

# تأثیر غنی سازی لجن فاضلاب شهری با نیتروژن و فسفر بر فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی

فاطمه ولی زاده ... غلامحسین حق نیا - امیر لکزبان<sup>۱</sup>

تاریخ دریافت: ۸۵/۸/۲۸

## چکیده

با افزایش روزافزون تولید سالانه مواد آلی مانند لجن فاضلاب شهری، کاربرد آنها در زمینهای کشاورزی معمول شده است. کاربرد مواد آلی بر فعالیت های زیستی خاک تأثیر می گذارد. ویژگی های بیوشیمیایی خاک نیز با کاربرد لجن فاضلاب تأثیر می پذیرند. از آنجاکه اطلاعات کمی در مورد تأثیر لجن فاضلاب و کاربرد کودهای کشاورزی بر فعالیت های آنزیمی خاک موجود است، در این پژوهش تلاش شده تا تأثیر غنی سازی لجن فاضلاب شهری با نیتروژن و فسفر معدنی بر فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی بررسی شود. سطوح مختلف لجن فاضلاب (صفر، ۲۰۰ و ۳۵۰ تن در هکتار) با مقادیر نیتروژن (صفر، ۱۷۰ و ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار اوره) و فسفر (صفر و ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار فسفات پتاسیم) غنی شدند تا فعالیت آنزیم فسفاتاز خاک بررسی شود. این آزمایش به صورت فاکتوریل بر مبنای طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار انجام شد. نمونه های تیمار شده در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و ۷۰ درصد ظرفیت نگهداری آب خاک نگهداری شدند. فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی با اندازه گیری پارانیتر و فنل تولید شده به روش اسپکتروفتومتری در طول موج ۴۱۰ نانومتر تعیین شد. نتایج نشان داد که کاربرد لجن فاضلاب شهری و نیتروژن موجب افزایش فعالیت آنزیم شد، لیکن در طول دوره آزمایش فعالیت آنزیم کاهش یافت. نتایج به دست آمده از کاربرد فسفر نشان داد که فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی کاهش یافت.

واژه های کلیدی: معدنی شدن فسفر، فعالیت آنزیمی، نسبت کربن به نیتروژن.

## مقدمه

امروزه تبدیل زباله های شهری و لجن فاضلاب شهری به کمپوست و استفاده از آنها به عنوان کود آلی هم از نظر اصلاح خاک و افزایش سطح حاصلخیزی آن و هم از لحاظ جلوگیری از انتشار مواد آلاینده محیط زیست، بسیار مورد توجه است. در شهرهای بزرگ به دلیل وجود مراکز تصفیه فاضلاب هر ساله مقدار زیادی لجن فاضلاب تولید می شود که می توان آنها را در زمینهای کشاورزی مورد استفاده قرار داد. کاربرد لجن فاضلاب شهری به عنوان کودهای آلی افزون بر بهبود خصوصیات فیزیکی و شیمیایی بر خصوصیات زیستی خاک نیز اثرات سودمندی خواهد داشت (۱۲). اگرچه استفاده از کودهای معدنی ظاهراً سریعترین و مطمئن ترین راه برای تامین حاصلخیزی خاک به شمار می رود، لیکن هزینه های زیادی صرف تهیه کودهای شیمیایی می شود که استفاده از آنها، آلودگی و تخریب محیط زیست و خاک را به دنبال دارد. از این رو استفاده مناسب از کودهای آلی به همراه کاربرد بهینه مواد

معدنی نقش مهمی در حفظ باروری، ساختمان و فعالیتهای حیاتی موجودات خاک ایفا می کند. در ایران با اقلیم خشک و نیمه خشک نه تنها خاکها عموماً از نظر مواد آلی فقیر هستند که به دلیل بالا بودن دما، حفظ و نگهداری مقدار ماده آلی خاک بسیار دشوار است. مواد آلی به علت اثرات سازنده ای که بر ویژگیهای فیزیکی، شیمیایی و زیستی خاک دارند به عنوان رکن اساسی در باروری خاک شناخته شده اند. بطور خلاصه نقش افزایش ماده آلی در تامین سلامت و کیفیت خاک را می توان به صورت زیر بیان کرد:

تأمین عناصر غذایی مانند نیتروژن، فسفر، پتاسیم، گوگرد، آهن و...، منبع کربن و انرژی برای میکروارگانیسم های خاک، مقابله با تغییرات سریع pH، پایداری و نگهداری ذرات خاک به صورت خاکدانه، افزایش سرعت نفوذ آب در خاک، کاهش رواناب و کاهش خطر فرسایش خاک (۵).

بررسی ویژگیهای فیزیکی و شیمیایی ماده آلی (لجن فاضلاب) از دیرباز به منظور بهینه سازی مقدار و نوع مصرف مطالعه شده

۱- به ترتیب کارشناس ارشد خاکشناسی، استاد گروه خاکشناسی دانشگاه فردوسی، دانشیار گروه خاکشناسی دانشگاه فردوسی

است، لیکن در این میان ویژگیهای زیستی آن نادیده گرفته شده، بنابراین بررسی اثرات زیستی و زیست محیطی کاربرد لجن فاضلاب اهمیت زیادی دارد (۴).

