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

سعید حجتی، فرشید نوربخش و کاظم خاوازی[1] *

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، 25 و 100 مگاگرم برهکتار لجن فاضلاب (به عنوان سطوح کوددهی) و تعداد یک، 2، 3 و 4 مرتبه کوددهی (به عنوان دفعات کوددهی بین سال‌های 1378 تا 1381) در نظر گرفته شد. آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی و در سه تکرار انجام گردید. نمونه‌های خاک 6 ماه پس از چهارمین کوددهی از عمق 0 تا 15 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[2] را در خاک‌های تیمار شده با لجن فاضلاب افزایش داد.

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

1- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار گروه خاک‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان و استادیار پژوهش موسسه تحقیقات آب و خاک

* وصول: 84/1/21 و تصویب: 84/10/22

2 - Functional biodiversity

مقدمه

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، 1375). 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 اراضی کشاورزی وجود دارد.

Frankenberger و همکاران (1983) گزارش کردند که اضافه کردن مقادیر کم لجن فاضلاب (کمتر از 10 تن در هکتار) به خاک منجر به کاهش فعالیت آنزیم اوره‌آز شد. اما در مقادیر زیاد کاربرد لجن فاضلاب (25 تا 100 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، 1983). همچنین Gagnon و همکاران (2000) اثر اضافه کردن لجن کارخانه‌های کاغذسازی را طی یک تناوب زراعی ذرت شیرین- کلم برفعالیت‌های 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 وآریل 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، 2000). 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 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 موادآلی به خاکها می‌افزاید اما در بسیاری از کشورها قوانینی برای محدودیت استفاده از لجن فاضلاب در پایداری اکوسیستم خاک ارائه دهد(Burns و Dick، 2002). از آنجا که عناصر افزوده شده به خاک از طریق لجن فاضلاب دارای منشاء آلی بودند، آنزیم‌هایی در نظر گرفته شد که در بازچرخ عناصر از شکل آلی به معدنی دخالت داشتند. بتاگلوکوزایداز آنزیمی است که دایمرهای بتا ـ دی ـ گلوکوزیدی (سلوبیوز) را به گلوکز شکسته و زمینه را برای تأمین منبع کربن و انرژی میکروارگانیسم‌های هترتروف خاک را مهیا می‌سازد. در حقیقت این آنزیم آخرین مرحله از مراحل برون سلولی کاتالیز مواد سلولزی را در خاک انجام می‌دهد. آنزیم ال ـ گلوتامیناز پیوندهای کربن ـ نیتروژن غیر پپتیدی را از مولکول ال ـ 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 7 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 الگلوتامیناز، 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 1630 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 1339 تا 1380 به ترتیب 140 میلی متر و 14/5 درجه سانتیگراد است. خاک منطقه آهکی بوده و برروی 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[1] می‌باشد.

این آزمایش در قالب یک طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. سطوح صفر، 25 و 100 مگاگرم در هکتار لجن فاضلاب در پاییز سال 1378 به کرت‌هایی با ابعاد 3×15 متر اعمال گردید. لجن مورد استفاده از کارخانه تصفیه فاضلاب شمال اصفهان تأمین گردید که عمدتاً منشاء فاضلاب شهری دارد. در پاییز سال 1379 هر یک از کرت‌های کود داده شده به دو قسمت نامساوی 3×12 و 3×3 متر تفکیک شد و تنها قسمت بزرگتر (3×12) و معادل با مقدار سال اول لجن فاضلاب دریافت نمود. در پاییز سال 1380 کرت‌های 3×12 متری که دوبار لجن فاضلاب دریافت کرده بودند به دو کرت نامساوی 3×9 و 3×3 متری تقسیم شد. کرت بزرگتر(3×9) برای بار سوم و معادل با مقدار سال‌های اول و دوم، لجن فاضلاب دریافت کرد. در پاییز سال 1381، کرت‌های 3×9 متری که سه بار لجن فاضلاب دریافت کرده بودند به دو کرت نامساوی 3×3 و 3×6 متری تقسیم شده و کرت بزرگتر (3×6) برای بار چهارم و معادل با سال‌های قبل لجن فاضلاب دریافت نمود. همچنین در سال 1381 در کلیه قطعات تیمار شده، گیاه ذرت رقم سینگل‌کراس 704 کشت و تأثیر عملیات فوق برعملکرد 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 0-15 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 2 میلی‌متری عبور داده شدند.

