

مقاله علمی - پژوهشی:

اثرات سطوح مختلف کود زیستی حاوی باکتری‌های حل کننده فسفات بر فرایند هضم هوازی پسماند جامد ماهی تیلاپای نیل (*Oreochromis niloticus*) به منظور تولید کود مایع

محمد حسین مددی^۱، مهرداد سرخیل^{۱*}، سعید زاهدی^۱، حسین آروئی^۲

*sarkheil@um.ac.ir

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۲- گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ پذیرش: خرداد ۱۴۰۳

تاریخ دریافت: فروردین ۱۴۰۳

چکیده

در این پژوهش اثرات سطوح مختلف کود زیستی حاوی باکتری‌های حل کننده فسفات بر فرایند هضم هوازی پسماند جامد ماهی تیلاپای نیل (*Oreochromis niloticus*) در شرایط آزمایشگاهی در قالب یک طرح کاملاً تصادفی بررسی شد. تیمارهای آزمایش در سه تکرار شامل هضم هوازی پسماند جامد ماهی تیلاپای نیل بدون افزودن کود زیستی (تیمار شاهد) و هضم هوازی پسماند جامد ماهی با افزودن ۰/۱ و ۰/۲ درصد کود زیستی حاوی باکتری‌های حل کننده فسفات (*Pseudomonas putida* strain P13 و *Pantoea agglomerans* strain P5) بود. ظروف هضم هوازی یک لیتری (۹ ظرف) در داخل انکوباتور شیکردار در درجه حرارت ۳۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۸ روز نگهداری شدند. نتایج این آزمایش نشان داد که غلظت عناصر مغذی فسفات، پتاسیم و آهن در روز چهاردهم آزمایش در تیمارهای کود زیستی به طور معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد بوده، اما غلظت آنها در روز بیست و هشتم در تیمار کود زیستی ۰/۱ درصد به طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود ($p < ۰/۰۵$). غلظت عنصر منگنز در روزهای چهاردهم و بیست و هشتم در تیمار کود زیستی ۰/۱ درصد در مقایسه با سایر تیمارها بیشتر بود ($p < ۰/۰۵$). نتایج این تحقیق نشان داد که هضم هوازی پسماند جامد ماهی تیلاپای نیل به مدت دو هفته با افزودن کود زیستی حاوی باکتری‌های حل کننده فسفات (*P. agglomerans* strain P5 و *P. putida* strain P13) با شمارش $۱۰^۷$ از هر باکتری در میلی لیتر (CFU/mL) به میزان ۰/۱ درصد، آزادسازی و انحلال مواد مغذی را بهبود بخشید.

لغات کلیدی: هضم هوازی، پسماند جامد ماهی، کود زیستی، عناصر مغذی، تیلاپای نیل

*نویسنده مسئول



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

مقدمه

کل تولیدات شیلات و آبی پروری طی سال‌های ۲۰۱۶-۱۹۵۴ بر اساس آمار سازمان جهانی خواربار و کشاورزی بیش از هشت برابر افزایش یافته است. گزارش شده است که تولیدات آبی پروری تا سال ۲۰۳۰ میلادی به ۱۰۹ میلیون تن افزایش خواهد یافت که نشان‌دهنده نرخ رشد ۳۷ درصدی نسبت به تولیدات سال ۲۰۱۶ است (FAO, 2016).

فعالیت‌های آبی‌پروری به رغم مزایای اقتصادی مثبت، می‌توانند مشکلات زیست‌محیطی جدی را ایجاد نمایند. برای مثال، مقادیر قابل توجهی پسماندهای جامد و پساب مایع طی فعالیت آبی پروری تولید می‌شود (Turcios and Papenbrock, 2014). در صورت مدیریت نادرست، پسماندهای جامد و پساب واحدهای آبی‌پروری می‌توانند به طور قابل توجهی باعث آلودگی آب و خاک شوند (Holm-Nielsen et al., 2009). پسماند جامد تولیدی در مخازن پرورش ماهی تیلپیا به ازا هر گرم وزن خشک آن حاوی ۱۶/۵ میلی‌گرم نیتروژن، ۱۷/۷ میلی‌گرم فسفر، ۱/۸۵ میلی‌گرم پتاسیم، ۳۷/۵۳ میلی‌گرم کلسیم، ۲/۹۶ میلی‌گرم منیزیم، ۵/۲۹ میلی‌گرم گوگرد، ۲/۴۰ میلی‌گرم آهن، ۰/۰۵ میلی‌گرم بور، ۱/۰۹ میلی‌گرم مس، ۲/۰۷ میلی‌گرم قلع، ۱/۶۳ میلی‌گرم منگنز، ۰/۰۷ میلی‌گرم سدیم و ۰/۰۱ میلی‌گرم مولیبدن است (Delaide et al., 2017). تخلیه پسماند جامد واحدهای آبی پروری به محیط زیست می‌تواند منجر به پدیده یوتروفیکاسیون و شکوفایی جلبکی و در نهایت باعث کاهش کیفیت آب و سایر مشکلات زیست‌محیطی گردد (Gao et al., 2022). یکی از راهکارهای پیشنهادی جهت استفاده بهینه از پسماند جامد واحدهای آبی‌پروری تولید کود مایع از طریق فرایند معدنی‌سازی است که می‌تواند جهت بهبود عملکرد رشد گیاهان در کشت خاکی و کشت هیدروپونیک و در سازگان‌های آکواپونیک نیز مورد استفاده قرار گیرد (Goddek et al., 2015).

معدنی‌سازی مواد آلی یک فرایند تبدیل بیولوژیک ترکیبات آلی به فرم‌های معدنی مواد مغذی، گازهای دی‌اکسید کربن و متان و ترکیبات آلی ساده‌تر است (Bridgham and Ye,

2013). معدنی‌سازی پسماند جامد می‌تواند از طریق روش‌های هضم هوازی و بی‌هوازی انجام شود. هضم هوازی فرآیند تجزیه مواد آلی به وسیله میکرواورگانیزم‌ها و تبدیل آن به مواد معدنی، گاز دی‌اکسید کربن و آب در حضور اکسیژن است (Droste and Gehr, 2018). مزایای هضم هوازی در مقایسه با هضم بی‌هوازی شامل: (۱) سریع‌تر و کم هزینه تر، (۲) سادگی عملیات و نگهداری، (۳) سطوح پایین‌تر اکسیژن‌خواهی بیوشیمیایی (BOD)، (۴) بوی کمتر و (۵) ارزش بیشتر کود حاصل از پسماند جامد از نظر مقدار مواد مغذی، است (Delaide et al., 2018; Droste and Gehr, 2018; Zhang et al., 2021).

فسفر یک ماده مغذی مهم و محدودکننده رشد گیاهان است و بر خلاف نیتروژن، منبع اتمسفری بزرگی نیز ندارد (Katznelson et al., 1962). توسعه ساقه، استحکام ریشه و ساقه، رسیدن محصولات، تثبیت نیتروژن در لگوم، کیفیت محصولات و مقاومت به بیماری‌های گیاهی مرتبط با تغذیه فسفر است (Abd-Alla, 1994). یکی از راه‌های برطرف ساختن نیاز فسفر گیاهان، استفاده از کودهای زیستی فسفات‌هاست (Stevenson, 2005). نمونه‌های متنوعی از میکرواورگانیزم با توانایی رهاسازی فسفر از منابع رسوب یافته فسفر گزارش شده‌اند. استفاده از این میکرواورگانیزم‌ها به عنوان کود زیستی یا عامل بهبود دهنده رشد گیاهان به طور گسترده طی سالیان اخیر بررسی شده است (Illmer and Schinner, 1992; Armandeh et al., 2022). سویه‌هایی از جنس سودوموناس، پانتوا، آزوسپریلیوم، بورخولدیریا، باسیلوس، آنتروباکتر، ریزوبیوم، اروینیا، سراسیا، فلاوباکتریوم، آلكالیژنز، آرتروباکتر و اسنیتوباکتر مورد توجه قرار گرفته‌اند (Rodriguez and Fraga, 1999). باکتری‌های حل‌کننده فسفات از طریق ترشح آنزیم‌های فسفاتاز و فیتاز باعث آزادسازی فسفر نامحلول از منابع معدنی و آلی می‌گردند. این باکتری‌ها همچنین برای حل کردن فسفر اسیدهای مانند گلوکونیک، سیتریک، لاکتیک، کتوگلوکونیک، اگزالیک، تارتاریک و اسید استیک تولید و ترشح می‌کنند و از طریق کاهش pH در آن اثر می‌کنند. این باکتری‌ها قادرند در محیط‌های کشت حاوی فسفات تری کلسیم یا سایر مواد نامحلول فسفر

سنجش قرار گرفتند. مقادیر عناصر مغذی، ماده خشک و خاکستر نیز در پسماند جامد ماهی اندازه‌گیری شدند.

