

اثر پسابهای صنعتی خام و تصفیه شده بر فعالیت آنزیمی یک خاک رس سیلنتی در شرایط آزمایشگاهی

علیرضا حسین پور^۲

فازر رئیسی^۲

زهرا نادى^۱

(دریافت ۸۹/۱/۱۷ پذیرش ۸۹/۱۲/۷)

چکیده

امروزه به دلیل مشکلات کمبود آب در مناطق خشک و نیمه خشک استفاده از پسابهای صنعتی برای آبیاری اراضی کشاورزی رو به افزایش است. مصرف پساب در اراضی کشاورزی می تواند به حفظ حاصلخیزی خاک از طریق بهبود نسبی ویژگی های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک کمک کند. از سوی دیگر، حضور برخی عناصر سمی در پساب ممکن است فعالیت و جمعیت میکربی و آنزیمی خاک را مختل سازد. در این تحقیق به بررسی اثر انواع پسابهای صنعتی شامل کارخانه های ذوب آهن، فولاد مبارکه و پلی اکریل اصفهان به صورت خام و تصفیه شده بر فعالیت آنزیمی یک خاک رس سیلنتی پرداخته شد. نمونه های خاک توسط پساب تا ۷۰ درصد ظرفیت مزرعه مرطوب و به مدت سه ماه در دمای ۲۵ درجه سلسیوس در داخل انکوباتور نگهداری شدند. سپس در فواصل ۳۰ روز، نمونه های خاک به منظور سنجش فعالیت آنزیمی شامل ساکاراز، اوره آز، آریل سولفاتاز و فسفاتاز قلبایی تجزیه شدند. نتایج نشان داد فعالیت آنزیمی اغلب خاکهای تیمار شده با پساب در طی دو ماه اول انکوباسیون بر اثر مصرف پسابها افزایش و سپس در ماه سوم کاهش یافت. به طور کلی مصرف پسابهای صنعتی سبب کاهش ۳۰ درصد متوسط فعالیت آنزیم آریل سولفاتاز شد در حالی که متوسط فعالیت آنزیم های فسفاتاز قلبایی، اوره آز و ساکاراز را به ترتیب ۷/۵، ۶۰ و ۲۶/۵ درصد نسبت به خاک شاهد افزایش داد. صرف نظر از مدت زمان انکوباسیون، افزودن پساب به خاک سبب افزایش فعالیت آنزیمی در اغلب نمونه ها گردید و این حاکی از وجود کربن، انرژی و عناصر غذایی مورد نیاز برای رشد میکربی در پساب بود که منجر به افزایش فعالیت و جمعیت میکربی و در نتیجه افزایش سنتز آنزیم توسط آنها می گردد.

واژه های کلیدی: پسابهای صنعتی، خاک رس سیلنتی، فعالیت آنزیمی، فعالیت میکربی، آلودگی خاک

The Influence of Treated and Untreated Wastewaters on Enzymatic Activity of a Silty Clay Soil Under Laboratory Conditions

Zhara Nadi¹

Faez Raiesi²

Alireza Hosseinpur²

(Received Apr. 6, 2010 Accepted Feb. 26, 2011)

Abstract

The use of industrial wastewater for irrigating farmlands is currently increasing, especially in arid and semi-arid areas because of water shortage for agriculture. The use of industrial wastewater in farmlands could help the sustainable soil fertility through improving the physical, chemical and biological soil characteristics. On the other hand, wastewater may contain toxic elements that are detrimental to soil microorganism and biochemical reactions. The aim of this study was to determine the effects of industrial wastewater either treated or untreated on soil enzyme activities. The wastewater samples were taken from Zobahan and Isfahan Foolad Mobarakeh steel plants and Polyacril plant. Soil samples were moistened at 70% field capacity using wastewaters and then placed at 25 °C for 3 months in an incubator. Soil samples were analyzed to examine enzyme activities at monthly intervals. Results showed that during the first two months of incubation enzyme activities increased in

1. M.Sc. student, of Biotech. and Soil Biotech., College of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord (Corresponding Author) (+98 311) 5677199 zahra.nadi@yahoo.com
2. Assoc. Prof. of Soil Sciences, College of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد
zahra.nadi@yahoo.com (۰۳۱۱) ۵۶۷۷۱۹۹
۲- دانشیار گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد

wastewater-treated soils whereas a reverse trend was seen in the third month. In general, industrial wastewaters caused a 30% decrease in the average activity of arylsulfatase, however, it increased the average activity of alkaline phosphatase, urease and saccharase by 7.5%, 60% and 26.5%, respectively. Overall, regardless of the incubation period and sampling time, adding wastewater to the soil increased enzyme activities. The presence of carbon and nutrients in wastewater could lead to an increase in microbial activities and populations, resulted in increasing synthesis and production of enzymes involved.

Keywords: Industrial Wastewater, Silty Clay Soil, Enzyme Activities, Microbial Activity, Soil Pollution.

۱- مقدمه

خاک نه تنها در تولید غذا، بلکه در حفظ و نگهداری کیفیت محیط نیز نقش بسزایی دارد. بنابراین، حفظ کیفیت و سلامت آن ضروری به نظر می‌رسد. کیفیت خاک، ظرفیت آن برای انجام وظایفی در اکوسیستم به‌منظور افزایش حاصلخیزی همراه با حفظ کیفیت محیط و سلامت انسان و حیوان تعریف شده است [۱]. امروزه با گسترش زندگی ماشینی و به‌وجود آمدن انواع آلودگی‌های محیطی، کیفیت و سلامت خاک و به تبع آن سلامت موجودات زنده در معرض مشکلات جدی قرار گرفته است [۲].

