

تاثیر لجن فاضلاب و بیوجار آن بر فعالیت آنزیم ساکاراز و pH خاک

افشین حقایقی سولک^۱، بهی جلیلی^۲، سروش سالک گیلانی^۳ سیدمحمدجواد بحرالعلومی^۳

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، اعضای هیئت علمی، کارشناس علوم و مهندسی خاک، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

چکیده

این مطالعه با هدف بررسی اثر لجن فاضلاب و بیوجار آن بر فعالیت آنزیمی و pH خاک و به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار، شامل تیمارهای ۲۰ و ۴۰ گرم بیوجار (B)، ۴۰ و ۸۰ گرم لجن فاضلاب (S) بر کیوگرم خاک و تلفیقی از تیمارهای بیوجار و لجن و مدت انکوباسیون در چهار سطح (۲، ۱۵، ۳۰ و ۶۰ روز) بود. بر اساس نتایج، اثر سطوح کود و زمان و اثر متقابل آنها بر فعالیت ساکاراز و pH خاک معنی دار بود ($p < 0.01$). همه تیمارها باعث افزایش فعالیت ساکاراز و کاهش pH خاک شد. بالاترین میزان فعالیت ساکاراز در تیمار S₈₀ مشاهده شد. pH در تیمار B₂₀ و در زمان ۲ روز بالاترین مقدار و برابر شاهد بود. با افزایش زمان گرماگزاری میانگین فعالیت ساکاراز و pH خاک کاهش یافت.

واژه های کلیدی: لجن فاضلاب، بیوجار، آنزیم ساکاراز، pH خاک

مقدمه

نقش کلیدی ماده آلی خاک در حاصلخیزی مشخص شده است و به عنوان منبع ذخیره عناصر غذایی به تدریج باعث فراهمی عناصر ضروری می شود که خاک نمی تواند آنها را برای مدت زیادی به شکل معدنی نگهداری کند. و گیاهان در حال رشد را در برابر تغییرات ناگهانی در محیط شیمیایی و کاهش رطوبت در زمان خشک سالی بافر می کند. و خاک را در حالت ترد، شرایط فیزیکی نفوذپذیر، مناسب از لحاظ تهویه و محیط مناسبی برای رشد را فراهم می کند (Vaghman and Malcolm, 1985). مواد آلی خاک شامل بقایای گیاهی و حیوانی در مراحل مختلف تجزیه، هوموس، میکروباها و هر ترکیب آلی دیگری است (سالاردینی، ۱۳۶۶). مواد آلی نیز به علت اثرات سازنده ای که بر روی خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و زیستی خاک دارند به عنوان یکی از ارکان حاصلخیزی خاک شناخته شده اند. استفاده نامناسب از کودهای شیمیایی برای دستیابی به عملکرد بالا سبب گردیده است تا اهمیت مواد آلی کمتر در نظر گرفته شود. بیشتر خاک های ایران جزء خاک های خشک و نیمه خشک هستند و مقدار مواد آلی در آنها کمتر از یک درصد و در بسیاری از مناطق کمتر از ۵ درصد است. مواد آلی اثرات قابل ملاحظه ای بر خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و زیستی خاک دارند و عناصر غذایی مورد نیاز گیاهان و میکروارگانیسم ها را نیز تأمین می کنند (ملکوتی، ۱۳۷۳). لجن فاضلاب، مواد جامدی است که در روش های مختلف تصفیه به منظور حذف آلاینده های معلق و محلول از فاضلاب در تصفیه خانه های فاضلاب به دست می آید. امروزه مدیریت لجن، با توسعه تصفیه خانه های فاضلاب و احداث واحدهای تصفیه خانه های جدید، به یکی از بحرانی ترین موضوعات زیست محیطی تبدیل شده است (هاشمی مجد، ۱۳۹۲). لجن فاضلاب دارای مواد آلی غنی و عناصر غذایی مانند نیتروژن، فسفر و پتاسیم، و تعداد زیادی از مواد سمی و مضر مانند میکروباها و فلزات سنگین است. اگر چه کاربرد لجن فاضلاب به طور موثر باعث استفاده دوباره عناصر غذایی موجود در آن می شود، ولی خطرات محیطی بالقوه ای مانند وجود میکروباها و فلزات سنگین در لجن فاضلاب که ممکن است باعث آلودگی خاک و آبهای زیرزمینی شده و ممکن است در مقیاس بزرگ استفاده از لجن فاضلاب را محدود کند. همچنین با توجه به مزایای کاربرد لجن در خاک و جلوگیری از رهاسازی آن در محیط زیست و مشکلات نگهداری آن، کاربرد آن در خاک می تواند مفید باشد (Lu et al., 2015). بیوجار ماده ای جامد و غنی از کربن و محصول سوختن زیست توده در غیاب اکسیژن است و اگر در وسعت زیاد به خاک افزوده شود دارای پتانسیل بهبود زراعت جهانی و کاهش تغییرات اقلیمی است. همچنین در سطح جهان به علت جلوگیری از هدررفت کربن منبعی از درآمد را برای کشاورزان فراهم می کند. به هر حال