فعالیت آنزیم‌های ال- گلوتامیناز، فسفاتاز قلیایی، آریل سولفاتاز و بتاگلوکوزیداز با استفاده از روش‌های بیان شده بوسیله طباطبایی (Tabatabai، 1994) اندازه‌گیری شد. برای تعیین شاخص بیومس میکروبی از روش پرتوتابی- جذب استفاده شد (Turner و همکاران، 2001؛ Wang و همکاران، 2001). در این روش ابتدا نمونه‌های خاک به میزان 5 گرم توزین و رطوبت هر نمونه در 60 درصد گنجایش رطوبتی خاک[2] تنظیم گردید و سپس با استفاده از دستگاه میکروویو، به مدت 2 دقیقه با انرژی 1000 وات پرتوتابی شد (Wang و همکاران، 2001). پس از آن به هر یک از نمونه‌های پرتوتابی شده 20 میلی لیتر سولفات پتاسیم نیم مولار افزوده گردید و آنگاه نمونه‌ها به مدت یک ساعت با دور250 دور در دقیقه در وضعیت افقی بوسیله دستگاه شیکر تکان داده شدند. پس از آن سوسپانسیون موجود برای مدت 7 دقیقه با سرعت 4000 دور در دقیقه سانتریفوژ و سپس با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره 42 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، 2001).

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، 1982).

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 تبعیضی[3] و رسم پلات مربوط به آنها، و تجزیه و تحلیل رگرسیون نیز از نرم افزار SYSTAT استفاده گردید (Turner و همکاران، 2001). برای نشان دادن همزمان خصوصیات اندازه‌گیری شده از نمودار تلفیقی (شکل 1) 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 1 نشان داده شده است. بررسی این خاک نشان داد که خاک مورد مطالعه دارای بافت لوم رسی‌سیلتی می‌باشد. از نظر شوری خاک، هدایت الکتریکی عصاره اشباع این خاک کمتر از 4 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

1- Fine Loamy, Mixed, Thermic, Typic Haplargid
2 - Water holding capacity
3- Discriminant analysis

خاک نیز می‌توان وجود مقادیر بالای کربنات کلسیم را ذکر کرد. خاک مورد مطالعه دارای فقر ماده آلی است(جدول1).

لازم به ذکر است که لجن فاضلاب مورد استفاده در انجام این تحقیق غنی از عناصری مانند نیتروژن ($g\ kg^{-1}$ 19/4) و کربن آلی ($g\ kg^{-1}$ 179/8) بوده و دارای pH اسیدی (pH =6/4) بود. هدایت الکتریکی لجن فاضلاب مورد استفاده نیز معادل 9/4 دسی زیمنس بر متر بود. مقدار آهن، مس، روی، منگنز، کادمیوم، سرب، کروم، کبالت و نیکل نیز به ترتیب 16165، 130، 710، 355، 5، 113، 1/5، 13 و 56 میلی‌گرم در کیلوگرم لجن خشک بود.

