

Influence of Rice Husk Biomass and Its Biochar on Some Enzymatic Activities in a Calcareous Sandy Soil

FIROUZEH NOURMANDIPOUR¹, MOHAMMAD AMIR DELAVAR^{2*}, RATTAN LAL³, STEPHEN JOSEPH⁴,
CHRISTIAN SIEWERT⁵

1. Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

2. Carbon Management and Sequestration Center, the Ohio State University, Ohio, USA.

3. School of Material Science and Engineering, University of NSW, Sydney, Australia.

4. Faculty of Landscape Management, University of Applied Sciences Dresden, Dresden, Germany.

(Received: Jan. 13, 2020- Revised: Feb. 28, 2020- Accepted: Apr. 21, 2020)

ABSTRACT

The present study was conducted to investigate the effects of rice husk biomass (RH) and its biochar (RHBC) on some chemical properties and enzymatic activities involved in carbon and phosphorus cycling of a calcareous sandy soil (control, U) after two (M₂), four (M₄), eight (M₈), and twelve (M₁₂) months incubation. For this purpose, a factorial experiment with a randomized complete block design and four replications and two treatments (RH and RHBC) was performed. Three levels of organic amendments (L₁= 1.25%, L₂= 2.5% and L₃= 5%) were added to the soil. The results showed that the amount of soil organic carbon (SOC) was significantly ($p < 0.001$) affected by the types of organic amendments, their application rate and incubation time. The highest and the lowest values of SOC were observed in RHBCL₃M₂ and RHL₁M₁₂ treatments with 96.3% and 73.2% increase as compared to the control treatment, respectively. The trend of changes in SOC and TN was similar and decreased with incubation time. The highest and the lowest activity of β -glucosidase were corresponded to the treatments of RHL₃M₁₂ (1.6 $\mu\text{gPNP}\cdot\text{g}^{-1}\text{h}^{-1}$) and RHBCL₁M₂ (0.6 $\mu\text{gPNP}\cdot\text{g}^{-1}\text{h}^{-1}$), respectively. The RHBCL₃M₈ and RHL₁M₂ treatments exhibited the highest (590.6 $\text{mg Glu}\cdot\text{g}^{-1}\text{h}^{-1}$) and the lowest (109.6 $\text{mg Glu}\cdot\text{g}^{-1}\text{h}^{-1}$) invertase enzyme activity, respectively. So that, the highest enzyme activity was observed in 8th month of incubation. The highest activity of alkaline and acid phosphatases activities were found in RHL₃M₁₂ treatment which were 78.1% and 81.7% higher than that in control treatment, respectively. In general, the addition of good quality biochars to the soil could be a very good source for compensation of soil organic carbon deficiency and thereby improving chemical and biochemical properties and soil health, because of its higher carbon content than its biomass. Therefore, based on the effects of rice biomass and its biochar on the increasing of SOC content as well as enzymatic activities, these organic amendments are suggested to improve the quality of sandy soils.

Keywords: Invertase, B-Glucosidase, Phosphatase, Rice Husk, Soil Quality.

تأثیر کلس برنج و بیوجار حاصل از آن بر فعالیت برخی از آنزیم‌ها در یک خاک شنی آهکی

فیروزه نورمندی پور^۱، محمد امیر دلاور^{۱*}، راتان لل^۲، استفان جوزف^۳، کریستین سایورت^۴

۱. گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان ایران.

۲. مرکز ترسیب و مدیریت کربن، دانشگاه دولتی اوهایو، اوهایو، آمریکا.

۳. دانشکده علوم و مهندسی مواد، دانشگاه نیوسالت ولز، سیدنی، استرالیا.

۴. دانشکده مدیریت زمین، دانشگاه علمی کاربردی درسدن، درسدن، آلمان.

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۲۳ - تاریخ بازنگری: ۱۳۹۸/۱۲/۹ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۹/۲/۲)

چکیده

پژوهش حاضر به بررسی تأثیر بیوماس کلس برنج (RH) و بیوجار حاصل از آن (RHBC) بر برخی ویژگی‌های شیمیایی و فعالیت‌های آنزیمی دخیل در چرخه کربن و فسفر در یک خاک شنی آهکی (U) بعد از دو (M₂)، چهار (M₄)، هشت (M₈) و دوازده (M₁₂) ماه انکوباسیون می‌پردازد. برای این منظور آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار و دو تیمار (RH و RHBC) انجام شد. اصلاح‌کننده‌های آلی با مقادیر وزنی L₁=۱/۲۵٪، L₂=۲/۵٪ و L₃=۵٪ به خاک افزوده شدند. نتایج نشان داد مقادیر کربن آلی خاک (SOC) به صورت معنی‌دار (p < ۰/۰۰۱) تحت تأثیر نوع اصلاح‌کننده، میزان کاربرد آن و مدت‌زمان انکوباسیون قرار گرفت. بیشترین و کمترین مقدار SOC به ترتیب در تیمارهای RHL₁M₁₂ و RHBCL₃M₂ با ۹۶/۳ و ۷۳/۲ درصد افزایش نسبت به تیمار شاهد اندازه‌گیری شد. تغییرات SOC و نیتروژن کل (TN) با گذشت زمان انکوباسیون مشابه یکدیگر و کاهشی بود. بیشترین مقدار فعالیت آنزیم بتاگلوکوزیداز مربوط به تیمار RHL₃M₁₂ (۱/۶ μgPNP.gr⁻¹h⁻¹) و کمترین آن مربوط به تیمار RHBCL₁M₂ (۰/۶ μgPNP.gr⁻¹h⁻¹) بود. تیمارهای RHL₁M₂ و RHBCL₃M₈ به ترتیب بیشترین (۵۹۰/۶ mgGlu.g⁻¹3h⁻¹) و کمترین (۱۰۹/۶ mgGlu.g⁻¹3h⁻¹) فعالیت آنزیم اینورتاز را نشان دادند؛ به طوری که بیشترین فعالیت این آنزیم در ماه هشتم انکوباسیون مشاهده شد. تیمار RHL₃M₁₂ دارای بیشترین فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی و اسیدی بود که به ترتیب ۷۸/۱ و ۸۱/۷ درصد افزایش در مقایسه با تیمار شاهد داشت. به طور کلی، افزودن بیوجار با کیفیت مناسب به خاک به دلیل کربن بسیار بالای آن نسبت به بیوماس می‌تواند منبع بسیار مناسبی برای جبران کمبود کربن آلی خاک و در نتیجه بهبود خصوصیات شیمیایی و بیوشیمیایی باشد. بر اساس نتایج به دست آمده، اثرات کلس برنج و بیوجار حاصل از آن در افزایش میزان SOC و همچنین فعالیت‌های آنزیمی خاک، این اصلاح‌کننده‌های آلی برای بهبود کیفیت خاک‌های شنی پیشنهاد می‌شوند.

واژه‌های کلیدی: اینورتاز، بتاگلوکوزیداز، فسفاتاز، کلس برنج، کیفیت خاک.

مقدمه

کمتر از ۱۸ درصد رس و بیش از ۶۸ درصد شن در ۱۰۰ سانتی‌متر ابتدایی سولوم خاک هستند. بر اساس سامانه طبقه‌بندی خاک به روش آمریکایی این خاک‌ها یکی از رده‌های خاک آنتی‌سول (Xerorthent) محسوب می‌شوند (Soil Survey Staff, 2014). حدود ۷۳ درصد آنتی‌سول‌های کشور ایران در مناطق خشک و نیمه‌خشک گسترش دارند (Roozitalab et al., 2018). مناطق دیم اکثراً دارای خاک شنی هستند و این خاک‌ها به دلیل بافت درشت، مقادیر کم کربن آلی خاک و ظرفیت نگهداری رطوبت بسیار پایین به عنوان یکی از مهم‌ترین انواع خاک‌های مسئله‌دار در جهان شناخته می‌شوند (Balba, 2018). خاک‌های شنی از پتانسیل بالایی برای کشاورزی برخوردار هستند اما اغلب به دلیل

تخریب خاک می‌تواند خطری جدی برای تولید مواد غذایی و معیشت روستایی ایجاد کند. از طرفی، سیاست‌های مناسب برای ترغیب سرمایه‌گذاری‌های بهسازی زمین و مدیریت بهتر زمین برای کشاورزی پایدار پاسخگویی به نیازهای غذایی ضروری است. خاک‌های شنی رایج‌ترین خاک‌های کشاورزی جهان است (Crocker et al., 2004). این خاک‌ها به عنوان یکی از انواع خاک‌های مسئله‌دار تقریباً ۹۰۰ میلیون هکتار در سرتاسر جهان به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک را به خود اختصاص داده و حاصلخیزی این خاک‌ها اغلب بسیار کم و به مقدار کربن آلی آن‌ها وابسته است (Yost and Hartemink, 2019). این خاک‌ها دارای

است (Zheng *et al.*, 2018).

از آنجا که واکنش فعالیت‌های آنزیمی دخیل در چرخه مواد مغذی خاک به تغییرات مدیریتی خاک بسیار سریع می‌باشد، لذا بررسی فعالیت آنزیم‌های خاک یکی از روش‌های ارزیابی کیفیت خاک محسوب می‌شود (Balota and Chaves, 2010) و می‌توانند تغییرات در کیفیت خاک را قبل از ارزیابی توسط دیگر آنالیزهای خاک پیش‌بینی نمایند (Nidiaye *et al.*, 2000). علاوه بر این، بررسی فعالیت آنزیم‌های مختلف باهم می‌تواند تصویر بهتری از وضعیت فرآیندها و عملکرد خاک‌ها ارائه دهد (Acosta-Martinez *et al.*, 2003). آنزیم‌ها منجر به تغییر شکل مواد آلی و معدنی شدن مواد مغذی برای رشد گیاهان و چرخه مواد غذایی در اکوسیستم خاک می‌شوند (Gianfreda, 2015) و فعالیت آن‌ها بیشتر متأثر از مقدار کربن آلی در خاک است (Tian and Shi, 2014).

با توجه به بررسی مطالعات انجام‌شده و لزوم اهمیت مطالعه خاک‌های شنی به‌عنوان یکی از انواع خاک‌های مسئله‌دار، توجه کمی به اثرات بیوچار در نواحی خشک (Usman *et al.*, 2016) و نیمه‌خشک (Laghari *et al.*, 2015) مانند ایران شده است. کلش برنج یکی از ضایعات معمول کشاورزی در بخش‌های مهمی از اراضی شالی‌کاری در بسیاری از کشورهای آسیایی و مناطق مختلف کشور ایران به خصوص مناطق شمالی کشور و سایر مناطق درگیر با کشت این محصول است. کلش برنج به‌عنوان ضایعات کشاورزی، دفع یا سوزاندن شده و باعث آلودگی هوا و تغییرات آب و هوایی می‌شود و این معضل در استان‌های شمالی کشور مشهود است. لذا با تبدیل کلش برنج به بیوچار و جلوگیری از سوزاندن آن در مزارع و بازیافت منابع زیستی، می‌توان از مزیت‌های ثانویه آن استفاده کرد (Darzi-Naftchali *et al.*, 2017).

