تاثیر کاربرد لجن‌فاضلاب و بیوچار آن بر برخی خصوصیات شیمیایی و فعالیت‌های آنزیمی خاک

افشین حقایقی سولک[۱]، بهی جلیلی*[۲]، سروش سالک گیلانی[۳]

۱- کارشناسی ارشد، گروه علوم خاک، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

۲-استادیار، گروه علوم خاک، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

۳-مربی، گروه علوم خاک، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

ایمیل نویسنده مسئول: b.jalili@sanru.ac.ir

تاریخ دریافت۱۴۰۲/۰۲/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۳/۰۳

چکیده

یکی از راه‌کارهای کاهش مخاطرات کاربرد لجن فاضلاب در زمین‌های کشاورزی، تبدیل آن به بیوچار پیش از افزودن به خاک است. از سویی، فعالیت‌های آنزیمی خاک به دلیل حساسیت‌شان به تغییرات مدیریتی، به‌عنوان شاخص‌های کیفیت خاک مورد توجه قرار گرفته‌اند. بنابراین هدف این پژوهش، بررسی اثر لجن‌فاضلاب و بیوچار آن بر فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز، فسفاتاز قلیایی و ساکاراز خاک است. این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد که اثر فاکتور بیوچار لجن فاضلاب در سه سطح صفر(B_0) ، دو (B_2) و چهار (B_4) درصد وزنی، فاکتور لجن فاضلاب در سه سطح صفر(S_0) ، چهار (S_4) و هشت (S_8) درصد وزنی و فاکتور زمان در چهار مرحله نمونه‌برداری (۲، ۱۵، ۳۰ و ۶۰ روز پس از شروع آزمایش) بر فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز، فسفاتاز قلیایی و ساکاراز خاک مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار Statistix و مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد انجام گرفت. نتایج نشان داد که در همه مراحل انکوباسیون هدایت الکتریکی خاک، کربن آلی، نیتروژن کل، فسفر قابل جذب و فعالیت آنزیم ساکاراز در اثر کاربرد کودهای مورد استفاده به‌طور معنی‌داری بالاتر از شاهد بودند. فعالیت آنزیم اوره‌آز در تیمارهای گوناگون در طول زمان انکوباسیون نوسان زیادی را نشان داد. در آغاز انکوباسیون افزودن تیمارهای دارای لجن‌فاضلاب سبب افزایش معنی‌دار ($p<0/01$) میزان فعالیت این آنزیم نسبت به شاهد شد و با گذشت زمان در پانزدهمین روز انکوباسیون بیشترین میزان فعالیت آنزیم اوره‌آز در تیمارهای S_4 و B_2S_8 به ترتیب با مقادیر ۹۵۰ و ۹۶۴ میکروگرم آمونیوم در گرم در ساعت دیده شد. پس از یک ماه انکوباسیون میزان فعالیت این آنزیم در تیمارهای B_4، S_4 و B_4S_8 نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری یافت و در سایر تیمارها مقدار آن به‌طور معنی‌دار بیشتر از شاهد بود و درپایان زمان انکوباسیون حداکثر میزان فعالیت این آنزیم در تیمار B_2S_4 به مقدار ۱۱۹۶ میکروگرم آمونیوم در گرم در ساعت مشاهده شد. فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در تیمارهای مختلف در طول دوره انکوباسیون دارای نوسان زیادی بود. پس از گذشت یک ماه از آغاز آزمایش فعالیت این آنزیم در همه تیمارها نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری یافت و بیشترین مقدار آن در تیمارهای B_2S_4 و B_4S_8 به ترتیب برابر ۳۳۴۸ و ۳۳۴۲ میکرو گرم پارانیتروفنیل فسفات در گرم در ساعت بود ولی با گذشت ۶۰ روز فعالیت آنزیم فسفاتاز در همه تیمارها نسبت به شاهد به‌طور معنی‌دار کاهش یافت. فعالیت آنزیم ساکاراز، پس از گذشت ۳۰ روز از شروع آزمایش در همه تیمارها نسبت به شاهد افزایش یافت و بیشترین مقدار آن در تیمار S_8 به میزان ۲۵۷۴ میکروگرم گلوکز در گرم در ساعت حاصل شد. ولی در پایان زمان انکوباسیون حداکثر مقدار فعالیت این آنزیم در B_2S_4 مشاهده شد. با توجه به یافته‌های این پژوهش، استفاده توام از لجن فاضلاب و بیوچار آن(B_2S_4) سبب بهبود فعالیت آنزیم‌های اوره آز، فسفاتاز قلیایی و ساکاراز شد. بهرحال به دلیل وجود فلزات سنگین در هر دوی این مواد، لازم است مطالعات بیشتر در حضور گیاه و در مزرعه و با سنجش غلظت فلزات سنگین در خاک و گیاه انجام شود.

کلمات کلیدی

"کیفیت خاک"، "اصلاح کننده خاک"، "اوره‌آز"، "فسفاتاز قلیایی"، "ساکاراز"

۱- مقدمه

خاک‌های مناطق خشک و نیمه‌خشک ایران به‌علت نبود پوشش گیاهی کافی و بازگشت مقدار کم بقایای گیاهی به خاک دارای مواد آلی کمی هستند که این امر باعث کاهش حاصلخیزی و کیفیت فیزیکی و شیمیایی آن‌ها می‌شود (Khanmiri et al., ۲۰۱۱: Karami et al., ۲۰۰۹). افزایش ماده آلی خاک و رساندن آن به سطح مطلوب به علت تجزیه سریع مواد افزوده شده نیازمند بازگرداندن پیوسته‌ی مواد آلی به خاک است (Shahbaz et al., ۲۰۱۶). ماده آلی خاک یکی از شاخص‌های مهم کیفیت خاک محسوب می‌شود و در واقع عاملی برای تداوم حاصلخیزی خاک، جلوگیری از فرسایش و پیش‌روی بیابان و فراهم‌کننده محیطی مناسب برای فعالیت زیستی خاک است (Spaccini et al., ۲۰۰۴). افزودن اصلاح کننده‌های آلی همانند کاه و کلش، کوددامی، کود سبز و لجن‌فاضلاب به خاک به‌عنوان منبع عناصر غذایی سبب افزایش اندازه ماده آلی خاک، بهبود فعالیت‌های زیستی و در پی آن بهبود وضعیت عناصر غذایی خاک و هم‌زمان با آن کاهش وابستگی به کودهای شیمیایی می‌شود. لجن‌فاضلاب از جمله مهم‌ترین ضایعات آلی و محصول فرعی فرآیندهای تصفیه آب و فاضلاب بوده که به دلیل افزایش تولید آن در دهه‌های گذشته، مدیریت آن به یکی از وظایف کلیدی در سیاست‌های زیست‌محیطی بسیاری از کشورها تبدیل شده است (Gianfreda & Rao, ۲۰۱۴). در کشور ما میانگین سرانه تولید لجن اولیه و ثانویه فاضلاب به ازای هر نفر به ترتیب ۰/۷ و ۲ لیتر برآورد شده است (Takdastan et al., ۲۰۰۶). کاربرد لجن‌فاضلاب در کشاورزی اگرچه بخش زیادی از عناصر غذایی موردنیاز بسیاری از گیاهان را تأمین کند (Tamrabet et al., ۲۰۰۹)، ولی خطرهایی مانند وجود میکروب‌ها و فلزهای سنگین در لجن‌فاضلاب عاملی محدود کننده در استفاده از این ضایعات به حساب می‌آید (Lu *et al.*, ۲۰۱۶). بکارگیری تیمارهای حرارتی بر روی لجن فاضلاب مانند تبدیل آن به بیوچار پیش از افزودن به خاک، یکی از راه‌های کاهش خطرهای مذکور است (Paz-Ferreiro et al., ۲۰۱۲). بیوچار محصول تخریب گرمایی مواد آلی در غیاب هوا (پیرولیز) است که به‌واسطه کاربردش در خاک برای نگه‌داری و ذخیره کربن اتمسفر از زغال چوب متمایز می‌شود (Lehmann et al., ۲۰۱۱). تبدیل لجن فاضلاب به بیوچار علاوه بر کاهش حلالیت فلزهای سنگین موجود در آن (Paz-Ferreiro et al., ۲۰۱۲)، کاهش حجم و هزینه حمل و نقل لجن فاضلاب را نیز به‌دنبال دارد (Mendez et al., ۲۰۱۲). از طرفی، پایداری زیستی و شیمیایی بیوچار سبب باقیماندن آن در خاک برای بیش از هزاران سال می شود و در نتیجه از انتشار کربن به اتمسفر به طور موثری جلوگیری می‌کند. به‌علاوه، بیوچار به بهبود ویژگی‌های خاک از طریق افزایش مقدار ماده آلی خاک، مقدار عناصر غذایی، افزایش ظرفیت نگهداری آب و عناصر غذایی، هوادهی و غیره کمک می‌کند (Amoah-Antwi et al., ۲۰۲۰). بیوچار، همچنین جوامع میکروبی و فعالیت آن‌ها را نیز تحت تاثیر قرار دهد (Wardle et al., ۲۰۰۸). ویژگی‌های بیوشیمیایی خاک در مقایسه با ویژگی‌های شیمیایی و فیزیکی در برابر تغییر مدیریت خاک حساس‌تر هستند. پیش‌تر، ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک به‌عنوان شاخصی برای پی بردن به حاصلخیزی خاک در نظر گرفته می‌شدند، اما بیشتر این ویژگی‌ها به آرامی به شیوه‌های مدیریت پاسخ می‌دهند و به اندازه کافی برای تشخیص تغییرات در ویژگی‌های خاک ناشی از مدیریت کشاورزی به‌ویژه در کوتاه مدت حساس نیستند. آنزیم‌های خاک نقش مهمی در کارکرد بیوشیمیایی خاک دارند و فعالیت آن‌ها بر چرخه عناصر غذایی نظیر کربن، نیتروژن و فسفر تاثیر گذار است (Rao et al., ۲۰۱۴). آنزیم‌های خاک همچنین، از جمله شاخص‌های حساس نسبت به عملیات کشاورزی بوده و سریع‌تر از سایر ویژگی‌های زیستی خاک نسبت به تغییر در مدیریت خاک و عملیات کشاورزی پاسخ نشان می‌دهند. بنابراین شاخص‌های مفیدی برای بررسی تغییرات زیستی هستند (Sarapatka et al., ۲۰۰۶; Tejada et al., ۲۰۰۶). پژوهش‌های قبلی نشان می‌دهد که تاثیر افزودن بیوچار بر فعالیت آنزیم‌های خاک بستگی به نوع بیوچار، مقدار کاربرد بیوچار و نوع خاک دارد (Lehmann et al., ۲۰۱۱، Lopes et al., ۲۰۲۱، Liao et al., ۲۰۲۲، Pandey et al., ۲۰۲۲، Song et al., ۲۰۲۲). بهرحال، در پژوهش‌های مذکور به بررسی تاثیر بیوچار حاصل از لجن فاضلاب بر فعالیت آنزیم‌های خاک کمتر پرداخته شده است. از طرفی اطلاعات اندکی در زمینه تاثیر کاربرد بیوچار لجن بر خاک‌های ایران موجود است. بنابراین، در این پژوهش برای برآورد کیفیت خاک پس از افزودن لجن‌فاضلاب و بیوچار آن به خاک، فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز، فسفاتاز قلیایی و ساکاراز مورد بررسی قرار گرفت.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- نمونه‌برداری و آماده سازی خاک

نمونه‌برداری خاک از مزرعه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری از عمق ۳۰-۰ سانتیمتری انجام شد. نمونه های خاک پس از انتقال به آزمایشگاه و خشک شدن در مجاورت هوا، با پتک چوبی کوبیده و از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شدند.

