاب و بالا رفتن میزان کربن آلی خاک و تحریک فعالیت‌های میکروبی میزان فعالیت‌های آنزیمی افزایش یافته و در نتیجه سطح بالاتری از عناصر غذایی مورد نیاز برای رشد گیاهان در خاک فراهم شده و عملکرد افزایش یافته است. البته نباید از نظر دور داشت که کاربرد لجن فاضلاب می‌تواند از طریق بهبود خصوصیات فیزیکی خاک مانند تهویه، با فراهم کردن شرایط مناسب برای رشد گیاه در افزایش عملکرد موثر باشد.

در شکل ۲ با استفاده از روش تجزیه‌های تبعیضی تأثیر سطوح متفاوت کودی بر ویژگی‌های مورد بررسی، تحلیل شده است. محدوده پراکنش سطح ۲۵ مگا گرم بر هکتار همپوشانی بسیار کمی با محدوده پراکنش سطح ۲۵ مگا گرم بر هکتار لجن فاضلاب با سطح ۱۰۰ مگا گرم بر هکتار همپوشانی ندارند، که دلیلی است بر این امر که عملکرد سطح ۱۰۰ مگا گرم بر هکتار لجن فاضلاب به طور قابل توجهی متمایز از دیگر سطوح کاربردی است. این امر نشان‌دهنده این است که سطوح مختلف کاربرد لجن فاضلاب تأثیرات متفاوتی از خود برجای گذاشته‌اند. به بیان دیگر عامل سطح کود به خوبی توانسته است تمایز ایجاد شده در صفات اندازه‌گیری شده را منعکس کند.

افزایش مقدار و دفعات کوددهی با لجن فاضلاب عملکرد گیاه ذرت را نیز افزایش داد (جدول ۲). همچنین مشاهده شد که رابطه خطی و معنی داری بین عملکرد گیاه ذرت با شاخص بیومس میکروبی و فعالیت آنزیم‌های مورد مطالعه وجود دارد (جدول ۳). این در حالی است که مطالعات اولیه رابطه نزدیکی بین فعالیت‌های آنزیمی با عملکرد زراعی و یا وضعیت عناصر غذایی خاک نشان نداده است (Koepf, ۱۹۵۴ و Galstyan, ۱۹۶۰). نتایج ضد و نقیض از همبستگی بین فعالیت آنزیم‌ها و عملکرد گیاهان زراعی ناشی از اختلاف بین هویت تیمارها است. در صورتی که تیمارها مواد معدنی (مانند کود شیمیایی) باشند، ممکن است ضمن افزایش عملکرد گیاه، هیچ گونه افزایشی در فعالیت آنزیم‌های خاک ایجاد ننموده و یا حتی از طریق افزایش محصول واکنش آنزیمی از فعالیت آنزیم بکاهند. چنین وضعی برای تأثیر یون آمونیوم بر آنزیم ال-گلوتامیناز گزارش گردیده است (Dick و همکاران، ۱۹۸۸). اضافه کردن لجن فاضلاب به خاک مورد مطالعه با افزایش میزان کربن آلی و شاخص بیومس میکروبی (به عنوان شاخصی از سطح فعالیت میکروبی) زمینه را برای افزایش سطح فعالیت‌های آنزیمی مهیا نموده است به نحوی که در

فهرست منابع:

۱. خدیوی، ا. ۱۳۸۲. اثر کودهای آلی بر اشکال شیمیایی عناصر سنگین و جذب این عناصر توسط گندم. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان.
۲. ملکوتی، م. ۱۳۷۵. کشاورزی پایدار و افزایش عملکرد با بهینه سازی مصرف کود در ایران. نشر آموزش کشاورزی
3. Adegbedi, H.G. and R.D. Briggs. 2003. Nitrogen mineralization of sewage sludge and composted poultry manure applied to a willow in a green house experiment. *Biomass and Bioenergy*. 2(56): 665-673.
4. Albiach, R., R. Canet, F. Pomares. and F. Ingelmo. 2000. Microbial biomass content and enzyme activities after application of organic amendments to a horticultural soil. *Biores. Technol.* 75: 43-48.
5. Burns, R.G. and R. P. Dick. 2002. *Enzymes in the Environment. Activity, Ecology and Applications*. Dekker, New York.
6. Deng, S. P. and M. A. Tabatabai. 1996. Effects of tillage and residue management on enzyme activities in soils. II. Glycosidase. *Biol. Fertil. Soils*. 22:208-213.
7. Dick, R. P., P. E. Rasmussen and E. A. Kerle. 1988. Influence of long-term residue management on soil enzyme activity in relation to soil chemical properties of a wheat-fallow system. *Biol. Fertil. Soils*. 6: 159-164.
8. Farrel, R.E., V. V. S. R. Gupta and J. J. Germida. 1994. Effects of cultivation on the activity of arylsulfatase in Saskatchewan soils. *Soil Biol. Biochem.* 26:1033-1040.
9. Frankenberger Jr, W. T., J. B. Johnson and C. O. Nelson. 1983. Urease activity in sewage sludge amended soils. *Soil Biol. Biochem.* 15: 543-549.