گارسیا و همکاران (۵) نشان دادند که فعالیتهای زیستی خاک مانند زیست توده میکروبی و فعالیتهای آنزیمی با کاربرد لجن فاضلاب کاهش یافته است. در مقابل ساستر و همکاران (۲۳) نشان دادند که افزودن لجن فاضلاب موجب افزایش فعالیت میکروبی، تنفس و فعالیت آنزیمی خاک شده است. در بررسی کیفیت خاک دشواریهای زیادی وجود دارد و به نظر می رسد از میان همه شاخصهای قابل اندازه گیری، شاخص هایی که حساسیت بیشتری دارند بایستی مورد مطالعه قرار گیرند. در مورد شاخص های زیستی مقدار نیتروژن، کربن، زیست توده میکروبی و فعالیتهای آنزیمی اهمیت دارد. افزودن مواد آلی به خاک می تواند موجب تغییر فعالیت آنزیم های برون یا خسته ای شده که در نخستین مراحل تجزیه مواد آلی در خاک اهمیت زیادی دارند (۷). از آنجا که فعالیتهای بیوشیمیایی به حضور آنزیم ها وابسته اند، بیشتر واکنشهایی که در تبدیل مواد آلی خاک نقش دارند به وسیله آنزیم های برون یا خسته ای انجام می شوند. این آنزیم ها در خاک دربرگیرنده اکسیدوردوکتازها، ترانسفرازها و هیدرولازها می باشند (۲). چندین آنزیم در چرخه عناصر غذایی شناخته شده اند که در تبدیل مواد غذایی آلی به معدنی نقش دارند (۱). یکی از آنها آنزیم فسفاتاز قلیایی است که در تولید فسفر معدنی و شکستن استر های فسفری نقش دارند و از آنجا که ۹۰ درصد فسفر آلی به شکل منواستر است نقش این آنزیم اهمیت می یابد. هاس و همکاران (۱۰) بیان کردند که منبع اصلی آنزیم های خاک میکروارگانیزم ها هستند و آنزیم فسفاتاز قلیایی بیشتر به وسیله فعالیت قارچ ها تولید می شود. به طور معمول مقدار فسفر در لایه های بالایی خاک بین ۱۰-۱۰۰ کیلو گرم در هکتار است اما نسبت کربن به فسفر یک نسبت بسیار نا پایدار است و به سرعت تغییر می کند. تامپسون و همکاران (۲۸) بیان کردند که معدنی شدن فسفر آلی یک پدیده میکروبی است و فعالیت آنزیم فسفاتاز بعد از تجزیه اولیه ماده آلی اهمیت می یابد و می توان گفت که این بخش مرحله محدود کننده معدنی شدن فسفر آلی است. از سوی دیگر معدنی شدن فسفر آلی در خاک ارتباط زیادی با معدنی شدن کربن و نیتروژن دارد (۹). کیس و همکاران (۱۳) بیان کردند که فعالیت آنزیم فسفاتاز ارتباط

مستقیم با ماده آلی، نیتروژن کل و فسفر آلی خاک دارد و همچنین از رطوبت و عمق خاک نیز تاثیر می پذیرد. کاربرد لجن فاضلاب شهری به دلیل وجود مواد آلی موجب برانگیخته شدن میکروارگانیزم های تولید کننده آنزیم فسفاتاز می شود. در مطالعات دیگر مشاهده شده است که افزودن لجن فاضلاب شهری موجب افزایش فعالیت میکروبی، تنفس و فعالیت آنزیمی خاک شده است (۳). امروزه توجه زیادی به مقدار نیتروژن فاضلاب شهری شده و با افزایش قیمت کودهای نیتروژن کاربرد لجن فاضلاب گسترش یافته است (۲۷). از آنجا که نیتروژن یک عامل محدود کننده در مراحل اولیه تجزیه زیستی مواد آلی به دلیل کمبود مقدار قابل جذب آن به شکل معدنی می باشد (۱۴)، در این مطالعه تلاش شده است تا تاثیر فسفر و نیتروژن معدنی بر فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در خاکی که با لجن فاضلاب شهری تیمار شده است بررسی شود.

#### مواد و روش ها

به منظور بررسی تاثیر لجن فاضلاب غنی شده بر کیفیت خاکهای کشاورزی و فعالیتهای زیستی موجود در آن، آزمایشی با سه سطح لجن فاضلاب به مقادیر  $(S_0)$ ،  $(S_{200})$  و  $(S_{350})$  تن در هکتار، سه مقدار کود نیتروژن (اوره) به مقادیر صفر (S)،  $(N_1)$  ۱۷۰ و  $(N_2)$  ۲۵۰ کیلو گرم در هکتار و دو سطح فسفر به مقادیر صفر  $(P_0)$  و  $(P_1)$  ۱۵۰ کیلو گرم در هکتار (فسفات پتاسیم) در قالب طرح کاملا تصادفی با آرایش فاکتوریل با سه تکرار در شرایط آزمایشگاهی انجام شد. نمونه خاک با بافت لوم رسی، از عمق ۰-۲۰ سانتیمتر به صورت مرکب نمونه برداری و به آزمایشگاه منتقل گردید، پسمان گیاهی موجود در آن حذف و سپس از الک ۲ میلیمتری عبور داده شد. کربن آلی خاک به روش اکسایش با دی کرومات اندازه گیری شد (۲۹). مقدار کل نیتروژن خاک در این تحقیق بعد از هضم با استفاده از اسید سولفوریک و کاتالیزور، به روش کجلاسدال اندازه گیری شد (۱۱). برای اندازه گیری EC و pH خاک از نسبت خاک به آب ۴:۵ آن استفاده شد. EC (۲۲) و pH (۱۸) نمونه ها بترتیب توسط دستگاه هدایت سنج و pH متر اندازه گیری گردید. فسفر قابل دسترس به روش اولسن اندازه گیری شد (۲۱). مقدار پتاسیم قابل دسترس گیاه در نمونه های خاک اندازه گیری شد (۱۵). بافت خاک به روش هیدرومتری تعیین شد (۶). لجن فاضلاب از استخر ته نشینی