۲-۲- آماده‌سازی لجن‌فاضلاب و بیوچار آن

لجن‌فاضلاب از تصفیه‌خانه فاضلاب شاهین شهر اصفهان تهیه شد. این تصفیه خانه، عمدتا پساب‌های شهری و صنعتی را طی دو مرحله شامل (۱) حذف مواد جامد معلق از فاضلاب و (۲) تصفیه زیستی تصفیه می‌نماید (Ghasemian Sorboni et al., ۲۰۱۲). بخشی از لجن پس از هواخشک شدن و عبور از الک ۲ میلی‌متری جهت آنالیز و آزمایش انکوباسیون نگه‌داری و بخش دیگر در دستگاه تولید بیوچار در دمای ۳۵۰ درجه سلسیوس به مدت ۲ ساعت به بیوچار تبدیل شد. دستگاه تولید بیوچار مورد استفاده در این پژوهش (شکل ۱) دارای محفظه کوره‌ای با ابعاد ۴۰×۴۰ سانتی‌متر مربع، درب کوره، سوپاپ اطمینان، بخش تولید کننده حرارت، منفذ خروج گاز، بخش خنک کننده، ترموستات دیجیتال، سنسور حرارتی، پایه نگهدارنده و دیگر ضمائم لازم و توان تولید ۲ کیلوگرم بیوچار در هر بار استفاده بود.

شکل ۱- دستگاه تولید بیوچار

Figure ۱- Biochar production equipment

۲-۳- اندازه‌گیری ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک، لجن‌فاضلاب و بیوچار

درصد اندازه ذرات به روش هیدرومتری (Bouyoucos, ۱۹۶۲)، pH در گل اشباع و EC در عصاره اشباع (Rhoades, ۱۹۹۲)، کربن آلی به روش واکلی و بلک (Walkley and Black, ۱۹۳٤)، نیتروژن کل به روش کلدال (Bremner and Mulvaney, ۱۹۸۲)، فسفر قابل‌استفاده به کمک محلول عصاره‌گیر بی‌کربنات سدیم (Olsen and Sommers ۱۹۸۲) پتاسیم قابل‌استفاده با دستگاه فلیم فتومتر (Knudsen et al, ۱۹۹۲)، اندازه‌گیری شد. غلظت آهن، مس، روی، منگنز، سرب و نیکل با محلول DTPA استخراج و به‌وسیله دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد (Lindsay and Norvell, ۱۹۷۸). برای اندازه‌گیری pH و EC لجن فاضلاب سوسپانسیون ۱:۱۰ از (w/v) نمونه‌ها تهیه شد، سایر ویژگی‌های لجن فاضلاب با روش‌های استاندارد تعیین گردید (D٥١٤٢, ۲۰۰۹). برای اندازه‌گیری pH و EC بیوچار از نسبت ۱۰: ۰/۵ وزنی بیوچار به آب استفاده شد. غلظت پتاسیم، فسفر، آهن، مس، روی، منگنز، سرب و نیکل به روش ASTM D٥ ۱۴۲ تعیین شد (Clesceri et al, ۱۹۹۸). مقدار نیتروژن و کربن موجود در بیوچار با دستگاه CNHSO (Perkin Elmer ۲٤۰۰ Elemental Analayzer PerkinElmer, Waltham, MA) تعیین شد (Sadegh-Zadeh et al., ۲۰۱۸).

٤-۲- اعمال تیمارها و روش انجام آزمایش

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. فاکتور اول شامل سه سطح مصرفی بیوچار لجن‌فاضلاب در مقادیر صفر، ۲ و ٤ درصد، فاکتور دوم شامل سه سطح مصرفی لجن‌فاضلاب در مقادیر صفر، ٤ و ۸ درصد و فاکتور سوم شامل چهار زمان انکوباسیون (۲، ۱۵، ۳۰ و ٦۰ روز) بود. مقادیر مصرفی بیوچار لجن فاضلاب و لجن فاضلاب با نمونه‌های یک کیلوگرمی خاک مخلوط و سپس به قوطی‌های پلاستیکی ۱/۵ کیلوگرمی با درپوش سوراخ‌دار منتقل گردید. پس از اعمال تیمارها نمونه‌ها در شرایط آزمایشگاهی نگهداری شدند. رطوبت نمونه‌ها به روش کاغذ صافی (۳۰) در حدود ٦۰-۷۰ درصد ظرفیت زراعی تنظیم شد. در طول مدت آزمایش رطوبت نمونه‌ها با توزین مرتب قوطی‌ها ثابت نگه‌داشته شد. در فواصل زمانی ۲، ۱۵، ۳۰ و ٦۰ روز پس از شروع آزمایش

نمونه‌های فرعی برداشت شد. در این نمونه‌ها pH، کربن آلی، نیتروژن کل، فسفر قابل استفاده و فعالیت آنزیم‌های ساکاراز (اینورتاز) ، اوره‌آز و فسفاتاز قلیایی اندازه‌گیری شد. ترکیبات تیماری لجن فاضلاب و بیوچار لجن فاضلاب شامل ۱) شاهد: سطح صفر بیوچار و لجن (B_0S_0)، ۲) ۲ درصد وزنی بیوچار (B_2)، ۳) ٤ درصد وزنی بیوچار (B_4)، ٤) ٤ درصد وزنی لجن‌فاضلاب (S_4)، ٥) ۸ درصد وزنی لجن‌فاضلاب (S_8)، ٦) ۲ درصد وزنی بیوچار + ٤ درصد وزنی لجن‌فاضلاب (B_2S_4)، ۷) ۲ درصد وزنی بیوچار + ۸ درصد وزنی لجن‌فاضلاب (B_2S_8)، ۸) ٤ درصد وزنی بیوچار + ٤ درصد وزنی لجن‌فاضلاب (B_4S_4)، ۹) ٤ درصد وزنی بیوچار + ۸ درصد وزنی لجن-فاضلاب (B_4S_8) بود.

۲-٥- فعالیت آنزیم اوره‌آز

برای این منظور میزان ٥ گرم خاک مرطوب درون ارلن ریخته شد و پس از افزودن ۲/٥ میلی‌لیتر محلول اوره به مدت ۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سلسیوس انکوبه شد. در ادامه پس از افزودن ٥۰ میلی‌لیتر محلول KCl به مدت ۳۰ دقیقه شیک و سپس صاف شد. در نهایت پس از افزودن به ترتیب ۹ میلی‌لیتر آب مقطر، ٥ میلی‌لیتر سدیم سالیسیلات و ۲ میلی‌لیتر سدیم دی‌کلروایزوسیانید به ۱ میلی‌لیتر از عصاره‌ی صاف شده و نگهداری ۳۰ دقیقه‌ای در دمای اتاق، مقدار جذب آن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ٦۹۰ nm اندازه‌گیری شد (Alef and Nannipieri et al., ۱۹۹٥)

۲-٦- فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی مقدار یک گرم نمونه‌ی خاک درون ارلن ٥۰ میلی‌لیتری ریخته و ۰/۲٥ میلی‌لیتر تولوئن افزوده شد. سپس با ٤ میلی‌لیتر محلول بافر بورات با pH برابر ۱۰ و همچنین یک میلی‌لیتر محلول پارانیتروفنیل‌فسفات از نمک سدیم پارانیتروفنیل‌فسفات مربوط به همان pH به نمونه‌ها اضافه گردید. در مرحله بعد با قرار دادن درپوش آن‌ها و مخلوط نمودن به مدت یک ساعت در دمای ۱°C ±۳۷ انکوبه شد. پس از انکوباسیون، یک میلی‌لیتر محلول کلریدکلسیم ۰/٥ مولار و ٤میلی‌لیتر سود ۰/٥ مولار اضافه و پس از هم زدن نمونه‌ها، مخلوط صاف شد و مقدار جذب پارانیتروفنل (PNP) در محلول صاف شده در طول موج ٤۰۰ nm توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد (Tabatabai, ۱۹۹٤).

۲-۷- اندازه‌گیری فعالیت آنزیم ساکاراز

فعالیت این آنزیم طی چهار مرحله نمونه‌برداری از خاک گلدان‌های انکوبه شده، اندازه‌گیری شد. مقدار ۱۰ گرم خاک در بالن حجمی ۱۰۰ میلی‌لیتری ریخته و ۲ میلی‌لیتر تولوئن افزوده و ۱٥ دقیقه در همان حالت ماند. سپس ۱۰ میلی‌لیتر محلول ساکارز و ۱۰ میلی‌لیتر بافر استات اضافه و پس از بستن درب بالن به مدت ۳ ساعت در دمای ۳۷ °C انکوبه شد. در مرحله بعد با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده و سپس صاف گردید. برای شاهد، محلول ساکارز بعد از انکوباسیون و قبل از صاف کردن اضافه شد. ٥ میلی‌لیتر از محلول صاف شده به بالن ۱۰۰ میلی‌لیتر منتقل و ٤ میلی‌لیتر معرف مس افزوده شد و به مدت ۲٥ دقیقه جوشانده شد و پس از خنک شدن ۲ میلی‌لیتر محلول دی سدیم هیدروژن فسفات و ٥ میلی‌لیتر محلول مولیبدات اضافه و مخلوط نموده سپس به مدت ٦۰ دقیقه‌در همان حالت ماند. نهایتاً با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده و سپس چگالی نوری در طول‌موج ٥۷۸ nm اندازه‌گیری شد (Alef & Nannipieri et al., ۱۹۹٥).

۲-۸- آنالیز آماری

تجزیه واریانس داده‌ها با نرم‌افزار Statistix ۸ (Analytical Software, ۲۰۰۷) و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون LSD در سطح ٥ و ۱ درصد انجام شد. رسم نمودارها نیز با نرم افزار Excel صورت گرفت.

۳- نتایج و بحث

با توجه به نتایج آنالیز فیزیکی و شیمیایی خاک (جدول ۱)، بافت خاک لوم رسی، pH کمی قلیایی، شوری خاک در محدوده نرمال و غلظت عناصر غذایی نشان می‌دهد وضعیت حاصلخیزی خاک مطلوب نمی‌باشد. خصوصیات عمومی لجن فاضلاب و بیوچار آن نیز در جدول ۱ ارائه شده است.

۳-۱- تأثیر کاربرد لجن‌فاضلاب و بیوچار آن بر pH خاک

نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایشی نشان داد که اثرات ساده سطوح مختلف لجن‌فاضلاب، بیوچار و زمان انکوباسیون و همچنین اثرات متقابل آن‌ها بر pH خاک، در سطح آماری یک درصد ($p<۰,۰۱$) معنی‌دار بود (جدول ۲). شکل ۲ اثر متقابل سطوح مختلف لجن‌فاضلاب، بیوچار و زمان انکوباسیون بر pH خاک را نشان می‌دهد. در روز دوم پس از شروع آزمایش، تمامی تیمارها به‌استثنای تیمارهای فاقد لجن فاضلاب (B_2 و B_4) نسبت به شاهد کاهش معنی داری یافتند، به‌طوری‌که بیشترین میزان pH با میانگین برابر ۷/۷ مربوط به

تیمارهای شاهد و B_2 بود و کمترین میزان pH با میانگین ۷/۲ به تیمارهای S_8 و B_2S_8 اختصاص یافت. پس از گذشت ۱۵ روز از شروع انکوباسیون، میزان pH در تیمارهای B_2، S_8، B_2S_8، B_4S_4 و B_4S_8 نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت و بیشترین میزان این کاهش برابر با ۰/۶ واحد در تیمار B_4S_4 مشاهده شد. پس از یک ماه، از شروع انکوباسیون کمترین pH در تیمار B_2S_8 برابر ۷/۱ ثبت شد. در انتهای زمان انکوباسیون، pH خاک در تمامی تیمارها به‌استثنای تیمارهای B_4 و B_4S_4 نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری یافت. در طول زمان انکوباسیون تنها در تیمار B_2 از میزان pH خاک به طور معنی‌داری کاسته شده است و در سایر تیمارها زمان تأثیر معنی‌داری بر pH خاک نداشته است. در مجموع می‌توان گفت pH خاک بیشتر تحت تأثیر تیمارها بوده است.