مواد و روش کار

جمع‌آوری و آماده‌سازی پسماند جامد

کلیه فعالیت‌ها شامل حمل‌ونقل، مراقبت، بیهوشی و خون‌گیری از ماهیان بر اساس دستورالعمل اخلاق در پژوهش‌های زیست-پزشکی دانشگاه فردوسی مشهد با کد IR.UM.REC.1402.257 انجام شد. تعداد ۱۵۰ قطعه بچه ماهی تیلاپای نیل (*O. niloticus*) با میانگین وزن $27/33 \pm 0/49$ گرم از مرکز معتبر تکثیر (سالن تکثیر و پرورش ماهیان زینتی آبگینه واقع در شهر مشهد، استان خراسان رضوی)، تهیه شدند و به آزمایشگاه آبزیان دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست دانشگاه فردوسی مشهد انتقال داده شدند و در ۹ مخزن پلی اتیلنی با ظرفیت گنجایش ۱۲۰ لیتر آب تحت شرایط دمایی و بهداشتی مطلوب به تعداد ۱۵ قطعه با تراکم $3/4$ کیلوگرم در مترمکعب نگهداری شدند و روزانه دو نوبت (ساعت ۸ و ۱۴) با خوراک تجاری ماهی کپور معمولی (شرکت فرادانه، ایران) با محتوای پروتئین و چربی به ترتیب ۳۸ و ۱۳ درصد تا حد سیری تغذیه شدند. پسماند جامد (مدفوع ماهی و غذای خورده نشده)، حاصل از تغذیه ماهیان دو ساعت بعد از هر وعده غذایی از طریق سیفون کردن کف مخازن ماهی جمع‌آوری شدند (Mmanda et al., 2020) و جهت کاهش درصد رطوبت و افزایش درصد ماده خشک آبگیری گردید (Khiari et al., 2018). پسماند جامد جمع‌آوری شده تا زمان اجرای آزمایش در درجه حرارت ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

سنجش تقریبی ترکیبات شیمیایی پسماند جامد

میزان ماده خشک، خاکستر و پروتئین پسماند جامد بر اساس روش‌های استاندارد (AOAC, 2005) اندازه‌گیری شدند. میزان عناصر مغذی شامل سدیم، پتاسیم، کلسیم، منیزیم، فسفر، آهن، مس، روی و منگنز در نمونه خشک شده با استفاده از دستگاه طیف‌سنج نشری پلاسمای جفت شده القایی (ICP-OES) سنجش شدند. میزان کربن کل

معدنی با منشاء طبیعی رشد نمایند و این باکتری‌ها را در محیط کشت جامد حاوی این ترکیبات می‌توان از طریق مشاهده هاله شفاف ایجاد شده در اطراف کلنی شناسایی نمود (Sharma et al., 2013). Ben Farhat و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند که باکتری‌های حل‌کننده فسفات به ترتیب از فسفات تری کلسیم تا فسفات مونوکلسیم، فسفر محلول کمتری را آزاد می‌کنند. آنها پی بردند، هرچه فرم فسفات پیچیده‌تر باشد، فسفر محلول بیشتری به‌وسیله این باکتری‌ها آزاد می‌شود. نتایج مطالعه استفاده از قارچ *Trichoderma harzanium* به عنوان یک میکرواورگانیزم حل‌کننده فسفات در فرایند معدنی‌سازی فسفر پسماند جامد سازگان مداربسته پرورش ماهی نشان داد که استفاده از این قارچ در تبدیل فسفر آلی به ارتوفسفات موثر است و باعث افزایش معدنی‌سازی فسفر می‌شود (Abbo, 2020). با وجود این، مطالعات چندانی در مورد اثرات استفاده از میکرواورگانیزم‌های مختلف بر فرایند معدنی‌سازی پسماندهای جامد واحدهای آبی‌پری و آزادسازی مواد معدنی از آنها صورت نگرفته است.

با توجه به خصوصیات ویژه ماهی تیلاپای نیل (*Oreochromis niloticus*) از جمله رشد سریع، مقاومت بالا در برابر طیف وسیعی از شرایط زیست محیطی، همه‌چیز خوراری و مقاومت نسبت به بیماری‌ها، بسیار مورد توجه است (El-sayed, 2006) به‌طوری‌که تولید جهانی آن طی سال‌های ۲۰۲۰-۲۰۰۰ بیش از چهار برابر رشد داشته است. براساس پیش‌بینی سازمان جهانی خواربار و کشاورزی، تا سال ۲۰۳۰ این ماهی به اولین ماهی پرورشی جهان تبدیل خواهد شد (FAO, 2020). بنابراین، در این پژوهش اثرات سطوح مختلف کود زیستی حاوی باکتری‌های حل‌کننده فسفات (*Pseudomonas putida* strain P13 و *Pantoea agglomerans* P5 با شمارش 10^7 از هر باکتری در میلی لیتر (CFU/mL) بر فرایند هضم هوازای پسماند جامد ماهی تیلاپای نیل (*Oreochromis niloticus*) در شرایط آزمایشگاهی بررسی گردید. میزان عناصر معدنی شامل عناصر پر مصرف و کم مصرف، هدایت الکتریکی و pH در تیمارهای مختلف هضم هوازای مورد

فسفات، عناصر مغذی شامل سدیم، پتاسیم، کلسیم، منیزیم، آهن، مس، روی و منگنز و هدایت الکتریکی (EC) و pH سنجش شدند. هدایت الکتریکی و pH نمونه‌ها به ترتیب با استفاده از دستگاه‌های هدایت‌سنج الکتریکی (مدل JENWAY 4510) و pH متر (مدل Crison, Basic 20⁺) اندازه‌گیری شدند. غلظت فسفات نمونه‌ها بر اساس روش مولیبدووانادات با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر (UV-Visible, DR 5000TM model, HACH Co., USA) سنجش شد. میزان عناصر سدیم، پتاسیم، کلسیم، منیزیم، آهن، مس، روی و منگنز با استفاده از دستگاه طیف سنج نشری پلاسمای جفت شده القایی (ICP-OES) سنجش شدند. درجه حرارت ظروف هضم هوازی روزانه با استفاده از دستگاه پرتابل اندازه‌گیری پارامترهای فیزیکی-شیمیایی آب (مدل AZ-860) گراد ثبت شد به‌طوری که تغییرات درجه حرارت در مدت زمان آزمایش در تیمارهای مختلف ۲۸-۳۰ درجه سانتی‌گراد متغیر بود.

روش تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS (version.19) صورت گرفت. ابتدا داده‌ها از نظر نرمال بودن با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف بررسی شدند. سپس مقایسه میانگین‌ها بین تیمارهای مختلف با استفاده از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و اختلاف میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن^۱ در سطح اطمینان ۹۵ درصد بررسی شدند. مقایسه میانگین متغیرها در زمان‌های مختلف در هر یک از تیمارهای آزمایش با استفاده از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه با نمونه‌های تکراری^۲ صورت گرفت.

نتایج

سنجش تقریبی ترکیبات شیمیایی پسماند جامد

آنالیز تقریبی و مقادیر عناصر معدنی پسماند جامد ماهی تیلپای نیل جمع‌آوری شده از مخازن پرورشی این ماهی به ترتیب در جداول ۱ و ۲ ارائه شده است.

(TC) و نیتروژن کل (CN) در نمونه‌های خشک شده نیز با استفاده از دستگاه تجزیه کننده چند منظوره کربن و نیتروژن (روش احتراق خشک) سنجش شدند.

آزمایش هضم هوازی پسماند جامد

این آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار شامل سطوح مختلف کود زیستی در سه تکرار در آزمایشگاه تحصیلات تکمیلی دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل: ۱- هضم هوازی پسماند جامد ماهی تیلپای نیل بدون افزودن کود زیستی (تیمار شاهد)، ۲- هضم هوازی پسماند جامد ماهی تیلپای نیل همراه با افزودن ۰/۱ درصد کود زیستی حاوی باکتری‌های حل کننده فسفات و ۳- هضم هوازی پسماند جامد ماهی تیلپای نیل همراه با افزودن ۰/۲ درصد کود زیستی، بود.