از سوی دیگر، امروزه به دلیل مشکلات کمبود آب در مناطق خشک و نیمه خشک، استفاده از پسابهای شهری و صنعتی در آبیاری اراضی کشاورزی رو به افزایش است. علاوه بر این، این پسابها حاوی عناصر غذایی و مواد آلی مورد نیاز رشد گیاه هستند و انرژی مورد نیاز ریزجانداران خاک را نیز فراهم می‌سازند [۳]. اما پسابهای صنعتی علاوه بر مزایای مذکور، دارای اثرات سوء هم هستند که یکی از آنها وجود عناصر سنگین از جمله کادمیم، سرب، روی، نیکل، کبالت، مس و بور در این مواد است. ورود این عناصر هنگام مصرف پسابهای صنعتی به خاک بر ریزجانداران آن به‌عنوان موجوداتی که نقش مهم در چرخه عناصر غذایی و نهایتاً حاصلخیزی خاک دارند، اثر ناخواسته و سوء دارد [۴]. بنابراین استفاده از پسابها و لجن فاضلابهای شهری و صنعتی می‌تواند منجر به تجمع تدریجی برخی از عناصر سنگین در خاک شود و با ورود به زنجیره غذایی می‌تواند سلامت موجودات زنده را نیز به خطر بیندازد [۵].

به این ترتیب حفظ باروری و حاصلخیزی خاک و در عین حال جلوگیری از آلودگی آن یک امر ضروری برای تولید و کشاورزی پایدار است. از این رو برای استفاده دراز مدت از پسابها در اراضی کشاورزی بررسی همه جانبه ابعاد بیولوژیکی و زیست‌محیطی آنها ضروری به نظر می‌رسد.

همان‌طور که اشاره شد پساب نه تنها حاوی عناصر غذایی و مواد آلی است بلکه حاوی عناصر سنگین نیز هست که می‌تواند برای مدت طولانی در خاک باقی بماند و با گذشت زمان غلظت آنها در خاک به حد غیر مجاز می‌رسد [۶]. وجود کربن و نیتروژن در پساب می‌تواند اثرات مفیدی بر ویژگی‌های فیزیکی‌شیمیایی و

بیولوژیکی خاک داشته باشد [۷ و ۸]. اما به‌منظور اطمینان از مؤثر بودن و بی خطر بودن پساب به‌عنوان یک اصلاح کننده در خاک، کنترل و بررسی کیفیت شیمیایی این مواد ضروری به نظر می‌رسد. به‌همین منظور اثر این مواد را بر شاخصهای بیولوژیکی اندازه‌گیری می‌کنند و به این دلیل امروزه شاخصهای کیفی حساس خاک که اثر این‌گونه مواد کاربردی در خاک را بازتاب می‌کند، رو به گسترش است [۹]. از طرفی خصوصیات بیولوژیکی و بیوشیمیایی خاک بیشترین حساسیت را به استرس‌های محیطی از جمله آلودگی دارند و بنابراین بهترین شاخص برای ارزیابی کیفیت آن هستند. رنلا و همکاران^۱ در سال ۲۰۰۵ دریافتند که خصوصیات بیولوژیکی و بیوشیمیایی خاک بهترین شاخص برای بررسی کیفیت آن است زیرا این خصوصیات ارتباط نزدیکی با چرخه عناصر غذایی در خاک دارند [۱۰]. این شاخصها شامل تنفس و بیومس میکروبی، معدنی شدن نیتروژن در خاک و فعالیت آنزیمی خاک هستند، به‌ویژه فعالیت آنزیمی خاک که سهم مهم در توانایی خاک برای تجزیه مواد آلی خاک دارد. سپدا و همکاران^۲ در سال ۲۰۰۲ در تحقیقی بیان نمودند که فعالیت آنزیم‌های خاک مهم‌ترین شاخص تعیین کیفیت و سلامت خاک به‌شمار می‌آیند [۱۱]. سنجش فعالیت آنزیمی حساس‌ترین شاخص به اثر فاکتورهای محیطی بر عملکرد میکروبی است. زیرا در چرخه عناصر غذایی مؤثر است. تحقیقات نشان می‌دهد که ترکیب جامعه میکروبی خاک، توانایی خاک را برای تولید آنزیم تعیین می‌کند. بنابراین هرگونه تغییر در جامعه میکروبی خاک بر اثر فاکتورهای محیطی از جمله آلودگی می‌تواند سنتز و در نتیجه سطح فعالیت آنزیمی خاک را تغییر دهد. فعالیت آنزیمی خاک یک پارامتر حساس به آلودگی است و به‌عنوان یک شاخص برای اندازه‌گیری و تخمین درجه تخریب و آلودگی خاکها در نظر گرفته می‌شود [۱۱]. از میان گروههای مختلف آنزیمی، اکسیدوردوکتازها که در برگیرنده فرایندهای اکسیداسیون در خاک هستند و فعالیت آنها وابسته به فعالیتهای متابولیکی بیوتای خاک است، به‌عنوان یک شاخص مناسب از فعالیت میکروبی خاک در مناطق خشک و نیمه خشک به‌شمار می‌روند [۹].

¹ Renella et al.

² Cepeda et al.

قلیایی، اینورتاز و اوره‌آز در یک خاک با ماده آلی اندک و pH نسبتاً خنثی تحت شرایط انکوباسیون آزمایشگاهی اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل سه نوع پساب صنعتی ذوب آهن، فولاد مبارکه و پلی‌اکریل اصفهان به دو شکل تصفیه شده و تصفیه نشده (خام) بود که در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار اجرا گردید. یک نمونه خاک بدون افزودن پساب به عنوان شاهد نیز در آزمایش لحاظ گردید. یک مزرعه زراعی برای نمونه برداری انتخاب و از لایه سطحی خاک به عمق ۰ تا ۳۰ سانتی‌متر نمونه برداری صورت گرفت. نمونه خاک به آزمایشگاه منتقل و پس از هوا خشک شدن از الک دو میلی‌متری عبور داده شد. سپس خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک شامل pH، شوری، کربن آلی به روش اکسیداسیون تر، نیتروژن کل به روش کج‌لدال^۳، فسفر قابل جذب به روش اولسن، مقدار کربنات کلسیم معادل به روش تیتراسیون برگشتی و بافت خاک به روش هیدرومتری مورد ارزیابی قرار گرفتند [۱۶]. خصوصیات خاک مورد آزمایش در جدول ۱ ارائه شده است.