استفاده از بیوماس‌های گیاهی و بیوچار تهیه‌شده از این مواد اولیه ارزان‌قیمت و نسبتاً فراوان مانند کلش برنج به‌عنوان یک اصلاح‌کننده می‌تواند راهی برای کاهش محدودیت‌های بهره‌وری در خاک‌های شنی باشد؛ بنابراین هدف از انجام این تحقیق بررسی اثرات زیست‌توده کلش برنج و بیوچار حاصل از آن بر برخی ویژگی‌های شیمیایی و فعالیت‌های آنزیمی در خاک شنی-آهکی در یک بازه زمانی یک‌ساله است.

مواد و روش‌ها

خاک مورد استفاده یک خاک آهکی با بافت لوم شنی (Sandy-skeletal, mixed, mesic, Typic Xerorthents) در اراضی واقع در دانشگاه زنجان (36°40'47.26"N, 48°23'0.61"E) است که از

شرایط کمبود مواد مغذی دارای سطح تولید بسیار پایینی هستند (Zhao *et al.*, 2019).

یکی از روش‌های بهبود ویژگی‌های خاک‌های شنی افزایش کربن آلی است که نقش مهمی را بر خصوصیات مختلف شیمیایی، فیزیکی، حاصلخیزی و بیولوژیکی این خاک‌ها ایفا می‌کنند (Merino *et al.*, 2004). پائین بودن سطح مواد آلی و ساختمان شکننده و ضعیف خاک‌های درشت‌بافت در محیط‌های خشک و نیمه‌خشک می‌تواند منجر به تنزل تدریجی کیفیت و حاصلخیزی آن‌ها شود و بنابراین، افزایش محتوای ماده آلی خاک و انواع بقایای آلی به این خاک‌ها به‌طور مستمر یکی از روش‌های مدیریتی این خاک‌ها است (Lehmann *et al.*, 2006). از طرف دیگر، کشاورزی در خاک‌های شنی اراضی خشک وابسته به کاربرد کودهای آلی و معدنی است. به عبارتی دیگر، از آنجا که سرعت تجزیه اصلاح‌کننده‌های آلی در خاک‌های شنی زیاد است، اصلاح‌کننده‌های آلی اضافه‌شده در مدت‌زمان کوتاهی طی فصول کشت و برداشت محصولات در این خاک‌ها از دست می‌روند (Uzoma *et al.*, 2011)؛ بنابراین، اصلاح‌کننده‌های آلی برای حفظ بهره‌وری بایستی به‌طور مکرر و مستمر به‌کاربرده شوند و یا از مواد آلی با ثبات بیشتر برای مدیریت این خاک‌ها استفاده کرد (Glaser *et al.*, 2002).

تبدیل بقایای گیاهی به بیوچار می‌تواند یکی از این روش‌های مدیریتی بهبود کیفیت خاک‌های مسئله‌دار باشد (Alshankiti and Gill, 2016). ثبات بیوچار در محیط‌های خاک تا ۱۰۰۰ سال گزارش شده است. بیوچار، محصول جامد پیرولیز بیوماس در غیاب اکسیژن یا فشار جزئی آن می‌باشد که در سال‌های اخیر به‌عنوان یکی از اصلاح‌کننده‌های بسیار مناسب در محیط خاک تحقیقات زیادی را به خود اختصاص داده است (Sohi *et al.*, 2010). نتایج تحقیقات نشان داده که افزودن بیوچار به خاک‌های شنی باعث افزایش کربن آلی خاک (Busscher *et al.*, 2010; Luo *et al.*, 2016) و بهبود ویژگی‌های مختلف فیزیکی از جمله ظرفیت نگهداری آب (Burrell *et al.*, 2016)، ویژگی‌های شیمیایی و حاصلخیزی (Barrow, 2012; Peng *et al.*, 2011) می‌شود. از آنجا که کربن آلی تولیدشده در بیوچار پایدار است، افزودن آن به خاک این پتانسیل را دارد که کیفیت خاک را بهبود بخشد و باعث کاهش دی‌اکسید کربن متصاعدشده در جو نیز شود (McHenry, 2009). بیوچارها حاوی ترکیبات آلی و یا غیر آلی هستند که فعالیت میکروب‌ها و آنزیم‌های درگیر در چرخه عناصر غذایی را تنظیم می‌کنند (Spokas *et al.*, 2010). در حال حاضر مطالعه فعالیت آنزیم‌های خاک و روابط آن‌ها با عوامل متعددی از قبیل نوع خاک توجه زیادی را به خود جلب کرده

مقادیر کربن، هیدروژن و نیتروژن در زیست‌توده و بیوپار تهیه‌شده با استفاده از دستگاه آنالیزور کربن، هیدروژن و نیتروژن مدل لکو مرکز پژوهش‌های متالورژی رازی تهران تعیین شد (جدول ۱). مورفولوژی سطح نمونه‌ها با استفاده از مطالعات تصویربرداری توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی مدل وگاتی اسکن ال ام یو مؤسسه پژوهشی و تحقیقاتی گیاه‌شناسی دانشگاه تکنیک درسدن-آلمان و سطح ویژه بیوپارها با استفاده از روش جذب متیلن‌بلو (Ghani *et al.*, 2013) تعیین شد. محتوای خاکستر بیوپار طبق روش استاندارد ASTM D-2866 و دستورالعمل Song and Guo (2012) اندازه‌گیری شد.

آزمایش گلدانی و انکوباسیون

خاک لوم شنی جمع‌آوری‌شده با بقایای کلش برنج و بیوپار حاصل از آن با سطوح مختلف $1/25$ (L_1)، $2/5$ (L_2) و 5 (L_3) درصد وزنی مخلوط شدند. آزمایش در گلدان‌های پلی‌اتیلنی (قطر دهانه گلدان ۲۳، قطر انتهایی ۱۷ و ارتفاع $21/5$ سانتی‌متر حاوی ۴ کیلوگرم خاک) در چهار تکرار انجام شد. برای محدود کردن تبخیر آب و اطمینان از تبادلات گازی، گلدان‌ها با درپوش سوراخ‌دار (قطر منافذ حدود $0/5$ میلی‌متر) پوشش داده شد و در دمای حدود ۲۵ درجه سلسیوس در گلخانه دانشگاه زنجان در چهار زمان انکوباسیون دو (M_2)، چهار (M_4)، هشت (M_8) و دوازده (M_{12}) ماه مورد بررسی قرار گرفتند؛ به طوری که برای هر کدام از زمان‌های انکوباسیون، نمونه‌برداری از گلدان‌های مربوط به همان زمان صورت گرفت. مقدار رطوبت هر گلدان با روش توزین در محدوده رطوبت ظرفیت نگهداری مزرعه، نگه‌داشته شد. نمونه‌برداری از گلدان‌ها پس از گذشت زمان مورد نظر از شروع آزمایش، انجام و برخی ویژگی‌های شیمیایی و بیولوژیکی در آن‌ها اندازه‌گیری شد. فعالیت برخی آنزیم‌های خاک از جمله فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی به روش Tabatabai and Bremner (1969) و بتاگلوکوزیداز به روش Eivazi and Tabatabai (1988) با اضافه کردن سوبسترای مناسب و سپس یک ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سلسیوس و در نهایت رنگ سنجی، اندازه‌گیری و بر اساس وزن خاک خشک گزارش شدند. فعالیت آنزیم اینورتاز نیز به روش Alef and Nannipieri (1995) و با افزودن سوبسترای مربوط و پس از ۳ ساعت انکوباسیون در دمای ۵۰ درجه سلسیوس، اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری

آزمایش حاضر به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی (RCBD) با چهار تکرار و سه تیمار (نوع ماده اصلاح‌کننده آلی، سطوح کاربرد ماده اصلاحی و مدت‌زمان

عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری آن نمونه خاک برداشت شد. نمونه-برداری خاک در منطقه‌ای انجام‌شده که در طی ۱۰ سال گذشته هیچ‌گونه عملیات کشت و کار و کوددهی در آن انجام نشده بود. نمونه‌های خاک پس از هوا خشک شدن و عبور از الک دو میلی-متری جهت انجام آزمایش‌های اولیه و اعمال تیمارها به آزمایشگاه منتقل شد. در این مطالعه بافت خاک به روش هیدرومتری (Bouyoucos, 1962)، قابلیت هدایت الکتریکی و pH در نسبت خاک به آب ۱ به $2/5$ (Carter and Gregorich, 2008)، کربن آلی خاک به روش والکی و بلاک (Nelson and Sommers, 1982)، نیتروژن کل در خاک به روش کجلدال (Kjeldahl, 1883)، ظرفیت تبادل کاتیونی (CEC) به روش جایگزینی با استات آمونیوم (Nelson, 1982)، کربنات کلسیم معادل (CCE) به روش تیتراسیون با سود یک مولار (Nelson, 1982) و فسفر قابل‌دسترس و کل به ترتیب به روش عصاره‌گیری با بی‌کربنات سدیم و هضم دو اسید $HClO_4-HNO_3$ (Nelson & Sommers, 1996) انجام شد. نتایج ویژگی‌های اندازه‌گیری شده در جدول (۱) ارائه شده است.

تهیه تیمارهای آلی و تعیین مشخصات آن

تیمارهای مورد استفاده در این پژوهش شامل بقایای کلش برنج (تهیه‌شده از روستای حصار مشمپای شهرستان زنجان) (RH) و بیوپار حاصل از آن (RHBC) بود. بقایای کلش برنج به منظور پاک‌سازی مواد همراه، در آزمایشگاه با آب شهری شستشو داده شدند و سپس در آون در دمای ۵۵ درجه سلسیوس خشک و قبل از استفاده به صورت پودر یکنواخت در اندازه $0/5$ تا ۱ میلی‌متر آسیاب شدند. برای تولید بیوپار به روش پیرولیز آرام، مواد خرد و آسیاب‌شده در داخل ظروف بوته چینی درب‌دار ریخته و برای اطمینان از شرایط فقدان اکسیژن و یا اکسیژن محدود، درب ظروف با ورقه‌های آلومینیومی پوشانده شد. بوته‌ها به کوره الکتریکی منتقل و تنظیم دما با افزایش ۱۷ درجه سلسیوس در هر دقیقه تا رسیدن به دمای ۳۵۰ درجه سلسیوس انجام و پس از رسیدن به دمای ۳۵۰ درجه سلسیوس به مدت چهار ساعت در این دما نگهداری و سپس به نمونه‌ها اجازه داده شد تا در دمای آزمایشگاه سرد شوند (Yuan *et al.*, 2011). خصوصیات فیزیکی و شیمیایی مختلف بقایای کلش برنج و بیوپار حاصل از آن شامل pH با نسبت ۱ به ۵ (بیوپار-آب)، قابلیت هدایت الکتریکی، ظرفیت تبادل کاتیونی (Chapman, 1965)، فسفر کل با استفاده از روش رنگ سنجی اسید آسکوربیک-آمونیم-مولیبدات (Black *et al.*, 1965) و سطح ویژه نیز با استفاده از روش جذب متیلن‌بلو (Ghani *et al.*, 2013) اندازه‌گیری شدند.

