Water and Soil Management and Modeling

Online ISSN: 2783 - 2546

University of Mohaghegh Ardabili

Comparison of the application of unmodified and modified biochar and microorganisms on some microbial and ecophysiological indicators of soil contaminated with crude oil

Milad Biria[1], Habibalah Nadian Qomsheh[2], Hossein Motamedi[3], Bijan Khalili Moghadam[4]*, Nafiseh Rangzan[5]

[1] Ph.D. Student, Department of Soil Science and Engineering, Faculty of Agriculture, Agriculture Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran
[2] Professor, Department of Soil Science and Engineering, Faculty of Agriculture, Agriculture Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran
[3] Professor, Department of Biology, Faculty of Science and Biorefinery Research Center, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
[4] Associate Professor, Department of Soil Science and Engineering, Faculty of Agriculture, Agriculture Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran
[5] Assistant Professor, Department of Soil Science and Engineering, Faculty of Agriculture, Agriculture Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

Abstract

Introduction

Due to the presence of refineries and oil-rich areas in our country, the need for cost-effective and environmentally friendly methods is strongly felt. Biochar is a soil conditioner produced from the pyrolysis of organic residues. In addition to improving the quality of contaminated soils, it also improves the biological conditions of microorganisms involved in bioremediation. Using biochar in biological processes is both economical and affordable. Another point is that this material, compared to other similar products, is more economical and generally creates more tolerance in microorganisms against toxic compounds based on this, a study was implemented to compare the changes in the properties of biochar obtained from sugarcane bagasse and date palm through surface chemical activation with hydrogen peroxide (modified biochar) and unmodified biochar focusing on metabolic, enzymatic activities and the amount of microbial biomass in a saline calcareous soil. Contaminated with crude oil was implemented.

Materials and Methods

In this research, an experiment was carried out in the form of repeated measurements in time intervals. In the middle and at the end of the experimental period (60 and 120 days), the effect of different levels of unmodified and modified biochar of sugarcane and unmodified palm bagasse (one and two percent) along with microorganisms (with biochar and without biochar and a total of 57 test samples at two times) some biological characteristics and eco-physiological indicators of soil including basic microbial respiration, substrate-induced respiration, microbial carbon dioxide, dehydrogenase enzyme, microbial contribution and metabolic contribution were investigated. The biochar used was prepared from sugarcane bagasse and date palm waste. The wastes were prepared, dried, and pounded. Then they were heat treated at 400 °C for four hours. Then kept for a while to cool. Then they were modified with 10% hydrogen peroxide and kept at room temperature for 24 to 48 hrs. After that, they were placed in the oven at a temperature of 80 °C for 24 hrs and then they were ready to use. To measure basic microbial respiration using the method of Anderson et al. (2011) substrate-induced respiration using the method of Alef and Nannipieri (1995) microbial carbon dioxide using the fumigation method, dehydrogenase enzyme activity using the method of Cassida et al. (1964) and the microbial contribution was obtained by dividing the microbial biomass carbon by the organic carbon, and the metabolic contribution was obtained by dividing the basal respiration by the microbial biomass carbon.

Results and Discussion

The analysis of the variance table of repeated measurement of the effect of unmodified and modified biochar and microorganisms on the examined traits in the soil showed that in the outgroup effects, all treatments have significant differences with each other at the one percent level. In the intragroup effects, time had a similar status in all the investigated treatments. The interaction of time and treatments also showed a significant difference except in microbial biomass carbon and substrate-induced respiration in the rest of the treatments. The best results in dehydrogenase enzyme, microbial carbon dioxide, basal, and substrate-induced respiration were observed in the treatment of mixture four (a mixture of modified bagasse two percent and bacterial consortium two percent) for

Water and Soil Management and Modeling

Online ISSN: 2783 - 2546

University of Mohaghegh Ardabili

60 days, showing an increase in these traits by 70.98, 8.96, 53.97, and 53.54 %, respectively compared to the control treatment. The highest amount of microbial contribution was found in the control treatment of 120 days and the highest amount of metabolic contribution also was found in the treatment of a mixture three (mixture of unmodified bagasse one percent and bacterial consortium one percent) for 120 days, which has increase of this trait by 76.70% compared to the control treatment of 120 days.

Conclusion

In this research, all the microbial indicators measured in the soil showed a significant difference compared to the control treatment. Also, the results of this research showed that the addition of organic matter in soils contaminated with crude oil, such as unmodified and modified biochar, either alone or in interaction with microorganisms, can partially reduce the destructive effect of the stress caused by the pollutant (crude oil) and the microbial community. Biochar modification using hydrogen peroxide, as a relatively cheap and environmentally friendly modifying agent, increased the effect of biochar on the studied biological and ecophysiological properties, with the best results observed in the modified treatments. Sugarcane bagasse biochar had better results than date palm waste. This improvement was even greater when combined with microorganisms. It should be noted that biochar is not only effective in remediation but also stabilizes and neutralizes toxins. By using the results of this research, we can propose suitable solutions for their biological restoration according to the type of soil. Sugarcane bagasse biochar compared to date palm waste and the presence of microorganisms improved soil biological indicators. Therefore, biochar modification using hydrogen peroxide, as a relatively cheap and environmentally friendly modification agent, increased the effect of biochar on the studied biological and ecophysiological characteristics.

Keywords: Date palm, Dehydrogenase enzyme, Metabolic contribution, Microbial contribution, Respiration microbial, Sugarcane bagasse

Article Type: Research Article

Acknowledgment

Thanks to the Biology Department of the Shahid Chamran University of Ahvaz and Khuzestan University of Agricultural Sciences and Natural Resources for making this study possible.

Conflicts of interest

The authors of this article declare that they have no conflict of interest regarding the writing and publication of the contents and results of this research.

Data availability statement

The data and results used in this research will be available through correspondence with the corresponding author.

Authors' contribution

Milad Biria: Design and experiments, software/statistical analyses, writing the first version of the article, editing the article; **Habibola Nadian Qomsheh:** Guidance in conducting design and experiments, reviewing software/statistical analysis, writing the first version of the article, editing the article, sending the article and correspondence; **Hossein Motamedi:** Guiding the design and experiments, checking the software/statistical analysis and guiding the statistical design, conceptualization, editing and revising the article, controlling the results; **Bijan Khalili Moghadam:** Guidance, conceptualization, editing and revision of the article, control of the results; **Nafiseh Rangzan:** Guidance, conceptualization, editing and revision of the article, control of the results.