جدول ۱- خصوصیات عمومی خاک، لجن‌فاضلاب و بیوچار لجن‌فاضلاب

Table ۱- General properties of soil, sewage sludge and biochar

پارامتر	واحد	خاک	لجن‌فاضلاب	بیوچار
بافت	–	لوم رسی	–	–
شن	٪	۴۲	–	–
سیلت	٪	۲۸	–	–
رس	٪	۳۰	–	–
pH	–	۷.۷۳	۶.۱۶	۷.۴
EC	$d\ Sm^{-1}$	۱.۰۳	۱.۵۳	۱.۲۸
کربن آلی	٪	۱.۲۸	۱۶.۵	۱۰.۱۳
نیتروژن کل	٪	۰.۱۱	۳.۶	۱.۰۵
فسفر کل	٪	–	۱.۳۷	۱.۲
پتاسیم کل	٪	–	۰.۲۶	۰.۲۴
فسفر قابل استفاده	$mg\ kg^{-1}$	۴.۳	–	–
پتاسیم قابل استفاده	$mg\ kg^{-1}$	۱۶۵	–	–
آهن قابل استفاده	$mg\ kg^{-1}$	۲۲	۱۳۹	۳۰۰
مس قابل استفاده	$mg\ kg^{-1}$	۶.۵	۷۵.۵	۲۰۶
روی قابل استفاده	$mg\ kg^{-1}$	۲.۲	۱۷۹.۶	۲۰۵
منگنز قابل استفاده	$mg\ kg^{-1}$	۲۳	۴۱.۶	۳۶۲
سرب قابل استفاده	$mg\ kg^{-1}$	۱.۸	۱۱.۲	۲۱
نیکل قابل استفاده	$mg\ kg^{-1}$	۰.۷۴	۴.۵	۲۹.۱۴
کادمیم قابل استفاده	$mg\ kg^{-1}$	۰.۰۶	۰.۶۸	۴.۴۵

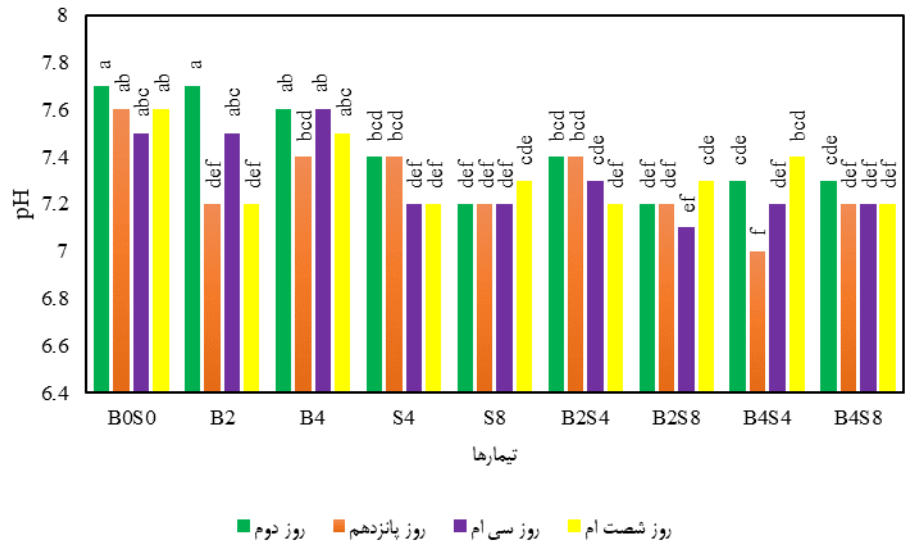
جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف بر برخی خصوصیات شیمیایی خاک

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		pH	کربن آلی	نیتروژن کل	فسفر قابل استفاده
بیوچار (B)	۲	۰.۰۵۳۳۳**	۱.۷۶۵۵**	۰.۰۱۱۹۸**	۸۰۳۸۴**
لجن (S)	۲	۷۴۰۸۳**	۹.۴۳۲۴۷**	۰.۰۶۱۱۳**	۳۵۴۳۵**
بیوچار*لجن	۴	۰.۰۵۲۰۸**	۰.۷۷۵۲۲۶**	۰.۰۰۴۳۵**	۱۹۶۲۰**
زمان (T)	۳	۰.۰۶۳۰۶**	۱.۰۸۴۴**	۰.۰۰۱۷۶**	۹۸۵۷**
بیوچار*زمان	۶	۰.۰۴۲۲۲**	۰.۶۴۸۴۴**	۰.۰۰۴۷۵**	۳۰۵۱.۵**
لجن*زمان	۶	۰.۰۲۹۷۲**	۰.۲۰۷۰۵**	۰.۰۰۱۰۱**	۱۵۰۰**
بیوچار*زمان*لجن	۱۲	۰.۰۵۲۶۴**	۰.۳۰۸۵۴**	۰.۰۰۱۵۸**	۲۳۷۴.۶**
خطا	۷۰	۰.۰۱۰۱۸	۰.۰۰۰۷۱	۰.۰۰۰۰۴	۳۲
ضریب تغییرات (درصد)	–	۱.۳۸	۳.۸۸	۴.۱۵	۴.۸۹

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

افزایش pH مشاهده شده در تیمارهای بیوچار به علت خاصیت قلیایی بیوچار و تولید OH^- و کاتیون‌های بازی (مانند کلسیم و منیزیم) در طی تجزیه بیوچار است و کاهش آن در تیمارهای حاوی لجن‌فاضلاب به علت اسیدی بودن لجن‌فاضلاب و نیز آزاد سازی یون H^+ در طول تجزیه لجن در خاک است (Clapp et al., ۱۹۸۷).

Bera et al. (۲۰۱۶) نیز دلیل افزایش pH در اثر کاربرد بیوچار را وجود کربنات‌های غیر آلی و آنیون‌های آلی دانستند. افزایش pH مشاهده شده در این پژوهش اثر کاربرد بیوچار با نتایج Zare et al. (۲۰۱۴) و Gaskin et al. (۲۰۱۰) هم‌سو است. Jien and Wang (۲۰۱۳) اثر بیوچار در خاک‌های اسیدی با حاصلخیزی پایین، بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی را مورد مطالعه قرار دادند و نتیجه گرفتند افزودن بیوچار به میزان پنج درصد موجب افزایش pH خاک از ۳/۹ به ۵/۱ شد. Bhattarai et al. (۲۰۱۵) تحقیقی با بررسی اثر چندین نوع بیوچار بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک نشان دادند که همه انواع بیوچار تأثیر قابل توجهی بر pH خاک داشتند و pH خاک را افزایش دادند و این ممکن است به دلیل بالا بودن pH بیوچار باشد. با هدف بررسی اثر بیوچار بر فعالیت آنزیمی و pH خاک، Ouyang et al. (۲۰۱۴) دو نوع بیوچار را در سه دما مختلف (۷۰۰، ۵۰۰ و ۳۰۰ درجه سلسیوس) تولید کردند و هر بیوچار را با نسبت ۵ درصد وزنی با خاک مخلوط کرده و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۸۰ روز انکوبه شد و در زمان‌های ۵، ۳۰، ۸۰ و ۱۲۰ روز نمونه فرعی جهت آنالیز برداشته شد. بر اساس نتایج در مراحل اولیه (۵ روز) بیوچار باعث افزایش pH خاک شد اما با گذشت زمان بیوچار به‌طور معنی‌داری کاهش pH خاک را در پی داشت. Hussein, (۲۰۰۹) به منظور بررسی اثر لجن‌فاضلاب بر برخی خصوصیات خاک در شرایط گلخانه‌ای از ۶ تیمار لجن‌فاضلاب (۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۲۵ تن بر هکتار) استفاده کرد. نتایج نشان داد که با افزایش کاربرد لجن فاضلاب pH خاک کاهش می‌یابد. Movhadian and Afyuni, (۲۰۰۶) نیز نتایج مشابهی به‌دست آوردند. بهرحال در تیمارهای تلفیقی اثر توأمان این دو کود با هم تا حدودی باعث ثابت ماندن pH خاک شد.

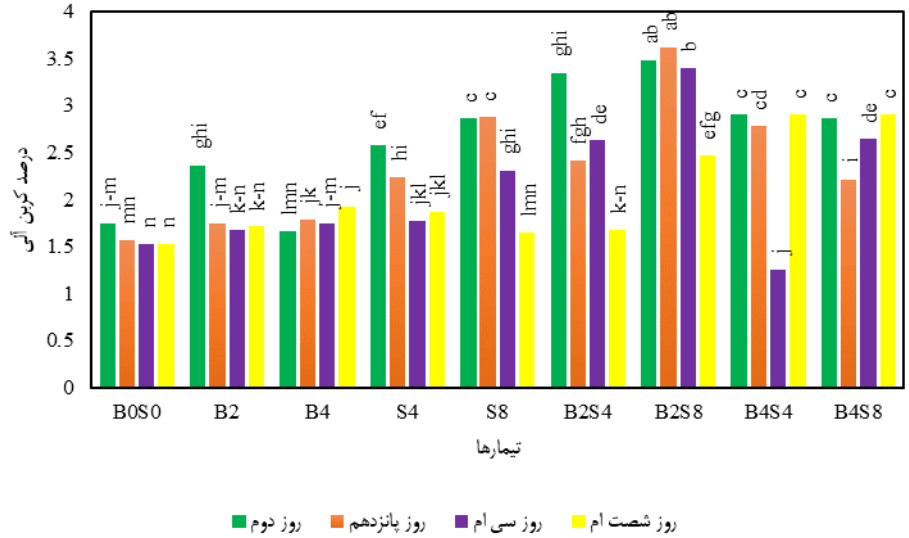


شکل۲- اثر سطوح مختلف لجن، بیوچار آن و زمان بر pH خاک. حروف مختلف تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۱ را نشان می‌دهد. B_0S_0: سطح صفر بیوچار و لجن؛ B_2: ۲ درصد وزنی بیوچار؛ B_4: ٤ درصد وزنی بیوچار؛ S_4: ٤ درصد وزنی لجن‌فاضلاب؛ S_8: ۸ درصد وزنی لجن‌فاضلاب؛ B_2S_4 ۲ درصد وزنی بیوچار + ٤ درصد وزنی لجن‌فاضلاب؛ B_2S_8: ۲ درصد وزنی بیوچار + ۸ درصد وزنی لجن‌فاضلاب؛ B_4S_4: ٤ درصد وزنی بیوچار + ٤ درصد وزنی لجن‌فاضلاب؛ B_4S_8: ٤ درصد وزنی بیوچار + ۸ درصد وزنی لجن‌فاضلاب

۲-۳- تأثیر تیمارهای لجن‌فاضلاب و بیوچار آن بر کربن آلی

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثر ساده بیوچار، لجن، زمان و اثر متقابل آن‌ها بر کربن آلی خاک در سطح آماری یک درصد معنی‌دار ($p<0.01$) بود (جدول ۲). شکل ۳ اثرات متقابل سطوح مختلف لجن‌فاضلاب و بیوچار و زمان انکوباسیون بر کربن آلی خاک را نمایش می‌دهد. در روز دوم انکوباسیون کمترین مقدار کربن آلی در تیمار B_4 مشاهده شد و در سایر تیمارها مقدار کربن آلی نسبت به شاهد افزایش یافت. در روز پانزدهم و سی‌ام انکوباسیون همه تیمارها به‌جز تیمار B_2 دارای کربن آلی بیشتری نسبت به شاهد بودند و بالاترین مقدار آن در تیمار B_2S_8 مشاهده شد. وجود کربن آلی بیشتر در تیمارهای لجن‌فاضلاب و بیوچار عمدتا به مقدار کربن آلی بالای این کودها بستگی دارد (جدول ۱). در پایان انکوباسیون و پس از گذشت ۶۰ روز، کربن آلی در تیمارهای B_2، S_8 و B_2S_4 دارای

تیمارها نسبت شاهد به‌طور معنی‌دار افزایش یافت و بیشترین مقدار آن در تیمارهای B_4S_4 و B_4S_8 به میزان ۲/۹ درصد ملاحظه شد. در طول زمان در تیمارهای B_2، S_4، S_8، B_2S_4 و B_2S_8 کربن آلی کاهش یافت که نشان می‌دهد با گذشت زمان بخشی از کربن آلی موجود در لجن فاضلاب تجزیه شده و به‌مرور سطح آن نسبت به شروع آزمایش کاهش یافته است. از طرفی کاربرد بیوچار در طولانی‌مدت نیز باعث ترسیب مقدار کربن بیشتری در خاک می‌شود (Ouyang et al., ۲۰۱۴). Ndor et al. (۲۰۱۵) کاربرد سطوح مختلف بیوچار را بر کربن آلی خاک بررسی کردند، نتایج آن‌ها نشان داد که کاربرد ۱۰ تن بیوچار در هکتار باعث تولید بالاترین میزان کربن آلی شد، درحالی‌که، کاربرد ۵ تن بیوچار تأثیر معنی‌داری بر کربن آلی نداشت. افزایش کربن آلی خاک در اثر کاربرد لجن فاضلاب و یا بیوچار در مطالعات Movhadian and Afyuni, (۲۰۰۶)، Saadat et al. (۲۰۱۲)، Zare et al. (۲۰۱۳)، Bera et al (۲۰۱۶) و Farhangi-Abriz et al. (۲۰۲۱) مشاهده شد.