نمونه برداری پسابهای مورد استفاده در این تحقیق، از حوضچه‌های جمع‌آوری پساب سه کارخانه ذوب آهن، فولاد مبارکه و پلی‌اکریل اصفهان انجام گرفت. این نمونه‌ها به آزمایشگاه منتقل و خصوصیات شیمیایی آنها از قبیل pH، شوری و فلزاتی از قبیل بور، کبالت، مس، آهن، منگنز، نیکل، سلنیم و روی با استفاده از دستگاه اتمیک اندازه‌گیری گردید [۱۶].

به منظور سنجش فعالیت آنزیم‌ها، معادل ۱۰۰ گرم خاک آون خشک پس از توزین دقیق به ظروف پلاستیکی یک لیتری انتقال داده شد و سپس تیمارهای مختلف روی آنها اعمال گردید. به این ترتیب که ۲۰ میلی‌لیتر از پساب به خاک اضافه شد. به منظور حذف خطاهای آزمایشگاهی سه نمونه خاک شاهد اما بدون پساب نیز به همان روش تهیه گردید. رطوبت خاک درون جار به ۷۰ تا ۸۰ درصد ظرفیت مزرعه رسانده شد و این رطوبت تا پایان آزمایش با توزین کردن متوالی کنترل گردید. نمونه‌ها به مدت سه روز پیش‌انکوباسیون شده و پس از آن برای مدت سه ماه در انکوباسیون در درجه حرارت ۲۵ درجه سلسیوس خوابانده شدند و سپس فعالیت آنزیمی خاکهای تیمار شده به مدت ۹۰ روز به فاصله هر ماه یکبار اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی از روشهای استاندارد ارائه شده توسط الف^۴ و نانی پیری^۵ در سال ۱۹۹۵ استفاده گردید [۱۷].

اثر پسابهای صنعتی بر فعالیت آنزیمی خاک بستگی به ترکیب پساب و نوع آنزیم دارد [۱۲]. گیلر و همکاران^۱ در سال ۱۹۹۸ مشاهده کردند که افزودن پساب به خاک فعالیت میکروبی خاک از جمله فعالیت آنزیمی خاک را کاهش می‌دهد [۱۳]. اما در مقابل بانرجی و همکاران^۲ در سال ۱۹۹۷ نشان دادند که کاربرد پساب فعالیت آنزیمی را افزایش می‌دهد [۱۱]. این نتایج متناقض، حاکی از آن است که پارامترهای بیولوژیکی خاک بسته به میزان عناصر سنگین موجود در پساب کاهش یا افزایش می‌یابند. کاربرد پساب در خاک باعث افزایش رشد ریزجانداران و در نتیجه افزایش تولید و سنتز آنزیم توسط آنها می‌شود [۱]. در صورت وجود عناصر سنگین سمی نظیر کادمیم و سرب در پساب، فعالیت آنزیمی خاک کاهش می‌یابد. [۱۳]. عناصر سنگین قادر به کاهش فعالیت آنزیم از طریق تأثیر بر کمپلکس آنزیم-سوبسترا، تغییر شکل پروتئین آنزیمی و یا تأثیر بر جایگاه فعال آنزیم هستند و به‌طور کلی سنتز آنزیم در سلول میکروبی را مختل می‌سازند [۱۶]. در حالی که در صورت کمبود و یا عدم وجود عناصر سنگین در پسابهای صنعتی بسته به نوع آنزیم مورد بررسی، حتی ممکن است فعالیت آنزیمی میکروب‌های خاک افزایش یابد [۱۴]. طباطبایی در سال ۱۹۷۷ اظهار داشت با توجه به اینکه آنزیم اوره‌آز حاوی گروه سولفیدریل در جایگاه فعال خود است، فلزات سنگین موجود در پساب با تأثیر بر این گروه‌ها، فعالیت آنها را تحت تأثیر قرار می‌دهد. وی با بررسی غلظت مختلف فلز سنگین نتیجه گرفت که غلظت ۵ میکرومول بر گرم خاک بیشترین اثر مهارکنندگی را بر فعالیت این آنزیم دارد [۱۵].

هدف از این تحقیق بررسی اثر انواع پسابهای صنعتی شامل کارخانه‌های ذوب آهن، فولاد مبارکه و پلی‌اکریل اصفهان به صورت خام و تصفیه شده بر فعالیت آنزیمی خاک بود. در این مطالعه چنین فرض شد که پسابهای صنعتی سبب کاهش فعالیت آنزیمی خاک می‌شوند و اثر آنها تابع نوع و ترکیب پساب مصرفی است. آنزیم‌های مورد مطالعه در این تحقیق شامل ساکاراز، اوره‌آز، آریل سولفاتاز و فسفاتاز قلیایی بودند. این آنزیم‌ها نقش مهمی به ترتیب در چرخه عناصر کربن، نیتروژن، گوگرد و فسفر بازی می‌کنند و محصول نهایی فعالیت آنها عناصری هستند که به راحتی برای ریزجانداران و گیاه قابل جذب هستند.

۲- مواد و روشها

این طرح به منظور بررسی اثر انواع پسابهای صنعتی بر فعالیت میکروبی از طریق سنجش فعالیت آنزیم‌های آریل سولفاتاز، فسفاتاز

³ Kjeldal

⁴ Alef

⁵ Nannipieri

¹ Giller et al.

² Banerjee et al.

نتایج این طرح در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی مورد ارزیابی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها شامل تجزیه واریانس (ANOVA) و مقایسه میانگین‌ها به روش LSD در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از نرم افزار SAS نسخه ۹ انجام شد. برای بهره‌گیری از تجزیه واریانس‌ها، داده‌های خام و باقیمانده آنها برای نرمال بودن و همگنی واریانس داخل تیمارها مورد ارزیابی قرار گرفتند.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- خصوصیات خاک و پسابهای مورد استفاده

برخی خصوصیات شیمیایی و فیزیکی خاک و پسابهای استفاده شده در آزمایش به ترتیب در جدولهای ۱ و ۲ نشان داده شده است. همان‌طور که نتایج جدول ۱ نشان می‌دهد خاک مورد استفاده نسبتاً خنثی و فقیر از ماده آلی یعنی حدود ۱ درصد است. پسابهای تصفیه نشده مورد استفاده نیز نسبت به پسابهای تصفیه شده دارای غلظت بالایی از فلزات سلنیم، بور و آهن هستند (جدول ۲). شوری پسابهای تصفیه نشده ذوب آهن و پلی‌اکریل نسبتاً بالا است ($>3 \text{ dS m}^{-1}$) در حالی که pH پسابهای تصفیه نشده ذوب آهن و تصفیه شده فولاد مبارکه نزدیک به قلیایی (>9) است (جدول ۲).