ذرات اولیه در تهیه بیوچار در مقایسه با بیوماس مربوطه است و به‌طور عمده شکل ماکروسکوپی را حفظ می‌کنند (Ma et al., 2016). با توجه به شکل (۱)، بیوچار بخشی از ساختار فیبری شکل بیوماس را حفظ کرده و بیوچار تهیه‌شده نیز نسبت به بیوماس دارای خلل و فرج بیشتری است که می‌تواند حاصل از ساختمان متخلخل بیوماس باشد و یا در طول فرایند پیرولیز تشکیل شده باشد و این سطح متخلخل یکی از عواملی است که قابلیت جذب بیوچار را افزایش می‌دهد (Brewer et al., 2009). همچنین، در تصویر مربوط به بیوچار برنج (شکل ۱)، کریستال‌های معدنی متعددی روی سطح آن مشاهده شد. Septien et al. (2013) بیان کردند که ذرات معدنی پس از متراکم شدن مواد فرار و ترکیب شدن با یکدیگر به سطح حرکت می‌کنند.

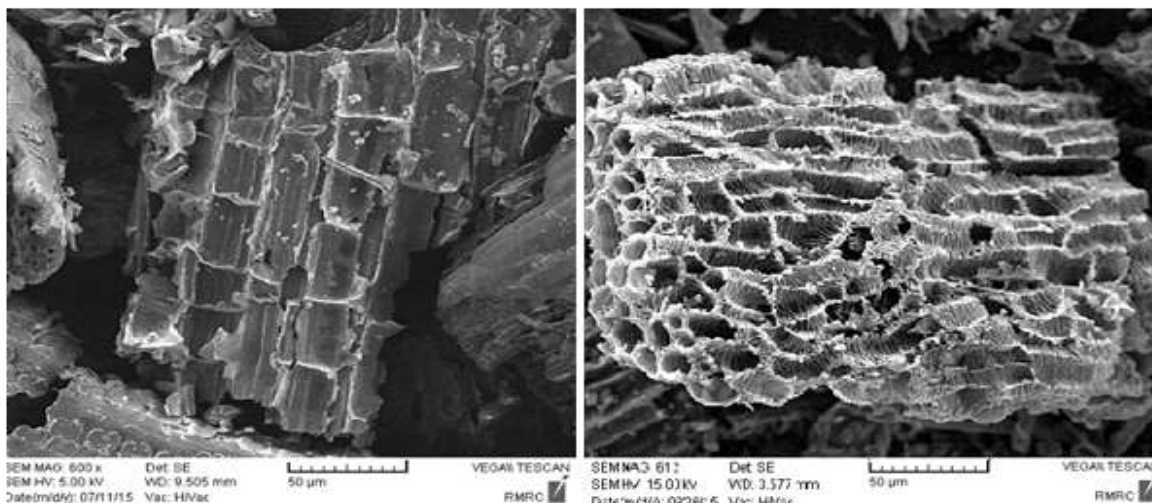
انکوباسیون اعمال شد. اختلاف معنی‌داری بین تیمارها با استفاده از تحلیل واریانس (ANOVA) انجام و برای ارزیابی تفاوت‌های بین میانگین تیمارها از آزمون حداقل اختلاف معنی‌داری دانکن در سطوح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۰۱ استفاده شد. محاسبه ضریب همبستگی پیرسون در محیط نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۳ انجام و نمودارهای مربوطه در محیط Excel ترسیم شدند.

نتایج و بحث

در جدول (۱) نتایج برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک و تیمارهای آلی مورد مطالعه ارائه شده است. تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) بقایای برنج و بیوچار حاصل از آن در شکل (۱) نشان داده شده است. به‌طور کلی، تصاویر SEM نشان‌دهنده فرایندهای مختلف ایجادشده در مورفولوژی سطحی

جدول ۱- برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی اندازه‌گیری شده در خاک و تیمارهای آلی مطالعه‌شده

منابع تغییر	واحد	خاک شاهد	بیوماس کلس برنج	بیوچار کلس برنج
سطح ویژه	m ² .g ⁻¹	-	۳/۹	۱۷/۳
pH	-	۷/۸۳	۷/۱	۸/۴
ظرفیت تبادل کاتیونی	Cmol(+) .Kg ⁻¹	۶/۵	۸/۱۵	۴۹/۲۸
قابلیت هدایت الکتریکی	dS.m ⁻¹	۱/۵۳	۰/۲	۷/۰۲
کربن	%	۰/۱۱	۳۷/۴۳	۵۸/۷۵
هیدروژن	%	-	۴/۸۹	۱/۵۹
نیتروژن	%	۰/۰۱	۱/۳۲	۱/۱۳
خاکستر	%	-	-	۳۴/۸۶
نسبت کربن به نیتروژن	-	۱۱	۲۸/۳۶	۵۱/۹۹
فسفر کل	mg.Kg ⁻¹	۸/۴۷	۸۱۰	۴۶۵
کربنات کلسیم معادل	%	۳۰	-	-
شن	gr.kg ⁻¹	۷۰۵	-	-
سیلت	gr.kg ⁻¹	۲۴۵	-	-
رس	gr.kg ⁻¹	۵۰	-	-
بافت خاک	-	لوم شنی	-	-



شکل ۱- تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی بیوماس برنج (راست) و بیوچار حاصل از آن (چپ)

نسبت به بیوماس اولیه است. از طرفی به دلیل تجزیه پذیری کم و مقاومت زیاد بیوچار به واسطه ساختار ترکیبات حلقوی آن، مقدار کربن در تیمارهای بیوچار برنج بیشتر از بیوماس آن شده است. (Qambrani *et al.* (2017) نیز به نقش بیوچار در افزایش ذخیره کربن خاک به دلیل پایداری کربن آن اشاره کردند. مقدار کربن آلی با افزایش میزان سطح کاربردی تیمارهای آلی روند افزایشی داشت؛ در حالی که باگذشت زمان انکوباسیون مقدار آن روند کاهشی نشان داد (شکل ۲b)، به طوری که بیشترین میزان کربن آلی در دومین ماه از انکوباسیون مشاهده شد. همچنین، Sajal and Abul Kashem (2014) نیز شاهد بیشترین میزان کربن آلی خاک در ابتدای آزمایش انکوباسیون بودند که حاکی از در دسترس قرار گرفتن و تجزیه اجزای با پایداری کمتر اصلاح کننده های آلی است که با گذشت زمان از میزان آن ها کاسته می شود.

کربن آلی خاک، نیتروژن کل، نسبت کربن به نیتروژن و فسفر قابل دسترس

نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که اثرات ساده و متقابل تیمارهای مورد مطالعه (نوع اصلاح کننده آلی، مقادیر سطح کاربردی اصلاح کننده و مدت زمان انکوباسیون) بر ویژگی های مورد بررسی در سطح یک درصد آماری ($p < 0.01$) معنی دار بود.

مقادیر کربن آلی به صورت معنی دار ($p < 0.01$) تحت تأثیر نوع ماده آلی اصلاح کننده، مقدار کاربرد و مدت زمان انکوباسیون قرار گرفت. به طوری که بیشترین و کمترین مقدار کربن آلی به ترتیب در تیمارهای $RHBCL_3M_2$ و RHL_1M_{12} اندازه گیری شد و نسبت به تیمار شاهد به ترتیب ۹۶/۳ و ۷۳/۲ درصد افزایش نشان داد (شکل ۲a). نتایج حاضر با نتایج (Liang *et al.* (2010) و (Schmidt and Noack (2000) مطابقت دارد. آن ها بیان نمودند که بیوچار دارای مقدار کربن قابل ترسیب بیشتر و پایداری

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس اثرات متقابل تیمارها بر خصوصیات کیفی خاک

منابع تغییرات	درجه آزادی	کربن آلی	نیتروژن کل	نسبت کربن به ازت	فسفر قابل دسترس	بنگلوکوزیداز	اینورتاز	فسفاتاز قلبایی	فسفاتاز اسیدی
اصلاح کننده آلی	۱	**۶/۱۴	**۰/۰۰۸	**۱۵۶۴۶/۶۲	**۲۷۷۷/۹۹	**۱/۴۳	**۱۴۱۱۹۳/۱۷	**۱۳۶۳/۰۲	**۱۱۵۶/۴۰
	۲	**۱۹/۳۵	**۰/۰۰۵	**۱۳۳۹۱/۶۲	**۹۵۴۰/۳۷	**۰/۸۸	**۲۹۸۱۴۲/۴۶	**۷۰۳/۹۲	**۵۴/۸۵
	۳	**۰/۱۲	**۰/۰۰۳	**۱۲/۳۴	**۶۶/۹۱	**۰/۲۲	**۱۲۰۹۱۰/۰۳	**۱۸۸/۴۳	**۹۵/۶۲
سطح کاربردی	۲	**۰/۷۷	**۰/۰۰۱	**۱۱۸۶/۵۴	**۱۸۲/۴۰	**۰/۳۸	**۳۱۷۳۱/۳۲	**۷۰/۲۵	**۸۷/۶۱
	۳	**۰/۰۰۳	**۰/۰۰۰۱	**۱/۴۷	**۰/۵۹	**۰/۰۰۳	**۵۹۰/۲۳	**۸/۵۶	**۲۵/۳۲
	۶	**۰/۰۰۲	**۰/۰۰۰۰۲	**۰/۵۷	**۰/۶۰	**۰/۰۰۴	**۷۲۹/۹۹	**۲/۹۲	**۲/۲۷
زمان انکوباسیون	۶	**۰/۰۰۱	**۰/۰۰۰۰۱	**۰/۴۱	**۱/۳۱	**۰/۰۰۵	**۳۶۵/۵۶	**۲/۴۵	**۲/۴۸
	۴۴	**۰/۰۰۲	**۰/۰۰۰۰۱	**۰/۸۷	**۰/۰۰۲	**۰/۰۰۰۰۲	**۱۰/۷۴	**۰/۱۱	**۰/۰۰۱
	-	۱	۱/۳	۱/۹۹	۰/۴	۰/۴۵	۱/۰۴	۱/۳۳	۰/۳۳