جدول (۱) ویژگی های خاک مورد آزمایش

پارامتر	واحد	مقدار
رس	درصد	۳۷,۵
سیلت	درصد	۲۷,۵
شن	درصد	۳۵
pH	-	۷/۵
هدایت الکتریکی	dS/m	۱/۸
کربن آلی	درصد	۰/۲۶
فسفر	mg/Kg	۶۴/۸
پتاسیم	mg/Kg	۷۷/۶۹
نیتروژن کل	mg/Kg	۴۱۳

جدول (۲) ویژگی های شیمیایی لجن فاضلاب

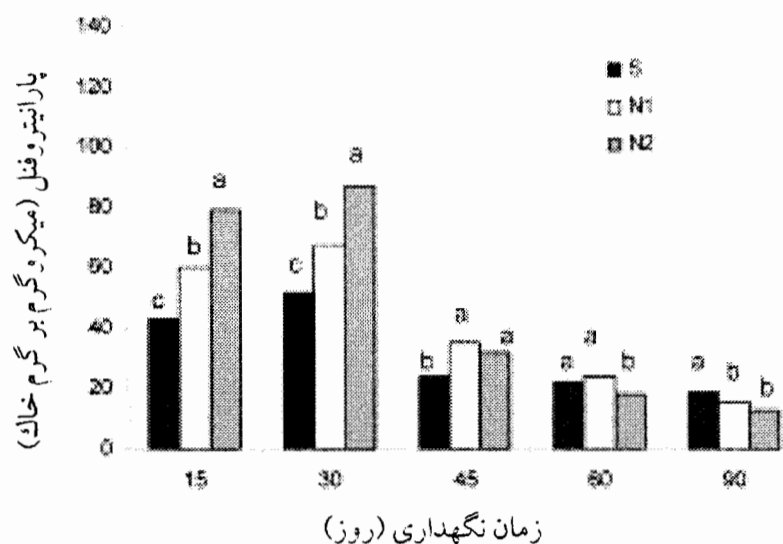
پارامتر	واحد	مقدار
pH (۱:۵)	-	۷/۳۲
هدایت الکتریکی (۱:۵)	dS/m	۲/۳۱
کربن آلی	درصد	۸/۲۵
فسفر کل	درصد	۰/۱۷
نیتروژن کل	درصد	۰/۵۵
پتاسیم	درصد	۰/۰۴
نیکل	mg/kg (فراهم)	۲۹/۳
سرب	mg/kg (فراهم)	۴۵/۸
کادمیم	mg/kg (فراهم)	۴/۲
روی	mg/kg (فراهم)	۶۶/۵

تن در هکتار) مشاهده شد. تیمار ۳۵۰ تن در هکتار لجن فاضلاب بیشترین فعالیت آنزیمی را در دوره های ۱۵ و ۳۰ روز آزمایش داشت و از نظر آماری اختلاف معنی داری با بقیه تیمارها داشت و کمترین فعالیت آنزیمی در تیمار شاهد مشاهده شد که تقریباً در کل مدت آزمایش تغییر زیادی در آن مشاهده نشد (شکل ۱).

تصفیه خانه فاضلاب برداشت و هوا خشک و از الک ۲ میلیمتری عبور داده و در کیسه های پلی اتیلن تا زمان مصرف نگهداری شد. مقادیر کربن آلی و نیتروژن، فسفر، پتاسیم آن نیز همانند نمونه های خاک تعیین شد. مقادیر غلظت های فراهم برخی فلزات سنگین لجن فاضلاب نیز تعیین شد (۱۶) که در جدول ۲ آمده است. تیمارها به مدت ۹۰ روز در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد (دمای مطلوب فعالیت های آنزیمی) نگهداری شدند و در فواصل زمانی ۱۵، ۳۰، ۴۵، ۶۰ و ۹۰ روز نمونه برداری شدند و تغییرات فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی مورد بررسی قرار گرفت. برای اندازه گیری میزان فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی ۱ گرم خاک از هر تیمار وزن، سپس ۴ میلی لیتر بافر فسفات با (pH=۸) و ۱ میلی لیتر از محلول سوبسترای پارانیتر و فنیل فسفات ۰/۱۱۵ مولار (نمک دی سدیم هگزا هیدرات) و ۰/۲۵ میلی لیتر تولوئن به آن افزوده شد و نمونه ها برای مدت ۱ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد در حمام بن ماری قرار گرفتند. سپس محلول به وسیله کاغذ صافی واتمن ۴۲ صاف شده، ۴ میلی لیتر هیدروکسید سدیم ۰/۵ مولار و ۱ میلی لیتر کلرید کلسیم ۰/۵ مولار به آن برای اتمام یافتن فعالیت آنزیمی افزوده شد و کاملاً تکان داده شد گردید. نمونه ها برای مدت ۱۰ دقیقه سانتیفریوژ شد. جذب نمونه ها به وسیله دستگاه اسپکترو فتومتر در طول موج ۴۱۰ نانومتر تعیین و به صورت میکرو گرم پارانیتر و فنل بر گرم خاک خشک محاسبه گردید (۲۶). تجزیه آماری این آزمایش توسط نرم افزار MSTATC اجرا و محاسبه شد. مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون LSD در سطح معنی داری ۵٪ انجام شد. نتایج به دست آمده از تجزیه خاک و تجزیه شیمیایی لجن فاضلاب در جدولهای ۱ و ۲ به ترتیب نشان داده شده است.