۳-۲- اثر پساب بر فعالیت آنزیم آریل سولفاتاز

با افزودن پساب به خاک پس از گذشت ۳۰ روز از شروع انکوباسیون فعالیت این آنزیم تفاوت معنی‌داری نشان نداد در حالی که پس از گذشت ۹۰ روز از شروع انکوباسیون تمام انواع پساب سبب کاهش فعالیت این آنزیم شدند (جدول ۳). با توجه به نتایج جدولهای ۲ و ۳ چنین استنباط می‌شود که کاهش فعالیت آنزیم آریل سولفاتاز بر اثر مصرف پسابهای تصفیه نشده ذوب آهن و پلی‌اکریل می‌تواند به دلیل شوری بالای این پسابها باشد. حضور

فلزات سنگین مختلف نظیر کبالت، آهن و سلنیم در غلظت بالا در پسابهای مورد استفاده می‌تواند فعالیت این آنزیم را پس از گذشت ۹۰ روز از شروع انکوباسیون کاهش داده باشد. با توجه داده‌های جدول ۳ ملاحظه می‌شود که صرف نظر از مدت زمان انکوباسیون، به طور کلی مصرف پسابهای صنعتی در خاک سبب کاهش متوسط فعالیت آنزیم آریل سولفاتاز می‌شود و تفاوت معنی‌دار بین مصرف پسابهای تصفیه شده و تصفیه نشده بر فعالیت این آنزیم وجود ندارد و هر دو نوع پساب سبب کاهش معنی‌دار فعالیت این آنزیم می‌گردند. دلیل این امر شاید به دلیل حساسیت بالای این آنزیم به فلزات سنگین باشد به طوری که حتی مصرف پساب تصفیه شده با غلظت کم عناصر سنگین سبب کاهش فعالیت این آنزیم شده است (جدولهای ۲ و ۳).

جدول ۱- برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش

| مقدار | خصوصیت |
|------------|---|
| ۱۲۰ | شن (mg g^{-1}) |
| ۴۵۰ | سیلت (mg g^{-1}) |
| ۴۳۰ | رس (mg g^{-1}) |
| Silty clay | بافت |
| ۴۱۰ | کربنات کلسیم معادل (mg g^{-1}) |
| ۷/۸ | pH |
| ۰/۲۳ | EC (dS m^{-1}) |
| ۷/۳ | P (mg kg^{-1}) |
| ۰/۵۸ | نیترژن کل (mg g^{-1}) |
| ۶ | C_{org} (mg g^{-1}) |
| ۱۰/۳۴ | C/N |
| ۱۰/۳ | O.M (mg g^{-1}) |

جدول ۲- خصوصیات پساب‌های مورد استفاده در آزمایش

| نوع پساب | B | Zn | Se | Mn | Fe | Ni | Cu | Co | EC | pH |
|-------------------------|------|-----|------|-----|------|-----|----|----|------|------|
| تصفیه شده فولاد مبارکه | ۰ | ۱ | ۸۸۸ | ۲۶ | ۲۲۹ | ۷۲ | ۱۱ | ۰ | ۱/۵۲ | ۹/۴۳ |
| تصفیه نشده فولاد مبارکه | ۰ | ۲۹ | ۲۱۲۰ | ۶۶ | ۱۳۵۰ | ۸۵ | ۱۱ | ۲۵ | ۱/۹۵ | ۶/۷۸ |
| تصفیه شده ذوب آهن | ۰ | ۵ | ۰ | ۲۹ | ۱۷۷ | ۶۸ | ۹ | ۲ | ۲/۰۴ | ۸/۴۶ |
| تصفیه نشده ذوب آهن | ۵۸۳۰ | ۶۸ | ۵۴۰ | ۳۵ | ۲۸۴ | ۷۴ | ۱۵ | ۲ | ۳/۲۱ | ۹/۳۲ |
| تصفیه شده پلی‌اکریل | ۰ | ۱۸ | ۴۳۰ | ۲۹ | ۳۲۷ | ۶۵ | ۹ | ۰ | ۲/۹۵ | ۷/۵۵ |
| تصفیه نشده پلی‌اکریل | ۲۳۴ | ۲۳۳ | ۹۱۴ | ۲۹۴ | ۳۲۴۰ | ۱۰۶ | ۲۶ | ۸ | ۳/۶۵ | ۸/۰۴ |

غلظت عناصر بر حسب ppb و واحد شوری (dS m^{-1}) است.

براون در ۱۹۷۵ مشاهده کرد افزودن فاضلاب به خاک فعالیت آنزیمی را کاهش می‌دهد [۴]. اما در مقابل بانرجی و همکاران^۱ در سال ۱۹۹۷ نشان دادند کاربرد فاضلاب فعالیت آنزیمی را افزایش می‌دهد [۱]. این اثرات متناقض حاکی از آن است که اثر پسابهای صنعتی بر فعالیت آنزیمی بستگی به ترکیب پساب و نوع آنزیم (حساسیت آنزیم به فلزات سنگین) دارد [۱۲]. گیلر و همکاران در سال ۱۹۹۸ نشان دادند عناصر سنگین موجود در پساب از طریق تأثیر بر کمپلکس آنزیم-سوبسترا و تغییر شکل پروتئین آنزیمی قادر به کاهش فعالیت آنزیمی هستند [۱۳]. همچنین جیمز و همکاران^۲ در سال ۲۰۰۷ گزارش نمودند که پس از مصرف پساب و با گذشت زمان فعالیت آنزیمی کاهش می‌یابد و این کاهش به دلیل کاهش مقدار مواد آلی قابل دسترس در پساب و یا تجمع تدریجی فلزات سمی در خاک است [۱۸].