کربن آلی و نیتروژن کل خاک

کمترین مقدار کربن آلی خاک ($g\ kg^{-1}$ 4/73) 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 (جدول2). 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 برهکتار لجن فاضلاب دریافت کرده بود کربن آلی به $g\ kg^{-1}$ 20/2 افزایش یافت که تقریبا 5 برابر تیمار شاهد بود (جدول2). در سطح 100 مگاگرم بر هکتار نیز با افزایش دفعات کوددهی، روند افزایش کربن آلی خاک ملاحظه گردید. در تیماری که چهار بار متوالی به میزان 100 مگاگرم بر هکتار لجن فاضلاب دریافت کرده بود، کربن آلی خاک به $g\ kg^{-1}$ 43/3 افزایش یافت که این میزان در مقایسه با تیمار شاهد در حدود 10 برابر افزایش نشان داد (جدول2). نکته جالب توجه آن است که کربن آلی در خاک‌هایی که تنها یک بار در سال 1378 به میزان 25 و 100 مگاگرم برهکتار لجن فاضلاب دریافت کرده بودند، با هم اختلاف معنی‌دار نشان ندادند (7/5 در مقابل 9/4 گرم برکیلوگرم). 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 25 و 100 مگاگرم در هکتار ایجاد نماید. در سایر دفعات کوددهی بین سطوح 25 و 100 مگاگرم بر هکتار اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. تجدید ذخایر کربن آلی خاک بوسیله لجن فاضلاب باعث حفظ اختلاف بین کربن آلی در تیمارهای 25 و 100 مگاگرم در 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 (2000) 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 حاضرهماهنگی‌دارد.

تأثیرپذیری نیتروژن کل خاک از کوددهی با لجن فاضلاب کمابیش مانند کربن آلی خاک است. چنان‌که با افزایش دفعات کوددهی میزان نیتروژن کل افزایش می‌یابد. این وضعیت در دو سطح 25 و 100 مگاگرم بر هکتار به‌طور مشابه دیده شد (جدول2). کمترین مقدار نیتروژن کل در تیمار شاهد ($g\ kg^{-1}$ 0/66) و بیشترین آن در تیماری بود که چهار بار متوالی 100 مگاگرم بر هکتار لجن فاضلاب دریافت کرده بود ($g\ kg^{-1}$ 6/65). این اختلاف حدوداً 10 برابری در مورد کربن آلی نیز مشاهده گردید. تیمارهایی که تنها یک یا دو بار کود دریافت کرده‌اند (سال‌های 1378 و 1379) مستقل از سطح کود دریافت شده، اختلاف بزرگی با هم ندارند زیرا پس از گذشت بیش از 2 سال از آخرین کوددهی، بخش نیتروژن قابل معدنی شدن[1] خارج شده و یا بوسیله گیاه جذب شده و یا آبشویی گردیده است. در این راستا Hernandez و همکاران(2002) نیز افزایش معنی‌دار نیتروژن کل خاک را در نتیجه افزودن لجن فاضلاب گزارش نمودند. همچنین Adegbidi و Briggs (2003) 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 سینتیک 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(جدول2). اگرچه بین تیمار شاهد و تیماری که تنها یک بار در سال 1378 به میزان 25 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 4 بار پیاپی به میزان 100 مگاگرم بر هکتار کود دریافت کرده بود، مشاهده گردید (جدول2). چنین به نظر می‌رسد که هم سویی الگوی تغییرات شاخص بیومس میکروبی و

1- Mineralizable Nitrogen

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 عمدتا 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، 2000).