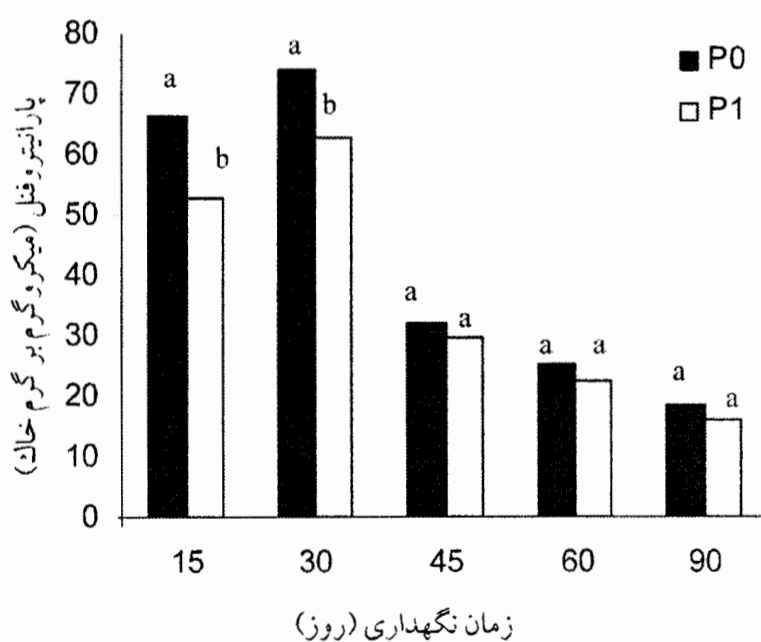
### نتایج و بحث

نتایج حاصل از تأثیر مقادیر متفاوت لجن فاضلاب بر میانگین فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در تیمارهای مختلف نشان داد که فعالیت این آنزیم در تیمارهای دارای لجن فاضلاب شهری از شروع آزمایش تا ۳۰ روز روند صعودی و افزایشی داشت و این مقدار در زمان ۳۰ روز به حداکثر مقدار خود رسید و پس از آن روند کاهشی در فعالیت این آنزیم به وجود آمد و سرعت کاهش آن در طول زمان بیشتر شد. این روند در تیمارهای لجن فاضلاب (۲۰۰ و ۳۵۰



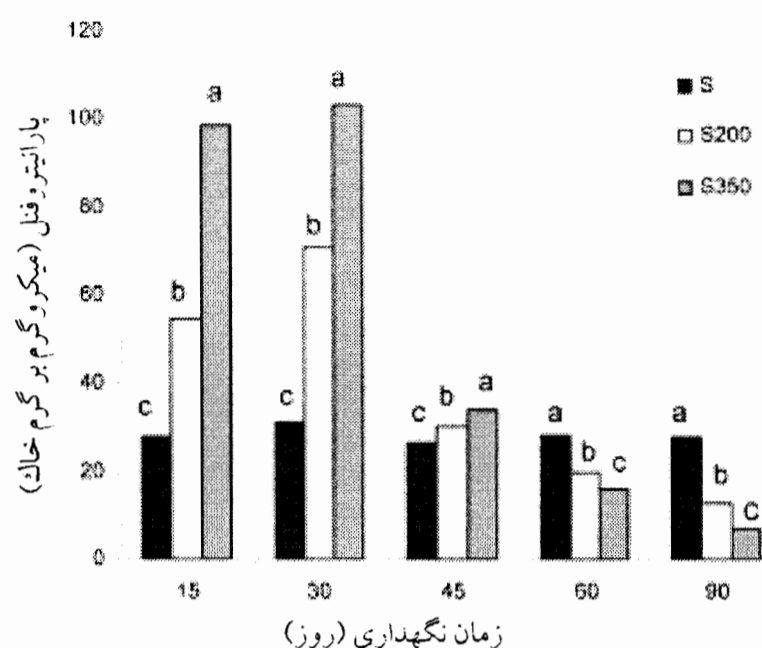
شکل (۲) تأثیر مقادیر نیتروژن بر فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی

داد که فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی با افزودن فسفر معدنی کاهش می یابد (شکل ۳). کاهش فعالیت به طور معنی دار در همه زمانهای اندازه گیری و در تمام تیمارهای با مقادیر متفاوت لجن فاضلاب و نسبتهای مختلف کربن به نیتروژن مشاهده می شود. در مطالعات اسپیر و همکاران (۲۴) بیان شده که افزودن فسفر معدنی اثرات باز دارنده ای بر فعالیت آنزیمی فسفاتاز دارد.



شکل (۳) تأثیر مقادیر نیتروژن بر فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی

در تیمارهای دارای لجن فاضلاب شهری و فسفر معدنی میزان فعالیت آنزیمی کاهش یافته است. به نظر می رسد این کاهش به دلیل تاثیر فسفر معدنی آزاد و در دسترس بودن آن برای میکرو ارگانیسم های مصرف کننده می باشد که در نتیجه میزان فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی را کاهش داده است (شکل ۴).