۳-۳- اثر پساب بر فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی

با افزودن پساب به خاک فعالیت این آنزیم پس از گذشت ۳۰ روز از شروع انکوباسیون در اکثر تیمارها افزایش یافته است. فعالیت این آنزیم در ماه دوم نسبت به ماه اول افزایش یافته است اما اختلاف اغلب تیمارها با خاک شاهد معنی‌دار نیست (جدول ۳). پس از گذشت ۹۰ روز از شروع انکوباسیون فعالیت آنزیمی در تمام تیمارها نسبت به ماههای قبل کاهش یافته است اما اغلب پسابها همچنان سبب افزایش فعالیت این آنزیم نسبت به تیمار شاهد شده‌اند (جدول ۳). با توجه به نتایج جدول ۳ صرف نظر از مدت زمان انکوباسیون، به‌طور کلی مصرف اغلب پسابها فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی را افزایش داده‌اند. علت این افزایش می‌تواند به دلیل افزایش میزان فسفر آلی موجود در خاک بر اثر مصرف پساب باشد. باقری در سال ۱۳۷۹ گزارش کرد که استفاده از پسابهای صنعتی در آبیاری اراضی کشاورزی می‌تواند سبب افزایش چشمگیر میزان فسفر آلی خاک شود [۱۹]. علاوه بر این، دلیل دیگر افزایش فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی می‌تواند pH بالای (حتی بالاتر از خاک) اکثر پسابهای مورد استفاده باشد زیرا افزایش حتی ناچیز pH خاک بر اثر مصرف پساب می‌تواند فعالیت این آنزیم را افزایش دهد [۲۰]. آنزیم فسفاتاز قلیایی جزو آنزیم‌های هیدرولیز کننده است که هیدرولیز استر و آنیدریدهای فسفات را انجام می‌دهد و منشأ اصلی آن در خاک، ریزجانداران خاکزی هستند، فعالیت این آنزیم تابع عوامل مختلف از جمله pH، رطوبت و کربن سهل الوصول موجود در خاک است. بنابراین احتمالاً

مصرف پساب، با افزایش کربن سهل‌الوصول و افزایش pH خاک می‌تواند سبب افزایش فعالیت این آنزیم شود. لای و همکاران^۳ در سال ۱۹۹۹ گزارش کردند که مصرف پساب سبب افزایش pH خاک می‌شود و افزایش فعالیت این آنزیم را به‌همراه دارد [۲۰]. با توجه به میانگین فعالیت این آنزیم در خاکهای تیمار شده در جدول ۳ مشاهده می‌شود که مصرف پسابهای تصفیه نشده، متوسط فعالیت این آنزیم را بیشتر از پسابهای تصفیه شده افزایش داده است. در مورد پساب تصفیه نشده ذوب آهن و پلی‌اکریل دلیل این افزایش می‌تواند شوری و pH بالاتر این پسابها نسبت به پساب تصفیه شده متناظر باشد (جدول ۲).

۳-۴- اثر پساب بر فعالیت آنزیم اوره‌آز

همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود فعالیت آنزیم اوره‌آز در ماه اول حداکثر است و با گذشت زمان کاهش یافته است. با توجه به میانگین‌های موجود در جدول ۳ و صرف نظر از مدت زمان انکوباسیون، به‌طور کلی مصرف انواع پساب سبب افزایش معنی‌دار فعالیت این آنزیم شده است. همچنین ملاحظه می‌شود که بین پسابهای تصفیه شده و تصفیه نشده هر کارخانه اختلاف معنی‌داری بر فعالیت این آنزیم مشاهده نمی‌شود. دلیل این امر شاید حساسیت کمتر این آنزیم به فلزات سنگین باشد زیرا اثر فلز سنگین بر فعالیت آنزیمی نه تنها به نوع آنزیم بلکه به نوع فلز سنگین و غلظت آن در خاک نیز بستگی دارد.

آنزیم اوره‌آز از جمله آنزیم‌های مهم چرخه نیتروژن است و افزایش میزان نیتروژن آلی خاک می‌تواند سبب افزایش فعالیت این آنزیم در خاک شود [۲۱]. افزایش فعالیت این آنزیم بر اثر افزودن پساب، شاید به دلیل افزایش کربن و عناصر غذایی و به تبع آن افزایش جمعیت و فعالیت میکروبی و در نتیجه تولید و ترشح بیشتر این آنزیم توسط میکروب‌ها باشد. از طرفی مصرف پسابهای صنعتی با افزایش pH خاک می‌تواند فعالیت این آنزیم را افزایش دهند. لای و همکاران در سال ۱۹۹۹ نشان دادند کاهش فعالیت آنزیم اوره‌آز با گذشت زمان پس از مصرف فاضلاب و مواد آلی به دلیل کاهش سوبسترا و تجمع متابولیت‌های سمی در خاک است. به‌علاوه اوره‌آز ممکن است توسط پروتئازها هیدرولیز گردد که سبب کاهش فعالیت و مقدار آن در خاک می‌شود [۲۰].

۳-۵- اثر پساب بر فعالیت آنزیم ساکاراز

همان‌طور که در جدول ۳ ملاحظه می‌شود به‌جز پساب تصفیه نشده پلی‌اکریل که سبب افزایش فعالیت این آنزیم نسبت به خاک

¹ Brown et al.

² Jimenez et al.

³ Lai et al.