*Corresponding Author, E-mail: khalilimoghadam@asnrukh.ac.ir

Citation: Biria, M., Nadian Qomsheh, H.A., Motamedi, H., khalilimoghadam, B., & Rangzan, N. (2024). Comparison of the application of unmodified and modified biochar and microorganisms on some microbial and ecophysiological indicators of soil contaminated with crude oil. *Water and Soil Management and Modeling*, *4*(4), 33-56.
DOI: 10.22098/mmws.2023.13663.1356

Received: 11 September 2023, Received in revised form: 04 November 2023, Accepted: 04 November 2023, Published online: 04 November 2023
Water and Soil Management and Modeling, Year 2024, Vol. 4, No. 4, pp. 33-56

Publisher: University of Mohaghegh Ardabili
© Author(s)

مدل‌سازی و مدیریت آب و خاک

شاپا الکترونیکی: ۲۵٤٦-۲۷۸۳

مقایسهٔ کاربرد زغال‌زیستی اصلاح‌نشده و اصلاح‌شده و ریزموجودات بر برخی شاخص‌های میکروبی و اکوفیزیولوژیک خاک آلوده به نفت خام

میلاد بی‌ریا[۱]، حبیب‌اله نادیان قمشه[۲]، حسین معتمدی[۳]، بیژن خلیلی‌مقدم[۴*]، نفیسه رنگ‌زن[۵]

[۱] دانشجوی دکتری، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران

[۲] استاد، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران

[۳] استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشکدهٔ علوم، و مرکز تحقیقات پالایشگاه زیستی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

[۴] دانشیار، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران

[۵] استادیار، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران

چکیده

این مطالعه با هدف مقایسهٔ تغییر خصوصیات زغال‌زیستی حاصل از باگاس نیشکر و نخل خرما از طریق فعال‌سازی شیمیایی سطحی با پراکسیدهیدروژن (زغال‌زیستی اصلاح شده) و زغال‌زیستی اصلاح‌نشده بر فعالیت‌های متابولیکی، آنزیمی و میزان زیست‌تودهٔ میکروبی در یک خاک آهکی شور آلوده به نفت خام به مرحلهٔ اجرا درآمد. در این پژوهش آزمایشی در قالب طرح اندازه‌گیری‌های مکرر در زمان انجام شد. در اواسط و انتهای دورهٔ آزمایش (روز ۶۰ و ۱۲۰)، تأثیر سطوح مختلف زغال‌زیستی اصلاح‌نشده و اصلاح شدهٔ باگاس نیشکر و نخل خرمای اصلاح‌نشده (یک و دو درصد) به‌همراه ریزموجودات (با زغال‌زیستی و بدون زغال‌زیستی و در مجموع ۵۷ نمونهٔ آزمایشی در دو زمان) بر برخی ویژگی‌های زیستی و شاخص‌های اکوفیزیولوژیک خاک شامل تنفس پایهٔ میکروبی، تنفس ناشی از سوبسترا، کربن زی‌تودهٔ میکروبی، آنزیم دهیدروژناز، سهم میکروبی و سهم متابولیک بررسی شد. نتایج به‌دست آمده نشان داد که در اثرات برون گروهی، تمام تیمارها دارای تفاوت معناداری با یک‌دیگر در سطح یک درصد دارند. در اثرات درون‌گروهی، زمان در تمامی تیمارهای مورد بررسی وضعیت مشابهی داشت. برهم‌کنش زمان و تیمارها نیز جز در کربن زی‌تودهٔ میکروبی و تنفس ناشی از سوبسترا در باقی تیمارها تفاوت معناداری را نشان دادند. بهترین نتایج در آنزیم دهیدروژناز، کربن زی‌تودهٔ میکروبی، تنفس پایه و ناشی از سوبسترا متعلق به تیمار مخلوط چهار (مخلوط باگاس اصلاح شدهٔ دو درصد و کنسرسیوم باکتری دو درصد) با زمان ۶۰ روزه بود. لذا، میزان این متغیرها را نسبت به تیمار شاهد به‌ترتیب ۷۰/۹۸، ۸/۹۶، ۵۳/۹۷ و ۵۳/۵۴ درصد افزایش داده است. بالاترین میزان سهم میکروبی متعلق به تیمار شاهد ۱۲۰ روزه و بالاترین مقدار سهم متابولیک نیز متعلق به تیمار مخلوط سه (مخلوط باگاس اصلاح‌نشده یک درصد و کنسرسیوم باکتری دو درصد) با زمان ۱۲۰ روز بود که این متغیر را نسبت به تیمار شاهد ۱۲۰ روز ۷۶/۷۰ درصد افزایش داده است. بنابراین، اصلاح زغال‌زیستی با استفاده از پراکسیدهیدروژن، به‌عنوان یک عامل اصلاح‌کنندهٔ نسبتاً ارزان قیمت و دوستدار محیط زیست، سبب افزایش تأثیر زغال‌زیستی بر خصوصیات زیستی و اکوفیزیولوژیکی مورد مطالعه داشت. زغال‌زیستی باگاس نیشکر نسبت به ضایعات نخل خرما و حضور ریزموجودات باعث بهبود شاخص‌های زیستی خاک شد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم دهیدروژناز، باگاس نیشکر، تنفس میکروبی، سهم متابولیک، سهم میکروبی، نخل خرما

نوع مقاله: پژوهشی

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: khalilimoghadam@asnrukh.ac.ir

استناد: بی‌ریا، میلاد، نادیان قمشه، حبیب‌اله، معتمدی، حسین، خلیلی‌مقدم، بیژن، و رنگزن، نفیسه (۱۴۰۳). مقایسهٔ کاربرد زغال‌زیستی اصلاح‌نشده و اصلاح‌شده و ریزموجودات بر برخی شاخص‌های میکروبی و اکوفیزیولوژیک خاک آلوده به نفت خام. *مدل‌سازی و مدیریت آب و خاک*، ۴(۳)، ۳۳-۵۶.
DOI: 10.22098/mmws.2023.13663.1356

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۶/۲۰، تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۸/۱۳، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۸/۱۳، تاریخ انتشار: ۱۴۰۲/۰۸/۱۳