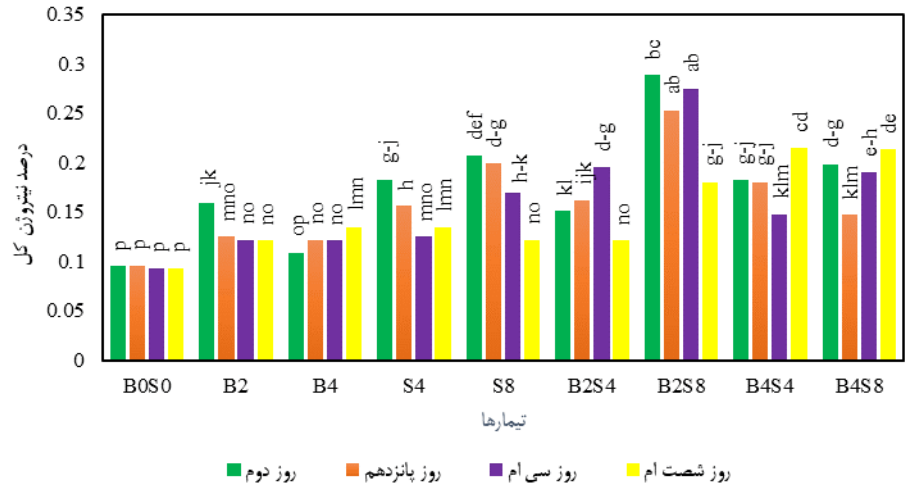
شکل۳- اثر سطوح لجن، بیوچار آن و زمان بر کربن آلی خاک. حروف مختلف تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۱ را نشان می‌دهد. B_0S_0: سطح صفر بیوچار و لجن؛ B_2: ۲ درصد وزنی بیوچار؛ B_4: ٤ درصد وزنی بیوچار؛ S_4: ٤ درصد وزنی لجن‌فاضلاب؛ S_8: ۸ درصد وزنی لجن‌فاضلاب؛ B_2S_4 ۲ درصد وزنی بیوچار + ٤ درصد وزنی لجن‌فاضلاب؛ B_2S_8: ۲ درصد وزنی بیوچار + ۸ درصد وزنی لجن‌فاضلاب؛ B_4S_4: ٤ درصد وزنی بیوچار + ٤ درصد وزنی لجن-فاضلاب؛ B_4S_8: ٤ درصد وزنی بیوچار + ۸ درصد وزنی لجن‌فاضلاب

۳-۳- تأثیر تیمارهای لجن‌فاضلاب و بیوچار آن بر نیتروژن کل

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثر ساده بیوچار، لجن، زمان و اثر متقابل آن‌ها بر نیتروژن کل خاک در سطح آماری یک درصد معنی‌دار ($p<0.01$) بود (جدول ۲). اثرات متقابل سطوح مختلف لجن‌فاضلاب و بیوچار و زمان انکوباسیون بر نیتروژن کل در شکل ٤ آورده شده است. در دومین روز از انکوباسیون مقدار نیتروژن کل در همه تیمارها به‌جز در تیمار B_4 به‌طور معنی‌داری بیشتر از شاهد بود و تیمار B_2S_8 منجر به بالاترین میزان نیتروژن کل شد. پس از گذشت ۱۵ روز از شروع انکوباسیون نیز نیتروژن کل در کلیه تیمارها نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و بیشترین مقدار آن در تیمار B_2S_8 ملاحظه شد. در روز سی‌ام، افزایش نیتروژن کل در تمامی تیمارها نسبت به شاهد حفظ شد و همچنان بالاترین مقدار آن در تیمار B_2S_8 به میزان ۰/۲۵۳ درصد مشاهده شد. در پایان زمان انکوباسیون مقدار نیتروژن کل در همه تیمارها نسبت شاهد به‌طور معنی‌دار بالاتر بود و بیشترین مقدار آن در تیمارهای B_4S_4 و B_4S_8 به میزان ۰/۲۱۵ درصد مشاهده شد. در طول زمان در تیمارهای B_2، S_4، S_8، B_2S_4 و B_2S_8 نیتروژن کل کاهش یافته است.

همانطور که نتایج نشان می‌دهد، افزایش دوز بیوچار تأثیر کمتری بر نیتروژن داشت ولی افزایش نیتروژن با افزایش دوز لجن فاضلاب متناسب بود.. Bera et al.

۲۰۱۶ در طی مطالعه‌ای که به‌منظور ارزیابی تأثیر تیمارهای بیوچار، کود شیمیایی و حیوانی بر خصوصیات خاک در شرایط مزرعه‌ای انجام دادند، افزایش نیتروژن کل خاک را در اثر کاربرد بیوچار گزارش نمودند. Song et al. ۲۰۱۶ گزارش کردند که نیتروژن کل، کربن آلی خاک، هدایت الکتریکی و pH در هر مرحله از زمان انکوباسیون دارای اختلاف معنی‌دار با شاهد بود و به عقیده آن‌ها بیوچار تولید شده در دمای پایین دارای مقادیر کربن و نیتروژن بالایی است و موجب افزایش کربن آلی کل و نیتروژن کل می‌شود. Bettiol and Ghini, (۲۰۱۱) تأثیر لجن‌فاضلاب بر برخی خصوصیات خاک را در طی آزمایش مزرعه‌ای بررسی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که لجن‌فاضلاب به دلیل محتوای بالای ماده آلی باعث افزایش نیتروژن شد.

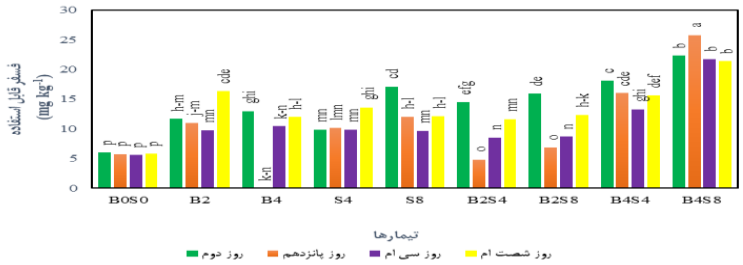


شکل٤- اثر سطوح لجن، بیوچار آن و زمان بر نیتروژن کل خاک. حروف مختلف تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۱ را نشان می‌دهد. B_0S_0: سطح صفر بیوچار و لجن؛ B_2: ۲ درصد وزنی بیوچار؛ B_4: ٤ درصد وزنی بیوچار؛ S_4: ٤ درصد وزنی لجن‌فاضلاب؛ S_8: ۸ درصد وزنی لجن‌فاضلاب؛ B_2S_4: ۲ درصد وزنی بیوچار + ٤ درصد وزنی لجن‌فاضلاب؛ B_2S_8: ۲ درصد وزنی بیوچار + ۸ درصد وزنی لجن‌فاضلاب؛ B_4S_4: ٤ درصد وزنی بیوچار + ٤ درصد وزنی لجن‌فاضلاب؛ B_4S_8: ٤ درصد وزنی بیوچار + ۸ درصد وزنی لجن‌فاضلاب

٤-۳- تأثیر تیمارهای لجن‌فاضلاب و بیوچار آن بر فسفر قابل استفاده خاک

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثر ساده بیوچار، لجن، زمان و اثر متقابل آن‌ها بر فسفر خاک در سطح آماری یک درصد معنی‌دار ($p<0.01$) بود (جدول ۲). اثرات متقابل سطوح مختلف لجن‌فاضلاب و بیوچار و زمان انکوباسیون بر فسفر قابل استفاده در شکل ۵ نشان داده شده است. مقدار فسفر قابل استفاده در تمامی تیمارها در طول زمان انکوباسیون نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی داری داشت و در هر یک از زمان‌های نمونه برداری بیشترین مقدار فسفر قابل استفاده در تیمار B_4S_8 حاصل شد. در هریک از تیمارها تغییرات غلظت قابل جذب در طول زمان نامنظم بود ولی تمامی تیمارها به جز B_2، S_4 و B_4S_8 باعث کاهش فسفر قابل استفاده خاک شده است.

افزایش فسفر قابل استفاده در مراحل اولیه در اثر دوزهای بالای لجن فاضلاب و بیوچار ممکن است به دلیل حضور مقادیر قابل توجه فسفر در لجن و بیوچار باشد (جدول ۱). Ahmadpour et al. (۲۰۱۱a) در بررسی اثر لجن فاضلاب به همراه و بدون کود شیمیایی بر فعالیت آنزیمی در شرایط مزرعه‌ای مشاهده نمودند که با افزایش میزان و دفعات کوددهی، فسفر قابل استفاده افزایش یافت. البته افزایش فسفر قابل استفاده می تواند به علت معدنی شدن میکروبی فسفر آلی موجود در لجن باشد. همچنین اسیدهای آلی موجود در لجن با فسفر در جذب سطحی رقابت کرده و باعث افزایش قابلیت استفاده فسفر شده است. علت کاهش فسفر در طول زمان ممکن است به علت تثبیت و جذب سطحی فسفر و کاهش فسفر قابل استفاده باشد. Qayyum et al. (۲۰۱۵) با بررسی اثر بیوچار و لجن بر فسفر خاک نشان دادند که همه تیمارهای لجن باعث افزایش فسفر خاک شد، آن‌ها همچنین بیان نمودند که کاربرد بیوچار به‌تنهایی تأثیر زیادی بر فسفر قابل استفاده ندارد و کاربرد تلفیقی بیوچار



با کمپوست باعث کاهش جذب سطحی فسفر و افزایش زیست‌فراهمی آن شد.