واحدهای هضم هوازی شامل ۹ ظرف شیشه‌ای یک لیتری بود که در هر ظرف ۵۰۰ میلی لیتر آب مخزن پرورش ماهی تیلپای نیل ریخته شده و به آن پسماند جامد آگیری شده به میزان ۱ درصد وزنی-حجمی (w/v) اضافه شد. هر ظرف هضم مجهز به یک سنگ هوادهی متصل به یک هواده مرکزی جهت ایجاد شرایط هوازی بود و درجه حرارت آن در داخل شیکر انکوباتور در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. سپس درصدهای مختلف کود زیستی حاوی میکرواورگانیزم‌های حل کننده فسفات (*Pseudomonas putida* strain P13 و *agglomerans* strain P5) با شمارش ۱۰^۷ از هر باکتری در میلی‌لیتر (CFU/mL) (شرکت زیست فناور سبز ایران) به هر کدام از ظروف هضم هوازی اضافه شد. pH و هدایت الکتریکی کود زیستی مورد استفاده به ترتیب ۷ و ۰/۵ Ds/m بود. در اکثر مطالعات قبلی طول دوره هضم هوازی از دو هفته لغایت سی روز متغیر بود و در مطالعه حاضر، مدت زمان این دوره ۲۸ روز در نظر گرفته شد (Ezziddine, 2018; Khiari et al., 2020) و در روزهای ۰، ۱۴ و ۲۸ آزمایش بعد از قطع هوادهی از مایع رویی هر یک از ظروف هضم نمونه برداری انجام گرفت. نمونه‌های کود مایع به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق سانتریفیوژ (10000×g) شدند و پارامترهای

¹ Duncan multiple range test

² ANOVA with repeated measures

جدول ۱: آنالیز تقریبی پسماند جامد ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) بر حسب درصد ماده خشک (میانگین $\pm$ انحراف معیار)

Table 1: Proximate composition of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) sludge (dry-weight basis, mean $\pm$ SD)

Parameter	Content (%)
Dry matter	61.64 $\pm$ 2.93
Ash	67.12 $\pm$ 4.93
Nitrogen	1.19 $\pm$ 0.22
Carbon	11.77 $\pm$ 2.72
Crude protein	9.60 $\pm$ 1.18

جدول ۲: مقادیر عناصر معدنی پسماند جامد ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) بر حسب گرم در کیلوگرم ماده خشک (میانگین $\pm$ انحراف معیار)

Table 2: Elemental contents of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) sludge (g kg⁻¹ dry-weight basis, mean $\pm$ SD)

Nutrient	Value (g kg ⁻¹ dry weight)
Na	2.50 $\pm$ 0.53
Ca	59.70 $\pm$ 3.10
Mg	7.95 $\pm$ 0.30
K	0.55 $\pm$ 0.14
P	3.37 $\pm$ 0.33
Mn	0.267 $\pm$ 0.01
Zn	0.191 $\pm$ 0.03
Cu	0.034 $\pm$ 0.003
Fe	0.836 $\pm$ 0.04

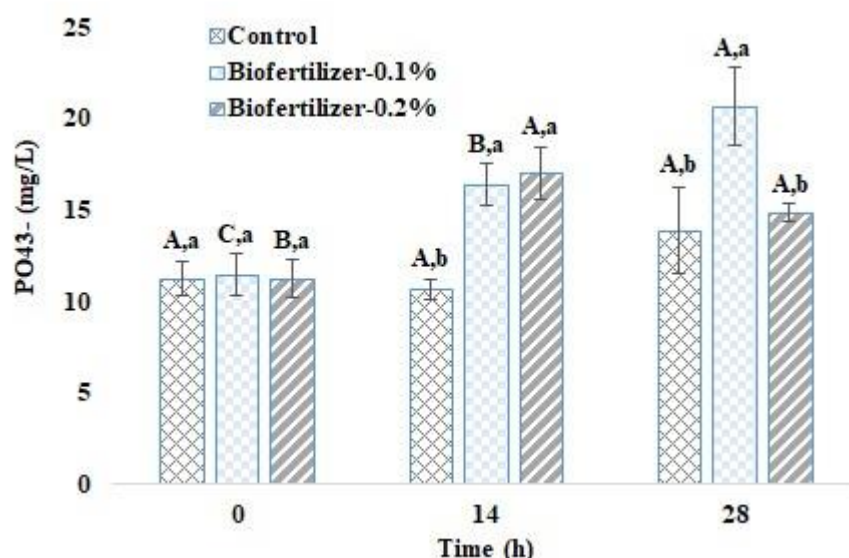
سنجش میزان مواد مغذی در کود مایع ماهی

تغییرات میزان فسفات در کود مایع حاصل از هضم هوازای پسماند جامد ماهی در شکل ۱ نشان داده شده است. غلظت فسفات در روز چهاردهم آزمایش در تیمارهای کود زیستی به طور معنی داری بیشتر از تیمار شاهد بوده، اما غلظت آن در روز بیست و هشتم آزمایش در تیمار کود زیستی ۰/۱ درصد به طور معنی داری بیشتر از سایر تیمارها بود ($p < 0.05$). غلظت فسفات در تیمار شاهد در طول مدت آزمایش به طور معنی داری تغییر نکرد ($p > 0.05$). روند تغییرات غلظت فسفات در تیمار کود زیستی ۰/۱ درصد از روز صفر لغایت بیست و هشتم افزایشی بود، اما غلظت آن در

تیمار کود زیستی ۰/۲ درصد از روز صفر لغایت چهاردهم به طور معنی داری افزایش یافت ($p < 0.05$) ولی تا روز بیست و هشتم به طور معنی داری تغییر نکرد ($p > 0.05$).

تغییرات مقادیر عناصر مغذی (پرمصرف و کم مصرف) در تیمارهای مختلف هضم هوازای پسماند جامد ماهی در اشکال ۲ و ۳ نشان داده شده است. غلظت عنصر سدیم در روزهای صفر، چهاردهم و بیست و هشتم آزمایش در بین همه تیمارها یکسان بود و اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($p > 0.05$). غلظت این عنصر در تیمار شاهد طی روزهای مختلف آزمایش به طور معنی داری تغییر نکرد ($p > 0.05$) درحالی که غلظت این عنصر در تیمارهای کود زیستی از روز صفر لغایت روز چهاردهم به طور معنی داری افزایش یافت ($p < 0.05$) ولی تا روز بیست و هشتم به طور معنی داری تغییر نکرد ($p > 0.05$) (شکل ۲-الف). غلظت عنصر پتاسیم در روز چهاردهم آزمایش در تیمارهای کود زیستی در مقایسه با تیمار شاهد به طور معنی داری افزایش یافت و بیشترین میزان این عنصر در تیمار کود زیستی ۰/۲ درصد مشاهده شد ($p < 0.05$). غلظت این عنصر در روز بیست و هشتم آزمایش در تیمار کود زیستی ۰/۱ درصد در مقایسه با سایر تیمارها به طور معنی داری بیشتر بود ($p < 0.05$). غلظت پتاسیم در تیمار شاهد طی مدت آزمایش به طور معنی داری تغییر نکرد ($p > 0.05$) درحالی که غلظت این عنصر در تیمارهای کود زیستی از روز صفر لغایت روز چهاردهم به طور معنی داری افزایش یافت ($p < 0.05$) ولی تا روز بیست و هشتم به طور معنی داری تغییر نکرد ($p > 0.05$) (شکل ۲-ب).

غلظت عناصر کلسیم و منیزیم در روزهای مختلف آزمایش در همه تیمارها یکسان بود و اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($p > 0.05$). غلظت عنصر کلسیم در تیمارهای شاهد و کود زیستی ۰/۱ درصد از روز صفر لغایت چهاردهم آزمایش به طور معنی داری کاهش یافته و سپس تا روز بیست و هشتم به طور معنی داری افزایش یافت ($p < 0.05$) درحالی که غلظت این عنصر در تیمار کود زیستی ۰/۲ درصد از روز صفر لغایت چهاردهم به طور معنی داری کاهش یافت ($p < 0.05$) ولی تا روز بیست و هشتم به طور معنی داری تغییر نکرد ($p > 0.05$).