مدل‌سازی و مدیریت آب و خاک، سال ۱۴۰۳، دورهٔ ۴، شماره ۳، صفحه ۳۳ تا ۵۶

ناشر: دانشگاه محقق اردبیلی

© نویسندگان

۱- مقدمه

آلایندگی هیدروکربن‌های نفتی امروزه به‌عنوان یک معضل بزرگ محیط زیستی مورد توجه خاص قرار گرفته است. نفت مخلوطی از تعداد بسیار زیادی هیدروکربن‌های مختلف است. بیش‌ترین مولکول‌های یافت شدهٔ آلکان‌ها (پارافین‌ها)، سیکلوآلکان‌ها (نفتن ها)، هیدروکربن‌های معطر یا مواد شیمیایی پیچیده‌تری، مانند آسفالتین‌ها هستند. تحت شرایط احیایی و آلودگی خاک به‌دلیل کاهش فراوان تجزیهٔ میکروبی این آلاینده‌ها اثرات سمی آن‌ها به شدت افزایش یافته و پیامدهای خطرناک محیط زیستی را سبب می‌شود (Rahbari Sisakht, 2017; Lominchar et al., 2018). اگرچه روش‌های زیادی برای اصلاح خاک‌های آلوده به نفت خام توصیه شده است، اما نیاز به فناوری‌های مؤثر و سازگار با محیط زیست برای حذف هیدروکربن‌های نفتی اجتناب‌ناپذیر است. رویکردهای زیستی به‌دلیل اقتصادی‌بودن، عدم ایجاد آلودگی‌های ثانویه، پایداری و سلامت محیط زیست به‌عنوان یک فناوری برتر و قابل اعتماد مورد توجه و تأکید پژوهش‌گران قرار گرفته است (Wu et al., 2106). زیست‌پالایی مکانیزم طبیعی اصلی است که می‌تواند آلاینده‌های هیدروکربنی نفتی را از محیط پاک کند. در این فرآیند از ریزموجودات (عمدتاً باکتری‌ها) که در خاک زندگی می‌کنند و هیدروکربن‌های نفتی را تجزیه می‌نمایند، استفاده می‌شود. تعدادی از عوامل تخریب مؤثر برای کاهش سمیت آلودگی نفت در محیط با حذف، تخریب یا تبدیل آلاینده‌ها شناسایی شده است. بنابراین، در یک رویکرد زیستی مؤفق نیاز به درک کلیهٔ عوامل دخیل دارد.

اخیراً، تحریک زیستی و تقویت فعالیت‌های زیستی در پالایش زیستی خاک‌های آلوده به‌عنوان دو رویکرد فعال و امیدوارکننده مورد استفاده قرار گرفته است. تحریک زیستی شامل اقداماتی است که جامعهٔ میکروبی بومی خاک آلوده به نفت را تقویت کرده و افزایش زیستی، افزودن میکروب‌ها برای تخریب آلاینده‌ها به خاک است. تعداد کمی از مطالعات کارایی تحریک زیستی و مزیت مکمل کم‌تری را از تقویت زیستی توصیف کردند (Rajapaksha et al., 2016). ترکیب هر دو روش می‌تواند فعالیت میکروب‌ها را تحریک کرده و خواص خاک را بهبود بخشد؛ زیرا وجود هیدروکربن‌ها به دلیل سمیت آن‌ها، کمبود مواد غذایی و رقابت میکروب‌ها، فعالیت میکروب‌های بومی را مهار می‌کند (Saeed et al., 2022). افزودن اصلاح‌کننده‌های آلی مانند زغال‌زیستی به خاک احتمالاً می‌تواند راه‌کار مناسبی برای بهبود فعالیت میکروبی و آنزیمی خاک به خصوص در شرایط آلودگی باشد (Song et al., 2018; Saeed et al., 2022). زغال‌زیستی، یک پسماند غنی از کربن بوده که از تجزیه در اثر حرارت مواد آلی در حضور اندک اکسیژن و یا بدون حضور اکسیژن تشکیل می‌شود و به‌دلیل داشتن ساختار متخلخل و سطح ویژهٔ زیاد، می‌تواند زیستگاه‌های مناسبی را برای ریزموجودات فراهم نموده و فعالیت میکروبی خاک را افزایش دهد (Frene et al., 2021). اصلاح زغال‌زیستی جهت بهبود خصوصیات آن به روش‌های مختلف، با توجه به اهداف کاربرد آن در خاک، در سال‌های اخیر مورد توجه پژوهش‌گران قرار گرفته است (Jiang et al., 2020). معمولاً اسیدی کردن زغال‌زیستی می‌تواند سبب افزایش انحلال عناصر غذایی و ترکیبات موجود در ساختار زغال‌زیستی شده و بدین‌ترتیب ویژگی‌های خاک‌های آهکی را تحت تأثیر قرار دهد (Sahin et al., 2017). این روش اصلاح زغال‌زیستی با استفاده از ترکیبات مختلف مانند پراکسیدهیدروژن و اسیدهای آلی و معدنی می‌تواند افزون بر کاهش اسیدیتهٔ زغال‌زیستی، سایر ویژگی‌های آن مانند سطح ویژه، گروه‌های عاملی و ظرفیت تبادل کاتیونی را تحت تأثیر قرار دهد (Beiyuan et al., 2021). استفاده از پراکسیدهیدروژن به‌عنوان یک روش کارآمد در بهبود خواص زغال‌زیستی می‌تواند مطرح باشد. بعد از کاربرد پراکسیدهیدروژن در زغال‌زیستی، بعید است که در زغال‌زیستی باقی‌مانده و به‌صورت پسماند نامطلوب منتشر شود؛ بلکه به محصولات تمیز، مانند آب و اکسیژن تبدیل و به‌عنوان یک محصول اقتصادی و دوستدار محیط زیست قابلیت توصیه را دارد.

تأثیر زغال‌زیستی بر فعالیت ریزموجودات خاک و ویژگی‌های بیوشیمیایی خاک به‌دلیل تفاوت در نوع خاک، نوع زغال‌زیستی، ویژگی‌های آن و نوع زی‌توده و شرایط گرماکافت زغال‌زیستی در خاک‌های آلوده متفاوت است (Luo et al., 2018; Ali et al., 2019; Mansoor et al., 2021; Saeed et al., 2022). پژوهش‌ها نشان می‌دهد که افزودن ضایعات کشاورزی مانند پوستهٔ بادام زمینی، کاه برنج و زغال‌زیستی می‌تواند به‌عنوان یک محرک برای فعالیت‌های میکروبی استفاده شود (Xue et al., 2019). استفاده از موادی مانند زغال‌زیستی همان‌گونه که گفته شد جهت بهبود فعالیت‌های زیست‌پالایی انجام شده است. در کشور ما نیز مطالعاتی در این زمینه صورت پذیرفته است. به‌عنوان مثال، Habibi et al. (2017) تأثیر زغال‌زیستی و تیمارهای زیستی بر غلظت عناصر غذایی (فسفر، پتاسیم، کلسیم، منیزیم، آهن و منگنز) گیاه تاج خروس (*Amaranthus*) در یک خاک آلوده به ترکیبات نفتی را مورد مطالعه قرار دادند و گزارش کردند برای افزایش بهره وری پالایش آلودگی، به استفاده از مواد آلی و به‌طور مشخص زغال‌زیستی و تیمارهای باکتریایی توجه شود. در مطالعه‌ای Salimi et al. (2019) بهینه‌سازی زنده‌مانی باکتری غیربومی تجزیه‌گر مؤثر نفت اصلاح‌نشده در حامل‌های مختلف را مطالعه و بیان نمودند که حامل‌های پیت، سبوس، زغال‌زیستی به‌ترتیب واجد بیش‌ترین میزان جمعیت باکتری بودند. در مطالعهٔ دیگری، Turkashund et al. (2020) جداسازی، غربال‌گری و کارایی

جدایه‌های سودوموناس در تشکیل بیوفیلم بر حامل‌های آلی و معدنی و تجزیهٔ فنانترن را مورد مطالعه و گزارش کردند که بیش ترین میزان بیوفیلم تشکیل شده و بالاترین درصد تجزیهٔ نفت خام در تیمار زغال‌زیستی مشاهده شد.