شکل۵- اثر سطوح لجن، بیوچار آن و زمان بر فسفر قابل استفاده خاک. حروف مختلف تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۱ را نشان می‌دهد.
B۰S۰: سطح صفر بیوچار و لجن؛ B۲: ۲ درصد وزنی بیوچار؛ B٤: ٤ درصد وزنی بیوچار؛ S٤: ٤ درصد وزنی لجن‌فاضلاب؛ S۸: ۸ درصد وزنی لجن‌فاضلاب؛ B۲S٤ ۲ درصد وزنی بیوچار + ٤ درصد وزنی لجن‌فاضلاب؛ B۲S۸: ۲ درصد وزنی بیوچار + ۸ درصد وزنی لجن‌فاضلاب؛ B٤S٤: ٤ درصد وزنی بیوچار + ٤ درصد وزنی لجن‌فاضلاب؛ B٤S۸: ٤ درصد وزنی بیوچار + ۸ درصد وزنی لجن‌فاضلاب

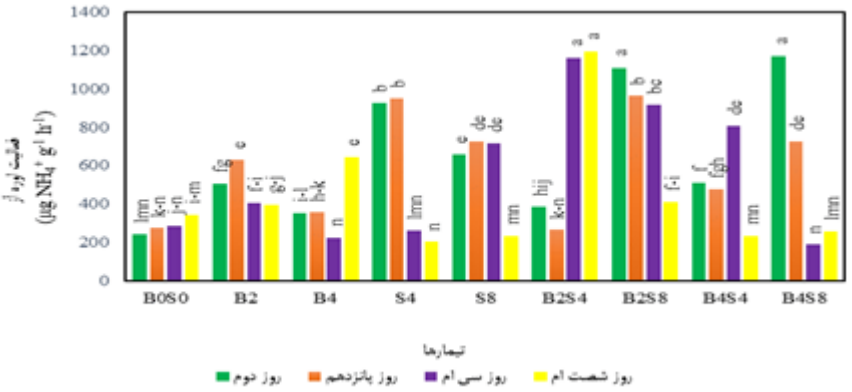
۵-۳- تأثیر تیمارهای لجن‌فاضلاب و بیوچار آن بر فعالیت آنزیم اوره‌آز

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثر ساده بیوچار، لجن، زمان و اثر متقابل آن‌ها بر فعالیت اوره‌آز در سطح آماری یک درصد معنی‌دار ($p< ۰/۰۱$) بود (جدول ۳). در شکل ٦ اثرات متقابل سطوح مختلف لجن‌فاضلاب و بیوچار و زمان انکوباسیون بر آنزیم اوره‌آز نشان داده شده است. در دومین روز از شروع انکوباسیون به‌جز در تیمار $B_٤$ فعالیت این آنزیم در همه تیمارها نسبت به شاهد به‌طور معنی‌دار افزایش پیدا کرد و بیشترین مقدار آن در تیمارهای $B_۲S_۸$ و $B_٤S_۸$ حاصل شد. پس از گذشت ۱۵ روز از شروع آزمایش مقدار فعالیت این آنزیم در کلیه تیمارها به‌جز در تیمارهای $B_٤$ و $B_۲S_٤$ نسبت به شاهد به‌طور معنی‌دار بالاتر بود و بیشترین مقدار آن در تیمارهای $S_٤$ و $B_۲S_۸$ مشاهده شد. پس از گذشت یک ماه از زمان انکوباسیون میزان فعالیت این آنزیم در تیمارهای $B_٤$، $S_٤$ و $B_٤S_۸$ نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری یافت و در سایر تیمارها مقدار آن به‌طور معنی‌دار بیشتر از شاهد بود. در انتهای زمان انکوباسیون حداکثر مقدار فعالیت این آنزیم در تیمار $B_۲S_٤$ مشاهده شد. در طول زمان انکوبا سیون تغییرات زیادی در فعالیت این آنزیم مشاهده شد و به نظر می‌رسد تأثیر زمان نسبت به تیمار بیشتر است. Kızılkaya and Bayrakli, ۲۰۰۵، Antonious, ۲۰۰۹، Li Ahmadpour et al., ۲۰۱۱a و Kakhki et al., ۲۰۰۸ دلیل کاهش فعالیت آنزیمی با گذشت زمان در آزمایشات انکوباسیون را کاهش سوبسترای در دسترس برای آنزیم و همچنین تأثیر منفی فلزات سنگین عنوان کردند. Ahmadpour et al (۲۰۱۱b) نشان دادند که افزودن لجن‌فاضلاب به همراه و بدون کود شیمیایی به خاک منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز و فسفاتاز قلیایی شد دلیل آن را تامین کربن، انرژی و عناصر غذایی مورد نیاز برای رشد میکروبی توسط لجن‌فاضلاب و بیوچار ذکر کردند که منجر به افزایش فعالیت و جمعیت میکربی و در نتیجه افزایش سنتز آنزیم توسط آن‌ها می‌گردد. Lopes et al (۲۰۲۱) در طی تحقیقی که به‌منظور بررسی اثر بیوچار بر فعالیت آنزیمی انجام دادند، افزایش معنی‌دار فعالیت اوره‌آز با افزایش میزان کاربرد بیوچار را نشان دادند.

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس اثر لجن فاضلاب، بیوچار آن و زمان بر فعالیت آنزیمی خاک

منبع تغییرات Variables Sources	DF	میانگین مربعات		
		اوره‌آز Urease	فسفاتاز قلیایی Alkaline phosphatase	ساکاراز Sucrase
Biochar بیوچار	۲	۵۰۳۱۱٤**	۲۷۲۵۰۸۷**	۱۵۷۷۳۰۹**
Sewage لجن	۲	۸۰۵۰۳۷**	۱۵۰۸۰۰۰۰**	۱۰۷٦٤۲۰**
Biochar×Sewage بیوچار×لجن	٤	٤۲۷۹۳**	۸٤۳۵۸**	۱۸۰۵۹٤۹**
Time زمان	۳	۲۳۰۰۲٤**	۱۳۸۰۰۰۰۰**	۱٤۵٤۹۲۱**
Biochar×Time	٦	۱۵۱۷۸۲**	٤۲٤۳۵٤**	۵۱۲٦۷۸**

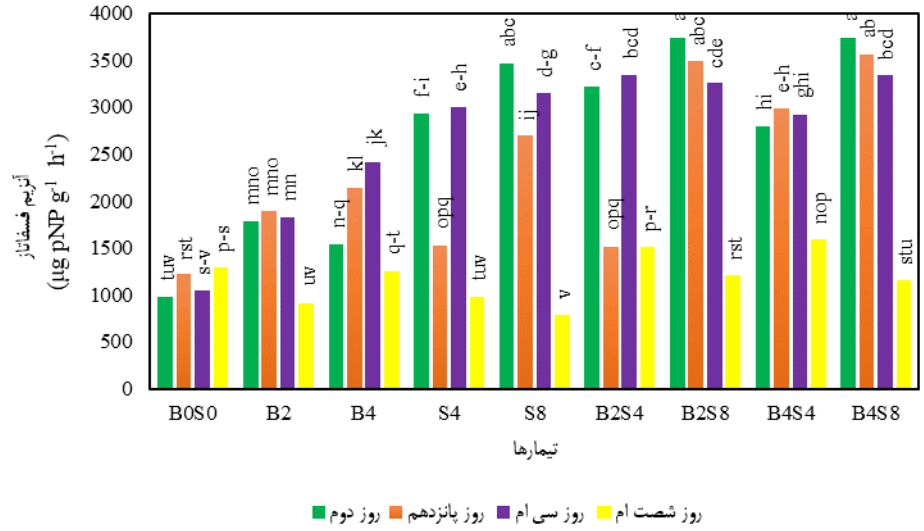
بیوچار×زمان				
Sewage×Time	۶	۳۲۵۵۵۸**	۲۸۴۰۲۰۸**	۲۵۵۷۴۰**
بیوچار×لجن				
Sewage×Biochar×Time	۱۲	۳۵۵۸۴۸**	۳۹۰۳۰۹**	۴۲۸۶۱۰**
لجن×بیوچار×زمان				
Error	۷۰	۲۶۷۲	۱۸۸۸۹	۷۷۳۳۰۷
خطا				



شکل ٦- اثر سطوح مختلف لجن فاضلاب، بیوچار آن و زمان بر فعالیت اوره‌آز . حروف مختلف تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۱ را نشان می‌دهد. B_0S_0: سطح صفر بیوچار و لجن؛ B_2: ۲ درصد وزنی بیوچار؛ B_4: ٤ درصد وزنی بیوچار؛ S_4: ٤ درصد وزنی لجن‌فاضلاب؛ S_8: ۸ درصد وزنی لجن‌فاضلاب؛ B_2S_4: ۲ درصد وزنی بیوچار + ٤ درصد وزنی لجن‌فاضلاب؛ B_2S_8: ۲ درصد وزنی بیوچار + ۸ درصد وزنی لجن‌فاضلاب؛ B_4S_4: ٤ درصد وزنی بیوچار + ٤ درصد وزنی لجن‌فاضلاب؛ B_4S_8: ٤ درصد وزنی بیوچار + ۸ درصد وزنی لجن‌فاضلاب

٦-۳- تأثیر تیمارهای لجن‌فاضلاب و بیوچار بر فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثر ساده بیوچار، لجن، زمان و اثر متقابل آن‌ها بر فعالیت فسفاتاز قلیایی در سطح آماری یک درصد معنی‌دار ($p< ۰/۰۱$) بود (جدول ۲). اثرات متقابل سطوح مختلف لجن‌فاضلاب و بیوچار و زمان انکوباسیون بر آنزیم فسفاتاز قلیایی در شکل ۷ نشان داده شده است. در زمان شروع انکوباسیون (۲ روز) فعالیت این آنزیم در همه تیمارها نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد و بیشترین مقدار آن در تیمارهای B_2S_8 و B_4S_8 مشاهده شد. پس از گذشت ۱۵ روز از زمان انکوباسیون نیز فعالیت این آنزیم در همه تیمارها نسبت به شاهد بالاتر بود و بیشترین مقدار آن در تیمارهای B_2S_8 و B_4S_8 مشاهده شد. پس از گذشت ۳۰ روز از شروع آزمایش فعالیت این آنزیم در همه تیمارها نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری یافت و بیشترین مقدار آن در تیمارهای B_2S_4 و B_4S_8 ملاحظه گردید. در انتهای زمان انکوباسیون (٦۰ روز) مقدار فعالیت این آنزیم در همه تیمارها نسبت به شاهد روند کاهشی را نشان داد، ولی همچنان حداکثر میزان فعالیت این آنزیم در تیمارهای B_2S_4 و B_4S_8 دیده شد. در طول زمان در همه تیمارها فعالیت این آنزیم کاهش یافت و به نظر می‌رسد تأثیر زمان نسبت به تیمار بر فعالیت این آنزیم بیشتر بود. بیشترین مقدار فعالیت آنزیم فسفاتاز در تیمارهای B_2S_4 و B_4S_8 کمترین مقدار آن در تیمار شاهد مشاهده شد همچنین در طول زمان فعالیت این آنزیم به‌جز در تیمار شاهد کاهش یافت. فعالیت این آنزیم در خاک‌های اسیدی و قلیایی با ماده آلی خاک همبستگی دارد (Dahm et al., ۲۰۱۱). افزایش فعالیت این آنزیم به دلیل وجود بسترهای ناشی از لجن‌فاضلاب است که برای ریزموجودات به‌راحتی قابل استفاده است (Kızılkaya and Bayrakli ۲۰۰۵). فعالیت میکروبی توسط لجن و بیوچار تحریک شده و بنابراین فعالیت این آنزیم افزایش یافته است (Lai et al.,۱۹۹۹). Demisie and Zhang ۲۰۱۵ افزایش کربن آلی و فعالیت آنزیمی در اثر کاربرد بیوچار را گزارش کردند. Bera et al., ۲۰۱٦ در طی مطالعه‌ای که به بررسی تأثیر بیوچار بر خصوصیات خاک پرداخت افزایش فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی خاک را در اثر کاربرد بیوچار گزارش نمودند. Pokharel et al, ۲۰۲۲ نیز پاسخ مثبت فسفاتاز قلیایی به کاربرد بیوچار را گزارش کردند.