خصوصیات بیوچار یکنواخت نیست و تکنولوژی‌های تولید بیوچار در حال رشد هستند. تحقیق برای یافتن اینکه افزودن چه مقدار بیوچار می‌تواند حداکثر بهره‌مندی را داشته باشد شروع شده است (Sohi, 2012). تولید بیوچار از لجن علاوه بر کاهش حجم لجن باعث از بین بردن فلزات سنگین لجن شده و محصول تولیدشده می‌تواند جایگزین مناسبی برای کودهای شیمیایی باشد (Bhattacharjya et al., 2015). پیرولیز باعث انتقال انرژی شیمیایی از لجن فاضلاب به گازهای سنتزی و روغن زیستی (bio-oil) شده که روش استفاده نسبتاً پاک انرژی است، اما به استفاده از بیوچار بدست آمده از پیرولیز پسماندهای جامد توجه زیادی نشده است. بیوچار به بهبود خاک از طریق بالا بردن مقدار ماده آلی خاک، مقدار مواد مغذی، افزایش آب و ظرفیت نگهداری مواد مغذی، هوادهی و غیره کمک خواهد کرد (Lu et al., 2015). ماده آلی، محیط مناسبی را برای پایداری آنزیم‌های برون سلولی فراهم کرده و از آنها در مقابل تنش‌های محیطی حمایت می‌کند (Balota et al., 2004). برای درک عملکرد خاک و جلوگیری از آسیب خاک در نتیجه عوامل طبیعی و انسانی، داشتن ابزار مناسب برای پیش بینی و ارزیابی تغییرات خاک که توسط عوامل محیطی و شیوه‌های مدیریتی ایجاد می‌شود حائز اهمیت است. استراتژی‌های مبتنی بر شاخص‌های زیستی (بیولوژیکی) می‌تواند یک ابزار مناسب برای ارزیابی پایداری اکوسیستم خاک باشد. مطالعه آنزیم‌های خاک مهم است چرا که آنها پتانسیل خاک برای حمایت از فرآیندهای بیوشیمیایی که برای نگهداری حاصلخیزی خاک ضروری است را نشان می‌دهد. آنزیم‌های خاک عملکرد اکوسیستم را تنظیم کرده و نقش‌های بیوشیمیایی کلیدی را در سرتاسر فرآیند تبدیل مواد آلی و چرخه عناصر غذایی در سیستم خاک ایفا می‌کنند. سرچشمه آنها از میکروارگانیسم (به عنوان مثال، باکتری ها، قارچ) و یا از گیاهان و حیوانات (به عنوان مثال، پوسیدگی گیاه و یا باقی مانده، دستگاه گوارش حیوانات کوچک) است (Gianfreda et al., 2014). فعالیت آنزیم‌های خاک نسبت به سایر خصوصیات خاک بسیار حساس بوده و سریعتر از سایر خصوصیات زیستی خاک نسبت به تغییرات پاسخ نشان می‌دهد بنابراین شاخص مفیدتری برای بررسی تغییرات زیستی است (Tejada et al., 2008). آنزیم ساکاراز از آنزیم‌های مهم در چرخه کربن است (Baldrian, 2009). تا کنون تاثیر بیوچار بر فعالیت آنزیمی در خاک کمتر مطالعه شده است (Ouyang et al., 2014) بر همین اساس این مطالعه با هدف بررسی اثر کاربرد سطوح مختلف لجن فاضلاب و بیوچار آن بر فعالیت آنزیمی و pH خاک انجام شد.

مواد و روش‌ها

نمونه برداری و آماده سازی خاک:

خاک مورد استفاده از مزرعه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری تهیه شد و نمونه های خاک از عمق صفر تا بیست سانتیمتری برداشت گردید و پس از انتقال به آزمایشگاه و خشک شدن در مجاورت هوا، با پتک چوبی کوبیده و از الک ۲ میلیمتری عبور داده شد و خصوصیات آن از خاک مانند بافت، کربن آلی، نیتروژن کل، فسفر و پتاسیم قابل جذب، pH خاک و هدایت الکتریکی اندازه گیری شد.