با توجه به وجود پالایشگاه‌ها و مناطق نفت‌خیز در کشورمان لزوم استفاده از روش‌های مقرون به صرفه و دوستدار محیط زیست به شدت احساس می‌شود. استفاده از زغال‌زیستی در فرآیندهای زیستی بسیار اقتصادی و مقرون به صرفه است. نکتهٔ دیگر این‌که این ماده، در مقایسه با سایر محصولات مشابه، اقتصادی‌تر بوده و عموما تحمل بیش‌تری را در ریزموجودات در برابر ترکیبات سمی ایجاد می‌کند. در حقیقت پایداری میکروبی در مقابل ترکیبات سمی یکی از مهم‌ترین ویژگی‌های مورد نظر به‌منظور انتخاب ریزموجودات مناسب برای عملیات زیست‌پالایی است (Zingaro et al., 2013). یکی از موارد مهم در استفاده از زغال‌زیستی مدیریت ضایعات مربوط به هر منطقه می‌باشد (Lehman and Joseph, 2009). با توجه به حجم بالای ضایعات نیشکر و نخل خرما در اثر وجود شرکت‌های توسعهٔ نیشکر متعدد (۷ شرکت عمده) و نخلستان‌ها در استان خوزستان و دسترسی آسان و قیمت پایین و اقتصادی بودن آن‌ها این زی‌توده‌ها انتخاب شد. لازم به ذکر است که یکی از اهداف تولید زغال زیستی مدیریت ضایعات موجود در هر منطقه است که با توجه به فراوانی و غالبیت نوع زیست‌توده در هر منطقه جهت تولید زغال‌زیستی به‌کار گرفته می‌شود. هم چنین، سطوح انتخابی زغال زیستی با توجه به کاربردی و اقتصادی بودن سطح مصرف انتخاب شد. تاکنون در رابطه با اصلاح زغال‌های زیستی و تلقیح باکتری‌های تجزیه‌کنندهٔ نفت به آن‌ها و تأثیرشان در بهبود زیست‌پالایی در خاک‌های (آهکی) آلوده مطالعات جامعی در کشور صورت نگرفته است. بر این اساس، مطالعه‌ای با هدف مقایسهٔ تغییر خصوصیات زغال‌زیستی حاصل از باگاس نیشکر و نخل خرما از طریق فعال‌سازی شیمیایی سطحی با پراکسیدهیدروژن (زغال‌زیستی اصلاح شده) و زغال‌زیستی اصلاح‌نشده بر فعالیت‌های متابولیکی، آنزیمی و میزان زیست‌تودهٔ میکروبی در یک خاک آهکی شور به مرحله اجرا درآمد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- منطقهٔ مورد مطالعه

برای تهیّهٔ زغال‌های زیستی از باگاس نیشکر و ضایعات نخل خرما استفاده شد. زی‌تودهٔ باگاس نیشکر و ضایعات نخل خرما برای تولید زغال‌زیستی به‌دلیل فراوانی و در دسترس بودن محلی (دسترسی ساده در سطح استان خوزستان) آن‌ها استفاده شد. با توجه به حجم بالای تولید پسماندهای کشاورزی در استان خوزستان به‌خصوص باگاس نیشکر و محصولات مربوط به نخل خرما، استفاده از روشی کارآمد جهت مدیریت این ضایعات ضروری است. زی‌توده‌ها خشک شده و با آسیاب به ذرّات ریز تبدیل شده و پس از آن در کوره و بدون حضور اکسیژن در دمای ۴۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد به مدّت دو الی سه ساعت گرماکافت شدند. تهیّهٔ زغال‌زیستی و آزمایشات در دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز انجام شد (Rajkovich et al., 2011; Park et al., 2015). این منطقه در مختصات جغرافیایی ۴۸ درجه و ۳۹ دقیقهٔ شرقی و ۳۱ درجه و ۱۸ دقیقهٔ شمالی و ارتفاع ۱۷ متر از سطح دریا قرار دارد. بر اساس اطلاعات ایستگاه هواشناسی، متوسط سالانهٔ دما ۲۶ درجهٔ سلسیوس، میانگین بارندگی سالانه ۴۳ میلی‌متر و اقلیم منطقه مطابق با اقلیم نمای آمبرژه بیابانی گرم میانه است. هم‌چنین، اهواز دارای تابستان‌های گرم و طولانی و زمستان‌های معتدل و کوتاه است (General Department of Meteorology of Khuzestan Province, 2016).

۲-۲- خاک مورد مطالعه

خاک منطقه یک خاک آهکی با اسیدیتهٔ نزدیک به خنثی بود. خصوصیات خاک مورد مطالعه در جدول ۲ آورده شده است.

۲-۳- فعّال‌سازی شیمیایی و سطحی با پراکسید هیدروژن

زغال‌زیستی تولید شده با محلول ۱۰ درصد پراکسید هیدروژن در دمای اتاق به مدّت ۴۸-۲۴ ساعت بدون هم‌زدن قرار گرفت. پس از آن زغال‌های زیستی در دمای ۸۰ درجهٔ سانتی‌گراد به مدّت ۲۴ ساعت خشک شدند (Usman et al., 2015; Takaya et al., 2016)

۲-٤- تعیین خصوصیات زغال‌های زیستی مورد مطالعه

مقدار کربن، هیدروژن، نیتروژن و گوگرد زغال‌زیستی با دستگاهٔ CHNS Analayzer مدل LEO 1455 VP اندازه‌گیری شد. اکسیژن نیز از رابطهٔ (۱) به‌دست آمد:

$$O = 100 - (S + N + C + Ash) \qquad (۱)$$

ریخت‌شناسی زغال‌زیستی با دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی در آزمایشگاه مرکزی دانشگاهٔ لرستان مشخص شد. سطح‌ویژهٔ زغال‌زیستی توسط دستگاه اندازه‌گیری سطح‌ویژهٔ مدل Nano Sord به‌دست آمد. ویژگی‌های خاک مورد مطالعه در جدول ۱ و زغال‌زیستی تولید شده از باگاس نیشکر و نخل خرما در جدول ۲ آمده است. برای اندازه‌گیری هدایت الکتریکی و اسیدیتهٔ زغال‌زیستی از نسبت ۱۰ به یک زغال‌زیستی به آب استفاده شد. برای مدت ۲۴ ساعت این محلول نگهداری شده و سپس هدایت الکتریکی و اسیدیتهٔ آن قرائت شد (Rajkovich et al., 2011). برای به‌دست آوردن ظرفیت تبادل کاتیونی از روش استات آمونیوم استفاده شد (Rajkovich et al., 2011). جهت تعیین گروه‌های عاملی زغال‌زیستی از روش طیف