فعالیت آنزیم ال-گلوتامیناز

کمترین مقدار فعالیت آنزیم ال-گلوتامیناز در تیمار شاهد مشاهده شد. بین تیمار شاهد و تیماری که در سال 1378 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 سنتز این آنزیم گردیده است. الگوی تغییرات آنزیم ال-گلوتامیناز تابعی از تغییرات مواد آلی است. بین فعالیت آنزیم ال-گلوتامیناز و کربن آلی خاک همبستگی معنی‌داری وجوددارد(جدول 3). وجود ارتباط خطی معنی‌دار بین فعالیت آنزیم ال-گلوتامیناز و کربن آلی خاک پیش از این بوسیله گزارش شده است (Frankenberger و Tabatabai، 1991). 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 ایموبلیزه کردن مولکول‌های آنزیم و حفاظت آن در خاک نسبت دادند. وجود چنین ارتباطی در مورد آنزیم ال-آسپاراژینیاز نیز گزارش شده است (Nourbakhsh، 2002). 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 (جدول3). 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 مولکول‌ها ی آنزیم را روی سطوح کلوئیدهای آلی فراهم و باعث می‌شود که مولکول‌های آنزیم به صورت برون سلولی به فعالیت خود ادامه دهند. حضور مولکول‌های آنزیم روی سطوح کلوئیدهای آلی باعث تداوم تأثیر آنها و حفاظت آنها در مقابل صدمات ناشی از فعالیت پروتئازهای خاک می‌شود (Nannipieri و همکاران، 1996).

فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی

الگوی تأثیرپذیری آنزیم فسفاتاز قلیایی نیز تحت تأثیر سطح و دفعات کوددهی است (جدول4). کمترین و بیشترین فعالیت این آنزیم نیز به ترتیب در تیمار شاهد و تیماری که چهار بار پیاپی به میزان 100 مگاگرم برهکتار کوددهی شده است، ملاحظه می‌شود. وجود ارتباط معنی‌دار بین فعالیت این آنزیم با کربن آلی و شاخص بیومس میکروبی (جدول 3)، 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، 2003).

فعالیت آنزیم آریل سولفاتاز

آنزیم آریل سولفاتاز نیز تحت تأثیر تعداد و سطح کوددهی است (جدول4). تأثیرپذیری این آنزیم از سطح کربن آلی، گوگرد آلی و بیومس میکروبی بوسیله Farrel و همکاران (1994) گزارش گردیده است. استرهای سولفاتی با حضور مواد آلی بیشتر افزایش یافته و تولید این آنزیم را القا می‌نمایند (Farrel و همکاران، 1994)، به علاوه حضور مولکول‌های برون سلولی این آنزیم به صورت جذب سطحی شده و ایموبلیزاسیون آنها در حضور کربن آلی بیشتر، افزایش می‌یابد. لذا با افزایش سطح و دفعات کوددهی، فعالیت این آنزیم فزونی یافته است (جدول2). به علاوه ارتباط خطی که بین فعالیت این آنزیم و شاخص بیومس میکروبی وجود دارد (جدول 3) حاکی از آن است که با افزایش جمعیت میکروبی، سنتز این آنزیم افزایش‌می‌یابد.

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 سوبسترای کربن دار در خاک باشد. Deng و Tabatabai (1996) 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 سوبسترای این آنزیم بر سنتز آنزیم، فعالیت آن افزایش می‌یابد (Deng و Tabatabai، 1996). 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 افزاینده 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 2) و این افزایش از روندی مشابه با تغییرات کربن آلی و شاخص بیومس میکروبی برخوردار بود (جدول 3).

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 میکروبی خاک با دریافت کود لجن فاضلاب از سطح فعالیت بالاتری برخوردار شده و امکان سنتز مقادیر بیشتر آنزیم‌های چهارگانه فوق فراهم 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 1) 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 (Burns و Dick، 2002). بیشترین سطح محصور منحنی، که حاکی ازبیشترین میزان فعالیت‌های آنزیمی و میکروبی است، در نتیجه کاربرد لجن فاضلاب به میزان 100 مگاگرم بر هکتار دیده می‌شود (شکل 1).