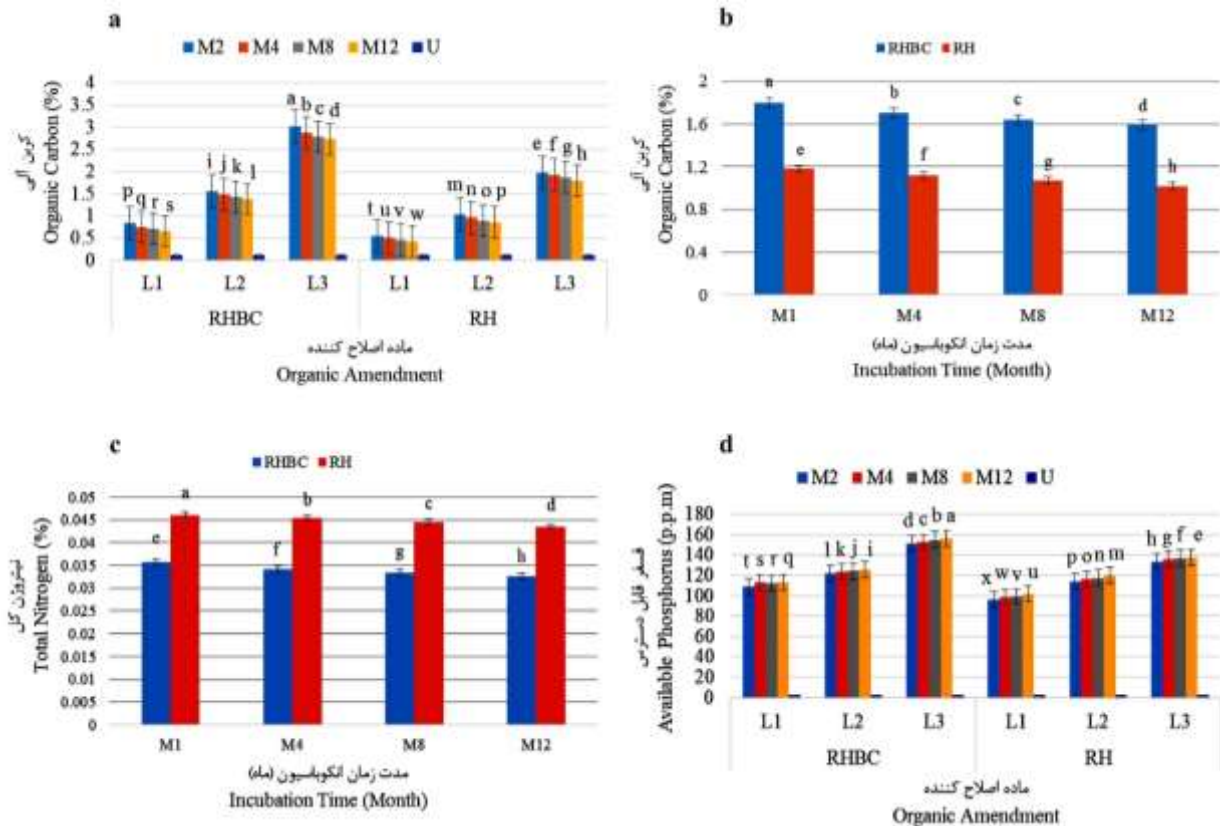
** معنی داری در سطح یک درصد ($p < 0.01$)، OA: نوع ماده آلی اصلاح کننده (،) QL: میزان سطوح کاربردی، T: مدت زمان انکوباسیون.

با توجه به نتایج تجزیه واریانس، اختلاف معنی داری در مقدار نیتروژن کل برای تیمارهای مورد بررسی در طول زمان انکوباسیون مشاهده شد. بیشترین و کمترین مقدار نیتروژن کل به ترتیب مربوط به تیمارهای RHL_3M_2 و $RHBCL_1M_{12}$ بود که نسبت به تیمار شاهد به ترتیب ۷۴/۳ و ۵۰ درصد افزایش داشتند. با افزایش مدت انکوباسیون در مقدار سطح کاربردی یکسان، روند کاهشی در مقدار نیتروژن کل مشاهده شد (شکل ۲c). تیمار $RHBCL_3M_{12}$ نسبت به تیمار $RHBCL_3M_2$ ۹/۴ درصد کاهش داشت. از آنجا که هیچ گونه کود حاوی ازت به تیمارها افزوده نشد، این شرایط می تواند به دلیل بالاتر بودن نسبت کربن به نیتروژن ماده اصلاح کننده باشد که تجزیه بقایای گیاهی از نظر نیتروژن دچار محدودیت شده است. این نتایج با مطالعه (Hemwong *et al.* (2008) مطابقت دارد. (Yao *et al.* (2009) نیز به غیرمتحرک شدن و کاهش نیتروژن با گذشت زمان به دلیل مدت زمان اقامت بیوچار در خاک اشاره کردند. (Bahrami *et al.* (2010) نیز در مطالعه شاخص های کیفیت خاک مشاهده کردند که تغییرات مقدار نیتروژن الگوی مشابهی با تغییرات ماده آلی خاک دارد. نتایج تحقیق مطالعات مختلف نشان داده است که مقدار نیتروژن کل در خاک ها با افزایش میزان سطح کاربردی بیوچار افزایش یافته که احتمالاً به دلیل مقدار نیتروژن لبایل در بیوچار بوده و می تواند به تدریج در محیط خاک آزاد شود (Wang *et al.* (2015). (Zhao *et al.* (2014) به افزایش نگهداشت یا جذب سطحی نیتروژن بعد از افزودن بیوچار به خاک اشاره کردند. همچنین، با توجه به نتایج همبستگی (جدول ۳)، غلظت

اصلاح کننده آلی، سطح کاربردی، زمان انکوباسیون، OA×QL، OA×T، QL×T، OA×QL×T، خطا، ضریب تغییرات

بررسی خود به نگهداری قسمت عمده نیتروژن در ماده آلی اشاره نمودند.

نیتروژن کل رابطه مستقیم با محتوای کربن آلی خاک دارد (Bingham and Cotrufo (2016) که $(r=0/43, p< 0/01)$ نیز در



شکل ۲- نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثرات متقابل اصلاح کننده آلی، سطح کاربردی و مدت زمان انکوباسیون بر کربن آلی خاک (a و b)، نیتروژن کل (c) و فسفر قابل دسترس (d)، میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمالی ۵ درصد اختلاف آماری معنی‌داری ندارند.

تیمارها با افزایش مقدار مصرف اصلاح‌کننده آلی روند افزایشی نشان داد؛ به طوری که تیمارهای $RHBCL_3M_{12}$ و RHL_1M_2 به طور معنی‌دار به ترتیب بیشترین و کمترین مقدار فسفر را نشان دادند که به ترتیب ۹۸/۶ و ۹۷/۷ درصد افزایش نسبت به تیمار U داشتند (شکل ۲d). از طرفی، تیمار $RHBCL_3M_{12}$ نسبت به تیمار RHL_3M_{12} دارای ۱۲/۱ درصد افزایش معنی‌دار بود. Fathi *et al.* (2016) Gerdelidani بیان کردند در حین فرایند تولید بیوجار، بخشی از زیست‌توده تبدیل به خاکستر حاوی نمک‌های محلول از جمله نمک‌های فسفره می‌شود که افزودن آن‌ها به خاک از طریق بیوجار می‌تواند منجر به افزایش فسفر محلول شود. هم-چنین، با گذشت مدت‌زمان انکوباسیون نیز میزان فسفر روند افزایشی نشان داد. برای مثال تیمار RHL_3 بعد از گذشت ۱۲ ماه، سه درصد افزایش نسبت به همین تیمار بعد از گذشت دو ماه انکوباسیون نشان داد.

با توجه به نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) و مشاهده اختلاف معنی‌داری در نسبت C: N برای تیمارهای مورد بررسی، تیمار $RHBCL_3M_2$ بیشترین میزان نسبت C: N را داشت و نسبت به تیمارهای U و RHL_3M_2 به ترتیب ۸۸/۵ و ۴۷/۱ درصد بیشتر بود. نتایج همبستگی (جدول ۳) حاکی از رابطه مستقیم و معنی-دار SOC با CN است. $(r=0/96, p< 0/01)$ است. محققین بیان کردند که مقدار SOC متأثر از کیفیت بقایای مواد آلی مورد استفاده (Lal, 2004; Chivenge *et al.*, 2007) است که با نسبت C: N آن تعیین می‌شود (Blanco-Canqui and Lal, 2009). در پژوهش حاضر نیز نسبت C: N در تیمار RH کمتر از تیمار RHBC است که نشان‌دهنده تجزیه سریع‌تر آن نسبت به RHBC می‌باشد (Blanco-Canqui and Lal, 2009). Xu *et al.* (2016) نیز به کاهش میزان تجزیه ذخیره SOC با افزایش نسبت C: N با تغییر یافتن میکروارگانیسم‌های تجزیه‌کننده اشاره نمودند.

نتایج تجزیه واریانس افزایش معنی‌داری مقدار فسفر را در همه منابع تغییر نشان داد ($p< 0/01$). میزان فسفر در تمامی

جدول ۳- ضرایب همبستگی پیرسون، $N=72$, $\text{Prob} > |r| \text{ under } H_0: \text{Rho}=0$

AP	Inv.	β -Glu.	Acid.	Alk.	CN	TN	SOC
							۱
						۰/۴۳**	SOC
					۱	۰/۹۶**	TN
				۱	۰/۱۷ ^{n.s.}	۰/۷۸**	CN
			۱	۰/۸۸**	۰/۰۶ ^{n.s.}	۰/۶۳**	Alk.
		۱	۰/۸۶**	۰/۹۵**	-۰/۳۶**	۰/۷۴**	Acid.
	۱	۰/۳۴**	۰/۰۱ ^{n.s.}	۰/۳۹**	-۰/۴۰**	۰/۲۰ ^{n.s.}	β -Glu.
۱	۰/۸۴**	۰/۳۶**	-۰/۰۵ ^{n.s.}	۰/۳۹**	۰/۹۴**	۰/۴۰**	Inv.
							AP

SOC: کربن آلی خاک، TN: نیتروژن کل، C:N: نسبت کربن به نیتروژن، AP: فسفر قابل دسترس، β -glu: بتاگلوکوزیداز، Inv: اینور تاز، Alk: فسفاتاز کلیایی، Acid: فسفاتاز اسیدی، *معنی داری در سطح پنج درصد ($p < 0/05$)، **معنی داری در سطح یک درصد ($p < 0/01$)، ^{n.s.} عدم معنی داری

سلوبیوز نقش دارد (Eivazi and Tabatabai, 1988). این آنزیم برون سلولی، تأمین کننده منابع مهم انرژی برای موجودات زنده خاک (Tabatabai, 1994; Matsuoaka, 2006)، دخیل در چرخه کربن و شاخص بسیار خوبی برای بررسی تغییر در مقادیر کربن آلی خاک (Foster *et al.*, 2016) است. این آنزیم یکی از آنزیم‌های اصلی برای تجزیه مواد آلی خاک از سلولز به گلوکز است (Silva and Gouveia, 2008). نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) اختلاف معنی داری فعالیت این آنزیم را در همه منابع تغییر نشان داد ($p < 0/001$). میانگین فعالیت آنزیم بتاگلوکوزیداز از ۰/۲۳ (تیمار U) تا $1/6 \mu\text{gPNF gr}^{-1}\text{h}^{-1}$ (تیمار $\text{RHL}_3\text{M}_{12}$) متغیر بود. تیمارهای RH و RHBC در پایان ۱۲ ماه انکوباسیون با سطح کاربردی پنج درصد به ترتیب دارای افزایش معنی داری ۸۵/۵ و ۷۶/۵ درصدی فعالیت این آنزیم نسبت به تیمار U بودند. نتایج مقایسه میانگین (جدول ۴) نشان داد که با افزایش سطح کاربردی ماده اصلاح کننده فعالیت آنزیم بتاگلوکوزیداز افزایش یافته است. این در حالی است که بین سطوح کاربردی ۲/۵ و ۵ درصد بیوچار اختلاف معنی دار مشاهده نشد و بیشترین میزان فعالیت این آنزیم بعد از زیست توده برنج، در سطح ۲/۵ درصد بیوچار بعد از ۱۲ ماه انکوباسیون اندازه گیری شد. فعالیت این آنزیم در تیمار $\text{RHBCL}_3\text{M}_{12}$ نسبت به تیمار $\text{RHL}_3\text{M}_{12}$ دارای ۳۸/۴ درصد کاهش بود.