سنجی مادون قرمز استفاده شد. طیف‌های IR مواد جامد سنتز شده، با قرص KBr و در دامنه $4000-400 cm^{-1}$ توسط دستگاه طیف‌سنجی FT-IR مدل BOME/MB 10 ثبت شد. هم‌چنین، نسبت‌های O/C و H/C زغال‌های زیستی مورد مطالعه محاسبه شد

۲-۵- تعیین خصوصیات خاک

در این پژوهش آزمایشی در قالب طرح اندازه‌گیری‌های مکرر در زمان انجام شد. در اواسط و انتهای دورهٔ آزمایش (۶۰ و ۱۲۰ روز)، تأثیر سطوح مختلف زغال‌زیستی اصلاح‌نشده و اصلاح‌شدهٔ باگاس نیشکر و نخل اصلاح‌نشده (یک و دو درصد) به همراه ریزموجودات (با زغال‌زیستی و بدون زغال‌زیستی و در مجموع ۵۷ نمونه آزمایشی در دو زمان) بر برخی ویژگی‌های زیستی و شاخص‌های اکوفیزیولوژیک خاک شامل تنفس پایهٔ میکروبی، تنفس ناشی از سوبسترا، کربن زی‌توده میکروبی، آنزیم دهیدروژناز، سهم میکروبی و سهم متاوبولیک بررسی شد.

خاک مورد مطالعه از عمق صفر تا۳۰ سانتی‌متری مزارع بایر دانشگاه شهید چمران اهواز نمونه‌برداری شد. نمونه خاک پس از انتقال به آزمایشگاه، هواخشک شده و از الک دو میلی‌متری عبور داده شد. طبق دستورالعمل استاندارد این پروتکل‌ها انجام شد تا خاک یکنواخت و از ناخالصی عاری شده و آزمایشات به خوبی انجام شود چون خاک نباید برای آزمایشات رطوبت داشته باشد. باید خشک و از الک دو میلی‌متری عبور داده شود تا ذرات نرم جدا و بزرگ‌تر از دو میلی‌متر (سنگریزه و غیره) روی الک باقی بمانند.
برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مانند بافت به روش هیدرومتری (Page et al., 1982)، pH خاک در عصارهٔ گل اشباع توسط pH متر (McLean et al., 1983)، هدایت الکتریکی (Page et al., 1982)، کربن آلی با روش والکلی و بلک (Walkley and Black, 1934)، کربنات کلسیم معادل (CCE) به روش استات‌سدیم نرمال (Rhoads, 1986) و فسفر قابل‌جذب به روش اولسن (Olsen et al., 1954) اندازه‌گیری شد. هم‌چنین، غلظت عناصر (نیتروژن کل) با استفاده از دستگاه ICP-analayser آزمایشگاه مرکزی دانشگاه شهید چمران اهواز قرائت شد.

۲-٦- آلوده‌سازی خاک (تهیّهٔ خاک آلوده به نفت خام)

نمونهٔ خاک مورد مطالعه پس از هواخشک شدن و عبور از الک دو میلی‌متری با غلظت یک درصد وزنی نفت خام در پنج کیلوگرم خاک اسپری شده و آلوده شد. برای تکامل واکنش‌های شیمیایی، خاک آلوده به مدت چهار ماه در رطوبت ظرفیت‌زراعی و در دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شد (Mishra et al., 1991; Shaheswarzadeh Janghi et al., 2007; Sharifi Hosseini et al., 2009; Kavousi Bafti et al., 2013). سپس به خاک‌های آلوده‌شده، تیمارهای مورد نظر اعمال شد.

۲-۷- جدایه‌های (باکتری‌های) مورد استفاده در آزمایش

جدایه‌های مورد استفاده در این پژوهش بر اساس توانایی تجزیهٔ آلاینده‌های نفتی در مطالعهٔ قبلی انجام شده در گروهٔ زیست‌شناسی دانشگاهٔ شهید چمران که از خاک‌های آلوده به نفت جنوب خوزستان جداسازی شده بودند، انتخاب شدند (Omidpur et al., 2015). همان‌گونه که ذکر شد ریزموجودات مورد بررسی، باکتری‌های تجزیه‌کنندهٔ نفت بودند که از مناطق نفت‌خیز جنوب استان خوزستان جمع‌آوری شده بودند. لازم به ذکر است که این باکتری‌ها نسبت به شوری مقاوم بودند. هم‌چنین، بیماری‌زایی نیز برای این ریزموجودات گزارش نشده است. خصوصیات باکتری‌های مورد استفاده در این مطالعه در جدول ۱ آورده شده است.

۲-۸- نحوهٔ آماده‌سازی باکتری برای تلقیح به خاک

سوسپانسیون از باکتری معادل کدورت نیم مک‌فارلند به میزان یک درصد به ۵۰ گرم زغال‌زیستی و دو درصد به ۱۰۰ گرم زغال‌زیستی اضافه شد. باکتری‌ها در دمای ۳۰ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت کشت شده و جهت تلقیح آماده شدند. در این پژوهش کنسرسیوم باکتری (ترکیب چهار باکتری) (جدول ۱) تهیه و به زغال‌های زیستی تلقیح و به خاک آلوده افزوده شد (Zhang et al., 2019; Salimi et al., 2019). شایان ذکر است که جمعیت ریزموجودات بیش‌تر از نیم مک‌فارلند بود؛ در هر تیمار غلظت سوسپانسیون معادل ۱۰ به توان هشت CFU/ml بوده است. (به میزان ۵۰ گرم برای یک درصد و ۱۰۰ گرم برای دو درصد که به‌صورت محلول آماده شدند).

۲-۹- اندازه‌گیری ویژگی‌های نفت خام

برای اندازه‌گیری ویژگی‌های نفت خام مورد استفاده، از روش Tavalla and Massomi (1998) استفاده شد. A.P.I، چگالی ظاهری به روش وزنی و فلزات سنگین موجود در نفت خام با استفاده از دستگاه ICP-Analayzer اندازه‌گیری شد.