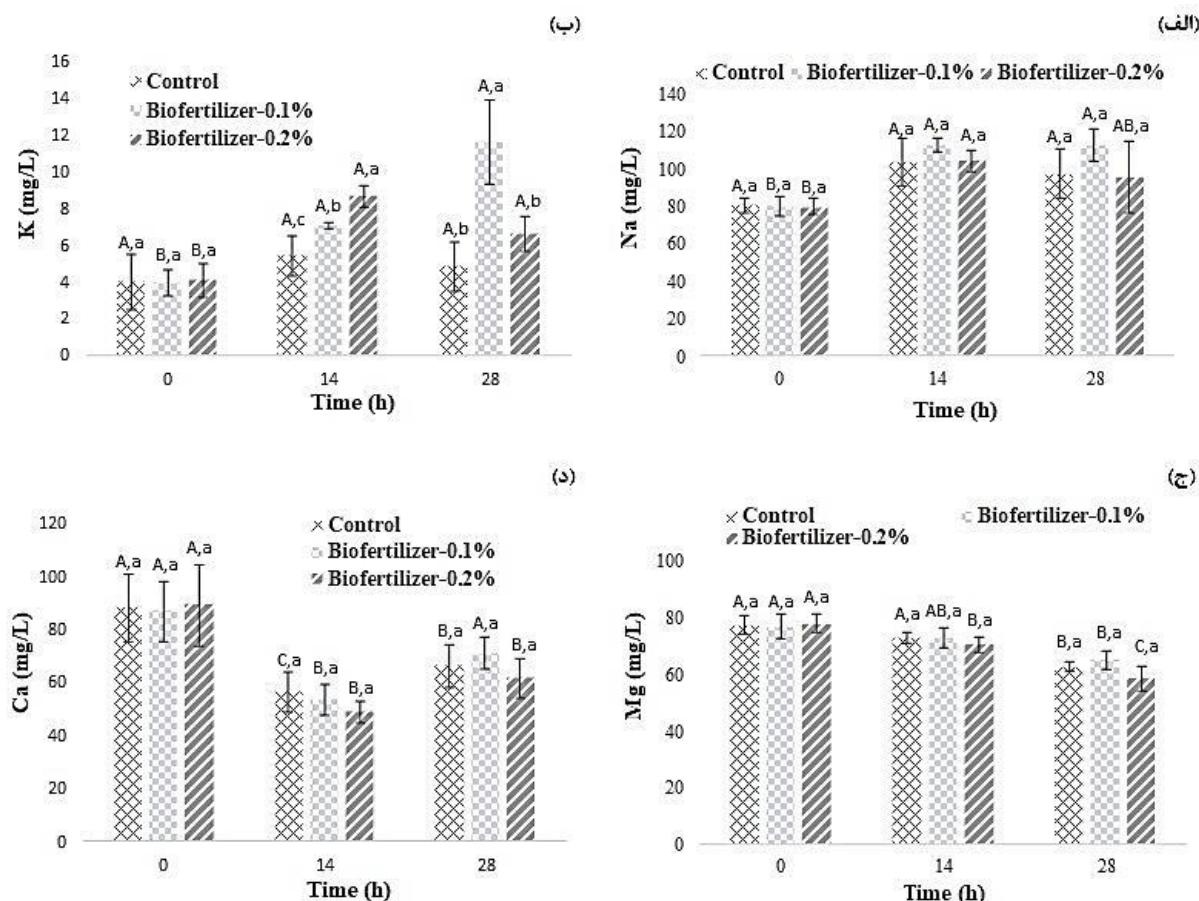


شکل ۱: تغییرات غلظت فسفات در روزهای مختلف تیمارهای هضم هوازی پسماند ماهی تیلاپای نیل (*Oreochromis niloticus*) (میانگین $\pm$ انحراف معیار). حروف کوچک در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین تیمارها در هر یک از روزهای آزمایش بوده ($ANOVA, P < 0.05$) و حروف بزرگ در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین روزهای مختلف آزمایش در هر تیمار است ($ANOVA$ with Repeated Measures, $P < 0.05$).

Figure 1: Variations of phosphate (PO_4^{3-}) concentration at different days of aerobic digestion treatments of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) sludge (mean $\pm$ SD). Bars with lowercase letters in each time show significant difference among treatments ($ANOVA, P < 0.05$) and bars with capital letters in each treatment are significantly different ($ANOVA$ with repeated measures, $P < 0.05$).

افزایش تا روز بیست و هشتم فقط در تیمار کود زیستی ۰/۱ درصد مشاهده شد ($p < 0.05$) (شکل ۳-ب). غلظت عنصر منگنز در روز چهاردهم آزمایش در تیمار کود زیستی ۰/۱ درصد به طور معنی‌داری بیشتر از تیمار کود زیستی ۰/۲ درصد بود ($p < 0.05$). غلظت این عنصر در روز بیست و هشتم آزمایش در تیمار کود زیستی ۰/۱ درصد به طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود ($p < 0.05$). غلظت منگنز در همه تیمارها از روز صفر لغایت روز چهاردهم به طور معنی‌داری افزایش یافت ($p < 0.05$) و این مقدار تا روز بیست و هشتم در تیمار شاهد به طور معنی‌داری تغییر نکرد ($p > 0.05$). ولی در تیمارهای کود زیستی به طور معنی‌داری کاهش یافت ($p < 0.05$) (شکل ۳-ج). غلظت عنصر روی در روز چهاردهم آزمایش در تیمارهای کود زیستی به طور معنی‌داری کمتر از تیمار شاهد بود ($p < 0.05$).

غلظت عنصر منیزیم از روز صفر لغایت بیست و هشتم آزمایش در تیمارهای مختلف به طور معنی‌داری کاهش یافت ($p < 0.05$) (شکل ۲-ج و د). غلظت عنصر مس در روزهای صفر، چهاردهم و بیست و هشتم آزمایش در همه تیمارها یکسان بود و اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0.05$). غلظت این عنصر در همه تیمارها از روز صفر لغایت چهاردهم به طور معنی‌داری افزایش یافت ($p < 0.05$), ولی مقدار آن تا روز بیست و هشتم به طور معنی‌داری تغییر نکرد ($p > 0.05$) (شکل ۳-الف). غلظت عنصر آهن در روز چهاردهم آزمایش در تیمارهای کود زیستی به طور معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد بود ($p < 0.05$). غلظت این عنصر در روز بیست و هشتم در تیمار کود زیستی ۰/۲ درصد در مقایسه با سایر تیمارها کمتر بود و بیشترین غلظت این عنصر در تیمار کود زیستی ۰/۱ درصد مشاهده شد ($p < 0.05$). غلظت عنصر آهن در همه تیمارها از روز صفر لغایت چهاردهم به طور معنی‌داری افزایش یافت و این