نتایج حاصل از این پژوهش با نتایج (Foster *et al.*, 2016) مطابقت دارد زیرا ایشان نتیجه گرفتند که بیوماس در مقایسه با بیوچار تأثیر بیشتری بر فعالیت آنزیم بتاگلوکوزیداز داشته است. این مورد ممکن است با پتانسیل جذب سطحی آنزیم‌ها یا سوبسترای روی سطوح بیوچار مرتبط باشد (Günel *et al.*, 2018). جذب سطحی آنزیم‌ها ممکن است منجر به دنا توره شدن آن‌ها و در نتیجه کاهش فعالیت آنزیم‌های برون سلولی از جمله آنزیم بتاگلوکوزیداز شود (Sun *et al.*, 2014). نتایج همبستگی (جدول ۳) نیز نشان می‌دهد که رابطه معکوس و معنی دار بین

مطالعات اخیر نشان داد که افزودن بیوچار به خاک هر دو تأثیر کاهشی و افزایشی را در فسفر قابل دسترس خاک دارد که این روند به نوع ماده اولیه برای تهیه بیوچار بستگی دارد (Steiner *et al.*, 2007). برخی از محققان عقیده دارند که پوسیدگی مواد آلی باعث تولید هوموس و اسید هومیک می‌شود که حلالیت و قابلیت جذب فسفر را افزایش می‌دهد (Dotaniya and Meena, 2013). یکی از علل این افزایش قابلیت جذب، شکل گرفتن کمپلکس‌های فسفوهومیک است که با سهولت بیشتری جذب گیاهان می‌شوند. دیگر اینکه ترکیبات هومیکی مانند یک آنیون به وسیله کاتیون‌های جذب سطحی شده رس، جذب شده و در نتیجه فسفات تبادل آلی آزاد می‌شود. علت سوم اینکه هوموس به صورت پوششی بر روی ذرات هیدروکسید آهن و آلومینیوم قرار می‌گیرد که بدین ترتیب ظرفیت تثبیت فسفر خاک را کاهش می‌دهد (Dotaniya *et al.*, 2013a,b). از طرفی، با توجه به نتایج جدول همبستگی (جدول ۳)، SOC دارای رابطه مستقیم و معنی دار با فسفر قابل دسترس ($r=0/97, p < 0/01$) است که نشان دهنده نقش مهم اصلاح کننده‌های آلی مخصوصاً بیوچار در افزایش قابلیت دسترسی فسفر است (Bista *et al.*, 2019; Lemanowicz and Bartkowiak, 2013).

فعالیت‌های آنزیمی

آنزیم‌های برون سلولی کاتالیز کننده‌های تجزیه ماده آلی هستند و در چرخه بیوشیمیایی عناصر غذایی دخالت دارند (Burns *et al.*, 2013). فعالیت آنزیم‌های خاک مربوط به چرخه‌های C، N و P که با تجزیه ماده آلی ماده ترغیب می‌شوند، با خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک به شدت همبستگی دارند (Kussainova *et al.*, 2013). Wang *et al.* (2012) نتیجه گرفتند که ماده آلی خاک به عنوان حامل آلی برای آنزیم‌های خاک است.

آنزیم بتاگلوکوزیداز

آنزیم بتاگلوکوزیداز، به عنوان کاتالیزوری در هیدرولیز مالتوز و

بیولوژیکی این آنزیم به‌عنوان شاخصی از کیفیت خاک به افزایش فعالیت و عملکرد بهتر این آنزیم در خاک‌های اصلاح‌شده با بقایای گیاهی دارای نسبت C: N کمتر اشاره نمودند و دلیل این افزایش را تجزیه سریع‌تر ماده آلی و آزاد شدن مواد مغذی بیان کردند. Saha *et al.* (2008) نیز بیان داشتند که فعالیت آنزیم بتاگلوکوزیداز در تیمارهای آلی اصلاح‌کننده با کلس برنج بیشتر بوده است.

C:N (0.1 < p < 0.4, r = -) و فعالیت این آنزیم در خاک وجود دارد. محققین متعددی به وجود این رابطه اشاره نموده‌اند. از جمله Meyer *et al.* (2015) در تحقیقی به افزایش فعالیت این آنزیم در تیمار RH اشاره کرده و بیان نمودند که این افزایش نسبت به بیوجار می‌تواند به دلیل کمتر بودن نسبت C: N در این ترکیب باشد که منجر به تجزیه سریع‌تر ماده آلی و آزاد شدن مواد مغذی در آن می‌شود. Adetunji *et al.* (2017) نیز در بررسی فعالیت‌های

جدول ۴- مقایسه میانگین اثرات متقابل اصلاح‌کننده آلی × سطح کاربردی × مدت‌زمان انکوباسیون بر فعالیت آنزیم بتاگلوکوزیداز

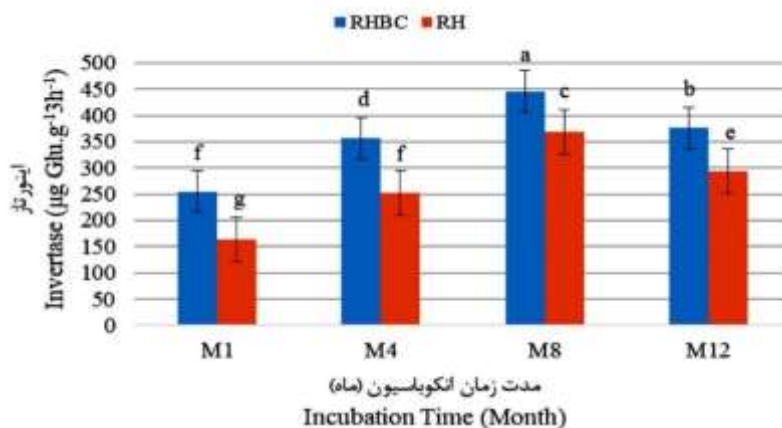
مدت‌زمان انکوباسیون				سطح کاربردی	اصلاح‌کننده آلی
دوازده ماه M ₁₂	هشت ماه M ₈	چهار ماه M ₄	دو ماه M ₂		
۰/۹۰۳±۰/۰۰۲m	۰/۸۷۸±۰/۰۰۲o	۰/۶۸۲±۰/۰۰۵t	۰/۵۷۴±۰/۰۰۳u	L ₁ : 1.25%	بیوجار برنج RHBC
۰/۹۸۸±۰/۰۰۲i	۰/۹۷۵±۰/۰۰۲j	۰/۹۰۸±۰/۰۰۳m	۰/۸۲۲±۰/۰۰۲q	L ₂ : 2.5%	
۰/۹۸۲±۰/۰۰۳jz	۰/۹۶۲±۰/۰۰۳k	۰/۸۹۱±۰/۰۰۳n	۰/۸۰۹±۰/۰۰۲r	L ₃ : 5%	
۱/۰۱۱±۰/۰۰۲h	۰/۹۰۱±۰/۰۰۳m	۰/۸۳۷±۰/۰۰۲p	۰/۷۱۵±۰/۰۰۳s	L ₁ : 1.25%	کلس برنج RH
۱/۲۳۵±۰/۰۰۳e	۱/۱۶۶±۰/۰۰۲f	۱/۰۲۲±۰/۰۰۲g	۰/۹۵۲±۰/۰۰۳l	L ₂ : 2.5%	
۱/۵۸۹±۰/۰۰۲a	۱/۵۵۲±۰/۰۰۲b	۱/۴۰۹±۰/۰۰۳c	۱/۳۷۱±۰/۰۰۲d	L ₃ : 5%	

میانگین‌های داری حروف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمالی ۵ درصد اختلاف آماری معنی‌داری ندارند.

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که تمامی اثرات اصلی و متقابل تیمارها تأثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم اینورتاز داشتند (0.1 < p < 0.05)؛ به طوری که روند فعالیت این آنزیم تا هشت ماه به‌صورت افزایشی و پس‌از آن با اختلاف کمی نسبت به ماه هشتم انکوباسیون، کاهشی بود (شکل ۳).

آنزیم اینورتاز

آنزیم اینورتاز در خاک مسئول آزادسازی کربن مورد نیاز برای رشد و افزایش میکروارگانسیم‌های خاک و آنزیم‌های تولیدشده توسط آن‌ها است (Antoniou, 2018). آنزیم اینورتاز هیدرولیز-کننده ساکاروز به گلوکز و فروکتوز است (Wang *et al.*, 2003).



شکل ۳- مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل اصلاح‌کننده آلی و مدت‌زمان انکوباسیون بر میزان فعالیت آنزیم اینورتاز، میانگین‌های داری حروف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمالی ۵ درصد اختلاف آماری معنی‌داری ندارند.