جدول ۳- اثر انواع پسابهای صنعتی خام و تصفیه شده بر فعالیت آنزیم های آریل سولفاتاز، فسفاتاز قلیایی ($\mu\text{g PNP g}^{-1} \text{h}^{-1}$)، اوره آز ($\mu\text{g NH}_4\text{-N g}^{-1} \text{soil } 2\text{h}^{-1}$) و ساکاراز ($\mu\text{g glucose g}^{-1} 24 \text{h}^{-1}$) طی سه ماه انکوباسیون آزمایشگاهی در فواصل زمانی هر ماه. اعداد میانگین ($n=3$) هستند و انحراف استانداردها (SD) در داخل پرانتز نشان داده شده‌اند. آماره F عدد فیشر جدول تجزیه واریانس است.

| F | کد تیمار | | | | | | | زمان انکوباسیون (ماه) | آنزیم |
|---------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|-----------------------|----------------|
| | ۶ | ۵ | ۴ | ۳ | ۲ | ۱ | ۰ | | |
| ۰/۱۷ ^{n.s} | ۲۰/۰ (۱/۷۳) ^A | ۱۹/۰ (۱/۱۵) ^A | ۲۰/۶ (۱/۲۰) ^A | ۲۰/۰ (۱/۷۳) ^A | ۲۰/۰ (۱/۵۲) ^A | ۱۹/۰ (۱/۷۳) ^A | ۱۹/۲ (۱/۳۷) ^A | ۱ | آریل سولفاتاز |
| ۲۱/۹۱*** | ۳۲/۳ (۱/۴۰) ^B | ۳۳/۳ (۱/۴۵) ^{AB} | ۳۷/۰ (۲/۶۲) ^{AB} | ۳۴/۰ (۲/۶۴) ^{AB} | ۱۴/۶ (۱/۲۰) ^C | ۱۹/۳ (۱/۴۵) ^C | ۳۹/۳ (۱/۴۵) ^A | ۲ | |
| ۴۹/۱۳*** | ۲۳/۰ (۲/۰۸) ^C | ۲۹/۰ (۲/۶۴) ^B | ۱۶/۶ (۰/۸۸) ^D | ۱۹/۶ (۱/۷۶) ^{CD} | ۱۲/۳ (۱/۸۵) ^D | ۱۲/۳ (۰/۸۸) ^D | ۳۷/۳ (۱/۴۵) ^A | ۳ | |
| ۵۵/۴۲*** | ۲۵/۰ (۰/۵۸) ^B | ۲۷/۱ (۰/۴۴) ^B | ۲۴/۷ (۱/۳۹) ^B | ۲۴/۵ (۰/۶۱) ^B | ۱۵/۶ (۱/۲۶) ^C | ۱۶/۸ (۰/۷۷) ^C | ۳۱/۹ (۰/۴۷) ^A | میانگین | |
| ۱۳/۵۹*** | ۳۱۰ (۲۱/۳) ^{BC} | ۳۹۳ (۱۷/۳) ^A | ۳۳۶ (۱۸/۴) ^{AB} | ۱۷۶ (۱۷/۶) ^D | ۳۴۷ (۲۳/۶) ^{AB} | ۲۶۲ (۱۷/۱) ^C | ۲۷۰ (۱۷/۶) ^C | ۱ | فسفاتاز قلیایی |
| ۶/۳۵** | ۳۶۵ (۳۸/۰) ^A | ۳۶۹ (۲۹/۵) ^A | ۳۹۱ (۳۰/۸) ^A | ۱۸۹ (۲۲/۲) ^B | ۳۸۹ (۳۶/۹) ^A | ۲۶۴ (۲۲/۹) ^B | ۳۸۲ (۳۴/۳) ^A | ۲ | |
| ۸/۷۹*** | ۳۳۷ (۴۲/۱) ^{AB} | ۳۰۰ (۲۹/۲) ^{AB} | ۳۷۹ (۳۱/۷) ^A | ۱۸۹ (۲۲/۵) ^C | ۲۸۳ (۲۵/۱) ^B | ۱۶۲ (۱۹/۰) ^C | ۱۹۲ (۱۹/۰) ^C | ۳ | |
| ۲۳/۰۶*** | ۳۳۷ (۱۹/۴) ^A | ۳۵۴ (۱۳/۱) ^A | ۳۶۹ (۵/۸) ^A | ۱۸۴ (۶/۸) ^D | ۳۳۹ (۱۰/۶) ^A | ۲۲۹ (۶/۹) ^C | ۲۸۱ (۲۳/۷) ^B | میانگین | |
| ۷/۸۴*** | ۲۷/۶ (۲/۴۴) ^A | ۲۴/۹ (۱/۷۴) ^{AB} | ۲۰/۷ (۱/۱۸) ^{BC} | ۲۰/۸ (۱/۹۹) ^{BC} | ۱۷/۰ (۲/۲۰) ^{CD} | ۱۸/۲ (۱/۴۱) ^C | ۱۱/۹ (۱/۶۲) ^D | ۱ | اوره آز |
| ۰/۲۲ ^{n.s} | ۴/۵۴ (۱/۱۱) ^A | ۴/۰۲ (۰/۷۳) ^A | ۳/۸۵ (۰/۵۴) ^A | ۴/۲۶ (۰/۷۷) ^A | ۳/۸۱ (۰/۷۷) ^A | ۴/۸۲ (۰/۲۵) ^A | ۴/۵۲ (۱/۱۵) ^A | ۲ | |
| ۸/۰۷*** | ۴/۶۷ (۱/۰۵) ^{AB} | ۶/۴۱ (۰/۶۳) ^A | ۵/۷۶ (۰/۸۳) ^{AB} | ۴/۳۰ (۰/۶۵) ^{BC} | ۱/۵۰ (۰/۴۳) ^D | ۱/۸۵ (۰/۳۶) ^D | ۲/۲۵ (۰/۶۲) ^{CD} | ۳ | |
| ۱۷/۶۷*** | ۱۲/۳ (۰/۲۶) ^A | ۱۱/۸ (۰/۳۲) ^A | ۱۰/۱ (۰/۷۸) ^B | ۹/۷۹ (۰/۳۹) ^{BC} | ۷/۴۶ (۰/۶۳) ^{DE} | ۸/۲۹ (۰/۵۸) ^{CD} | ۶/۲۳ (۰/۵۰) ^E | میانگین | |
| ۳/۴۲* | ۶۷/۰ (۴/۶۱) ^A | ۶۵/۰ (۵/۱۹) ^{AB} | ۵۴/۵ (۶/۰۶) ^{AB} | ۵۰/۳ (۴/۹۱) ^B | ۵۹/۰ (۶/۳۵) ^{AB} | ۵۶/۰ (۵/۱۹) ^{AB} | ۵۱/۰ (۲/۶) ^B | ۱ | ساکاراز |
| ۴/۶۱** | ۶۲/۰ (۵/۱۹) ^{BC} | ۷۱/۰ (۴/۶۱) ^{AB} | ۶۹/۰ (۵/۱۹) ^{AB} | ۷۱/۳ (۱۰/۶۸) ^{AB} | ۸۴/۳ (۳/۷۵) ^A | ۵۷/۰ (۴/۶۱) ^{BC} | ۴۵/۰ (۳/۴۶) ^C | ۲ | |
| ۳/۲۹* | ۶۷/۰ (۵/۵۰) ^A | ۵۵/۰ (۴/۴۱) ^{AB} | ۶۵/۳ (۷/۱۲) ^{AB} | ۵۲/۰ (۴/۶۱) ^{AB} | ۵۹/۶ (۴/۹۱) ^{AB} | ۳۸/۰ (۶/۳۵) ^C | ۴۹/۰ (۵/۱۹) ^{BC} | ۳ | |
| ۴/۹۳** | ۶۵/۳ (۲۷/۴) ^A | ۶۳/۶ (۳/۲۷) ^A | ۶۲/۹ (۱/۲۷) ^A | ۵۷/۸ (۵/۱۹) ^{AB} | ۶۷/۶ (۴/۴۳) ^A | ۵۰/۳ (۱/۳۸) ^B | ۴۸/۴ (۰/۲۹) ^B | میانگین | |