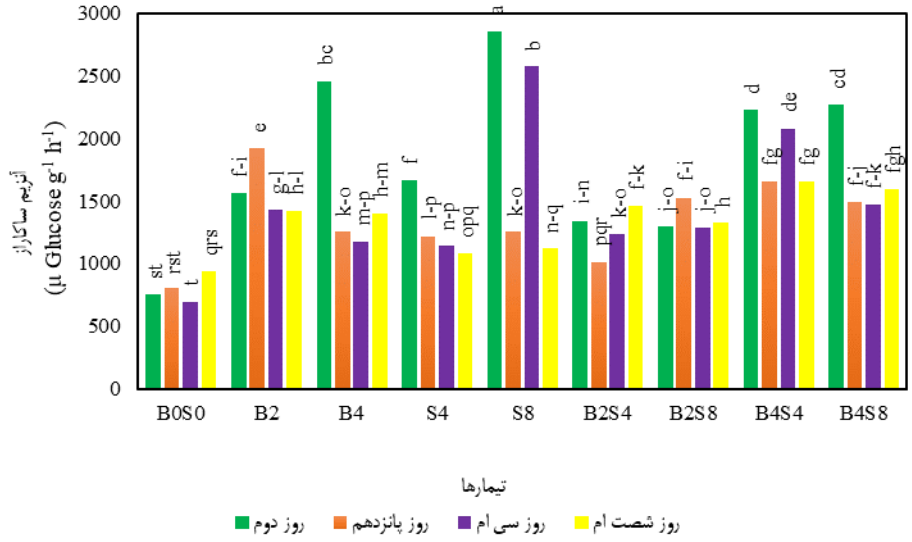
شکل ۷- اثر سطوح لجن، بیوچار آن و زمان بر فعالیت فسفاتاز قلیایی. حروف مختلف تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۱ را نشان می‌دهد. B_0S_0: سطح صفر بیوچار و لجن؛ B_2: ۲ درصد وزنی بیوچار؛ B_4: ٤ درصد وزنی بیوچار؛ S_4: ٤ درصد وزنی لجن‌فاضلاب؛ S_8: ۸ درصد وزنی لجن‌فاضلاب؛ B_2S_4 ۲ درصد وزنی بیوچار + ٤ درصد وزنی لجن‌فاضلاب؛ B_2S_8: ۲ درصد وزنی بیوچار + ۸ درصد وزنی لجن‌فاضلاب؛ B_4S_4: ٤ درصد وزنی بیوچار + ٤ درصد وزنی لجن‌فاضلاب؛ B_4S_8: ٤ درصد وزنی بیوچار + ۸ درصد وزنی لجن‌فاضلاب

۷-۳- تأثیر تیمارهای لجن‌فاضلاب و بیوچار بر فعالیت آنزیم ساکاراز

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثر ساده بیوچار، لجن، زمان و اثر متقابل آن‌ها بر فعالیت ساکاراز در سطح آماری یک درصد معنی‌دار ($p< ۰/۰۱$) بود (جدول ۲). اثرات متقابل سطوح مختلف لجن‌فاضلاب و بیوچار و زمان انکوباسیون بر آنزیم ساکاراز در شکل ۸ نشان داده شده است. بررسی میزان فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در بدو شروع کار نشان داد که کاربرد تیمارهای مختلف منجر به افزایش معنی‌دار در مقایسه با تیمار شاهد شد و تیمارهای B_4 و S_8 بیشترین فعالیت این آنزیم را نشان دادند. در روز ۱۵ام انکوباسیون نیز فعالیت این آنزیم در همه تیمارها به‌غیر از تیمار B_2S_4 نسبت به شاهد بیشتر بود و حداکثر مقدار آن در تیمار B_2 مشاهده گردید. پس از گذشت ۳۰ روز از شروع آزمایش فعالیت این آنزیم در همه تیمارها نسبت به شاهد روند افزایشی داشت و بیشترین مقدار آن در تیمار S_8 حاصل شد. در انتهای زمان انکوباسیون (٦۰ روز) بیشترین فعالیت این آنزیم در تیمارهای B_4S_8 و B_2S_4 ثبت شد. در طول زمان انکوباسیون نوسانات زیادی در فعالیت این آنزیم مشاهده شد و به نظر می‌رسد تأثیر زمان نسبت به تیمار بر فعالیت این آنزیم بیشتر بود.

چون ساکارز در خاک در pH خنثی دارای فعالیت بهینه است و در این مطالعه نیز pH در محدوده pH بهینه برای فعالیت ساکاراز بود بنابراین ممکن است فعالیت زیاد این آنزیم به این دلیل باشد. دلیل افزایش فعالیت این آنزیم وجود مقادیر قابل توجه کربن آلی در لجن‌فاضلاب و بیوچار است که در مراحل اولیه مورد استفاده ریزموجودات قرار گرفته و برای تجزیه آن آنزیم بیشتری ترشح شده و با گذشت زمان با کاهش مقادیر آن فعالیت آنزیم نیز کاهش یافته است و دلیل دیگر کاهش فعالیت این آنزیم ممکن به علت تثبیت کربن توسط بیوچار باشد. عناصر غذایی مانند نیتروژن، پتاسیم و فسفر در مواد اصلاحی مورد استفاده بالا بوده که باعث افزایش فعالیت ریزموجودات و به دنبال آن افزایش فعالیت آنزیمی شده است. از سوی دیگر زیست‌توده میکروبی در اثر افزایش ماده آلی و محتوای عناصر غذایی و بهبود خواص فیزیکی (همچون ظرفیت نگهداشت آب) رشد کرده و بنابراین فعالیت این آنزیم نیز افزایش یافته است. در مطالعه Du et al., ۲۰۱٤ که با هدف بررسی تأثیر بیوچار بر فعالیت آنزیمی انجام شد دوزهای بالای بیوچار (۹ تن در هکتار) باعث افزایش فعالیت ساکاراز شد که با نتایج مطالعه حاضر (افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم ساکاراز در اثر دوزهای بیوچار) هم‌سو است، به عقیده آن‌ها این افزایش به دلیل افزایش دسترسی به کربن در اثر افزودن بیوچار به خاک بود. Nadi et al.,

۲۰۱۲ تاثیر پساب بر فعالیت آنزیم ساکاراز را مطالعه نمودند. آن‌ها پس از اعمال تیمار در فواصل ۳۰ روزه فعالیت آنزیمی را اندازه گرفتند آن‌ها دریافتند. فعالیت آنزیمی اغلب خاک‌های تیمار شده با پساب در روز ۶۰ام بر اثر مصرف پساب‌ها افزایش و پس از ۹۰ روز کاهش یافت. به‌طورکلی مصرف پساب فعالیت آنزیم ساکاراز را به میزان ۲۶/۵ درصد نسبت به شاهد افزایش داد. آن‌ها دلیل این امر را وجود کربن، انرژی و عناصر غذایی مورد نیاز برای رشد میکروبی در پساب ذکر کردند که منجر به افزایش فعالیت و جمعیت میکروبی و در نتیجه افزایش سنتز آنزیم توسط آن‌ها می‌گردد. Antonious, ۲۰۱۶ با بررسی اثر لجن‌فاضلاب، کود حیوانی و مرغی و کمپوست بر فعالیت آنزیمی نشان داد فعالیت آنزیم ساکاراز در اثر کاربرد لجن افزایش یافت و دلیل آن‌را بهبود حاصلخیزی خاک و افزایش زیست‌توده ذکر نمود.فاکتورهای مؤثر برفعالیت آنزیمی شامل مقدار ماده آلی خاک، ماده آلی محلول، میزان رطوبت خاک، pH خاک، ساختمان و بافت خاک و دمای خاک هستند. سطح ویژه بالای بیوچار باعث می‌شود که مواد زیادی را بر سطح خود جذب کند و بنابراین می‌تواند بر فعالیت آنزیمی خاک تأثیرگذار باشد. بیوچار همچنین دارای پتانسیل بالا بردن pH خاک، ظرفیت نگهداری آب خاک و بهبود ساختمان خاک است (Liao et al., ۲۰۲۲). این تغییر خصوصیات خاک ناشی از کاربرد بیوچار باعث می‌شود که به‌طور مؤثری بر فعالیت آنزیمی اثر داشته باشد.



شکل۸- اثر سطوح لجن، بیوچار آن و زمان بر فعالیت ساکاراز. حروف مختلف تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۱ را نشان می‌دهد. B_0S_0: سطح صفر بیوچار و لجن؛ B_2: ۲ درصد وزنی بیوچار؛ B_4: ٤ درصد وزنی بیوچار؛ S_4: ٤ درصد وزنی لجن‌فاضلاب؛ S_8: ۸ درصد وزنی لجن‌فاضلاب؛ B_2S_4 ۲ درصد وزنی بیوچار + ٤ درصد وزنی لجن‌فاضلاب؛ B_2S_8: ۲ درصد وزنی بیوچار + ۸ درصد وزنی لجن‌فاضلاب؛ B_4S_4: ٤ درصد وزنی بیوچار + ٤ درصد وزنی لجن-فاضلاب؛ B_4S_8: ٤ درصد وزنی بیوچار + ۸ درصد وزنی لجن‌فاضلاب

٤- نتیجه‌گیری

کاربرد توامان لجن فاضلاب و بیوچار آن (B_2S_4) فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز، فسفاتاز و ساکاراز را به طور موثری افزایش داد. این امر نشان دهنده تقویت فعالیت میکروارگانیسم‌های خاک و در نتیجه بهبود کیفیت خاک است، چرا که آنزیم‌های خاک به دلیل پاسخ سریع به تغییرات محیط خاک، به‌عنوان شاخص‌های مفید کیفیت خاک در نظر گرفته می‌شوند. اگرچه نتایج این پژوهش تاثیر مثبت لجن فاضلاب و بیوچار آن را بر فعالیت آنزیم‌های خاک نشان می‌دهد، ولی به دلیل وجود فلزات سنگین در هر دوی این مواد، کاربرد آن‌ها در خاک بایستی با احتیاط صورت گیرد.

منابع

- **احمدپور، س.ر .، فرقانی، ا .، بهمنیار، م. ع.، و سالک گیلانی، س. (الف۱۳۹۰). تأثیر سه نوع کود آلی کمپوست، ورمی‌کمپوست و لجن‌فاضلاب بر خصوصیات شیمیایی و فعالیت آنزیم اوره‌آز .همایش ملی علوم آب، خاک، گیاه و مکانیزاسیون کشاورزی، دزفول، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دزفول.**
- **احمدپور، س.ر .، فرقانی، ا .، بهمنیار، م. ع.، و سالک گیلانی س. (ب۱۳۹۰). کاربرد لجن‌فاضلاب و لجن‌فاضلاب غنی شده با کود شیمیایی بر برخی خصوصیات شیمیایی و فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز قلیایی و اوره‌آز در خاک. *مجله پژوهش‌های حفاظت آب و خاک*، ۱۸(۱)، ۱۲۲-۱۰۳.**
- **تکدستان، ا.، عظیمی، ع.ا.، و ترابیان ع. (۱۳۸۵). بررسی میزان تولید لجن‌فاضلاب در ایران و روش‌های کاهش تولید لجن در فرایندهای بیولوژیکی هوازی تصفیه فاضلاب، سومین همایش ملی بحران‌های زیست‌محیطی ایران و راهکارهای بهبود آن‌ها، اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی - واحد علوم و تحقیقات مرکز اهواز.**
- **خانمیری، ن. ح.، هاشمی‌مجد، ک.، اصغری، ش.، اوستان، ش.، و کیوان بهجو، ف. (۱۳۹۰). اثر لجن بیولوژیک مجتمع پتروشیمی تبریز بر غلظت برخی فلزات سنگین در خاک و گیاه جو بهاره در شرایط گلخانه‌ای. *علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای*، ۲(۸)، ۹۲-۸۳.**
- **زارع، م.، چرم، م.، و معلمی، ن. (۱۳۹۲). اثر لجن‌فاضلاب به‌عنوان یک کود آلی بر رشد و برخی خصوصیات فیزیولوژیکی نهال زیتون. نخستین همایش ملی جهاد اقتصادی در عرصه کشاورزی و منابع طبیعی، قم.**
- **زارع، م.، چرم، م.، و معلمی، ن. (۱۳۹۳). اثر لجن‌فاضلاب شهری تصفیه شده بر خصوصیات شیمیایی و عناصر غذایی ضروری خاک و خصوصیات فیزیولوژیکی نهال زیتون. *مجله علمی کشاورزی مهندسی زراعی*، ۳۷(۲)، ۱۵-۱.**
- **سعادت، ک.، بارانی مطلق، م.، دردی پور، ا.، و قاسم نژاد، ع. (۱۳۹۱). اثر لجن‌فاضلاب بر برخی خصوصیات خاک، عملکرد و غلظت سرب و کادمیوم ریشه و اندام هوایی ذرت. *مجله مدیریت خاک و تولید پایدار*، ۲(۲)، ۴۸-۲۷.**
- **قاسمیان سوبنی، ا.، بهمنیار، م. ع.، و قاجار سپانلو، م. (۱۳۹۲). تاثیر دوره‌های مختلف کاربرد لجن‌فاضلاب و کمپوست زباله شهری بر میزان کادمیم و نیکل خاک و گیاه گاو زبان. *مجله آب و فاضلاب*. ۲۴(۴)، ۸۹-۸۰.**
- **موحدیان، ف.، و افیونی، م. (۱۳۸۵). اثر پساب و لجن صنعتی روی برخی خصوصیات شیمیایی و تجمع عناصر سنگین خاک در اصفهان .دومین کنفرانس مدیریت منابع آب، اصفهان، دانشگاه صنعتی اصفهان.**
- **نادی، ز.، رییسی، ف.، و حسین‌پور، ع. (۱۳۹۱). اثر پساب‌های صنعتی خام و تصفیه شده بر فعالیت آنزیمی یک خاک رس سیلتی در شرایط آزمایشگاهی. *مجله آب و فاضلاب*، ۲۳(۱)، ۱۰۰-۹۳.**