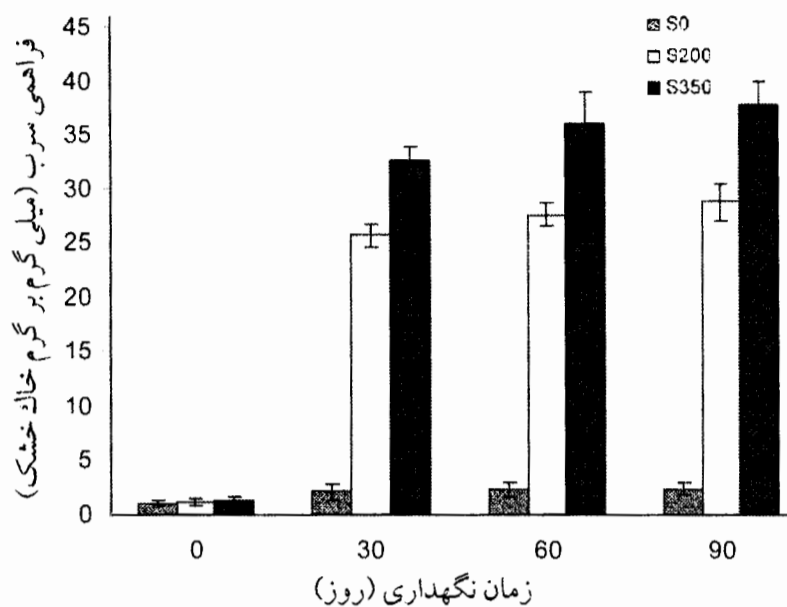


شکل (۱) تأثیر مقادیر لجن فاضلاب شهری بر فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی

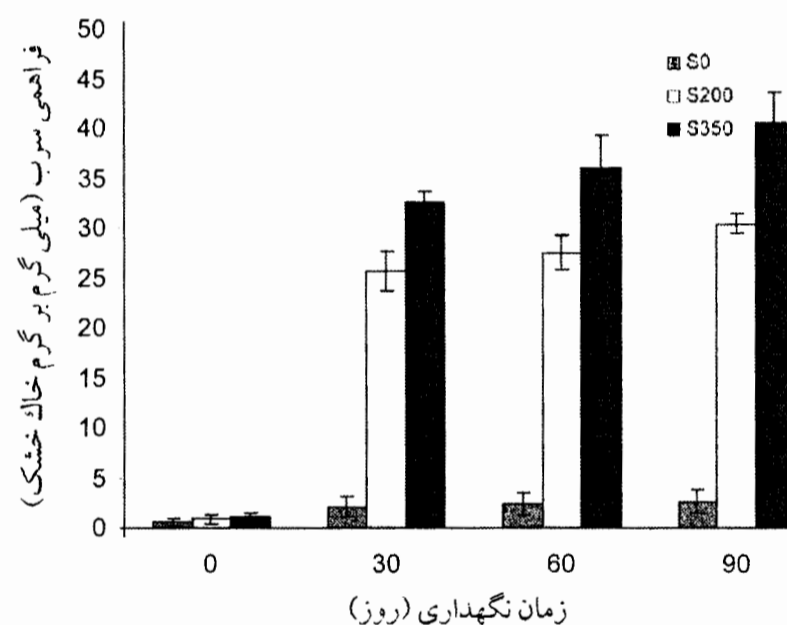
سطوح متفاوت نیتروژن که موجب تغییر در نسبت کربن به نیتروژن لجن فاضلاب شهری شد بر روی فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی تاثیر گذار بود. می توان گفت با افزایش نیتروژن نسبت کربن به نیتروژن خاک پایین تر آمده و فعالیت های میکروبی در خاک افزایش می یابد (۲۸). تغییرات آن در طول زمان نیز کاملا مشخص و معنی دار بود. این تغییرات نیز تا زمان ۳۰ روز روند افزایشی داشته و پس از آن کاهش یافت به گونه ای که در مراحل آخر اندازه گیری میزان فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی به میزان کمتر از خاک شاهد نیز رسید (شکل ۲). دلیل افزایش فعالیت آنزیمی در خاک شاهد را می توان به فعالیت میکروارگانیسم های موجود در خاک نسبت داد. دلیل کاهش فعالیت را می توان کمبود مواد آلی و بستره مناسب برای فعالیت میکروارگانیسم ها دانست.

نتایج به دست آمده از این بخش از آزمایش نشان داد که بیشترین فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در دوره های زمانی ۱۵ و ۳۰ روز پس از آزمایش در تیمارهای با سطح بالای نیتروژن (N2) رخ داده است. فعالیت زیاد این آنزیم در مقادیر بالای لجن فاضلاب و سطح بالای نیتروژن (نسبت پایین کربن به نیتروژن) نشان می دهد که مقدار بستره ی فراهم بیشتری در لجن فاضلاب اولیه برای فعالیت میکروارگانیسم های تولید کننده آنزیم وجود داشته است. باید توجه داشت که ماده آلی لجن فاضلاب مقدار زیادی از بستره ی مورد نیاز آنزیم فسفاتاز قلیایی را دارا می باشد (۷).