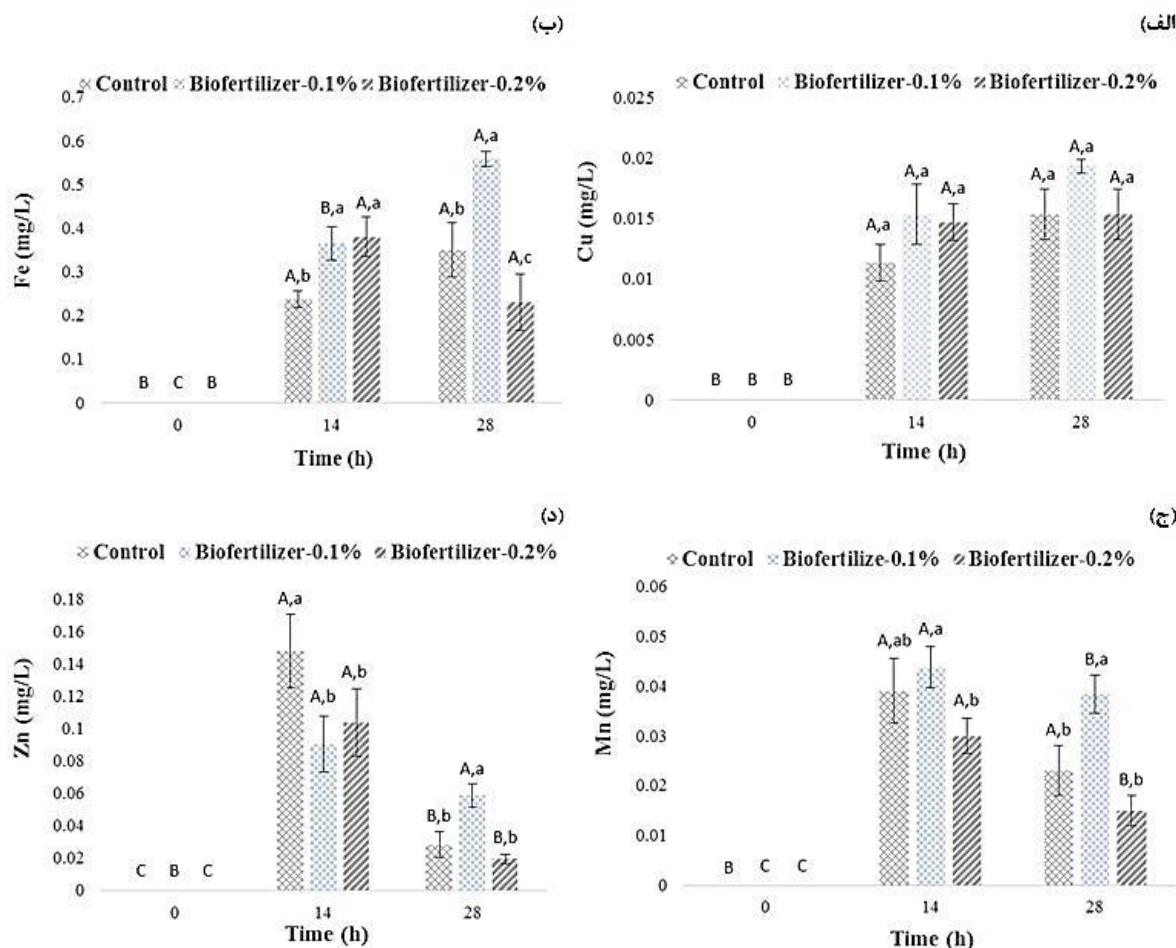


شکل ۲: تغییرات غلظت عناصر معدنی (درشت مغذی) در روزهای مختلف تیمارهای هضم هوازی پسماند جامد ماهی تیلاپای نیل (*Oreochromis niloticus*) (میانگین $\pm$ انحراف معیار). حروف کوچک در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین تیمارها در هر یک از روزهای آزمایش بوده (ANOVA, $P<0.05$) و حروف بزرگ در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین روزهای مختلف آزمایش در هر تیمار است (ANOVA with Repeated Measures, $P<0.05$).

Figure 2: Fluctuations in concentration of macronutrients at different days of aerobic digestion treatments of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) sludge (mean $\pm$ SD). Bars with lowercase letters in each time show significant difference among treatments (ANOVA, $P<0.05$) and bars with capital letters in each treatment are significantly different (ANOVA with repeated measures, $P<0.05$).

تغییرات مقادیر هدایت الکتریکی pH در تیمارهای مختلف هضم هوازی پسماند جامد ماهی در شکل ۴ نشان داده شده است. مقدار هدایت الکتریکی در روز چهارم آزمایش در تیمارهای کود زیستی به طور معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد بود ($p<0.05$) درحالی‌که در روز بیست و هشتم این مقدار فقط در تیمار کود زیستی ۰/۱ درصد به طور معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد بود ($p<0.05$).

غلظت این عنصر در روز بیست و هشتم در تیمار کود زیستی ۰/۱ درصد به طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود ($p<0.05$). غلظت روی در همه تیمارها از روز صفر لغایت روز چهاردهم به طور معنی‌داری افزایش یافت ($p<0.05$) و این مقدار تا روز بیست و هشتم در تیمار کود زیستی ۰/۱ درصد به طور معنی‌داری تغییر نکرد ($p>0.05$) ولی در تیمارهای شاهد و کود زیستی ۰/۲ درصد به طور معنی‌داری کاهش یافت ($p<0.05$) (شکل ۳-د).



شکل ۳: تغییرات عناصر معدنی (ریز مغذی) در روزهای مختلف تیمارهای هضم هوازی پسماند ماهی تیلاپای نیل (*Oreochromis niloticus*) (میانگین $\pm$ انحراف معیار). حروف کوچک در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار بین میانگین تیمارها در هر یک از روزهای آزمایش بوده (ANOVA, $P < 0.05$) و حروف بزرگ در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار بین روزهای مختلف آزمایش در هر تیمار است (ANOVA with Repeated Measures, $P < 0.05$).

Figure 3: Fluctuations in concentration of micronutrients at different days of aerobic digestion treatments of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) sludge (mean $\pm$ SD). Bars with lowercase letters in each time show significant difference among treatments (ANOVA, $P < 0.05$) and bars with capital letters in each treatment are significantly different (ANOVA with repeated measures, $P < 0.05$).

روند افزایشی را نشان داد به طوری که به ترتیب بین ۸/۸۴-۶/۷۶، ۸/۷۰-۶/۷۶ و ۸/۶۲-۶/۷۷ متغیر بود (شکل ۴-ب).

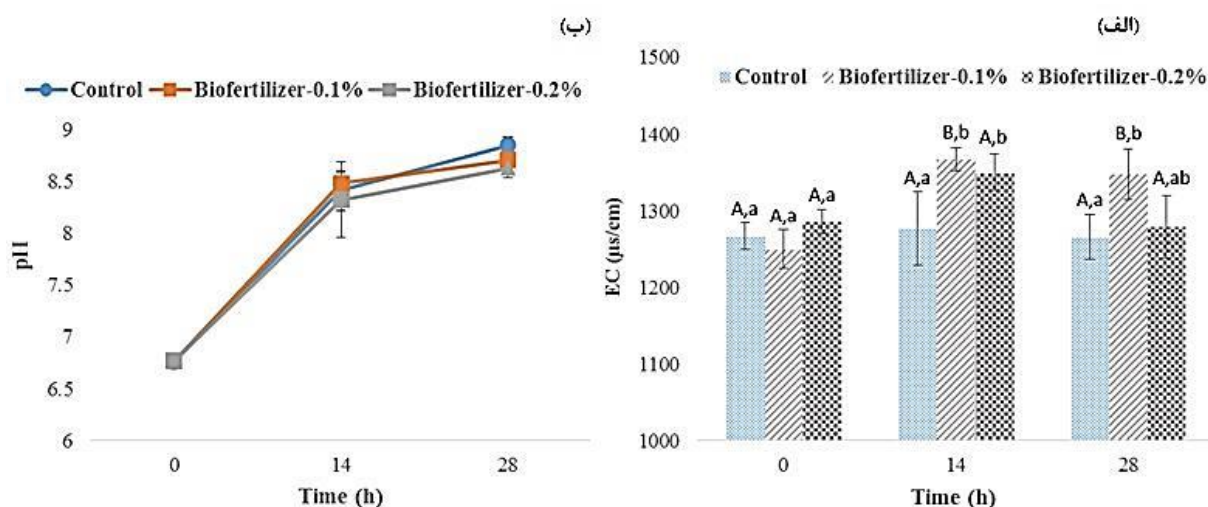
سنجش تقریبی ترکیبات شیمیایی پسماند ماهی در واحدهای هضم هوازی

تغییرات مقادیر درصد وزن خشک و خاکستر پسماند جامد ماهی قبل و بعد از هضم هوازی به مدت چهار هفته در تیمارهای مختلف آزمایش در جدول ۳ ارائه شده است. مقدار

مقادیر هدایت الکتریکی در تیمارهای شاهد و کود زیستی ۰/۲ درصد در طول آزمایش به طور معنی داری تغییر نکردند ($p < 0.05$)، اما این مقدار در تیمار کود زیستی ۰/۱ درصد از روز صفر لغایت روز چهاردهم به طور معنی داری افزایش یافت ($p < 0.05$)، ولی تا روز بیست و هشتم به طور معنی داری تغییر نکرد ($p > 0.05$) (شکل ۴-الف). تغییرات pH در تیمارهای شاهد، کودهای زیستی ۰/۱ درصد و ۰/۲ درصد از روز صفر لغایت روز بیست و هشتم آزمایش یک

ماده خشک (٪) پسماند جامد ماهی بعد از هضم هوازى در همه تیمارها در مقایسه با مقدار آن در قبل از هضم هوازى به طور معنی‌داری کاهش یافت ($p < 0.05$). مقدار ماده خشک در تیمار کود زیستی ۰/۱ درصد در مقایسه با تیمار شاهد به طور معنی‌داری کاهش یافت ($p < 0.05$) ولی اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای کود زیستی مشاهده نشد ($p > 0.05$).