آماده سازی لجن و بیوچار آن:

لجن فاضلاب به مقدار مورد نیاز از تصفیه خانه فاضلاب اصفهان تهیه شد. مقداری لجن هوا خشک شده و پس از کوبیده شدن از الک ۲ میلی متری عبور داده شد. pH، EC، کربن آلی و عناصر سنگین لجن فاضلاب اندازه گیری شد و قسمتی از آن برای تیمارهای لجن فاضلاب نگهداری شد و مابقی در دستگاه پیرولیز در دمای ۳۵۰ درجه سانتیگراد پیرولیز کرده و بیوچار مورد نیاز بدست آمد. فرآیند تولید بیوچار در دمای ۳۵۰ درجه سانتیگراد و بصورت پیرولیز آهسته انجام شد. pH، EC، کربن آلی و عناصر سنگین بیوچار به دست آمده اندازه گیری شدند. این پژوهش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار، شامل تیمارهای ۲۰ و ۴۰ گرم بیوچار (B) بر کیوگرم خاک، ۴۰ و ۸۰ گرم لجن فاضلاب (S) بر کیوگرم خاک و تلفیقی از تیمارهای بیوچار و لجن و مدت انکوباسیون در چهار سطح (۲، ۱۵، ۳۰ و ۶۰ روز) بود. نمونه‌های تیمار شده به قوطی‌های پلاستیکی ۱/۵ کیلوگرمی منتقل و رطوبت آنها در حد ۷۰-۶۰ درصد ظرفیت زراعی تنظیم شد. سپس درب ظروف بسته و روی هر درب سه سوراخ به قطر تقریبی ۵ میلیمتر جهت تبادل هوا تعبیه شد. در طول مدت آزمایش رطوبت نمونه‌ها

با توزین مرتب قوطی‌ها ثابت نگه داشته شد. در فواصل زمانی ۲ روز، ۱۵ روز، ۳۰ روز و ۶۰ روز پس از شروع آزمایش نمونه‌های فرعی برداشت شد. در این نمونه‌ها فعالیت آنزیم ساکاراز و pH خاک اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم ساکاراز (invertase):

۱۰g خاک در بالن حجمی ۱۰۰ml ریخته و ۲ml تولوئن افزوده و ۱۵ min در همان حالت ماند. سپس ۱۰ml محلول ساکاراز و ۱۰ml بافر استات افزوده شد و پس از بستن درب بالن به مدت ۳ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شد. در مرحله بعد با آب مقطر به حجم ۱۰۰ml رسانده و سپس صاف شد. برای شاهد محلول ساکاراز بعد از گرماگذاری و قبل از صاف کردن اضافه شد. ۵ ml از محلول صاف شده به بالن ۱۰۰ ml ریخته و ۴ ml معرف مس افزوده شد و به مدت ۲۵ min جوشانده شد و پس از خنک شدن ۲ ml محلول دی سدیم هیدروژن فسفات و ۵ ml محلول مولیبیدات ۳ اضافه کرده و مخلوط نموده سپس به مدت ۶۰ min در همان حالت ماند. نهایتاً با آب مقطر به حجم ۱۰۰ ml رسانده و سپس چگالی نوری در طول موج ۵۷۸ nm اندازه‌گیری شد (Alef and Nannipieri, 1995).

اندازه‌گیری pH خاک

ابتدا با مخلوط کردن مقادیر مناسب خاک با آب اقدام به تهیه گل اشباع نموده که حالت برآقی دارد، سپس گل اشباع تهیه شده به مدت ۲۴ ساعت در آزمایشگاه نگهداری شد. برای اندازه‌گیری pH توسط pH متر نیاز به تنظیم دستگاه توسط بافرهایی با pH مشخص می‌باشد؛ برای این منظور از محلول‌های بافری pH₄ و pH₇ استفاده شد. پس از آن اندازه‌گیری pH در نمونه‌های تهیه شده با دقت ۰/۱ انجام شد (شاینر و همکاران، ۱۹۹۶).