نتایج بدست آمده از افزودن فسفر معدنی به لجن فاضلاب نشان



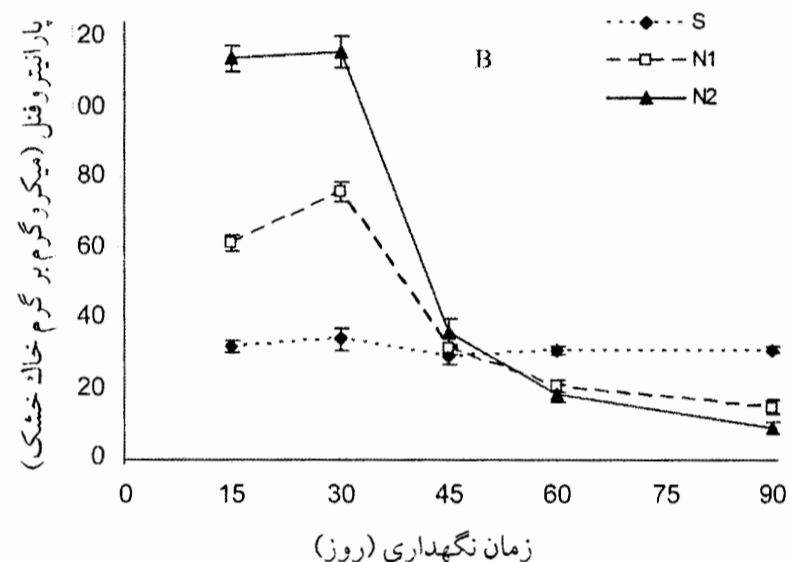
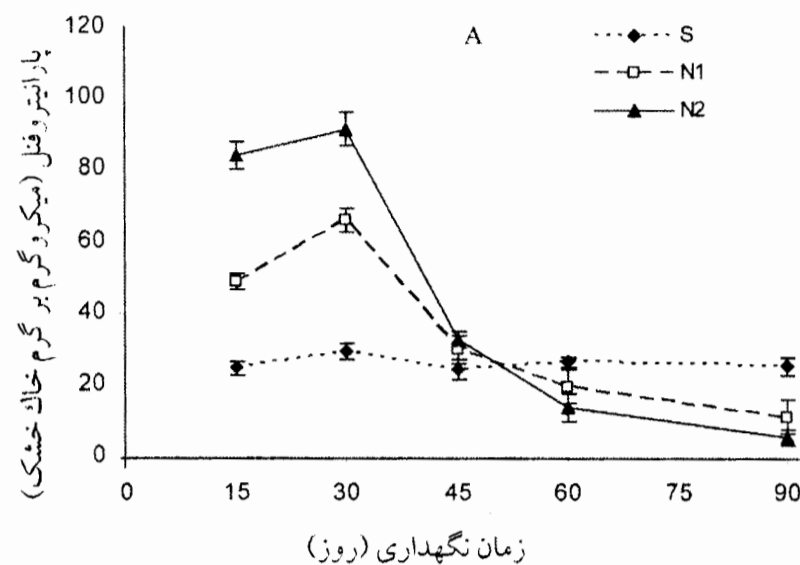
شکل (۵) اثر سطوح مختلف لجن فاضلاب بر فراهمی سرب



شکل (۶) اثر سطوح مختلف لجن فاضلاب بر فراهمی روی

بر جامعه میکروبی خاک تأثیر گذاشته و ساخت آنزیم ها را کاهش می دهند. این کاهش به صورتی بود که در انتهای آزمایش میزان فعالیت آنزیمی از نمونه های شاهد که بدون افزودن لجن فاضلاب، نیتروژن و فسفر بوده است نیز فعالیت کمتر شده است.

مطالعات نانی پیری و همکاران (۲۰) نشان داد که حلالیت عوامل بازدارنده نقش اصلی در کنترل فعالیت آنزیمی داشته است. بنابراین در ابتدای شروع آزمایش مقادیر عناصر سرب و روی اندازه گیری شدند و فراهمی آنها در طی دوره آزمایش بررسی گردید. در تیمارهای دارای سطوح مختلف لجن فاضلاب حلالیت دو عنصر سرب و روی در طی دوره آزمایش به طور معنی داری افزایش یافت (شکل های ۵ و ۶). لیکن همانگونه که بیان شد کاهش فعالیت در تیمار شاهد را به کاهش بستره ی مورد نیاز برای فعالیت



شکل (۴) مقایسه تأثیر حضور فسفر معدنی (A) و عدم حضور آن (B) بر فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی خطوط عمودی نشان دهنده SE میانگین است

اسپیر و همکاران (۲۴) بیان کردند که به طور میانگین میزان فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در خاکهای سطحی کشاورزی بین ۲۰-۲۳۵ میکروگرم بر گرم خاک خشک می باشد. از آنجا که آنزیم فسفاتاز قلیایی یک آنزیم برون یاخته ای است، عاملهای محیطی به راحتی بر آن تأثیر می گذارد از این رو با افزایش مواد آلی و فراهم شدن بستر مناسب فعالیت آن افزایش یافته و محیط برای رشد میکروبی مناسب می شود. لیکن دلایل کاهش فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی را زمان و کاهش بستر فراهم و وجود برخی بازدارنده ها در محیط مانند فلزات سنگین می دانند (۱۹). مادوجان و همکاران (۱۷) بیان کردند که فلزات سنگین با گروههای آلی (آمینو اسیدی آنزیم) موجود در آنزیم فسفاتاز پیوند برقرار کرده و مانع فعالیت آنزیمی آن می شود. از سوی دیگر نانی پیری و همکاران (۲۰) نشان دادند که فلزات سنگین به طور غیر مستقیم

آنزیم می توان نسبت داد.