ماده خشک (٪) پسماند جامد ماهی بعد از هضم هوازى در همه تیمارها در مقایسه با مقدار آن در قبل از هضم هوازى به طور معنی‌داری کاهش یافت ($p < 0.05$). مقدار ماده خشک در تیمار کود زیستی ۰/۱ درصد در مقایسه با تیمار شاهد به طور معنی‌داری کاهش یافت ($p < 0.05$) ولی اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای کود زیستی مشاهده نشد ($p > 0.05$).



شکل ۴: تغییرات هدایت الکتریکی (الف) و پی اچ (ب) در روزهای مختلف تیمارهای هضم هوازى پسماند جامد ماهی تیلاپای نیل (*Oreochromis niloticus*) (میانگین $\pm$ انحراف معیار). حروف کوچک در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین تیمارها در هر یک از روزهای آزمایش بوده ($\text{ANOVA}, P < 0.05$) و حروف بزرگ در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین روزهای مختلف آزمایش در هر تیمار است ($\text{ANOVA with Repeated Measures}, P < 0.05$).

Figure 4: Variations of electrical conductivity (EC) and pH at different days of aerobic digestion treatments of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) sludge (mean $\pm$ SD). Bars with lowercase letters in each time show significant difference among treatments ($\text{ANOVA}, P < 0.05$) and bars with capital letters in each treatment are significantly different ($\text{ANOVA with repeated measures}, P < 0.05$).

جدول ۳: مقادیر درصد وزن خشک و خاکستر پسماند جامد ماهی تیلاپای نیل (*Oreochromis niloticus*) قبل و بعد از هضم هوازى به مدت ۲۸ روز در تیمارهای مختلف آزمایش (میانگین $\pm$ انحراف معیار)

Table 3: Dry matter and ash contents of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) sludge before and after aerobic digestion for 28 days in different experimental treatments (mean $\pm$ SD)

Parameters	Before aerobic digestion	After aerobic digestion		
		Control	Biofertilizer-0.1%	Biofertilizer-0.2%
Dry matter (%)	61.64 $\pm$ 2.93 ^c	44.40 $\pm$ 3.78 ^b	38.06 $\pm$ 1.74 ^a	39.69 $\pm$ 2.84 ^{ab}
Ash (%)	67.12 $\pm$ 4.93 ^b	63.13 $\pm$ 3.81 ^{ab}	57.58 $\pm$ 3.03 ^a	59.60 $\pm$ 1.74 ^a

حروف مختلف در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین تیمارهاست ($\text{ANOVA}, P < 0.05$).
Values assigned with different letters in the same row are significantly different ($\text{ANOVA}, p < 0.05$).

بحث

در مطالعه حاضر، تولید کود مایع از پسماند جامد ماهی تیلاپپای نیل و تبدیل مواد آلی به مواد معدنی به منظور افزایش مقدار عناصر مغذی قابل دسترس به‌وسیله گیاهان از طریق فرایند هضم هوازی با افزودن غلظت‌های مختلف کود زیستی حاوی باکتری‌های حل‌کننده فسفات مورد بررسی قرار گرفت. بازیافت و استفاده مجدد از پسماند جامد واحدهای آبی پروری از دیدگاه محیط زیستی بسیار حائز اهمیت است زیرا بدین‌وسیله تخلیه آلاینده‌های آلی به محیط زیست کاهش می‌یابد و پسماند جامد ماهی غنی از مواد مغذی است که می‌تواند به عنوان کود مورد استفاده قرار گیرد (Khiari et al., 2018). Khiari و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند که پسماند جامد ماهی تیلاپپا حاوی ۴/۵ درصد نیتروژن و ۲۷/۷ درصد خاکستر بر حسب وزن خشک است. در مطالعه حاضر، مقدار نیتروژن $1/19 \pm 0/22$ درصد) پسماند جامد ماهی تیلاپپای نیل کمتر بود درحالی‌که مقدار خاکستر $67/12 \pm 4/93$ درصد) پسماند جامد بسیار بیشتر اندازه‌گیری شد. مقدار عناصر پر مصرف (فسفر، پتاسیم، سدیم، کلسیم و منیزیم) و کم مصرف (آهن، منگنز، روی و مس) در پسماند جامد گونه‌های مختلف ماهی متغیر است (Strauch et al., 2018; Goddek et al., 2019) که می‌تواند ناشی از تفاوت در مقدار، فرم شیمیایی، قابلیت دسترسی زیستی و جذب عناصر مغذی جیره غذایی و پسماند جامد جمع‌آوری شده از سازگان‌های پرورش ماهی در آب شیرین یا شور باشد (Sele et al., 2024).

مقدار فسفات در واحد هضم هوازی فاقد کود زیستی در مدت زمان هضم هوازی به طور معنی‌داری تغییر نکرد درحالی‌که افزودن کود زیستی به میزان ۰/۱ درصد و ۰/۲ درصد غلظت فسفات را در مدت زمان چهارده روز به ترتیب به میزان ۴۴/۷۳ و ۵۱/۷۸ درصد افزایش داشت. غلظت فسفات در تیمار کود زیستی ۰/۱ درصد در روز بیست و هشتم هضم هوازی در مقایسه به روز چهاردهم به میزان ۲۶/۲۱ درصد افزایش یافت درحالی‌که غلظت فسفات در تیمار کود زیستی ۰/۲ درصد در مقایسه با روز چهاردهم به طور معنی‌داری تغییر نکرد که می‌تواند به دلیل رشد بیش از حد باکتری‌های حل‌کننده فسفات در این تیمار و مصرف

فسفات به‌وسیله آنها طی فرایند هضم هوازی باشد. ترکیبات فسفره بر خلاف ترکیبات نیتروژنی تقریباً نامحلول هستند و انتشار آنها در خاک بسیار کند است. بنابراین، برای این‌که فسفر برای گیاهان قابل استفاده باشد، باید به فسفات معدنی هیدرولیز شود. نمونه‌های متنوعی از میکروارگانیسم‌ها قادر به رهاسازی فسفر از منابع رسوب یافته فسفر گزارش شده‌اند. باکتری‌های حل‌کننده فسفات باعث آزاد شدن فسفر از شکل‌های نامحلول و غیرقابل جذب فسفر می‌شوند (Khan and Joergensen, 2009). این باکتری‌ها معمولاً با اسیدی کردن خاک و ترشح آنزیم‌های فسفاتاز باعث رهاسازی یون فسفات از ترکیبات آن می‌گردند که این یونها به‌وسیله گیاه قابل جذب است (Sharma, 2002). Qian و همکاران (۲۰۱۹) نیز گزارش کردند که رهاسازی فسفر و تبدیل فسفر به ارتوفسفات از طریق افزودن باکتری *Pseudomonas putida* به عنوان یک باکتری حل‌کننده فسفات به بیوچار به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد.

هضم هوازی پسماند جامد ماهی تیلاپپای نیل به مدت چهارده روز باعث افزایش غلظت یون پتاسیم به میزان ۸۰/۶۶ و ۱۱۲/۲۰ درصد به ترتیب در تیمارهای کود زیستی ۰/۱ و ۰/۲ درصد شد. افزایش ۱۹۶/۹۲ درصدی غلظت یون پتاسیم بعد از بیست و هشت روز از هضم هوازی در تیمار کود زیستی ۰/۱ درصد مشاهده گردید درحالی‌که غلظت یون پتاسیم در تیمار کود زیستی ۰/۲ درصد در روز بیست و هشتم هضم هوازی در مقایسه با روز چهاردهم به طور معنی‌داری نکرد که می‌تواند به دلیل مصرف یون پتاسیم به‌وسیله باکتری‌های حل‌کننده فسفات باشد. این نتایج نشان می‌دهد که افزودن کود زیستی حاوی باکتری‌های حل‌کننده فسفات به میزان ۰/۱ درصد به واحد هضم هوازی می‌تواند در افزایش غلظت یون پتاسیم بسیار موثر باشد. Sarikhani (۲۰۱۶) رهاسازی پتاسیم از کانی‌های حاوی پتاسیم (موسکویت و بیوتیت) به‌وسیله باکتری حل‌کننده فسفات (*Pseudomonas putida* P13) در حضور منابع نامحلول (تری کلسیم فسفات) و محلول (دی سدیم فسفات) فسفر را بررسی نمود. نتایج نشان داد که رهاسازی پتاسیم به‌وسیله این باکتری در حضور منابع نامحلول فسفر بیشتر بود که نشان‌دهنده توانایی این باکتری در رهاسازی پتاسیم