نشان داد که رابطه مثبت و معنی‌دار بین SOC (0.1 < p < 0.07, r = 0) با فعالیت آنزیم اینورتاز در خاک وجود دارد. افزایش فعالیت اینورتاز می‌تواند با افزایش کربن قابل‌دسترس به عنوان نتیجه‌ای از حضور اصلاح‌کننده‌های آلی توضیح داده شود (Du *et al.*, 2014) و با کاهش میزان سطح کاربرد اصلاح‌کننده‌های آلی،

Wang *et al.* (2011) افزایش فعالیت این آنزیم را با زمان گزارش کردند. تیمارهای RHBC₃M₈ و RHL₁M₂ به ترتیب بیشترین (۵۹۰/۶ µg Glu.g⁻¹3h⁻¹) و کمترین (۱۰۹/۶ µg Glu.g⁻¹3h⁻¹) فعالیت آنزیم اینورتاز را نشان دادند و به ترتیب ۸۹ و ۴۰/۷ درصد بیشتر از تیمار شاهد بودند. نتایج همبستگی (جدول

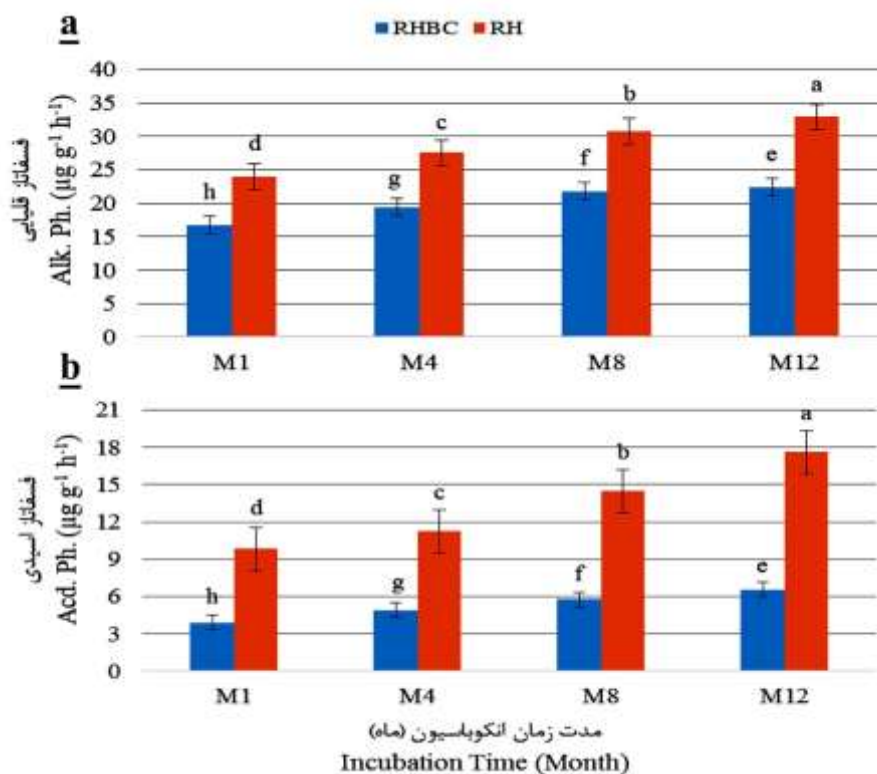
گیاهان و میکروارگانیسم‌ها می‌تواند به تولید و فعالیت آنزیم فسفاتاز خاک مرتبط شود. نتایج تحقیق با یافته‌های (Kai *et al.*, 2002; Condron *et al.*, 2005; De Luca *et al.*, 2009; Galvez *et al.*, 2012; Mastro *et al.*, 2013) در خصوص کاربرد بیوچار بر افزایش فعالیت آنزیم فسفاتاز مطابقت دارد. فعالیت آنزیم‌های معدنی‌کننده فسفر، از جمله فسفاتاز قلیایی و فسفاتاز اسیدی به طور قابل توجهی در برخی مطالعات در خاک‌های تیمار شده با بیوچار افزایش یافته است و در برخی دیگر نیز در مقایسه با خاک شاهد، تغییری نشان نداد (Thies *et al.*, 2015).

نتایج همبستگی (جدول ۳) نشان داد که ارتباط مثبت و معنی‌دار بین فسفاتاز قلیایی با میزان فسفر قابل‌دسترس ($r=0.39, p<0.01$) وجود دارد؛ در حالی که چنین ارتباطی در مورد فسفاتاز اسیدی مشاهده نشد. (Piotrowska-Długosz and Wilczewski, 2014) نیز به نتایج مشابهی دست یافتند. آن‌ها در تحقیقی میزان فسفر را بر فعالیت آنزیم فسفاتاز بررسی کردند و بیان کردند ارتباط میان مقدار فسفر قابل‌دسترس و فعالیت آنزیم فسفاتاز در خاک پیچیده است و می‌توان شاهد ارتباط مثبت یا منفی و حتی عدم وجود رابطه بین این خصوصیات بود. در تحقیقی دیگر، (Olander and Vitousek, 2000) دریافتند که چنانچه چنین ارتباطی وجود نداشته باشد، احتمالاً فسفر عامل محدودکننده سیستم مطالعاتی نخواهد بود و دیگر فاکتورها ممکن است بر تولید و فعالیت این آنزیم تأثیر داشته باشند. از سوی دیگر، بین فسفاتاز اسیدی و نیتروژن کل همبستگی مثبت و معنی‌دار ($r=0.63, p<0.01$) مشاهده شد (جدول ۳). (Lemanowicz, 2018) در تحقیقی دینامیک میزان نیتروژن و فسفر را بر فعالیت فسفاتاز بررسی کرده و نتیجه گرفتند که افزایش نیتروژن باعث افزایش فعالیت میکروبی و به دنبال آن افزایش تقاضا برای فسفر خواهد شد. علاوه بر این، میکروارگانیسم‌های خاک برای تأمین نیازهای غذایی فسفر، می‌توانند مقادیر بیشتری از فسفاتاز را آزاد کنند (Sinsabaugh *et al.*, 2009). هم‌چنین، بین فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی و اسیدی رابطه مثبت و معنی‌دار ($r=0.88, p<0.01$) مشاهده شد و بیانگر این است که فعالیت هر آنزیمی می‌تواند منعکس‌کننده فعالیت‌های آنزیمی دیگری باشد. نتایج این تحقیق با (Lemanowicz, 2018) مطابقت دارد.

فعالیت این آنزیم کاهش یافته که می‌تواند به میزان کمتر کربن آلی خاک نسبت داده شود (Hu *et al.*, 2011). از سوی دیگر، نتایج مخالف نیز گزارش شده است که فعالیت این آنزیم با افزودن بیوچار کاهش یافته است (Allison *et al.*, 2014; Elzobair *et al.*, 2016). محققان به ظرفیت بسیار زیاد جذب سطحی بیوچار و تغییرات pH بالا در اثر افزودن آن را عامل کاهش نسبت داده‌اند (Huang, *et al.*, 2017).

آنزیم فسفاتاز

فسفاتازها آنزیم‌هایی با ویژگی‌های نسبتاً وسیع هستند که در چرخه فسفر شرکت دارند و می‌توانند استرهای فسفات آلی و غیر آلی را هیدرولیز کنند، بنابراین قابلیت دسترسی فسفر را در خاک کنترل می‌کنند (Caravaca *et al.*, 2002). فسفاتازها علاوه بر اینکه تحت تأثیر تغییرات مواد آلی قرار می‌گیرند، سنتز و فعالیت آن‌ها نیز توسط pH خاک کنترل می‌شود (Acosta-Martinez *et al.*, 2007; Eivazi and Tabatabai, 1977). آنزیمی برون سلولی و پایدار است و اغلب به‌عنوان شاخصی برای معدنی شدن فسفر آلی و فعالیت بیولوژیکی استفاده می‌شود (Wyszkowska *et al.*, 2005). نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات اصلی و متقابل تیمارها بر فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی معنی‌دار بود ($p<0.01$). فعالیت آنزیم فسفاتاز (قلیایی و اسیدی) با افزایش میزان سطح کاربردی اصلاح‌کننده‌های آلی و زمان انکوباسیون افزایش یافت. به طوری که تیمار RHL_3M_{12} نسبت به RHL_3M_2 و تیمار $RHBCL_3M_{12}$ به ترتیب دارای $28/8$ و $22/2$ درصد افزایش بودند. با این حال، در تمام تیمارها فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی بیشتر از فسفاتاز اسیدی بود (شکل ۴). فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز قلیایی و اسیدی به ترتیب بین $41/3 - 9/02 \mu g g^{-1} h^{-1}$ و $23/3 - 4/26$ متغیر بود. کمترین میزان فعالیت فسفاتاز قلیایی و اسیدی به ترتیب مربوط به تیمارهای $RHBCL_1M_2$ و $RHBCL_3M_2$ با افزایش $30/3$ و کاهش 26 درصدی نسبت به تیمار U بودند. با توجه به pH بیوچار و ماهیت نسبتاً قلیایی آن، pH خاک افزایش پس از اضافه شدن آنزیم‌های قلیایی و کاهش فعالیت فسفاتاز اسیدی در سطوح بالای کاربرد بیوچار شده است. از آنجا که خاک مورد مطالعه دارای کمبود فسفر بود، میکروارگانیسم‌ها برای افزایش محلول و متحرک شدن مجدد فسفات، ترشح آنزیم فسفاتاز را افزایش داده و تقاضا برای فسفر قابل‌دسترس توسط



شکل ۴- مقایسه میانگین اثرات متقابل ماده اصلاح کننده و مدت زمان انکوباسیون بر فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز قلیایی (a) و اسیدی (b)، میانگین‌های داری حروف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمالی ۵ درصد اختلاف آماری معنی داری ندارند.

نتیجه‌گیری

کننده‌های آلی در چرخه عناصر غذایی یا معدنی‌شدن مواد آلی نقش مهمی ایفا می‌کنند، لذا تأثیر مفیدی در کشاورزی دارند که این اثر ممکن است بعد از افزوده شدن آن‌ها به خاک در طول زمان افزایش یابد. بنابراین، بر اساس اثرات بیوماس کلس برنج و بیوجار حاصل از آن در افزایش میزان کربن، نیتروژن و فسفر و همچنین فعالیت‌های آنزیمی خاک، این اصلاح‌کننده‌های آلی برای بهبود کیفیت خاک‌های شنی پیشنهاد می‌شوند. اگرچه، تأثیر آن‌ها بسته به نوع شرایط پیرولیز، مقدار کاربرد و مدت زمان انکوباسیون و حتی شرایط محیطی ممکن است متغیر باشد. علاوه بر این استفاده از آنزیم‌ها به دلیل واکنش سریع به تغییرات خصوصیات خاک و محیط‌زیست می‌تواند شاخص‌های مفیدی برای ارزیابی کیفیت خاک باند.

سپاس‌گزاری

از دانشگاه زنجان به خاطر حمایت‌های مالی این تحقیق، تشکر و قدردانی می‌شود.