۰.n.s = غیر معنی دار، $P < 0.05 = *$, $P < 0.01 = **$, $P < 0.001 = ***$ و به ترتیب خاک شاهد، پساب تصفیه شده ذوب آهن، پساب تصفیه نشده ذوب آهن، پساب تصفیه شده فولاد مبارکه، پساب تصفیه نشده فولاد مبارکه، پساب تصفیه شده پلی اکریل و پساب تصفیه نشده پلی اکریل هستند. در هر ردیف میانگین تیمارها با حروف مشترک بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد دارای اختلاف معنی دار نیستند.

۴- نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج مذکور چنین استنباط می‌شود که به‌طور کلی مصرف پساب‌های صنعتی سبب کاهش ۳۰ درصد متوسط فعالیت آنزیم آریل سولفاتاز شد در حالی که متوسط فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز قلیایی، اوره‌آز و ساکاراز را به ترتیب ۷/۵، ۶۰ و ۲۶/۵ درصد نسبت به خاک شاهد افزایش داد. بنابراین چنین می‌توان استنباط کرد که اثر پساب‌های صنعتی بر فعالیت آنزیمی خاک بستگی به نوع پساب (از جمله ویژگی‌های شیمیایی مانند pH، شوری و غلظت و نوع عناصر سنگین) و نوع آنزیم مورد بررسی دارد. چنین به نظر می‌رسد که اگر چه فعالیت آنزیمی خاک بر اثر مصرف پساب با غلظت‌های بالای عناصر سنگین به‌طور نسبی کاهش می‌یابد، اما حساسیت آنزیم‌های مختلف به نوع و غلظت عناصر سنگین موجود در پساب متفاوت است. به‌طور کلی ارزیابی اثر فلزات سنگین موجود در پساب صنعتی بر فعالیت آنزیمی خاک مشکل است زیرا پساب‌های صنعتی علاوه بر فلزات سنگین حاوی کربن و ترکیبات آلی نیز هستند. بنابراین در مناطق کم باران و خشک، پساب‌های صنعتی پس از تصفیه و کاهش نسبی غلظت فلزات سنگین و رساندن آن به حد استانداردهای آب کشاورزی می‌تواند برای آبیاری محصولات کشاورزی استفاده شوند، بدون اینکه برای سلامت و کیفیت خاک زیان‌بار باشند. اگر چه تنها فعالیت آنزیمی آریل سولفاتاز خاک بر اثر مصرف پساب تنزل یافت ولی بررسی اثرات پساب بر خاک در حضور گیاه ضروری به نظر می‌رسد.

۵- قدردانی

به این وسیله از حمایت‌های مالی دانشگاه شهرکرد تقدیر به‌عمل می‌آید. همچنین از آقایان مهندس ستاری، هرنیدی و نقدی به ترتیب مدیران بهداشت صنعتی شرکت‌های فولاد مبارکه، پلی‌اکریل و ذوب آهن اصفهان به خاطر همکاری و فراهم نمودن پساب‌های مورد استفاده در این تحقیق قدردانی می‌گردد.

شاهد پس از گذشت ۳۰ روز از شروع انکوباسیون شده است بقیه انواع پساب تفاوت معنی‌دار با خاک شاهد ندارند. از طرفی در طی ماه دوم انکوباسیون مصرف اکثر پساب‌های صنعتی سبب افزایش فعالیت این آنزیم شده است و پس از گذشت ۹۰ روز از شروع انکوباسیون هم تنها پساب تصفیه نشده پلی‌اکریل سبب افزایش فعالیت این آنزیم نسبت به خاک شاهد شده است. همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود فعالیت این آنزیم بر اثر مصرف پساب تا ماه دوم روند صعودی داشته و سپس در ماه سوم کاهش یافته است. بنابراین ملاحظه می‌شود که حتی با وجود عناصر سنگین موجود در این پساب‌ها، مصرف انواع پساب، فعالیت این آنزیم را افزایش داده است که شاید به دلیل وجود کربن آلی و عناصر غذایی مورد نیاز رشد میکروبی در این پساب‌ها باشد (جدول ۲).

مقایسه متوسط فعالیت این آنزیم در جدول ۳ نشان می‌دهد که در بین پساب‌های مختلف، تنها پساب ذوب آهن است که شکل تصفیه نشده آن فعالیت آنزیمی بیشتری را نسبت به شکل تصفیه شده آن به همراه داشته است در صورتی که در مورد پساب‌های دیگر اختلاف معنی‌دار بین شکلهای تصفیه شده و تصفیه نشده آنها وجود ندارد.