نتایج و بحث

تاثیر تیمارهای لجن فاضلاب و بیوجار بر فعالیت آنزیم ساکاراز

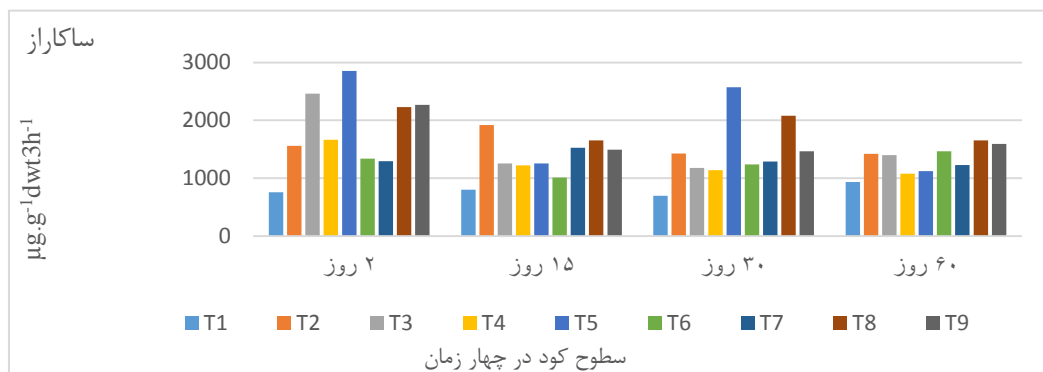
خاک مورد استفاده دارای بافت لوم رسی بود. بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثر سطوح کود و زمان و اثر متقابل آنها بر فعالیت ساکاراز معنی‌دار (p < ۰/۰۱) بود (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD نشان داد که همه تیمارها فعالیت ساکاراز را نسبت به شاهد بطور معنی‌دار افزایش داد (شکل ۱). بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در تیمارهای ۵ و ۸ و هر کدام ۲/۴ برابر شاهد و تیمار ۹ حدود ۲/۱ شاهد بود. بطور کلی در زمان اولیه و همچنین پس از گذشت ۴۵ روز از گرماگذاری افزایش فعالیت این آنزیم مشاهده شد ولی پس از گذشت ۶۰ روز فعالیت این آنزیم کاهش یافت (ترتیب فعالیت این آنزیم: ۲ روز < ۳۰ روز < ۱۵ روز < ۶۰ روز). صرفنظر از زمان گرماگذاری افزایش فعالیت این آنزیم در اثر کاربرد لجن فاضلاب و بیوجار مشاهده شد و می‌تواند به دلیل فراهم نمودن کربن و انرژی توسط لجن فاضلاب و بیوجار آن برای ریزموجودات خاک باشد.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثر تیمار و زمان بر فعالیت آنزیمی و pH خاک

منابع تغییرات	درجه آزادی	ساکاراز	pH
تکرار	۲	۱۳۴۰۴	۰/۰۰۳۶۱
سطوح کود	۸	۱۵۶۶۴۰۷**	۰/۲۲۴۵۸**
زمان	۳	۱۴۵۴۹۲۱**	۰/۰۶۳۰۵**
سطوح کود در زمان	۲۴	۴۰۶۴۱۰**	۰/۰۴۴۳۱**
خطا	۷۰	۱۱۰۴۷	۰/۰۱۰۱۸
CV	-	۷/۰۶	۱/۳۸

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد می‌باشد.

Du et al (2014) افزایش فعالیت ساکاراز در اثر افزودن بیوجار را مشاهده نمودند. که این افزایش به دلیل افزایش دسترسی به کربن در اثر افزودن بیوجار به خاک است.