10. Frankenberger Jr, W. T. and M. A. Tabatabai. 1991. L-glutaminase activity in soils. *Soil Biol. Biochem.* 23(9): 869-879.
11. Gagnon, B., R. Lalonde, R. R. Simard and M. Roy. 2000. Soil enzyme activities following paper sludge addition in a winter cabbage- sweet corn rotation. *Can. J. Soil Sci.* 80:91-97.
12. Galstyan, A. S. 1960. Enzyme activities in Solonchalks. *Dokl. Akad. Nauk. Arm. SSR.* 30: 61-64.
13. Hernandez, T., R. Moral, A. Prez-Espinosa, J. Moreno-Caselles, M.D. Perez-Murica and C. Garcia. 2002. Nitrogen mineralization potential in a calcareous soil amended with sewage sludge. *Biores. Technol.* 83: 213-219.
14. Koepf, H. 1954. Investigation on soil biological activity in soils. I. Respiration curves of soil and enzyme activity under the influence of fertilizing and plant growth. *Zeitschrift fur acker-und pflanzenbau.* 289-312.
15. Nannipieri, P., P. Sequi and P. Fusi. 1996. Humus and enzyme activity. In: Piccolo, A. (ed.). *Humic substances in terrestrial ecosystems.* Elsevier, Amsterdam, pp. 293-327.
16. Nourbakhsh, F., C. M. Monreal, G. Emtiazy and H. Dinel. 2002. L-asparaginase activity in some soils of central Iran. *Arid Land Res. Manag.* 16: 377-384.
17. Olivera, F. C., M. E. Mattiazzo, C. R. Marciano and R. Rossetto. 2002. Organic carbon, electrical conductivity, pH and CEC changes in a dystrophic yellow Latosol. *Revista Brasileira de ciencia do solo.* 2: 505-519.
18. Page, A. L., R. H. Miller and D. R. Keeny. 1982. *Methods of soil analysis, Part 2: Chemical and Biological Properties*, second edition, Soil Sci. Soc. Am. Inc. Publisher, PP. 1159.
19. Tabatabai, M. A. 2003. Enzymes: past, present and future. Second international conference on enzymes in the environment: Activity, Ecology and Application. Prague, Czech Republic. July 14-17, 2003.
20. Tabatabai, M. A. 1994. Soil enzymes. In: Weaver, R.W., J.S., Angle, and P.S., Bottomley. (eds.). *Methods of Soil Analysis. Part2- Microbiological and Biochemical Properties.* SSSA Book, series No.5. Soil Sci. Soc. Am., Madison, WI, pp. 775-833.
21. Turner, B. L., A. W. Bristow and P. M. Haygarth. 2001. Rapid estimation of microbial biomass in grassland soils by ultra-violet absorbance. *Soil. Biol. Biochem.* 33:913-919.
22. Walker, D. and N. Kenkle. 1999. *Data analysis in agricultural research. Quantitative plant ecology laboratory*, University of Manitoba, Canada.
23. Wang, W., R. C. Dalal and P. W. Moody. 2001. Evaluation of the microwave irradiation method for measuring soil microbial biomass. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 65:1696-1703

Microbial Biomass Index, Enzyme Activities and Corn Yield in a Soil Amended with Sewage Sludge

S. Hojati, F. Nourbakhsh and K.Khavazi¹

Abstract

Increasing soil organic matter can improve plant growth due to its effects on physical, chemical and biological properties of soil. Transformation of essential elements from organic form under the influences of intra- and extra-cellular enzymes and other microbially mediated processes can increase plant growth. The aim of this study was to identify the effects of different rates and times of sewage sludge application on L-glutaminase, alkaline phosphatase, arylsulfatase and β -glucosidase activities, microbial biomass index and corn yield. Three levels of application (0, 25 and 100 Mg ha⁻¹) and four consecutive times of sewage sludge application (1, 2, 3 and 4) were studied in a randomized complete block split plot design with three replications. Composite soil samples were collected from 0-15 cm depth at the end of 4th year of application. Results illustrated that application of sewage sludge increased soil organic carbon (SOC) and total nitrogen (TN) compared with control treatment. An increasing trend was observed in SOC and TN, as the rates and times of applications increased. Increasing the times and rates of application also enhanced L-glutaminase, alkaline phosphatase, arylsulfatase, β -glucosidase activities, microbial biomass index and corn yield, significantly. The lowest levels of enzyme activities and microbial biomass indices were observed in the control treatment. Four consecutive applications of 100 Mg ha⁻¹ sewage sludge was associated with the highest levels of the bio-indicators. We concluded that functional biodiversity increased in soils that were amended with sewage sludge.

Keywords: Sewage sludge, Soil enzyme activities, Soil biomass index, Corn yield