با توجه به نتایج تحقیق می‌توان نتیجه‌گیری کرد که بیوماس برنج و بیوجار حاصل از آن باعث ایجاد تغییراتی در برخی خصوصیات خاک از قبیل افزایش کربن آلی خاک، نیتروژن کل و فسفر قابل دسترس در خاک و در نتیجه افزایش فعالیت آنزیم‌های مسئول در چرخه کربن و فسفر شدند. با توجه به اینکه میزان ماده آلی خاک یکی از مؤلفه‌های مهم حاصلخیزی خاک است، افزودن بیوجار به خاک به دلیل کربن بالای آن می‌تواند منبع بسیار مناسبی برای جبران کمبود کربن آلی خاک و در نتیجه بهبود خصوصیات شیمیایی و بیوشیمیایی و حفظ سلامت خاک باشد. از طرفی، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که سطح بهینه برای استفاده از بیوجار برنج در این تحقیق سطح ۲/۵ درصد وزنی (معادل ۵۰ تن در هکتار) می‌باشد. به دلیل اینکه کربن آلی خاک در سنتز و تثبیت فیزیکی آنزیم‌های مرتبط با آن نقش دارد، لذا این پارامترها با یکدیگر همبستگی دارند. از آنجا که اصلاح

REFERENCES

- Acosta-Martínez, V., S. Klose, Zobeck, T.M. (2003). Enzyme activities in semiarid soils under Conservation Reserve Program, native rangeland, and cropland. *Plant Nutrition and Soil Science*, 166, 699-707.
- Acosta-Martínez, V., Sotomayor, D., Alegría, L.R.P. (2007). Enzyme Activities as Affected by Soil Properties and Land Use in a Tropical Watershed. *Journal of Applied Soil Ecology*, 35(1), 35-45.
- Adetunji, A.T., Lewu, F.B., Mulidzi, R., Ncube, B. (2017). The biological activities of β -glucosidase, phosphatase and urease as soil quality indicators:

- a review. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 17 (3), 794-807.
- Alef, K., Nannipieri, P. (1995). *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry*, Acad. Press.
- Allison, S.D., Chacon, S.S. German, D.P. (2014). Substrate concentration constraints on microbial decomposition. *Journal of Soil Biology and Biochemistry*, 79, 43-49.
- Alshankiti, A., Gill, S. (2016). Integrated Plant Nutrient Management for Sandy Soil Using Chemical Fertilizers, Compost, Biochar and Biofertilizers - Case Study in UAE. *Arid Land Studies*, 26 (3): 101-106.
- Antonious, G.F. (2018). Biochar and Animal Manure Impact on Soil, Crop Yield and Quality. In *Agricultural Waste and Residues. IntechOpen*, 45-67.
- Bahrami, A., Emadodin, I., Atashi, M.R., Bork, H.R. (2010). Land-use change and soil degradation: A case study, North of Iran. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 1(4): 600-605.
- Balba, A.M. (2018). Management of problem soils in arid ecosystems. 1st edition. 272 pages. Ebook ISBN: 9780203748411.
- Balota, E.L., Chaves, J.C.D. (2010). Enzymatic activity and mineralization of carbon and nitrogen in soil cultivated with coffee and green manures. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 34(5), 1573-1583.
- Barrow, C.J. (2012). Biochar: potential for countering land degradation and for improving agriculture. *Applied Geography*, 34, 21-28.
- Bingham, A.H., Cotrufo, M.F. (2016). Organic nitrogen storage in mineral soil: implications for policy and management. *Science of the Total Environment*, 551-552, 116-126.
- Bista, P., Ghimire, R., Machado, S., and Pritchett, L. (2019). Biochar Effects on Soil Properties and Wheat Biomass vary with Fertility Management. *Agronomy*, 9 (10), 623.
- Black, C.A., Evans, D.D., Dinauer, R.C. (1965). Methods of soil analysis. (Madison, WI: *American Society of Agronomy*), 9, 653-708.
- Blanco-Canqui, H., Lal, R. (2009). Crop Residue removal impacts on soil productivity and environmental quality. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 28, 139-163.
- Bouyoucos, G.J. (1962). Hydrometer method improved for making particle size analyses of soils. *Agronomy*, 54(5): 464-465.
- Brewer, C.E., Schmidt-Rohr, K., Satrio, J.A., Brown, R.C. (2009). Characterization of biochar from fast pyrolysis and gasification systems. *Environmental Progress and Sustainable Energy*, 28, 386-396.
- Burns, R.G., DeForest, J.L., Marxsen, J., Sinsabaugh, R.L., Stromberger, M.E., Wallenstein, M.D., Weintraub, M.N., Zoppini, A. (2013). Soil enzymes in a changing environment: current knowledge and future directions. *Soil Biology and Biochemistry*, 58, 216-234.
- Burrell, L.D., Zehetner, F., Rampazzo, N., Wimmer, B., Soja, G. (2016). Long term effects of biochar on soil physical properties. *Geoderma*, 282, 96-102.
- Busscher, W.J., Novak, J.M., Evans, D.E., Watts, D.W., Niandou, M.A.S., Ahmedna, M. (2010). Influence of pecan biochar on physical properties of a Norfolk loamy sand. *Soil Science*, 175, 10-14.
- Caravaca, F., Barea, J.M., Figuerola, D., Roldán, A. (2002). Assessing the effectiveness of mycorrhizal inoculation and soil compost addition for enhancing reforestation with *Olea europaea* subsp. *sylvestris* through changes in soil biological and physical parameters. *Applied Soil Ecology*, 20, 107-118.
- Carter, M.R., Gregorich, E.G., (2008). *Soil Sampling and Methods of Analysis*. Second ed. CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton.
- Chapman, H.D. (1965). Cation-exchange capacity. Methods of soil analysis Part 2 *Chemical and microbiological properties*, 891-901.
- Chivenge, P.P., Murwira, H.K., Giller, K.E., Mapfumo, P., Six, J. (2007). Long-term impact of reduced tillage and residue management on soil carbon stabilization: implications for conservation agriculture on contrasting soils. *Soil and Tillage Research*, 94, 328-337.
- Condrón, L.M., Turner, B., Cade-Menun, B.J. (2005). Chemistry and Dynamics of Soil Organic Phosphorus. In *Phosphorus: Agriculture and the Environment*, eds Sims, J.T., Sharpley, A.N., editors. (Madison, WI: *American Society of Agronomy*), 87-121.
- Crocker J, Poss R, Hartman C, Bhuthorndharaj S. (2004). Effects of recycled bentonite addition on soil properties, plant growth, and nutrient uptake in a tropical sandy soil. *Plant Soil*. 267: 155-163.
- Darzi-Naftchali, A., Shahnazari, A., Karandish, F. (2017). Nitrogen loss and its health risk in paddy fields under different drainage managements. *Paddy and Water Environment*, 15(1), 145-157.
- De Luca, T.H., MacKenzie, M.D., Gundale, M.J. (2009). Biochar effects on soil nutrient transformations. In *Biochar for environmental management, Science and technology*, (Ed. Lehmann, J., Joseph, S.), 251-270. (Earthscan: London).
- Dotaniya, M.L., and Meena, V.D. (2013). Rhizosphere effect on nutrient availability in soil and its uptake by plants- a review. *Proceedings of National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 85 (1), 1-12.
- Dotaniya, M.L., Pingoliya, K.K., Meena, H.M., Prasad, D. (2013a). Status and rational use of rock phosphate in agricultural crop production- a review. *Agriculture Sustainable Development*, 1 (1), 103-108.
- Dotaniya, M.L., Prasad, D., Meena, H.M., Jajoria, D.K., Narolia, G.P., Pingoliya, K.K., Meena, O.P., Kumar, K., Meena, B.P., Ram, A., Das, H., Chari, M.S., Pal, S. (2013b). Influence of phytosiderophore on iron and zinc uptake and rhizospheric microbial activity. *African Journal of Microbiology Research*, 7 (51), 5781-5788.
- Du, Z., Wang, Y., Huang, J., Lu, N., Liu, X., Lou, Y., Zhang, Q. (2014). Consecutive biochar application

- alters soil enzyme activities in the winter wheat-growing season. *Soil Science*, 179(2), 75-83.
- Eivazi, F., Tabatabai, M.A. (1977). Phosphatases in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 9(3), 167-172.
- Eivazi, F., Tabatabai, M.A. (1988). Glucosidases and galactosidases in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 20, 601-606.
- Elzobair, K.A., Stromberger, M.E., Ippolito, J.A., Lentz, R.D. (2016). Contrasting effects of biochar versus manure on soil microbial communities and enzyme activities in an Aridisol. *Chemosphere*, 142, 145-152.
- Fathi Gerdelidani, A., Mirseyed Hosseini, H., & Farahbakhsh, M. (2016). Effect of spent mushroom compost (SMC) and sugar cane bagasse biochar on availability and fractions of inorganic phosphorus in a calcareous soil. *Journal of Agricultural Engineering*, 39(1), 127-177. (In Persian).
- Foster, E.J., Hansen, N., Wallenstein, M., Cotrufo, M.F. (2016). Biochar and manure amendments impact soil nutrients and microbial enzymatic activities in a semi-arid irrigated maize cropping system. *Agriculture, ecosystems and environment*, 233, 404-414.
- Galvez, A., Sinicco, T., Cayuela, M.L., Mingorance, M.D., Fornasier, F., Mondini, C. (2012). Short term effects of bioenergy by-products on soil C and N dynamics, nutrient availability and biochemical properties. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 160, 3-14.
- Ghani, W.A.W.A.K., Mohd, A., da Silva, G., Bachmann, R. T., Taufiq-Yap, Y.H., Rashid, U., Al-Muhtaseb, A.H. (2013). Biochar production from waste rubberwood- sawdust and its potential use in C sequestration: Chemical and physical characterization. *Industrial Crops and Products*, 44, 18-24.
- Gianfreda, L. (2015). Enzymes of importance to rhizosphere processes. *Journal of soil science and plant nutrition*, 15 (2), 283-306.
- Glaser, B., Lehmann, J., Zech, W. (2002). Ameliorating physical and chemical properties of highly weathered soils in the tropics with charcoal- a review. *Biology and Fertility of Soils*, 35, 219-230.
- Günel, E., Erdem, H., Demirbaş, A. (2018). Effects of three biochar types on activity of β -glucosidase enzyme in two agricultural soils of different textures. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 64 (14), 1963-1974.
- Hemwong, S., Cadisch, G., Toomsan, B., Limpinuntana, V., Vityakon, P., Patanothai A. (2008). Dynamics of residue decomposition and N₂ fixation of rain legumes upon sugarcane residue retention as an alternative to burning. *Soil and Tillage Research*, 99, 84-97.
- Hu, J., Lin, X., Wang, J., Dai, J., Chen, R., Zhang, J., Wong, M. H. (2011). Microbial functional diversity, metabolic quotient, and invertase activity of a sandy loam soil as affected by long-term application of organic amendment and mineral fertilizer. *Journal of Soils and Sediments*, 11(2), 271-280.
- Huang, D., Liu, L., Zeng, G., Xu, P., Huang, C., Deng, L., Wang, R., Wan, J. (2017). The effects of rice straw biochar on indigenous microbial community and enzymes activity in heavy metalcontaminated sediment. *Chemosphere*, 174, 545-553.
- Kai, M., Takazumi, K., Adachi, H., Wasaki, J., Shinano, T., Osaki, M. (2002). Cloning and characterization of four phosphate transporter cDNAs in tobacco. *Plant Science*, 163(4), 837-846.
- Kjeldahl, J. (1883). A New Method for the Determination of Nitrogen in Organic Matter. *Zeitschrift für Analytische Chemie*, 22, 366-382.
- Kussainova, M., Durmuş, M., Erkoçak, A., Kızılkaya, R. 2013. Soil dehydrogenase activity of natural macro aggregates in a toposequence of forest soil. *Eurasian Journal of Soil Science*, 2, 69-75.
- Laghari, M., Mirjat, M.S., Hu, Z., Fazal, S., Xiao, B., Hu, M., Chen, Z., Guo, D. (2015). Effects of biochar application rate on sandy desert soil properties and sorghum growth. *Catena*, 135, 313-320.
- Lal, R. (2004). Soil carbon sequestration impacts on global climate change and food security. *Science*, 304 (5677), 1623-1627.
- Lehmann, J., Gaunt, J., & Rondon, M. (2006). Bio-char sequestration in terrestrial ecosystems—a review. *Mitigation and adaptation strategies for global change*, 11(2), 403-427.
- Lemanowicz, J. (2018). Dynamics of phosphorus content and the activity of phosphatase in forest soil in the sustained nitrogen compounds emissions zone. *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 33773-33782.
- Lemanowicz, J., Bartkowiak, A. (2013). Diagnosis of the content of selected heavy metals in the soils of the Paluki region against their enzymatic activity. *Archives Environmental Protection*, 39, 23-32.
- Liang, B., Lehmann, J., Sohi, S. P., Thies, J. E., O'Neill, B., Trujillo, L., et al. (2010). Black carbon affects the cycling of non-black carbon in soil. *Organic Geochemistry*, 41, 206-213.
- Luo X, Wang L, Liu G, Wang X, Wang Z, Zheng H. (2016). Effects of biochar on carbon mineralization of coastal wetland soils in the Yellow River Delta, China. *Ecological Engineering*, 94, 329-336.
- Ma, X., Zhou, B., Budai, A., Jeng, A., Hao, X., Wei, D., Zhang, Y., and Rasse, D. (2016). Study of Biochar Properties by Scanning Electron Microscope – Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy (SEM-EDX). *Communications in Soil Sciences and Plant Analysis*, 47 (5), 593-601.
- Masto, R.E., Ansari, M.A., George, J., Selvi, V.A., Ram, L.C. (2013). Co-application of biochar and lignite fly ash on soil nutrients and biological parameters at different crop growth stages of *Zea mays*. *Ecological Engineering*, 58, 314-322.
- Matsuoka, M. (2006). Atributos biológicos de solos cultivados com videira na Região da Serra Gaucha. Universidade Federal do Rio Grande do