- Ahmadpour, S. R., Forghani, A., Bahmanyar, M. A., and Salek-Gilani, S., & Forghani, A. (**۲۰۱۱**a). Effects of compost, vermicompost and sewage sludge on soil chemical properties and urease acitivity. National Conference of Water, Soil, Plant Science & Agricultural Machinery in IAU Dezful Branch, Pp. ۱-٦. (In Persian)
- Ahmadpour, S. R., Forghani, A., Bahmanyar, M. A., and Salek-Gilani, S., & Forghani, A. (**۲۰۱۱**b). Chemical characteristic, enzyme activity of urease and alkaline phosphatase in a soil amended with sewage sludge and sewage sludge Enrichment with chemical fertilizer. *Journal of Water and Soil Conservation.* ۱۸(۱), ۱۰۳-۱۲۲.
- Alef., K, & Nannipieri P. (۱۹۹٥). *Methods in Soil Microbiology and Biochemistry*. Academic, London, ٥٦٨p.
- Antonious, G.F. (۲۰۰۹). Enzyme activities and heavy metals concentration in soil amended with sewage sludge. *Journal of Environmental Science* and *Health*, Part A: Toxic/*Hazardous Substances* and *Environmental Engineering*. ٤٤(۱۰), ۱۰۱۹-۱۰۲٤.
- Antonious, G.F. (۲۰۱٦). Recycling organic waste for enhancing Soil urease and invertase activity. *International Journal of Waste Resources*. ٦(۲), ۱۰۰۰۲۱۹.
- Bera, T., Collins, H.P., Alva, A.K., Purakayastha, T.J. & Patra A.K. (**۲۰۱٦**). Biochar and manure effluent effects on soil biochemical properties under corn production. *Applied Soil Ecology*. **۱۰۷**, **۳٦۰-۳٦۷.**

- Bettiol, W., & Ghini, R. (۲۰۱۱) Impacts of sewage sludge in tropical soil: a case study in Brazil. *Applied and Environmental Soil Science*. ۲۰۱۱, ۲۱۲۸۰۷.
- Bhattarai B., Neupane J., Dhakal S.P., Nepal J., Gnyawali B., Timalsina R., & Poudel, A. (۲۰۱۵) Effect of biochar from different origin on physio-chemical properties of soil and yield of garden pea (*pisum sativum l*) at paklihawa, rupandehi, Nepal. *World Journal of Agricultural Research* ۳(٤), ۱۲۹-۱۳۸.
- Bouyoucos, G. J. (۱۹٦۲). Hydrometer method improved for making particle size analyses of soils. *Agronomy Journal*. ٥٤, ٤٦٤–٦٥.
- Bremner, J.M., & Mulvaney, R.G. (۱۹۸۲). Nitrogen total. P ٥٧٥–٦٢٤, In: Page, A.L., R.H. Miller and D.R. Keeney. *Method of soil Analysis. Part 2: Chemical and Microbiological Properties* (۲nd Edition). Madison, Wisconsin: SSSA, ۱۱٥۹p.
- Clapp, C.E., Palazzo, A.J., Larson, W.E., Marten, G.C., & Lindem, D. R. (۱۹۸۷) Uptake of nutrients by plants irrigated with municipal wastewater effluent. in state of knowledge in land treatment of wastewater. International symposium, Hanover, NH, Germany. Pp ۳۹٥-٤۰٤.
- Clesceri, L.S., Greenberg, A.E. & Eaton, A.D. (۱۹۹۸). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater,* ۲۰th ed. American Public Health Association, Washington, Pp. ۱٦۲–۱۷۳.
- D٥۱٤۲. ۲۰۰۹. *Standard test methods for proximate analysis of the analysis sample of coal and coke by instrumental procedures*. West Conshohocken, PA: American Society for Testing and Materials.
- Dahm, H., Wojciech Szajdak, L., & Golinska, P. (۲۰۱۱). Soil enzymes. In: Narwal, S.S., Szajdak, L., and sampietro, D.A (Ed.), *Soil allelochemicals. Research methods in plant sciences*, Studium Press LCC, Pp. ۱۱٥-۱۳٤.
- Demisie, W., & Zhang, M. (۲۰۱٥). Effect of biochar application on microbial biomass and enzymatic activities in degraded red soil. *African Journal of Agricultural Research*. ۱۰(۸), ۷٥٥-۷٦٦.
- Du, Z., Wang, Y., Huang, J., Lu, N., Liu, X., Lou, Y., & Zhang, Q. (**۲۰۱٤**). Consecutive biochar application alters soil enzyme activities in the winter wheat-growing season. *Soil Science*. ۱۷۹(۲),**۷٥–۸۳.**
- Farhangi-Abriz, S., Torabian, S., Qin, R., Noulas, C., Lu, Y., Gao, S. (۲۰۲۱). Biochar effects on yield of cereal and legume crops using meta-analysis. Science of Total Environ, ۷۷٥, ۱٤٥۸٦۹.
- Gaskin, J.W., Speirm R.A., Harris, K., Das, K.C., Lee, R.D., Morris, L.A., & Fisher D.S. (۲۰۱۰) Effect of peanut hull and pine chip biochar on soil nutrients, corn nutrient status, and yield. *Agronomy Journal*. ۱۰۲(۲), ٦۲۳-٦۳۳.
- Ghasemian Sorboni, A., Bahmanyar, M. A., & Ghajar Sepanlou, M. (۲۰۱۲). Effect of Different Periods of Application of Sewage Sludge and Municipal Solid Wastes Compost on the Amount of Cadmium and Nickel Content of Soil and Borage (*Borago officinadis*). *Journal of Water and Wastewater*. ۲٤ (٤), ۸۰-۸۹. (In Persian)
- Hamblin, A. P. (۱۹۸۱). Filter-paper method for routine measurement of field water potential. *Journal of Hydrology*. ٥۳, ۳٥٥-۳٦۰.
- Hussein, A.H.A. (۲۰۰۹). Impact of sewage sludge as organic manure on some soil properties, growth, yield and nutrient contents of cucumber crop. *Applied Science*. ۹,۱٤۰۱-۱٤۱۱.
- Jien, S. H. & Wang, C.S. (۲۰۱۳). Effects of biochar on soil properties and erosion potential in a highly weathered soil. *Catena*. ۱۱۰, ۲۲٥-۲۳۳.
- Kakhki, F.V., Haghnia, G., & Lakzian A. (۲۰۰۸). Effect of enriched sewage sludge on soil urease activity. *Soil and Environment*. ۲۷(۲), ۱٤۳-۱٤۷.
- Karami M., Afyuni M., Rezaee Nejad, Y., & Khosh Goftarmanesh A. (۲۰۰۹). Cumulative and Residual effects of sewage sludge on zinc and copper concentration in soil and wheat. *Journal of Science and Technology of Agricultural and Natural Resource*. ۱۲(٤٦), ٦۳۹-٦٥٤. (In Persian)

- Khanmiri, N. H., Hashemi Majd, K., Asghari, SH., Oustan, SH., & Keyvan Behjou, F. (**۲۰۱۱**). The effect of biological Slge of Tabriz petrochemical complex on the concentration of some heavy metals in soil and barley in glasshouse conditions. *Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture*. ۲ (٤): ۸۳-۹۲. (In Persian)
- Kızılkaya, R., & Bayrakli, B. (**۲۰۰۵**). Effects of N-enriched sewage sludge on soil enzyme activities. *Applied Soil Ecology*. ۳۰(۳), **۱۹۲-۲۰۲.**
- Knudsen, D., Peterson, G. A., & Pratt, P. F. (۱۹۹۲). Lithium, Sodium, and Potassium. In: Page, A.L., R.H. Miller and D.R. Keeney. *Method of soil Analysis. Part 2: Chemical and Microbiological Properties* (۲nd Edition). Madison, Wisconsin: SSSA, ۱۱۵۹ pages.
- Lai, K.M., Ye, D.Y., & Wong, J.W.C. (**۱۹۹۹**). Enzyme activities in a sandy soil amended with sewage sludge and coal fly ash. *Water Air Soil Pollution*. ۱۱۳(۱-٤),**۲٦۱-۲۷۲.**
- Lehmann, J., Rillig, M.C., Thies, J., Masiello, C.A., Hockaday, W.C., & Crowley, D. (۲۰۱۱). Biochar effects on soil biota–a review. *Soil Biology and Biochemistry*. ٤۳(۹),۱۸۱۲-۱۸۳٦.
- Li, Yue., Feng, H., Chen, J., Lu, J., Wum Wenjie., Liu, X., Li, C., Dong, Q., Siddique, K.H.M. (۲۰۲۲). Biochar incorporation increases winter wheat (*Triticum aestivum* L.) production with significantly improving soil enzyme activities at jointing stage. *Catena*, ۲۱۱, ۱۰٥۹۷۹.
- Liao, X., Kang, H., Haidar, G., Wang, W., Malghani, S. (۲۰۲۲). The impact of biochar on the activities of soil nutrients acquisition enzymes is potentially controlled by the pyrolysis temperature: A *meta*-analysis. *Geoderma*, ٤۱۱, ۱۱٥٦۹۲.
- Lindsay, W. L., & W. A. Norvell. (۱۹۷۸). Development of DTPA soil test for zinc, iron, manganese, and copper. *Soil Science Socity of America Journal*. ٤۲, ٤۲۱–۲۸.
- Lopes, E.M. G., Reis, M. M., Frazao, L.A., da Mata Terra, L.E., Lopes, E.F., dos Santos, M.M., Fernandes, L.A. Biochar increases enzyme activity and total microbial quality of soil grown with sugarcane. *Environmental Technology & Innovation*, ۲۱, ۱۰۱۲۷۰.
- Lu, T., Yuan, H., Wang, Y., Huang, H., & Chen Y. (۲۰۱٦). Characteristic of heavy metals in biochar derived from sewage sludge. *Journal of Material Cycles Waste Management*. ۱۸(٤), ۷۲٥-۷۳۳.
- Mendez, A., Gomez, A., Paz-Ferreiro, J., & Gasco, G. (۲۰۱۲). Effects of sewage sludge biochar on plant metal availability after application to a Mediterranean soil. *Chemosphere*. ۸۹, ۱۳٥٤–۱۳٥۹.
- Movahdian, F., & Afyuni, M. (۲۰۰٦). Effect of industrial wastewater and sludgw on some chemical properties and heavy metal accumulation in soil. *2nd Water Resources Management*, Isfahan, Iran, Pp ۱-٦.
- Nadi, Z., Raiesi, F., & Hosseinpur, A. (۲۰۱۲). The effect of raw and purified industrial waste on the enzymatic activity of a silty clayey soil under laboratory conditions. *Journal of Water and Wastewater*. ۲۳ (۱), ۹۳-۱۰۰. (In Persian)
- Ndor, E., Amana, S.M. & Asadu, C.L.A. (۲۰۱٥) Effect of biochar on soil properties and organic carbon sink in degraded soil of Southern Guinea Savanna Zone, Nigeria. *International Journal of Plant & Soil Science*. ٤(۳), ۲٥۲-۲٥۸.
- Olsen, S.R., & Sommers, L.E. (۱۹۸۲). Phosphorus. In: klute, A. (ed.), *Methods of Soil Analysis part 2: Chemical and Microbiological Methods*. Soil Science Society of America and American Society of Agronomy, Madison, WI, USA, Pp. ٤۰۳-٤۳۰.
- Ouyang, L., Tang, Q., Yu, L. & Zhang, R. (۲۰۱٤). Effects of amendment of different biochars on soil enzyme activities related to carbon mineralization. *Soil Research*. ٥۲(۷), ۷۰٦-۷۱٦.
- Pokharel, P., Ma, Z., Chang, S.X. **(۲۰۲۰)**. Biochar increases soil microbial biomass with changes in extra- and intracellular enzyme activities: a global meta-analysis. Biochar, **۲ (۱), ٦٥–۷۹.**
- Pandey, B., Suthar, S., Chand, N. (۲۰۲۲). Effect of biochar amendment on metal mobility, phytotoxicity, soil enzymes, and metal-uptakes by wheat (*Triticum aestivum*) in contaminated soils. *Chemosphere*, ۳۰۷, ۱۳٥۸۸۹.