جدول ۱- ویژگی‌های جدایه‌های مورد استفاده در این پژوهش

Table 1- Characteristics of isolates used in this research

جدایه	اسم جدایه	رنگ‌آمیزی گرم	مقاومت به شوری NaCl		مقاومت به فلزات سنگین Ni	مقاومت به فلزات سنگین Cd	منبع
			5 درصد	10 درصد	100 میلی‌گرم بر کیلوگرم	میلی‌گرم بر کیلوگرم	
1	*Halomonas meridian*	کوکوباسیل گرم مثبت	+	+	+	مقاوم تا غلظت 1.5 میلی‌گرم در کیلوگرم	گل حفاری شماره 104 میدان نفتی آزادگان
2	*Bacilus safensis*	باسیل گرم مثبت	+	-	+	مقاوم تا غلظت 1.5 میلی‌گرم در کیلوگرم	سوسپانسیون آب و گل حفاری چاه شماره 104 میدان نفتی آزادگان
3	*Staphylocaccuss pasteuri*	باسیل گرم مثبت	-	-	+	مقاوم تا غلظت 15 میلی‌گرم در کیلوگرم	سوسپانسیون آب و گل حفاری چاه شماره 103 میدان نفتی منصوری
4	*Bacilus cereus*	باسیل گرم مثبت	+	-	+	مقاوم تا غلظت 1.5 میلی‌گرم در کیلوگرم	سوسپانسیون آب و گل حفاری چاه شماره 87 میدان نفتی آزادگان

۲-۱۰- شاخص‌های زیستی

برای اندازه‌گیری تنفس میکروبی پایه (BR) و تنفس ناشی از سوبسترا به‌ترتیب از روش Anderson et al. (1982) و Alef and Nannipieri (1995) استفاده شد. کربن زی‌تودهٔ میکروبی به روش تدخین با کلروفرم مورد اندازه‌گیری قرار گرفت (Horwath and Paul, 1984). برای تعیین فعالیت آنزیم دهیدروژناز نیز از روش Cassida et al. (1964) استفاده شد.

۲-۱۱- شاخص‌های اکوفیزیولوژیک

سهم متابولیک و سهم میکروبی به‌ترتیب از تقسیم کربن اندازه گیری شده در تنفس پایه بر کربن زی‌تودهٔ میکروبی خاک و تقسیم کربن زی‌تودهٔ میکروبی بر کربن آلی به‌دست می‌آید (Martens, 1991).

۲-۱۲- طرح آماری و تیمارها

در این پژوهش آزمایشی در قالب طرح اندازه‌گیری‌های مکرر در زمان انجام شد. در اواسط و انتهای دورهٔ آزمایش (۶۰ و ۱۲۰ روز)، تأثیر سطوح مختلف بیوچار اصلاح‌نشده و اصلاح‌شدهٔ باگاس نیشکر و نخل خرما (یک و دو درصد) به همراه ریزجانداران (با زغال‌زیستی و بدون زغال‌زیستی و در مجموع ۵۷ نمونهٔ آزمایشی در دو زمان) انجام شد. بر اساس مرور منابع و مقادیر استفاده شده و نتایج موجود سطوح یک و دو درصد وزنی انتخاب شد. اقتصادی و کاربردی‌بودن نیز از دیگر دلایل انتخاب این سطوح بود. هم چنین، مبنای دورهٔ آزمایش بر اساس فعالیت ریزموجودات و تأثیرگذاری آن‌ها بر تجزیه و زیست‌پالایی نفت خام و بررسی و مرور منابع و مقالات بود. در مقالات مورد بررسی دوره‌های ۶۰ و ۱۲۰ روزه در نظر گرفته شده بود (Basaltpour, 2005; Zhang et al., 2019) که در زمان ۶۰ روز بیش‌تر تجزیهٔ نفت خام انجام شده بود که برای مطالعهٔ بهتر و کامل‌تر تا ۱۲۰ روز دوره ادامه داده شد. هم‌چنین، جهت بررسی معناداری بین تیمارها این دو زمان (۶۰ و ۱۲۰) انتخاب شد. چون معمولا در زمان ۱۵ روز تفاوت معنادار و تأثیر تیمارها به خوبی مشخص نیست. تعداد بالای تیمارها و شاخص‌های مورد بررسی و بحث هزینه‌ها نیز از دلایل دیگر انتخاب این روزها در دورهٔ ۱۲۰ روزه بود. ولی علت اصلی انتخاب همان بحث معناداری بود.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- تجزیهٔ آماری

تجزیهٔ آماری داده‌ها با نرم‌افزار SAS، رسم جداول با برنامه Excel و مقایسهٔ میانگین‌ها با آزمون توکی انجام شد. نتایج بررسی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک، زغال‌های زیستی و نفت خام به‌ترتیب در جدول‌های ۲، ۳ و ۴ آمده است.

بر اساس نتایج ارائه‌شده در جدول ۲، خاک مورد استفاده در پژوهش یک خاک آهکی با مقدار کربن آلی کم است و از لحاظ میزان نیتروژن دارای محدودیت است. اسیدیتهٔ خاک نزدیک به خنثی بوده، دارای شوری بالا و مقدار پتاسیم از حد مطلوب آن در خاک کم‌تر است. مقدار فسفر در حد مطلوبی بوده و نیازی به کوددهی از لحاظ فسفر نیست. ظرفیت تبادل کاتیونی خاک نیز در حد متوسط است (Metson, 1961).

جدول۲- ویژگی‌های خاک مورد مطالعه

Table 2- Characteristics of the studied soil

ویژگی	واحد	مقدار
بافت خاک	–	لوم‌رسی
اسیدیته	–	7.42
EC	دسی‌زیمنس بر متر	16.15
نیتروژن	درصد	0.06
فسفر	میلی‌گرم بر کیلوگرم	11.26
پتاسیم	میلی‌گرم بر کیلوگرم	143.83
کربنات کلسیم	درصد	42.18
کربن آلی	درصد	0.51
ظرفیت تبادل کاتیونی	سانتی‌مول بر کیلوگرم	13.40

نتایج جدول ۳ نشان داد که زغال‌های زیستی مورد مطالعه دارای هدایت الکتریکی نسبتا زیاد، کربن آلی بالا و ظرفیت تبادل کاتیونی مناسب بودند. بهترین نتایج مربوط به تیمار باگاس نیشکر اصلاح‌شده بود؛ که نشان‌دهندهٔ نقش مثبت اصلاح زغال‌های زیستی در بهبود کیفیت آن‌ها است (Lehman and Joseph, 2009; Usman et al., 2015; Takaya et al., 2016).

جدول ۳- ویژگی‌های زغال‌زیستی مورد مطالعه

Table 3- Characteristics of studied biochar

ویژگی	واحد	زغال‌زیستی باگاس نیشکر		زغال‌زیستی نخل خرما	
		اصلاح‌نشده	اصلاح‌شده	اصلاح‌نشده	اصلاح‌شده
pH	–	7.75	6.57	8.31	7.60
EC	دسی‌زیمنس بر متر	9.55	9.38	7.55	7.15
کربن	درصد	55.46	45.40	50.01	43.47
نیتروژن	درصد	2.30	1.92	1.59	1.07
هیدروژن	درصد	7.94	10.39	6.69	7.63
اکسیژن	درصد	15.25	29.42	12.77	25.31
گوگرد	درصد	5.18	1.53	18.09	13.79
ظرفیت تبادل کاتیونی	سانتی‌مول بر کیلوگرم	59.80	78.03	45.80	61.53
سطح ویژه	متر بر گرم	162.40	134.42	101.90	89.73
O/C	–	0.27	0.65	0.25	0.58
H/C	–	0.14	0.23	0.13	0.17
C/N	–	24.11	23.64	31.45	40.63

نتایج موجود در جدول ۴ نشان داد که نفت خام از لحاظ کادمیوم و سرب دارای محدودیت نیست اما از نظر نیکل دارای مقدار بالایی است (Pollution Standards of Soil Sources and its Guidelines, 2022). نفت خام با توجه به میزان A.P.I از نوع نفت خام سنگین بود (Heydari Fard, 2002). هم‌چنین، چگالی آن نیز حدود ۱/۲ گرم بر سانتی‌متر مکعب است.