این افزایش شاید به دلیل وجود کربن آلی بیشتر در شکل تصفیه نشده این پساب باشد. بنابراین بررسی دقیق‌تر ترکیبات آلی پساب (کربن، نیتروژن و فسفر) ضروری به نظر می‌رسد.

آنزیم ساکاراز یکی از آنزیم‌های مؤثر در معدنی شدن کربن است، لذا افزایش فعالیت این آنزیم در خاکهای تیمار شده با پساب می‌تواند به دلیل بالا بودن کربن آلی، سوبسترای اختصاصی این آنزیم باشد. طباطبایی در سال ۱۹۹۷ اظهار داشت که آنزیم ساکاراز از جمله آنزیم‌های مؤثر در فرایند تجزیه مواد آلی است و ارتباط نزدیک با تغییر شکل و چرخه مواد آلی خاک دارد. بنابراین افزودن پساب‌های صنعتی از طریق افزایش کربن آلی خاک می‌تواند سبب افزایش فعالیت این آنزیم در خاکهای تیمار شده با پساب شود [۱۵]. دیک^۱ در سال ۱۹۸۴ رابطه معنی‌دار بین فعالیت آنزیم ساکاراز با کربن آلی خاک را نشان داد [۲۱].

¹ Dick

۶- مراجع

- 1- Banerjee, M.R., Burton, D.L., and Depoe, S. (1997). "Impact of sewage sludge application on soil biological characteristics, agriculture." *Ecosystems and Environment*, 66, 241-249.
- 2- Monzavi, M. (1373). *Urban sludge*, 1st Ed., Tehran University Publication, Tehran. (In Persian)
- 3- Fernandes, S.A.P., Bettiol, W., and Clementi Cerri, C. (2005). "Effect of sewage sludge on microbial biomass, basal respiration, metabolic quotient and soil enzymatic activity." *Applied Soil Ecology*, 30, 65-77.
- 4- Brown, R.E. (1975). "Signification of trace metals and nitrates in sludge soil." *J. Water Pollution Control Federation*, 47, 2863-2875.

- 5- Deuel, L.E., and Swoboda, A.R. (1972). "Arsenic solubility in reduced environment." *Soil Science Society of American Journal*, 36, 276-279.
- 6- Selivanovskaya, S.Yu., Latypova, V.Z., Kiyamova, S.N., and Alimova, F.K. (2001). "Use of microbial parameters to assess treatment methods of municipal sewage sludge applied to grey forest soils of Tatarstan, Agriculture." *Ecosystems and Environment*, 86, 145-153.
- 7- Zaman, M., Matsushima, M., Chang, S. X., Inubushi, K., Nguyen, L., Goto, S., Kaneko, F., and Yoneyama, T. (2004). "Nitrogen mineralization, N₂O production and soil microbiological properties as affected by long-term applications of sewage sludge composts." *Biology and Fertility of Soils*, 40, 101-109.
- 8- Rohani Shahraki, F., Mahdavi, R., and Rezaee, M. (2005). "Effect of irrigation with wastewater on certain soil physical and chemical properties." *J. of Water and Wastewater*, 53, 23-29. (In Persian)
- 9- García-Gil, J. C., Plaza, C., Senesi, N., Brunetti, G., and Polo, A. (2004). "Effects of sewage sludge amendment on humic acids and microbiological properties of a semiarid Mediterranean soil." *Biology and Fertility of Soils*, 39, 320-328.
- 10- Renella, G., Mench, M., Landi, L., and Nannipieri, P. (2005). "Microbial activity and hydrolase synthesis in long-term Cd-contaminated soils." *Soil Biology and Biochemistry*, 37, 133-139.
- 11- Trasar-cepeda, C., Leiros, M.C., Seoane, S., and Gil-Sotres, F. (2000). "Limitation of soil enzymes as indicators of soil pollution." *Soil Biology and Biochemistry*, 32, 1867-1875.
- 12- Nannipieri, P. (1994). "The potential use of soil enzyme as indicator of productivity, sustainability and pollution." *Soil Biota, Management in Sustainable Farming System*, CSIRO Pub., Australia.
- 13- Giller, K.E., Witter, E., and McGrath, S.P. (1998). "Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soil: (A review)." *Soil Biology and Biochemistry*, 30, 1389-1414.
- 14- Iranzo, M., Canizares, J.V., Roca-Perez, L., Sainz-pardo, I, Mormeneo, S., and Boluda, R. (2004). "Characteristics of rice straw and sewage sludge as composting materials in Valencia (Spain)." *Bioresource Technology*, 95, 107-112.
- 15- Tabatabai, M.A. (1997). "Effects of trace metals on urease activity in soil." *Soil Biology and Biochemistry*, 9, 913-918.
- 16- Ghazanshahi, J. (1376). *Soil and plant analysis*, Motarjem Publication, Tehran. (In Persian)
- 17- Alef, K., and Nannipieri, P. (1995). *Methods in applied soil microbiology and biochemistry*, Academic Press, London.
- 18- Jimenez, P., Ortiz, O., Tarrason, D., Ginovart, M., and Bonmati, M. (2007). "Effect of differently post-treated dewatered sewage sludge on β -glucosidase activity, microbial biomass carbon, basal respiration and carbohydrates contents of soils from limestone quarries." *Biology and Fertility of Soils*, 44, 393-398.
- 19- Bagheri, M.R. (2000). "The effects of wastewater and irrigation systems on some physical and chemical characteristics and soil pollution under multiple cropping systems." MSc. Thesis, Faculty of Agriculture, Isfahan University of Tech., Isfahan. (In Persian)
- 20- Lai, K.M., Ye, D.Y., and Wong, J.W.C. (1999). "Enzyme activities in a sandy soil amended with sewage sludge and coal fly ash." *Water, Air and Soil Pollution*, 113, 261-272.
- 21- Dick, R.D. (1992). "A review: Long-term effects of agricultural system on soil biochemical and microbial parameters." *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 40, 25-36.