- Paz-Ferreiro, J., Gasco, G., Gutiérrez, B., & Mendez, A., (۲۰۱۲). Soil biochemical activities and the geometric mean of enzyme activities after application of sewage sludge and sewage sludge biochar to soil. *Biology and Fertility of Soils*. ٤٨, ٥١١–٥١٧.
- Qayyum, M.F., Ashraf, I., Abid, M., & Steffens D. (۲۰۱٥) Effect of biochar, lime, and compost application on phosphorus adsorption in a ferralsol. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. ١٧٨(٤), ٥٧٦-٥٨١.
- Rao, M.A., Scelza, R., & Gianfreda, L. (**۲۰۱٤**). Soil enzymes. Pp ١-٢١. In: Gianfreda, L, and Rao, M.A (eds), *Enzymes in agricultural sciences*. OMICS Group International.
- Rhoades, J. D. (١٩٩٢). Soluble salts. In: Page, A.L., R.H. Miller and D.R. Keeney. *Method of soil Analysis. Part 2: Chemical and Microbiological Properties* (٢nd Edition). Madison, Wisconsin: SSSA, ١١٥٩ pages.
- Saadat, K., Barani Motlagh, M., Dordipour, E., & Ghasemnezhad. (۲۰۱۲). Influence of sewage sludge on some soil properties, yield and concentration of lead and cadmium in roots and shoots of Maize. *Journal of Soil Management and Sustainable*, ٢ (٢), ٢٧-٤٨.
- Sadegh-Zadeh, F., Fallah Tolekolaim, S., Bahmanyar, M. A., & Emadi, M. (۲۰۱۸). Application of biochar and compost for enhancement of rice (*Oryza Sativa* L.) grain yield in calcareous sandy soil. *Communication of Soil Science and Plant analysis*. ٤٩, ٥٥٢–٥٦٦.
- Sarapatka, B., Rak, L., & Bubenikova, I. (۲۰۰٤). Effects of hydroabsorbent used on extremely sandy soils on soil biological and biochemical characteristics. EUROSOIL, September, ٠٤ – ١٢ Freiburg, Germany, CD-rom.
- Shahbaz, M., Kuzyakov, Y., & Heitkamp, F. (۲۰۱٦). Decrease of soil organic matter stabilization with increasing inputs: mechanisms and controls. *Geoderma*. ٣٠٤,٧٦-٨٢.
- Song, X., Li, H., Song, J., Chen, W., Shi, L. (۲۰۲۲). Biochar/vermicompost promotes Hybrid *Pennisetum* plant growth and soil enzyme activity in saline soils. *Plant Physiology and Biochemistry*. ١٨٣, ٩٦–١١٠.
- Spaccini, R.., Mbagwu, J.S.C., Igwe, C.A., Conte, P., & Piccolo A. (**۲۰۰٤**). Carbohydrate and aggregation in lowland soil of Nigeria as influenced by organic input. *Soil and Tillage Research*. ٧٥,**١٦١–١٧٢.**
- Tabatabai, M.A. (**١٩٩٤**). Soil enzymes. in: Weaver R.W., Angle J.S. and Bottomley P.S. (Eds.), *Methods of soil analysis: microbiological and biochemical properties*, part ٢. SSSA Book Ser. ٥. SSSA, Madison, WI, ١٦٩٢p.
- Takdastan, A., Azimi, A.A., & Torabian, A. (۲۰۰٦). Investigating the production of sewage sludge in Iran and methods for reducing sludge production in biological processes of aerobic wastewater treatment. Third National Conference on Environmental Risks of Iran and its Improvement Strategies, Ahvaz, Islamic Azad University - Science and Research Branch of Ahvaz Center, Pp. ١-١٣. (In Persian)
- Tamrabet, L., Bouzerzour, H., Kribaa, M., & Makhlouf, M. (**۲۰۰۹**). The effect of sewage sludge application on durum wheat (*Triticum durum*). *International Journal of Agriculture and Biology*. **١١(٦), ٧٤١–٧٤٥.**
- Tejada, M., Garcia, C., Gonzalez, J. L., & Hernandez M.T. (۲۰۰٦). Use of organic amendment as a strategy for saline soil remediation: influence on the physical, chemical and biological properties of soil. *Soil Biology and Biochemistry*. ٣٨(٦), ١٤١٣-١٤٢١.
- Walkley, A., & Black, I.A. (١٩٣٤). An examination of the degtareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*. ٣٧, ٢٩-٣٤.
- Wang, J., Xiong, Z., & Kuzyakov, Y. (۲۰۱٦). Biochar stability in soil: meta-analysis of decomposition and priming effects. *GCB Bioenergy*. ٨ (٣), ٥١٢–٥٢٣.
- Wardle, D.A., Nilsson, M.C., & Zackrisson, O. (۲۰۰۸). Fire-derived charcoal causes loss of forest humus. *Science*. ٣٢٠, ٦٢٩-٦٢٩.
- Zare, M., Chorom, M., & Moalemi, N. (۲۰۱۳). Effect of sewage sludge as an organic fertilizer on growth and some physiological properties of olive seedlings. The first national conference on economic resolutions in the field of Agriculture and Nastural Resource, Qom, Iran, Pp.١-١٥.

- Zhu, X., Chen, B., Zhu, L., & Xing, B. (۲۰۱۷). Effects and mechanisms of biochar-microbe interactions in soil improvement and pollution remediation: a review. *Environmental Pollution*. ۲۲۷, ۹۸–۱۱۵.

Effect of sewage sludge and its biochar application on some chemical properties of soil and enzyme activities

Afshin Haghayeghi Solak[۱], Bahi Jalili[۲], Soroosh Salek-Gilani[۳]

[۱]Former MSc student, Department of Soil Science, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

[۲]Assistant Professor, Department of Soil Science, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

[۳] Instructor, Department of Soil Science, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

Abstract

Introduction

The soils of arid and semi-arid regions of Iran contain small amount of organic matter due to the lack of sufficient vegetation. Improving the soil organic matter due to the rapid decomposition of the added materials requires the continuous return of organic materials to the soil. Addition of organic amendments such as straw and stubble, manure, sewage sludge and other waste to the soil increases the amount of organic matter in the soil. Sewage sludge is one of the most important organic wastes and byproducts of wastewater treatment processes, and due to the increase in their production in recent decades, its management has become one of the key tasks in the environmental policies of many countries. The use of sewage sludge in agriculture provides a high amount of the nutrients to plants. But potential environmental hazards such as the presence of microbes and heavy metals in sewage sludge is considered as a limiting factor, thus sewage sludge transformation to biochar is a desirable way to manage them. Biochar is a product of thermal decomposition of organic materials in the absence of air (pyrolysis). It has been shown that biochar production from sludge reduce the volume of sludge and removes some heavy metals from the sludge. Biochemical properties of soil are more sensitive to changes in soil management compared to chemical and physical properties. Among them, soil enzymes play an important role in nutrient cycling in nature, additionally they are sensitive indicators to agricultural operations, and respond faster than other soil biological characteristics to changes in soil management and agricultural operations. Therefore, the aim of this study was to investigate the effect of sewage sludge and its biochar on the activities of soil urease, alkaline phosphatase and sucrose enzymes.

Materials and Methods

A factorial experiment was conducted in a completely randomized design with three replications. Effects of sewage sludge biochar at three level of ۰ ($B_۰$), ۲ ($B_۲$) and ٤ ($B_٤$) percent, the sewage sludge at three level of ۰ ($S_۰$), ٤ ($S_٤$) and ۸ ($S_۸$) precent and four different incubation time were evaluated on soil urease, alkaline phosphatase and sucrase activities. Nine treatments including ۱) control; zero level of biochar and sludge ($B_۰S_۰$), ۲) ۲٪ w/w of biochar ($B_۲$), ۳) ٤٪ w/w of biochar ($B_٤$), ٤) ٤٪ w/w of sludge-sewage ($S_٤$) ٥) ۸٪ w/w of sewage sludge ($S_۸$), ٦) ۲٪ w/w of biochar + ٤٪ w/w of sewage sludge ($B_۲S_٤$), ۷) ۲٪ w/w of biochar + ۸٪ w/w of sewage sludge ($B_۲S_۸$), ۸) ٤٪ w/w Biochar + ٤٪ w/w of sewage sludge ($B_٤S_٤$), ۹) ٤٪ w/w of biochar + ۸٪ w/w of sewage sludge ($B_٤S_۸$) was incorporated in the soil. Each of the treatments was mixed with one kilogram of soil samples and then transferred to plastic containers with a capacity of ۱٫٥ kg and their moisture was kept ٦۰-۷۰٪ of the field capacity. Then the lid of the containers was closed and five holes with a diameter of approximately ۲ mm were installed on each for air exchange. During the incubation the moisture of the samples was kept constant by regularly weighing the containers. Sub-samples were taken at intervals of ۲, ۱٥, ۳۰ and ٦۰ days. In these samples, pH, organic carbon, total nitrogen, available phosphorus and activities of sucrase (invertase), urease and alkaline phosphatase enzymes were measured.

Results and Discussion

The activity of urease in various treatments showed a high fluctuation during the incubation time. At the beginning of incubation, the addition of amendments caused a significant increase ($p<۰٫۰۱$) in the activity of this enzyme compared to the control. On day ۱٥, the highest urease activity of urease in was observed in $S_٤$ (۹٥۰ μg $NH_٤^+$ $g^{-۱}$ $h^{-۱}$) and $B_۲S_۸$ (۹٥٤ μg $NH_٤^+$ $g^{-۱}$ $h^{-۱}$). After one month of incubation, the activity of this enzyme in $B_٤$, $S_٤$ and $B_٤S_۸$ decreased significantly compared to the control, and in other treatments, its amount was significantly higher than that of the control. However,

at the end of the incubation time, the maximum activity of this enzyme was achieved in B_2S_4 (۱۱۹۶ µg NH_4^+ g^{-1} h^{-1}). Alkaline phosphatase activity fluctuated highly in different treatments during the incubation period. After one month from the beginning of the experiment, the activity of this enzyme increased significantly in all treatments compared to the control, and the highest amount alkaline phosphates was observed in B_2S_4 (۳۳۴۸ µg pNP g^{-1} h^{-1}) and B_4S_8 (۳۳۴۲ µg pNP g^{-1} h^{-1}). Nevertheless, by Day ۶۰ the activity of alkaline phosphatase decreased significantly in all treatments compared to the control. Sucrase enzyme activity increased on Day ۳۰ days in all treatments compared to the control. The highest amount of the activity of this enzyme was obtained in S_8 at the rate of ۲۵۷۴ µg glucose g^{-1} h^{-1}. But at the end of the incubation time, the maximum activity of this enzyme was observed in B_2S_4.

Conclusion

The highest pH was observed in control and B_2 treatments. Increasing the dosage of sludge and biochar did not have a significant effect on soil pH, perhaps because the pH of sludge and biochar was lower than soil pH. The highest amount of organic carbon was observed in the B_2S_8. Increasing the dosage of biochar did not have a significant effect on organic carbon, but increasing the dosage of sludge caused an increase in organic carbon. The highest amount of total N was achieved in B_2S_8 treatment. Maximum amount of available was observed in B_4S_8. No significant difference was recorded in higher doses of sludge and biochar, which may be due to stabilization or surface absorption of phosphorus. The highest amount of urease activity was observed in B_2S_4 and B_4S_8. In higher doses of biochar, urease activity relatively remained constant, however, higher doses of biochar reduced it. The maximum activity of alkaline phosphatase was achieved in S_8, B_2S_8 and B_4S_8. The highest amount of sucrase activity was recorded for S_8. Overall, our study showed that co-application of sewage sludge and biochar (B_2S_4) seems suitable to improve the soil urease, alkaline phosphatase and sucrase activity.

Keywords

Soil quality, soil amendments, urease, alkaline phosphatase, sucrase.