جدول ٤- خصوصیات نفت خام مورد استفاده

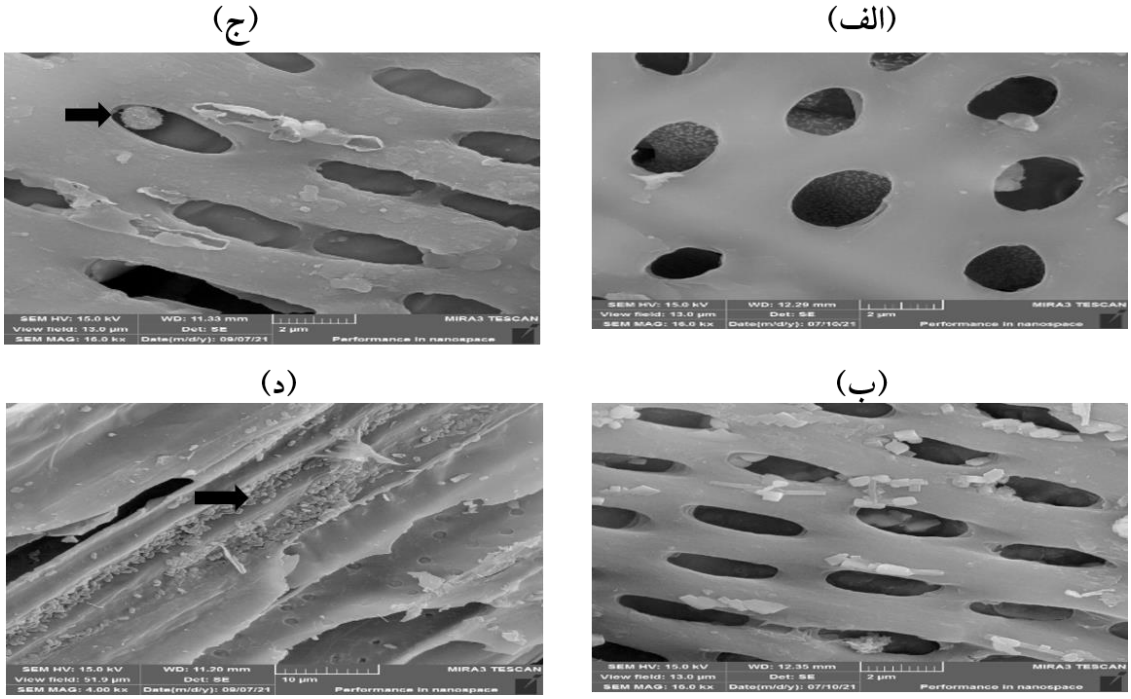
Table 4- Properties of crude oil used

ویژگی	مقدار
A.P.I	4.3
چگالی (گرم بر سانتی‌متر مکعب)	1.18
Cd (درصد)	ND
Pb (درصد)	ND
Ni (درصد)	0.071

۳-۲- ریخت‌شناسی زغال‌های زیستی مورد استفاده

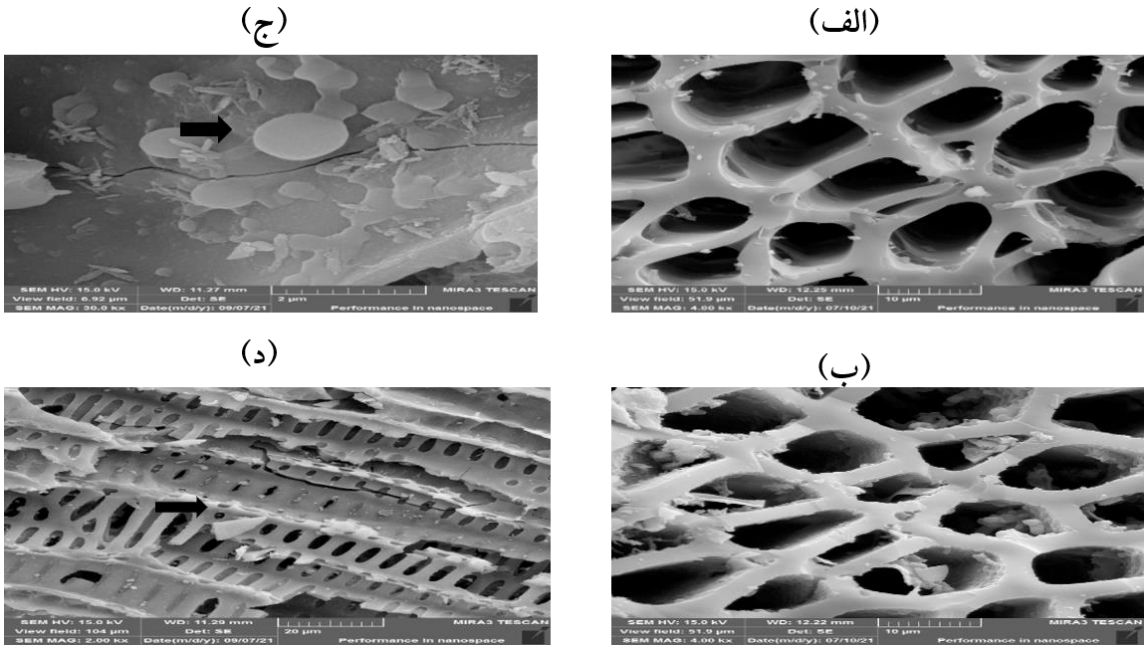
نتایج مربوط به تصویربرداری میکروسکوپ الکترونی روبشی زغال‌های زیستی مورد استفاده در پژوهش در شکل ۱ و ۲ آورده شده است.