افزودن نیتروژن به تنهایی بر سرعت تجزیه مواد آلی تاثیر می گذارد و این تاثیر به مرحله تجزیه شدن آن بستگی دارد. در مرحله ابتدایی تجزیه مواد آلی به دلیل وجود مقادیر زیاد کربن و نیتروژن آلی با کمبود نیتروژن قابل جذب همراه هستند که در نتیجه افزودن نیتروژن باعث افزایش سرعت تجزیه پذیری شده و فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی را افزایش می دهد (۲۵). نتایج بدست آمده از تاثیر زمان بر فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی نشان داد که در دوره زمانی ۹۰ روز تغییرات معنی داری در فعالیت آنزیمی فسفاتاز دیده شد که این تغییرات نشان دهنده میزان تجزیه مواد آلی در مدت نگهداری نمونه ها بوده است.

پس از بررسی تاثیر کاربرد لجن فاضلاب شهری، نیتروژن و فسفر می توان نتیجه گرفت که فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی پس از گذشتن دوره زمانی یک ماه کاهش یافته و در بیشتر موارد از فعالیت آنزیمی خاک شاهد نیز کمتر بوده است. دلایل متعددی را برای کاهش فعالیت آنزیمی می توان بیان کرد:

در ابتدا همانطور که گفته شد، حلالیت فلزات سنگین موجود در لجن فاضلاب افزایش یافته و پس از مدتی در محیط با گروهای آلی موجود در آنزیمها پیوند برقرار می کنند که اثرات باز دارندگی

و خنثی سازی فعالیت آنزیمی را ایجاد می کنند. در نتیجه کاهش فعالیت آنزیمی رادری دارد. فلزات سنگین نیز به طور غیر مستقیم با تغییر جمعیت میکروبی که عامل تولید آنزیمها می باشند باعث کاهش فعالیت آنزیمی می گردند. می توان گفت که بستری فراهم نیز برای میکرو ارگانیزم ها و آنزیمها کاهش یافته و در نتیجه فعالیت و رشد میکرو ارگانیزم ها کم می شود. نشانه بارز آن کاهش فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی خواهد بود. بنابراین به نظر می رسد که تعادل مناسب نیتروژن و فسفر در فاضلاب بر روی فرایندهای زیستی خاک از جمله آنزیم فسفاتاز قلیایی تاثیر گذار است. مقدار زیاد نیتروژن در مراحل ابتدایی کاربرد لجن فاضلاب شهری و تجزیه مواد آلی به روند تجزیه کمک می کند، در حالیکه نیتروژن زیاد (وجود آمونیوم زیاد) پس از این مرحله عامل مهمی در کاهش فعالیت آنزیم می باشد.

#### سپاسگزاری

بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد، به دلیل فراهم کردن امکانات لازم برای انجام این پژوهش و همکاری کارشناسان آزمایشگاه خاکشناسی دانشکده کشاورزی تشکر و قدردانی می شود.

#### منابع

1. Amador, J.A., A.M., Glucksman, J.B., Lyons and J.H., Gorres.1997. Spatial distribution of soil phosphatase activity within a riparian forest. *Soil Science*.162, 808-825.
2. Dick, R.P.1994. Soil enzyme activities as indicator of soil quality. In: Doran, J.W., Coleman, D.C., Bezdicek, D.F., Stewart, B.A.(Eds): *Defining soil quality for sustainable environment*. Soil Science Society of America, Spec. Pub.35, Madison, WI: 107-124.
3. Dick, W.A., and M.A., Tabatabai. 1992. Potential uses of soil enzymes. In: Meeting,F.B.(Ed.), *Soil Microbial Ecology: Applications in Agricultural and Environmental Management*. Marcel Dekker, New York, 95-127.
4. Epstein, E. 1976. Effects of sewage sludge. *Journal of Environmental Quality* 5(4): 422-426.
5. Garcia, C., T., Hernandez, C., Costa, B., Ceccanti, G., Masciandaro, and C., Ciardi. 1993. A study of biochemical parameters of composted and fresh municipal wastes. *Bioresource Technology* 44,17-23.
6. Gee, G.W., and J.M. Bauder. 1982. In: *Methods of Soil Analysis, Part 1. Physical and mineralogical properties*. 2nd Ed. Agron. Monogr. No. 9. A.Klute (ed). ASA and Soil Science Society of America,