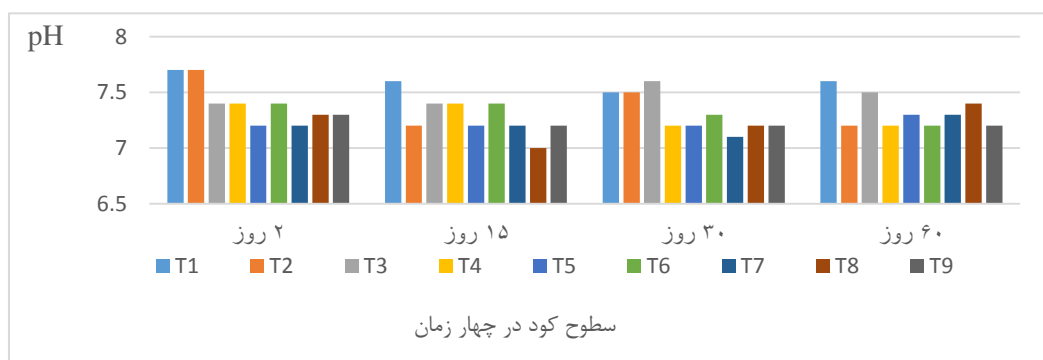


شکل ۱- اثر تیمار و زمان بر فعالیت آنزیم ساکاراز

Ouyang et al., (2014) نیز فعالیت آنزیم‌های خاک را، در اثر کاربرد لجن فاضلاب و بیوجار، در طول دوره‌های گرماگذاری مختلف اندازه‌گیری کردند. نتایج نشان داد که بیوجار در مراحل اولیه باعث افزایش فعالیت آنزیمی شد زیرا بیوجار عناصر غذایی در دسترس، کربن آلی خاک و فعالیت‌های میکروبی را افزایش می‌دهد. بطور کلی در مراحل اولیه گرماگذاری فعالیت آنزیمی افزایش یافت ولی با افزایش دوره گرماگذاری فعالیت آنزیمی کاهش یافت که ممکن است به دلیل تاثیر منفی فلزات سنگین باشد. فعالیت آنزیمی بالا که در مراحل اولیه مشاهده شده به این علت است که بیوجار باعث آزاد شدن عناصر غذایی به خاک و افزایش کربن آلی محلول و فعالیت میکروبی می‌شود (Ouyang et al., 2014). افزایش فعالیت آنزیمی مشاهده شده با نتایج Wang et al., (2012) مطابقت دارد که به عقیده آنها وجود عناصر مغذی در لجن فاضلاب باعث بهبود رشد میکروبی شده است، که دلیلی منطقی برای افزایش فعالیت آنزیمی بعد از افزودن لجن فاضلاب به خاک است.

تاثیر تیمارهای لجن فاضلاب و بیوجار بر pH خاک

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثر تیمار و زمان و اثر متقابل آنها بر pH خاک معنی‌دار ($p < 0.01$) بود (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD نشان داد که همه تیمارها pH خاک را نسبت به شاهد بطور معنی‌دار کاهش داد (شکل ۲).



شکل ۲- اثر تیمار و زمان بر pH خاک



البته در مقایسه تیمارها مشاهده می‌کنیم که تیمارهای حاوی بیوچار تا حدودی pH خاک را نسبت به سایر تیمارها بالا نگه داشته است و این دلیلی بر قلیائیت بیوچار است. بطور کلی نوسانات pH در طول زمان گرماگزاری به صورت زیر بود: ۲ روز < ۶۰ روز < ۴۵ روز < ۱۵ روز. ناپایداری pH ممکن است به علت آمونیفیکاسیون و نیتریفیکاسیون اوره و نیتروژن ناشی از کودها باشد (Song et al., 2016). Zhang et al (2016) در مطالعه‌ای که به منظور تاثیر بیوچار بر برخی خصوصیات خاک انجام داده بودند، افزایش pH خاک در اثر بیوچار را مشاهده نمودند. در مطالعه Bera et al (2016) نیز افزایش pH خاک در اثر کاربرد بیوچار مشاهده شد. در کل با افزایش کاربرد کودها pH کاهش یافت. Hussein (2008) کاهش pH را در اثر کاربرد لجن فاضلاب مشاهده نمود او دلیل کاهش pH را تولید اسیدهای آلی در ضمن تجزیه لجن و نیتریفیکاسیون آمونیوم ناشی از لجن فاضلاب عنوان کرد.

به‌عنوان نتیجه کلی تیمارهای ۵ (۲۴۰ تن لجن فاضلاب)، ۸ (۱۲۰ تن بیوچار + ۱۲۰ تن لجن فاضلاب) و ۹ (۱۲۰ تن بیوچار + ۲۴۰ تن لجن فاضلاب) نسبت به بقیه تیمارها تاثیر بیشتری بر فعالیت آنزیم ساکاراز داشت و در این تیمارها فعالیت این آنزیم بالاتر بود. در مورد pH در کل کاربرد لجن فاضلاب باعث کاهش pH اما بیوچار تا حدودی مقدار آن را بالا نگه داشت. کاربرد لجن فاضلاب و بیوچار آن، به دلیل بالا بودن مقادیر کربن آلی، نیتروژن و همچنین عناصر مغذی فراوان، در خاک می‌تواند مفید باشد البته وجود فلزات سنگین نیز بایستی در نظر گرفته شود. و در نهایت مطالعات مزرعه‌ای بیشتر با در نظر گرفتن فلزات سنگین و خصوصیات دیگر توصیه می‌شود.