خدیوی (1382) دریافت که استفاده از لجن فاضلاب غلظت کل فلزات سنگین سرب، نیکل و کادمیوم را در خاک افزایش می‌دهد. همین محقق با استفاده از روش عصاره‌گیری مرحله‌ای دریافت که افزایش فلزات سنگین فوق الذکر بیش از آن که در بخش قابل جذب (قابل عصاره‌گیری با AB-DTPA) صورت گیرد در بخش کربناتی و محبوس شده اتفاق می‌افتد (خدیوی، 1382). یافته‌های تحقیق حاضر با یافته‌های خدیوی موافقت دارد زیرا اگر فلزات فوق عمدتاً به بخش قابل جذب راه یافته بودند، انتظار می‌رفت از شاخص بیومس 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 بیومس میکروبی) و آنزیم‌های چهارگانه مورد مطالعه بیش از آنکه تحت تأثیرات کاهنده و ممانعت کننده فلزات سنگین موجود در لجن فاضلاب باشند، تحت تأثیر افزاینده و تحریک کننده کربن آلی قابل تجزیه، آمینواسیدهای فراوان، ترکیبات غنی از استرهای فسفری و گوگردی واقع شده و لذا افزایش یافته‌اند.

جدول 1- برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه

خصوصیات	مقادیر	واحد
کربن آلی	5	$g\ kg^{-1}$
نیتروژن کل	0/66	$g\ kg^{-1}$
کربنات کلسیم معادل	395/3	$g\ kg^{-1}$
شن	136	$g\ kg^{-1}$
سیلت	506/8	$g\ kg^{-1}$
رس	357/2	$g\ kg^{-1}$
ظرفیت تبادل کاتیونی	33/6	$Cmol_{(+)}\ kg^{-1}$
EC_e	1/6	$dS\ m^{-1}$
pH	8/3	-

EC_e = هدایت الکتریکی عصاره اشباع

جدول 2- اثر کاربرد لجن فاضلاب بر شاخص‌های مورد مطالعه

شاخص تیمار کودی (Mg/ha)	OC $g\ kg^{-1}$	TN $g\ kg^{-1}$	MBI Absorbance	L-glutaminase mg $N\text{-}NH_4^+\ kg^{-1}$ 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 $Mg\ ha^{-1}$
0 (شاهد)	4/7g	0/66 f	0/257f	176/9 f	106/6g	129/1g	43/6h	10/4e
25	7/5 f	1/18ef	0/287f	186/4ef	170/6f	224/1f	68/3g	23/9ed
25+25	8/2 f	1/72de	0/249f	242/0d	194/5f	297/4de	128/9e	37/9cd

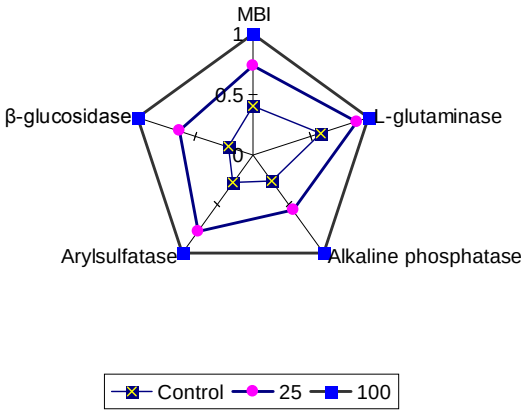
44/6bcd	149/3d	463/7c	235/2e	301/9 c	0/574d	2/06 d	11/4e	25+25+25
56/4bc	173/7c	545/9b	319/5c	358/6 b	0/733b	2/93 c	20/2 c	25+25+25+25
51/5bc	109/3f	280/7e	241/7e	215/3de	0/430e	1/65de	9/4 f	100
53/5bc	132/6e	344/3d	275/8d	242/8 d	0/540d	2/16 d	17/6 d	100+100
65/1b	245/1b	481/7c	433/3b	352/3 b	0/623c	4/69 b	31/5 b	100+100+100
105/7a	330/9a	817/1a	699/8a	401/6 a	0/874a	6/65 a	43/3 a	100+100+100 100+

*- میانگین هایی که در هر ستون در یک حرف مشترک هستند در سطح 0/05 آزمون دانکن تفاوت معنی دار ندارد.
*- واحد وزنی تیمارهای کود آلی مگا گرم بر هکتار می باشد.