احتمالاً به دلیل تولید اسیدهای آلی یا ترکیبات کلات کننده به وسیله این باکتری باشد. Monsees و همکاران (۲۰۱۷) نیز گزارش کردند که هضم هوازی پسماند جامد ماهی تیلاپیا به مدت چهارده روز باعث افزایش ۳۱ درصدی یون پتاسیم شد. در مطالعه دیگری نیز هضم هوازی پسماند جامد ماهی جمع آوری شده از یک سازگان آکوپونیک باعث افزایش غلظت یون پتاسیم به میزان ۱/۷ مرتبه و ۲/۱ مرتبه به ترتیب بعد از سه هفته و چهار هفته از هضم هوازی شد (Ezziddine et al., 2020). در مطالعه حاضر، هضم هوازی پسماند جامد ماهی بدون افزودن کود زیستی (شاهد) به مدت دو هفته غلظت یون پتاسیم به میزان ۳۹/۷۴ درصد افزایش یافت اگرچه از نظر آماری معنی دار نبود. غلظت یون کلسیم در همه تیمارهای هضم هوازی از روز صفر لغایت روز چهاردهم به طور معنی داری کاهش یافت و سپس تا روز بیست و هشتم یک روند افزایشی را در مقایسه با روز چهاردهم نشان داد. روند تغییرات غلظت یون منیزیم نیز تا روز بیست و هشتم یک روند نزولی بود. کاهش غلظت یونهای کلسیم و منیزیم می تواند ناشی از رسوب آنها به دلیل افزایش pH واحدهای هضم هوازی باشد. نتایج مطالعه دیگر نیز نشان داد که غلظت یون منیزیم در مدت دو هفته هضم هوازی پسماند ماهی تیلاپیا کاهش یافت (Monsees et al., 2017).

هضم هوازی پسماند جامد ماهی تیلای نیل به مدت چهارده روز در همه تیمارها باعث افزایش قابل توجه عناصر کم مصرف شامل آهن، مس، منگنز و روی گردید و افزایش مدت زمان هضم هوازی به بیست و هشت روز تاثیر معنی داری بر مقدار این عناصر نداشت. افزودن کود زیستی حاوی باکتری های حل کننده فسفات به واحدهای هضم هوازی فقط باعث افزایش غلظت عناصر آهن و منگنز در مقایسه با تیمار شاهد شد و بهترین تاثیر کود زیستی در سطح ۰/۱ درصد مشاهده شد. افزایش غلظت آهن و منگنز می تواند به دلیل محلول سازی فسفات متصل به آهن (Fe^{+}) و منگنز به وسیله باکتری های حل کننده فسفات باشد (Han et al., 2022). در مطالعه ای باز یافت مواد مغذی از پسماند جامد ماهی با استفاده از فیلترهای زیستی حاوی بسترهای سرامیکی و لیگنوسلولزی در یک سازگان

آکوپونیک مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که مقدار عناصر کم مصرف آهن، منگنز، مس و روی به ترتیب به غلظت های ۰/۶۷، ۰/۳۷، ۰/۰۵ و ۰/۱۲ میلی گرم در لیتر افزایش یافتند (Zhang et al., 2020). در مطالعه حاضر، بیشترین غلظت عناصر آهن، منگنز، مس و روی به ترتیب ۰/۵۵، ۰/۴۳، ۰/۱۹ و ۰/۱۴ میلی گرم در لیتر ثبت گردیدند. به طور کلی، مقدار هدایت الکتریکی واحدهای هضم هوازی بعد از دو هفته در تیمارهای کود زیستی در مقایسه با تیمار شاهد افزایش یافت و این افزایش در تیمار کود زیستی ۰/۱ درصد تا هفته چهارم هضم هوازی نیز ادامه داشت. مقدار ماده خشک و خاکستر پسماند جامد ماهی بعد از هضم هوازی در مقایسه با قبل از هضم هوازی به طور معنی داری کاهش یافت. مقدار ماده خشک پسماند ماهی در تیمار کود زیستی ۰/۱ درصد نیز بعد از اتمام هضم هوازی در مقایسه با تیمار شاهد کاهش یافت. این نتایج نشان می دهد که فرایند هضم هوازی تحرک و آزادسازی عناصر مغذی از پسماند جامد ماهی تیلای نیل را افزایش می دهد و افزودن کود زیستی حاوی باکتری های حل کننده فسفات به واحدهای هضم هوازی این روند را بهبود می بخشد.

نتایج این مطالعه نشان داد که هضم هوازی پسماند جامد ماهی تیلای نیل بدون افزودن کود زیستی حاوی باکتری های حل کننده فسفات باعث افزایش غلظت عناصر کم مصرف شامل مس، آهن، منگنز و روی شد و تاثیر معنی داری بر غلظت عناصر پرمصرف نداشت. افزودن کود زیستی باعث افزایش غلظت فسفات، پتاسیم، سدیم و عناصر کم مصرف مذکور در واحدهای هضم هوازی گردید. افزایش درصد کود زیستی از ۰/۱ درصد به ۰/۲ درصد و مدت زمان هضم هوازی از دو هفته به چهار هفته نیز تاثیر معنی داری بر تحرک و آزادسازی مواد مغذی از پسماند جامد ماهی نداشت. بنابراین، می توان بیان نمود که هضم هوازی پسماند جامد ماهی تیلای نیل به مدت دو هفته با افزودن کود زیستی حاوی باکتری های حل کننده فسفات به میزان ۰/۱ درصد تحرک و انحلال مواد مغذی را بهبود می بخشد. پیشنهاد می گردد، در مطالعات بعدی از خوراک اختصاصی جهت تغذیه ماهی تیلای نیل استفاده شده و اثرات آن بر

Journal of Agricultural Science, 2 (4):131–139.

Bridgham, S.D. and Ye, R., 2013. Organic matter mineralization and decomposition. In: Bridgham, S., Ye, R., Delaune, R.D. and Megonigal, P., (ed) *Methods in biogeochemistry of wetlands*. Soil Science Society of America, Inc., Madison, Wisconsin, USA, pp. 385-406. DOI:10.2136/sssabookser10.c20

Delaide, B., Delhaye, G., Dermience, M., Gott, J., Soyeurt, H. and Jijakli, M.H., 2017. Plant and fish production performance, nutrient mass balances, energy and water use of the PAFF Box, a small-scale aquaponics system. *Aquacultural Engineering*, 78:130-139. DOI:10.1016/j.aquaeng.2017.06.002

Delaide, B., Goddek, S., Keesman, K. and Jijakli, H., 2018. A methodology to quantify aerobic and anaerobic sludge digestion performances for nutrient recycling in aquaponics. *Biotechnologie Agronomie Société et Environnement*, 22(2):106-112. DOI:10.25518/1780-4507.16406

Droste, R. and Gehr, R.L., 2018. Theory and practice of water and wastewater treatment. John Wiley and Son, 992 P. DOI:10.5860/choice.34-4491

El-Sayed, A.F.M., 2006. Tilapia Culture. CAB International, Wallingford, 277. DOI:10.1079/9780851990149.0000

Ezziddine, M., Liltved, H. and Homme, J.M., 2020. A method for reclaiming nutrients from aquacultural waste for use in soilless growth systems. *Water Science & Technology*, 81(1):81-89. DOI:10.2166/wst.2020.079

میزان عناصر مغذی پسماند جامد و کود مایع حاصل از هضم هوازی آن ارزیابی گردد.

تشکر و قدردانی

نگارندگان از همکاری کارشناسان محترم آزمایشگاه‌های دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست دانشگاه فردوسی مشهد در اجرای این تحقیق صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نمایند. تحقیق نویسنده مسئول از حمایت مالی دانشگاه فردوسی مشهد (۳/۵۹۱۲۳) برخوردار بوده است.

منابع

Abbo, 2020. Inoculating fish sludge from aquaponics with microbes to enhance mineralization of phosphorus. Master's thesis. Faculty of Bioscience Engineering, Ghent University, Belgium, 45 P.

Abd-Alla, M.H., 1994. Solubilization of rock phosphates by Rhizobium and Bradyrhizobium. *Folia Microbiologica*, 39(1):53-6. DOI:10.1007/BF02814530

AOAC (Association of Officiating Analytical Chemists), 2005. Official Methods of Analysis, 18th ed. AOAC International, Maryland, USA, 771 P.