- Madison WI: 383-411.
7. Halemejko, G.Z., and R.J., Chrost. 1984. The roles of phosphatases in phosphorus mineralization during decomposition of lake phytoplankton blooms. *Arch. Fur Hydrobiology*.101: 489-502.
  8. Halstead, R.L., and R.B., Mckrecher 1975. Biochemistry and cycling of phosphorus. In: Paul, E.A. and A.D., McLaren.(Eds): *Soil Biochemistry*, Vol.4. M.Dekker, New York: 31-63.
  9. Harrison, A.F. 1987. *Soil organic phosphorus*. C.A.B. International United Kingdom. 257.
  10. Hass, H., E., Friedlin, and G., Stoffler. 1992. Isolation and analysis of the *Penicillium Chrysogenum phoA* gene encoding a secreted phosphate responsible acid phosphatase. *Gene* 113: 129-133.
  11. Julius B. Cohen. 1910. *Practical Organic Chemistry*, Kjeldal method to measure nitrogen.
  12. King, L.D., and H.D., Morris. 1972. Land disposal of liquid sewage sludge. 2. The effects on soil pH, manganese, zinc, and growth and chemical composition of rye. *Journal of Environmental Quality* 1, 325-329.
  13. Kiss, S., G., Stefanic, and M., Dragan-Bularda. 1974. *Soil Enzymology in Romania (PartI)*. *Contrib.Bot.Cluj*: 207-219.
  14. Kizilkaya, R., T. Askin, B. Bayarkli, and M. Saglam.2004. Microbiological characteristics of soils contaminated with heavy metals. *European Journal of Soil Biology* 40: 95-102.
  15. Klute, A. 1986. *Method of soil analysis part I: Physical and mineralogical methods*. 2nd edition. ASA Soil Science Society of America, Madison. Wisconsin. USA.
  16. Lindsay, W.L., and W.A. Norvell. 1978. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese and copper. *Soil Science Society of American Journal* 42: 421-428.
  17. Madojon, E., P., Burgos, R., Lopez, and F., Cabrera. 2001. Soil enzymatic response to addition of heavy metals with organic residues. *Biology and Fertility of Soil* 34, 144-150.
  18. McLean. E.O. 1982. In: *Methods of soil analysis, Part 2. Chemical and Microbiological properties*. 2nd Ed. Agron. Monogr. No. 9. A.L. Page (Ed). ASA and Soil Science Society of America, Madison WI: 200-209.
  19. Metzger, L and others.1987.The effect of sewage sludge on soil structure.*Soil Science Society of American Journal* 51, 346-351.
  20. Nannipieri, P. 1994. The potential use of soil enzymes as indicators of productivity, sustainability and pollution. In: Pankhurst, C.E., Double, B.M., Gupta, V.V.S.R., and P.R., Grace, (Ed.), *Soil Biota.Management in Sustainable Farming Systems*. CSIRO, East Melbourne, 238-244.
  21. Olsen, S. R., C. V. Cole, F. S. Watenabe, and L. A. Dean. 1954. Estimation of available phosphorus in soil by extraction with sodium bicarbonate. U.S. Department of Agriculture Cir. 939. USA.
  22. Rhoades, J.D. 1982. In: *Methods of soil analysis, Part 2. Chemical and Microbiological properties*. 2nd Ed. Agron. Monogr. No. 9. A.L. Page (Ed). ASA and Soil Science Society of America,

- Madison WI: 167-178.
23. Sastre, I., M.A., Vicente, and M.C., Lobo. 1996. Influence of the application of sewage sludges on soil microbial activity. *Bioresource Technology* 57, 19-23.
  24. Speir ,T.W., and D.J., Ross. 1978. Soil Phosphatase and Sulphahtase. In *Soil Enzymes*: Burns, R.G., ed.: Academic Press: New York, 197-250.
  25. Stewart, N.E., E.G., Beauchamp, C.T., Corke, and L.R., Webber. 1975. Nitrate nitrogen distribution in corn land following applications of digested sewage sludge. *Canadian Journal of Soil Science*. 55, 287-294.
  26. Tabatabai, M.A. and J.M., Bremner. 1969. Use of p-nitrophenylphosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biology and Biochemistry* 1, 301-307.
  27. Taylor, B.R., Parkinson, D., Pearsons, W. 1989. Nitrogen and lignin content as predictors of litter decay rates: a microcosm test. *Ecology* 70, 97-104.
  28. Thompson, L.M., C.A., Black, and J.A., Zoellner. 1954. Occurrence and mineralization of organic phosphorus in soil with particular reference to associations with nitrogen, carbon and pH. *Soil Science* 77, 185-196.
  29. Walkley, A., and I.A., Black. 1934. An examination of the Degtareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science* 37, 29-38.



## Effects of (nitrogen and phosphorus) enriched sewage sludge on soil alkaline phosphatase activity

F. Valizadeh – Gh.H. Haghniya – A. Lakziyan<sup>1</sup>

### Abstract

Current increase in producing considerable amount of organic matter such as waste sewage sludge resulted in their applications on agricultural lands. Soil biological and biochemical properties can be influenced by organic matters application. The effects of sewage sludge on biological process in soil have been questioned, thus in the present study the effects of nitrogen and phosphorus enriched sewage sludge on alkaline phosphatase were studied. Alkaline phosphatase is one of the remarkable extra-cellular enzymes. It affects phosphor-ester bounds to produce inorganic phosphorus. Different levels of sewage sludge (0, 200, and 350 t/ha) were enriched using nitrogen (0, 170, and 250 kg/ha in the form of urea) and phosphorus (0 and 150 kg/ha in the form of potassium phosphate) fertilizers. This experiment was performed using a factorial model in completely randomized design with three replications. Prepared soil samples were incubated at 25 oC and 70% of water holding capacity. Alkaline phosphatase activity was measured colorimetrically at 410 nm. The results showed that application of sewage sludge and nitrogen fertilizer increased alkaline phosphatase activity markedly within the first 30 days of incubation. Its activity dropped down sharply by the end of the experiment. Also, the results of phosphorus application showed a significant decrease in enzymes activities.

**Key words:** Sewage Sludge, Nitrogen, Phosphorus, enzyme activity, C/N ratio.