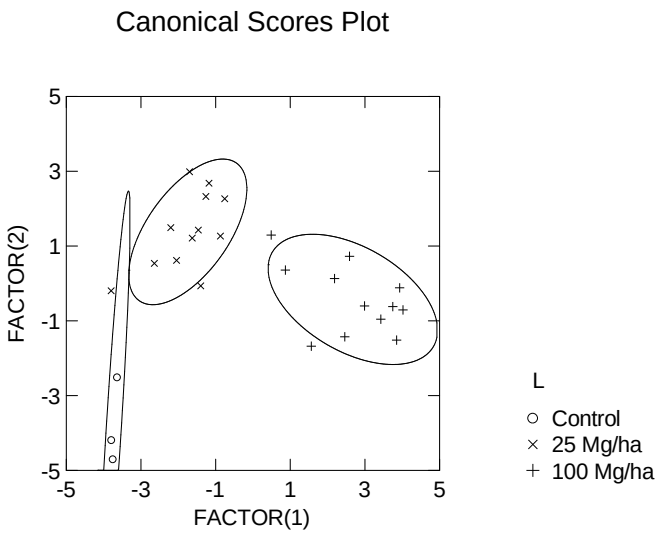
جدول 3- روابط همبستگی بین شاخص های اندازه‌گیری شده در این مطالعه

ردیف	تیمار/ شاخص	1	2	3	4	5	6	7	8
1	کربن آلی	1							
2	نیتروژن کل	0/97***	1						
3	ال گلوتامیناز	0/82***	0/82***	1					
4	آلکالین فسفاتاز	0/97***	0/97***	0/82***	1				
5	آریل سولفاتاز	0/87***	0/88***	0/88***	0/90***	1			
6	بتاگلوکوزیداز	0/95***	0/97***	0/87***	0/96***	0/92***	1		
7	بیومس میکروبی	0/84***	0/80***	0/87***	0/83***	0/91***	0/83***	1	
8	عملکرد	0/86***	0/83***	0/69***	0/88***	0/79***	0/83***	0/76***	1

*** - نشان دهنده معنی‌دار شدن در سطح 0/001 می‌باشد.



شکل 1- نمودار تلفیقی شاخص بیومس میکروبی و فعالیت آنزیم‌های مورد مطالعه در سه سطح لجن فاضلاب



شکل 2- نمودار تجزیه‌های تبعیضی تأثیر سطح کوددهی

عملکرد گیاه ذرت

افزایش مقدار و دفعات کوددهی با لجن فاضلاب عملکرد گیاه ذرت را نیز افزایش داد (جدول 2). 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 3). 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، 1954 و Galstyan، 1960). 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،1988). 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 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 2 با استفاده از روش تجزیه‌های تبعیضی تأثیر سطوح متفاوت کودی بر ویژگی‌های مورد بررسی، تحلیل شده است. محدوده پراکنش سطح 25 مگا گرم بر هکتار همپوشانی بسیار کمی با محدوده پراکنش سطح شاهد دارد و همچنین محدوده پراکنش دو سطح صفر و 25 مگاگرم برهکتار لجن فاضلاب با سطح 100 مگاگرم برهکتار همپوشانی ندارند، که دلیلی است بر این امر که عملکرد سطح 100 مگاگرم برهکتار 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.

فهرست منابع:

1. خدیوی، ا. 1382. اثر کودهای آلی بر اشکال شیمیایی عناصر سنگین و جذب این عناصر توسط گندم. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان.
2. ملکوتی، م. 1375. کشاورزی پایدار و افزایش عملکرد با بهینه سازی مصرف کود در ایران. نشر آموزش کشاورزی
3. Adegbidi, 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. Tabatabi. 1991. L-glutaminase activity in soils. Soil Biol. Biochem. 23(9): 869-879.
11. Gagnon, B., R. Lalande, 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-under 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, Amesterdam, 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 Brasiliena 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. Bristrow 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