Armandeh, M., Mahmoudi, N. and Fallah Nosratabad, A.R., 2022. Screening and evaluation of phosphate-solubilizing bacteria isolated from aquaculture ponds in a step-by-step strategy as potential biofertilizer. *Journal of Applied Microbiology*, 00:1–16. DOI:10.1111/jam.15660

Ben Farhat, M., Salma, T. and Hichem, C., 2014. Encapsulation in alginate enhanced the plant growth promoting activities of two phosphate solubilizing bacteria isolated from the phosphate mine of Gafsa. Net. *The*

- FAO (Food and Agriculture Organization), 2016.** The state of world fisheries and aquaculture, In: Contributing to food security and nutrition for all. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- FAO (Food and Agriculture Organization), 2020.** The State of World Fisheries and Aquaculture. Food and Agriculture organization of the United Nation.
- Gao, X.T., Zhang, H.G., Xu, Y.F., Ni, Q., Zhang, Y.L. and Tan, H.X., 2022.** Effects of humic acid on the nitrogen utilization efficiency and microbial communities in aquaponic systems. *Aquaculture*, 547: 737475. DOI:10.1016/j.aquaculture.2021.737475
- Goddek, S., Delaide, B. and Mankasingh, U., 2015.** Challenges of sustainable and commercial aquaponics. *Sustain*, 7:4199–4224. DOI: 10.3390/su7044199
- Goddek S., Joyce A., Kotzen B. and Burnell G.M., 2019.** Aquaponics food production systems. Springer. DOI:10.1007/978-3-030-15943-6
- Han, L., Wang, X., Li, B., Shen, G., Tao, S., Fu, B., Han, Y., Li, W., Long, S., Peng, S. and Xu J., 2022.** Enhanced Fe-bound phosphate availability by the combined use of Mg-modified biochar and phosphate-solubilizing bacteria. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 10(2):107232. DOI:10.1016/j.jece.2022.107232
- Holm-Nielsen, J.B., Al Seadi, T. and Oleskowicz-Popiel, P., 2009.** The future of anaerobic digestion and biogas utilization. *Bioresource Technology*, 100:5478–5484. DOI:10.1016/j.biortech.2008.12.046.
- Illmer, P. and Schinner, F., 1992.** Solubilization of inorganic phosphates by microorganisms isolated from forest soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 24 (4):389–395. DOI:10.1016/0038-0717(92)90199-8
- Katznelson, H., Peterson, E.A. and Rovatt, J.W., 1962.** Phosphate dissolving microorganisms on seed and in the root zone of plants. *Canadian Journal of Botany*, 40(9):1181–86. DOI:10.1139/B62-108
- Khan, K.S. and Joergensen, R.G., 2009.** Changes in microbial biomass and P fractions in biogenic household waste compost amended with inorganic P fertilizers. *Bioresource Technology*, 100:303. DOI:10.1016/j.biortech.2008.06.002
- Khiari, Z., Kaluthota, S. and Savidov, N., 2018.** Aerobic bioconversion of aquaculture solid waste into liquid fertilizer: Effects of bioprocess parameters on kinetics of nitrogen mineralization. *Aquaculture*. DOI:10.1016/j.aquaculture.2018.10.059
- Mmanda, F.P., Lindberg, J.E., Norman Haldén, A., Mtolera, M.S.P., Kitula, R. and Lundh, T., 2020.** Digestibility of local feed ingredients in tilapia *Oreochromis niloticus* Juveniles, determined on faeces collected by siphoning or stripping. *Fishes*, 5(4):32. DOI:10.3390/fishes5040032
- Monsees, H., Keitel, J., Paul, M., Kloas, W. and Wuertz, S., 2017.** Potential of aquacultural sludge treatment for aquaponics: evaluation of nutrient mobilization under aerobic and anaerobic conditions.

- Aquaculture Environment Interactions*, 9:9–18. DOI:10.3354/aei00205
- Qian, T., Yang, Q., Jun, D. C. F., Dong, F. and Zhou, Y., 2019.** Transformation of phosphorus in sewage sludge biochar mediated by a phosphate-solubilizing microorganism. *Chemical Engineering Journal*, 359:1573-1580. DOI:10.1016/j.cej.2018.11.015
- Rodriguez, H. and Fraga, R., 1999.** Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology Advances*, 17: 319–339. DOI: 10.1016/S0734-9750(99)00014-2
- Sarikhani, M.R., 2016.** Increasing potassium (K) release from K-containing minerals in the presence of insoluble phosphate by bacteria. *Biological Journal of Microorganism*, 4 (16):87- 96.
- Sele, V., Ali, A., Liland, N., Lundebye, A.K., Tibon, J., Araujo, P., Sindre, H., Nilsen, H., Hagemann, A. and Belghit, I., 2024.** Characterization of nutrients and contaminants in fish sludge from Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) production sites - A future resource. *Journal of Environmental Management*, 360:121103. DOI:10.1016/j.jenvman.2024.121103
- Sharma, A.K., 2002.** Biofertilizers for sustainable agriculture. Agrobios, India, 407 P. DOI:10.1201/9781003220831-19
- Sharma, S. B., Sayyed, R. Z., Trivedi, M. H. and Gobi, T. A., 2013.** Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *Springerplus*, 2:587–600. DOI:10.1186/2193-1801-2-587.
- Stevenson, F.J., 2005.** Cycles of Soil: carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur, micronutrients. John Wiley and Sons, New York. 448 P.
- Strauch S., Wenzel L., Bischoff A., Dellwig O., Klein J., Schüch A., Wasenitz B. and Palm H., 2018.** Commercial African catfish (*Clarias gariepinus*) recirculating aquaculture systems: Assessment of element and energy pathways with special focus on the phosphorus cycle. *Sustainability*, 10(6):1805. DOI:10.3390/su10061805
- Turcios, A.E. and Papenbrock, J., 2014.** Sustainable treatment of aquaculture effluents-what can we learn from the past for the future? *Sustainability* (Switzerland), 6:836-856. DOI:10.3390/su6020836.
- Zhang, H., Gao, Y., Shi, H., Lee, C.T., Hashim, H., Zhang, Z., Wu, W.M. and Li, C., 2020.** Recovery of nutrients from fish sludge in an aquaponic system using biological aerated filters with ceramsite plus lignocellulosic material media. *Journal of Cleaner Production*, 258:120886. DOI:10.1016/j.jclepro.2020.120886
- Zhang, H., Gao, Y., Liu, J., Lin, Z., Lee, C.T., Hashim, H., Wu, W.M. and Lia, C., 2021.** Recovery of nutrients from fish sludge as liquid fertilizer to enhance sustainability of aquaponics: a Review. *Chemical Engineering Transactions*, 83:55-60. DOI:10.3303/CET2183010

Effects of different levels of biofertilizer containing phosphate solubilizing bacteria on aerobic digestion of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) sludge to produce liquid fertilizer

Madady M.H.¹; Sarkheil M.^{1*}; Zahedi S.¹; Arouei H.²

*sarkheil@um.ac.ir

1-Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources and Environment, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

2-Department of Horticultural Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Abstract

In this study, the effects of different levels of biofertilizer containing phosphate solubilizing bacteria on aerobic digestion of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) sludge were investigated *in vitro* under a completely randomized design. Three experimental treatments including aerobic digestion of Nile tilapia solid sludge without adding biofertilizer (control) and aerobic digestion of solid sludge with adding biofertilizer containing phosphate solubilizing bacteria (*Pseudomonas putida* strain P13 and *Pantoea agglomerans* strain P5) at levels of 0.1% and 0.2% were used in triplicate. The aerobic digestion containers with a capacity of 1 L (9 containers) were kept in a shaker incubator at 30°C for 28 days. The results showed that the concentration of phosphate, potassium, and iron nutrients on the 14th day of the experiment in the biofertilizer treatments were significantly higher than the control, but their concentrations on the 28th day in the biofertilizer-0.1% treatment were significantly higher than other treatments ($p<0/05$). The manganese concentration on the 14th and 28th days in the biofertilized-0.1% treatment was higher than other treatments ($p<0/05$). The results of the present study indicated that the aerobic digestion of fish sludge for two weeks with adding biofertilizer containing phosphate solubilizing bacteria (*P. putida* strain P13 and *P. agglomerans* strain P5) by counting 10^7 of each bacteria per mL (CFU/mL) at 0.1% improved the release and dissolution of nutrients.

Keywords: Aerobic digestion, Fish solid sludge, Biofertilizer, Nutrients, Nile tilapia

*Corresponding author