- Sul. Porto Alegre/RS. (Dissertação de mestrado).
- McHenry, M.P. (2009). Agricultural bio-char production, renewable energy generation and farm carbon sequestration in Western Australia: Certainty, uncertainty and risk. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 129 (1-3), 1-7.
- Merino, A., Fernández-López, A., Solla-Gullón, F., Edeso, J.M. (2004). Soil changes and tree growth in intensively managed *Pinus radiata* in northern Spain. *Forest Ecology and Management*, 196 (2-3), 393-404.
- Meyer-Kohlstock, D. Schmitz, T., Kraft, E. (2015). Organic Waste for Compost and Biochar in the EU: Mobilizing the Potential. *Resources*, 4(3), 457-475.
- Nelson, D.W., Sommers, L.E. (1982). Total Carbon, Organic matter. In: A. L. Page *et al.* (Ed.), Method of Soil Analysis. Part 2. 2nd ed. ASA and SSSA. Madison, WI. *Agron. Monogr*, 9, 539-577.
- Nelson, D.W., Sommers, L.E. 1996. Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods. *Soil Science Society of America Book*, 5, 961-1010.
- Nelson, R.E. (1982). Carbonate and gypsum. Methods of soil analysis. Part 2. 2nd ed. *Agron. Monogr*. 9. ASA and SSSA, Madison, WI. *Agronomy*, 9, 181-197.
- Nidiaye, E.L., Sandeno, J.M., McGrath, D., Dick, R.P. (2000). Intergarvity biological indicators for detecting change in soil quality. *American Journal of Alternative Agriculture*, 15, 26-36.
- Olander, L.P., Vitousek, P.M. (2000). Regulation of soil phosphatase and chitinase activity by N and P availability. *Biogeochemistry*, 49, 175-190.
- Peng, X., Ye, L.L., Wang, C.H., Zhou, H., Sun, B. (2011). Temperature- and duration-dependent rice straw-derived biochar: characteristics and its effects on soil properties of an Ultisol in southern China. *Soil and Tillage Research*, 112, 159-166.
- Piotrowska-Długosz, A., Wilczewski, E. (2014). Soil Phosphatase Activity and Phosphorus Content as Influenced by Catch Crops Cultivated as Green Manure. *Polish Journal Environmental Studies*, 23 (1), 157-165.
- Qambrani, N. A., Rahman, M. M., Won, S., Shim, S., and Ra, C. (2017). Biochar properties and eco-friendly applications for climate change mitigation, waste management, and wastewater treatment: a review. *Renewable and Sustainable Energy Review*, 79, 255-273.
- Roozitalab, M.H., Siadat, H., Farshad, A. (2018). The Soils of Iran. First ed. Springer, Switzerland: Springer, Cham.
- Saha, S., Mina, B., Gopinath, K., Kundu, S., Gupta, H. (2008). Organic amendments affect biochemical properties of a subtemperate soil of the Indian Himalayas. *Nutrient cycling in Agroecosystems*, 80(3), 233-242.
- Sajal, R., Abul Kashem, M.D. (2014). Effects of organic manures in changes of some soil properties at different incubation periods. *Open Journal of Soil Science*, 4, 81-86.
- Schmidt, M.W.I., Noack, A.G. (2000). Black carbon in soils and sediments: Analysis, distribution, implications and current challenges. *Global Biogeochemical Cycle*, 14, 777-793.
- Septien, S., Valin, S., Peyrot, M., Spindler, B., Salvador, S. (2013). Influence of steam on gasification of millimetric wood particles in a drop tube reactor: Experiments and modelling. *Fuel*, 103, 1080-1089.
- Silva, J.C., Gouveia, E.R. (2008). Algumas propriedades de endoglucanases produzidas por *Streptomyces* spp. em meio à base de bagaço de cana-de-açúcar. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*, 2, 60-70.
- Sinsabaugh, R.L., Hill, B.H., Follstad, Shah, J.J. (2009). Ecoenzymatic stoichiometry of microbial nutrient acquisition in soil and sediment. *Nature*, 462, 795-798.
- Sohi, S. P., Krull, E., Lopez-Capel, E., Bol, R. (2010). A review of biochar and its use and function in soil. In *Advances in agronomy*, 105, 47-82.
- Soil Survey Staff. (2014). Keys to Soil Taxonomy, 12th ed. USDA-Natural Resources Conservation Service, Washington, DC.
- Song, W., Guo, M. (2012). Quality variations of poultry litter biochar generated at different pyrolysis temperature. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 94, 138-145.
- Spokas K., Baker, J., Reicosky, D. (2010). Ethylene: potential key for biochar amendment impacts. *Plant and Soil*, 333, 443-452.
- Steiner, C., de Arruda, M.R., Teixeira, W.G., Zech, W. (2007). Soil respiration curves as soil fertility indicators in perennial central Amazonian plantations treated with charcoal, and mineral or organic fertilisers. *Tropical Science*, 47(4), 218-230.
- Sun Z, Bruun EW, Arthur E, de Jonge LW, Moldrup P, Hauggaard-Nielsen H, Elsgaard L. (2014). Effect of biochar on aerobic processes, enzyme activity, and crop yields in two sandy loam soils. *Biology and Fertility of Soils*, 50(7), 1087-1097.
- Tabatabai A. (1994). Soil enzymes. In Weaver, R.W., Angle, J.S., Bottomley, P.S. (Ed.). Methods of soil analyses. Part 2. Microbiological and biochemical properties. 2nd ed. Madison: *Soil Science Society of America*, 775-833.
- Tabatabai, M.A., Bremner, J.M., (1969). Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biology and Biochemistry*, 1, 301-307.
- Thies, J.E., Rillig, M.C., Graber, E.R. (2015). Biochar effects on the abundance, activity and diversity of the soil biota. In *Biochar for environmental management: science, technology and implementation*, 2nd edition, 327-389.
- Tian, L., Shi, W. (2014). Short-term effects of plant litter on the dynamics, amount, and stoichiometry of soil enzyme activity in agroecosystems. *European Journal of Soil Biology*, 65, 23-29.
- Usman, A.R.A., Al-Wabel, M.I., Ok, Y.S., Al-Harbi, A., Wahb-Allah, M., El-Naggar, A.H., Ahmad, M., Al-Faraj, A., Al-Omran, A. (2016). *Conocarpus*

- biochar induces changes in soil nutrient availability and tomato growth under saline irrigation. *Pedosphere*, 26, 27-38.
- Uzoma, K.C., Inoue, M., Andry, H., Fujimaki, H., Zahoor, A., Nishihara, E. (2011). Effect of cow manure biochar on maize productivity under sandy soil condition. *Soil Use and Management*, 27(2), 205-212.
- Wang, J.Y., Pan, X.J., Liu, Y.L., Zhang, X.L., Xiong, Z.Q. (2012). Effects of biochar amendment in two soils on greenhouse gas emissions and crop production. *Plant and Soil*, 360, 287-298.
- Wang, M., Markert, B., Shen, W., Chen, W., Peng, C., Ouyang, Z. (2011). Microbial biomass carbon and enzyme activities of urban soils in Beijing. *Environmental Science and Pollution Research*, 18 (6): 958-967.
- Wang, X., Zhou, W., Liang, G., Song, D., Zhang, X. (2015). Characteristics of maize biochar with different pyrolysis temperatures and its effects on organic carbon, nitrogen and enzymatic activities after addition to fluvo-aquic soil. *Science of the Total Environment*, 538, 137-144.
- Wang, Y., Zhang, L., Liu, D. (2003). Relationship among soil enzyme activities, vegetation state, and soil chemical properties of coal cinder yard. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 14, 110-112.
- Wyszkowska, J., Kucharski, J., Lajszner, W. (2005). Enzymatic Activities in Different Soils Contaminated with Copper. *Polish Journal of Environmental Studies*, 14(5).
- Yao, F.X., Arbestain, M.C., Virgel, S., Blanco, F., Arostegui, J., Macia-Agullo, J.A., Macias, F. (2009). Simulated geochemical weathering of a mineral ash-rich biochar in a modified Soxhlet reactor. *Chemosphere*, 80, 724-732.
- Yost, J.L., Hartemink, A.E. (2019). Effects of carbon on moisture storage in soils of the Wisconsin Central Sands, USA. *European Journal of Soil Science*, 70, 565-577.
- Yuan, J.H., Xu, R.K., Qian, W., Wang, R.H. (2011). Comparison of the ameliorating effects on an acidic ultisol between four crop straws and their biochars. *Journal of Soils and Sediments*, 11(5), 741-750.
- Zhao, X., Wang, S.Q., Xing, G.X. (2014). Nitrification, acidification, and nitrogen leaching from subtropical cropland soils as affected by rice straw-based biochar: laboratory incubation and column leaching studies. *Journal of Soils and Sediments*, 14, 471-482.
- Zhao, X., Yang, Y., Shen, H., Geng, X., Fang, J. (2019). Global soil-climate-biome diagram: linking surface soil properties to climate and biota. *Biogeosciences*, 16, 2857-2871.
- Zheng, H., Liu, Y., Zhang, J., Chen, Y., Yang, L., Li, H., Wang, L. (2018). Factors influencing soil enzyme activity in China's forest ecosystems. *Plant ecology*, 219(1), 31-44.