منابع

- سالاردینی ع.ا. (۱۳۶۶). جلد سوم: حاصلخیزی خاک. انتشارات دانشگاه تهران.
- ملکوتی، م.ج. (۱۳۷۸). کشاورزی پایدار و افزایش عملکرد با بهینه سازی مصرف کود در ایران. نشر آموزش کشاورزی.
- هاشمی مجد، ک. ۱۳۹۲. تولید کمپوست و ورمی کمپوست از ضایعات آلی، انتشارات آبیژ.
- Alef, K. And Nannipieri, P. (eds). 1995. Methods in soil microbiology and biochemistry. Academic, London, pp 232–233.
- Baldrian, P. (2009). Microbial enzyme-catalyzed processes in soils and their analysis. Plant Soil Environment, 55(9), 370-378.
- Balota, E.L., Kanashiro, M., Filho, A.C., Andrade, D.S., and Dick, R.P. 2004. Soil enzymes activities under long-term tillage and crop rotation systems in subtropical agro-ecosystems. Braz. J. Microbiol. 35: 300-306.
- Bera, T., Collins, H. P., Alva, A. K., Purakayastha, T. J., & Patra, A. K. (2016). Biochar and manure effluent effects on soil biochemical properties under corn production. Applied Soil Ecology, 107, 360-367.
- Bhattacharjya S., Chandra R., Sharma M.P., Sharma S.K. and Agnihotri R. (2015) Biochar and crop residue amendments on soil microbial and biochemical properties. Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences:1-9.
- Du, Z., Wang, Y., Huang, J., Lu, N., Liu, X., Lou, Y., & Zhang, Q. (2014). Consecutive biochar application alters soil enzyme activities in the winter wheat-growing season. Soil Science, 179(2), 75-83.
- Gianfreda, L., & Rao, M. A. (2014). Enzymes in agricultural sciences. OMICS Group International.
- Hussein, A. H. A. (2009). Impact of sewage sludge as organic manure on some soil properties, growth, yield and nutrient contents of cucumber crop. Applied Sci, 9, 1401-1411.
- Lu, T., Yuan, H., Wang, Y., Huang, H., & Chen, Y. (2015). Characteristic of heavy metals in biochar derived from sewage sludge. Journal of Material Cycles and Waste Management, 1-9.
- sohi, s.p. 2012. Carbon Storage with Benefits. Science 338, 1034.
- Song, D., Xi, X., Huang, S., Liang, G., Sun, J., Zhou, W., & Wang, X. (2016). Short-Term Responses of Soil Respiration and C-Cycle Enzyme Activities to Additions of Biochar and Urea in a Calcareous Soil. PloS one, 11(9), e0161694.



Wang, J., Yi, Y. L., Tang, F. D., Pang, X. R., Chen, Z. L., Peng, L. M., ... & Yang, C. L. (2012). Effects of Composted Sewage Sludge on the Enzyme Activities in the Aeolian Sandy Soil. In *Advanced Materials Research* (Vol. 518, pp. 3341-3344). Trans Tech Publications.

ZHANG, Yu-lan, Li-jun CHEN, Yu-ge ZHANG, Zhi-jie WU, Xing-zhu MA, and Xiao-zhu YANG. 2016 "Examining the Effects of Biochar Application on Soil Phosphorus Levels and Phosphatase Activities with Visible and Fluorescence Spectroscopy."

Effect of sewage sludge and its biochar on sucrase activity and soil pH.

A. Haghayeghi Solak¹, J. Bahi², S. Salek Gilani³ S. M. J. bahrololoumi⁴

1. Soil science engineering graduate student, Sari agriculture and natural resources university, 2 and 3 department of soil science in sari university 4. Expert Department of Soil Science, University of Sari

Abstract

This study aimed to investigate the effects of sewage sludge and its biochar on enzymes activity and soil pH in the form of factorial in a completely randomized design with three replications include treatments of 20 and 40 g biochar (B), 40 and 80 g sewage sludge (S) per kg soil and combination of biochar and sludge treatments and four incubation time (2, 15, 30 and 60 day) done. based on the results, the effect of treatment and time and their interaction on the activity of sucrase and soil pH was significant ($p < 0.01$). All treatments increased sucrase activity and decreased soil pH. The highest activity of sucrose was observed in S₈₀ treatment. PH in the B₂₀ treatment was the highest and equal to the control at 2 days. By increasing the incubation time, the average activity of sucrase and soil pH decreased.

Keywords : Sewage sludge, Biochar, sucrase activity, soil pH