سطوح زغال‌زیستی اصلاح‌نشده (شکل‌های ۱ و ۲، الف و ج) با ساختارهای دانه‌ایی نسبتاً ناهموار همراه بود، در حالی‌که سطوح زغال‌زیستی اصلاح‌شده با پراکسیدهیدروژن (شکل‌های ۱و ۲، ب و د) دارای ساختار ظریف و آمورف بوده و خلل و فرج آن بیش‌تر شده است. در پژوهشی، Li et al. (2014) گزارش دادند که اصلاح زغال‌زیستی سبب افزایش میزان خلل و فرج در آن شده است. بهترین ویژگی‌ها (ساختار آمورف و خلل و فرج زیادتر) را در تیمار زغال‌زیستی باگاس نیشکر اصلاح‌شده (شکل۱–ب) به‌دست آمد. تجزیهٔ میکروسکوپ الکترون روبشی نشان داد که زغال‌زیستی باگاس نیشکر اصلاح‌شده ساختاری ناهمگن و غنی از شکاف‌ها و کانال‌ها دارد. در پژوهش دیگری، Shaaban et al. (2013) و Suárez-Hernández et al. (2017) بیان کردند که اصلاح زغال‌زیستی با پراکسیدهیدروژن سبب افزایش ظرفیت تبادل کاتیونی، گروه‌های عاملی اکسیژن‌دار و هیدروژن و اکسیژن و خلل و فرج می‌شود، که با نتایج به‌دست آمده در پژوهش حاضر (شکل‌های ۱ تا ۳ و جدول ۳) در یک راستا قرار دارد. جدول ۳ نشان می‌دهد که زغال‌زیستی باگاس نیشکر اصلاح‌نشده بیش ترین مقدار سطح‌ویژه و زغال‌زیستی نخل خرما اصلاح‌شده کم ترین مقدار این شاخص را دارا بود. نتایج به‌خوبی با مشاهدات مربوط به تغییرات سطح ویژه مطابقت داشتند؛ زیرا اصلاح زغال‌های زیستی توسط پراکسیدهیدروژن سبب اکسیده‌کردن سطح زغال‌های زیستی و در نتیجه کاهش سطح ویژه می‌شود. علاوه بر آن، افزوده شدن گروه‌های عاملی خود قسمتی از سطوح را اشغال نموده و سبب کاهش آن شد.



شکل ۱- تصاویر میکروسکوپ الکترون روبشی زغال‌های زیستی باگاس نیشکر؛ اصلاح‌نشده (الف)، اصلاح‌شده (ب)، اصلاح‌نشده و کنسرسیوم باکتری (ج) و اصلاح‌شده و کنسرسیوم باکتری (د)

Figure 1- Scanning electron microscope images of sugarcane bagasse Biochars; unmodified (a), modified (b), unmodified and Bacteria consortium (C), and modified band Bacteria consortium (D)

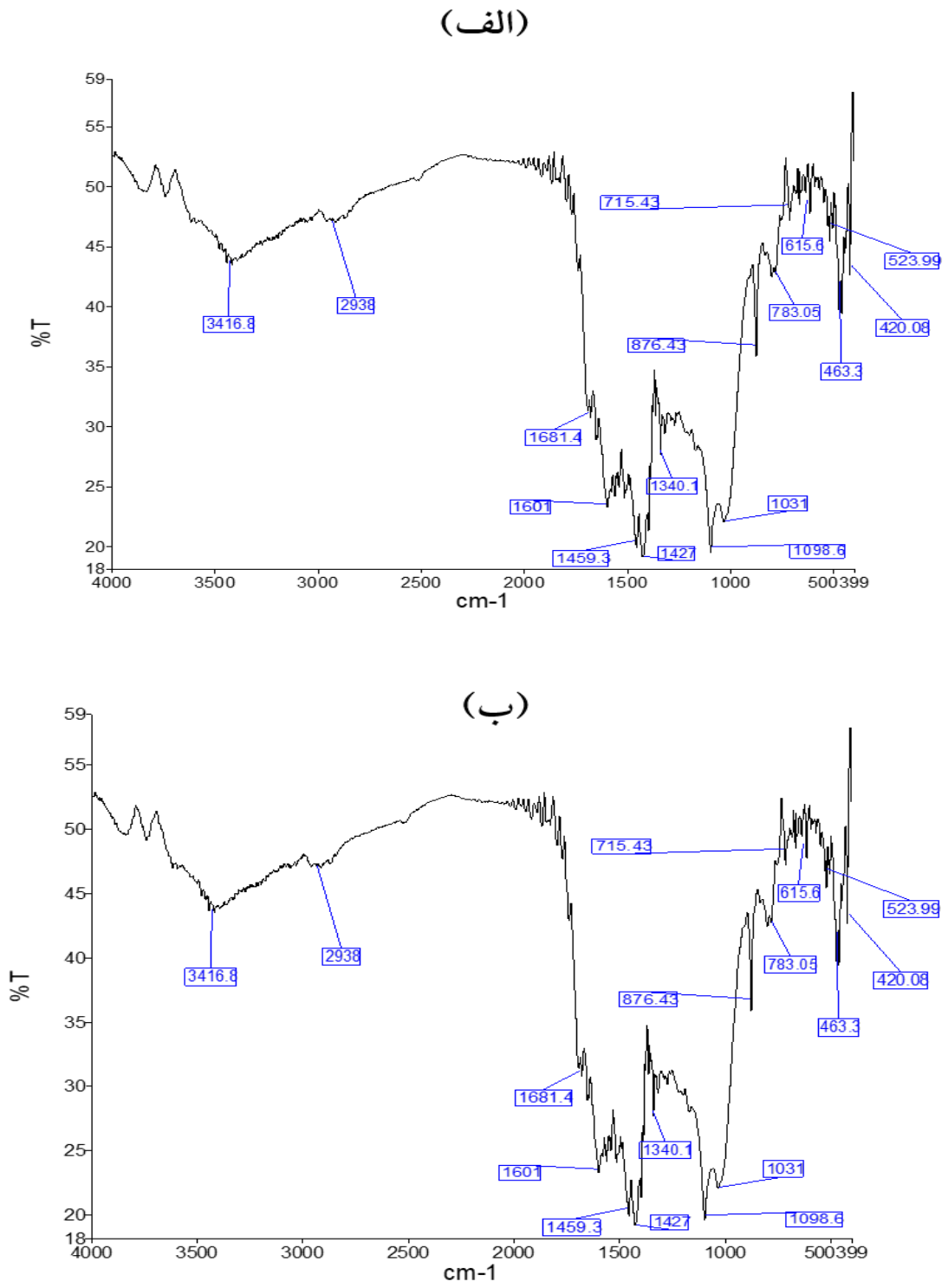


شکل ۲- تصایر میکروسکوپ الکترون روبشی زغال‌های زیستی نخل خرما؛ اصلاح‌نشده (الف)، اصلاح‌شده (ب)، اصلاح‌نشده و کنسرسیوم باکتری (ج) و اصلاح‌شده و کنسرسیوم باکتری (د)

Figure 2- Scanning electron microscope images of studied Biochars; unmodified date palm Biochar (A), modifed date palm Biochar (B), unmodified b date palm and Bacteria consortium (C), and modified date palm and Bacteria consortium (D)

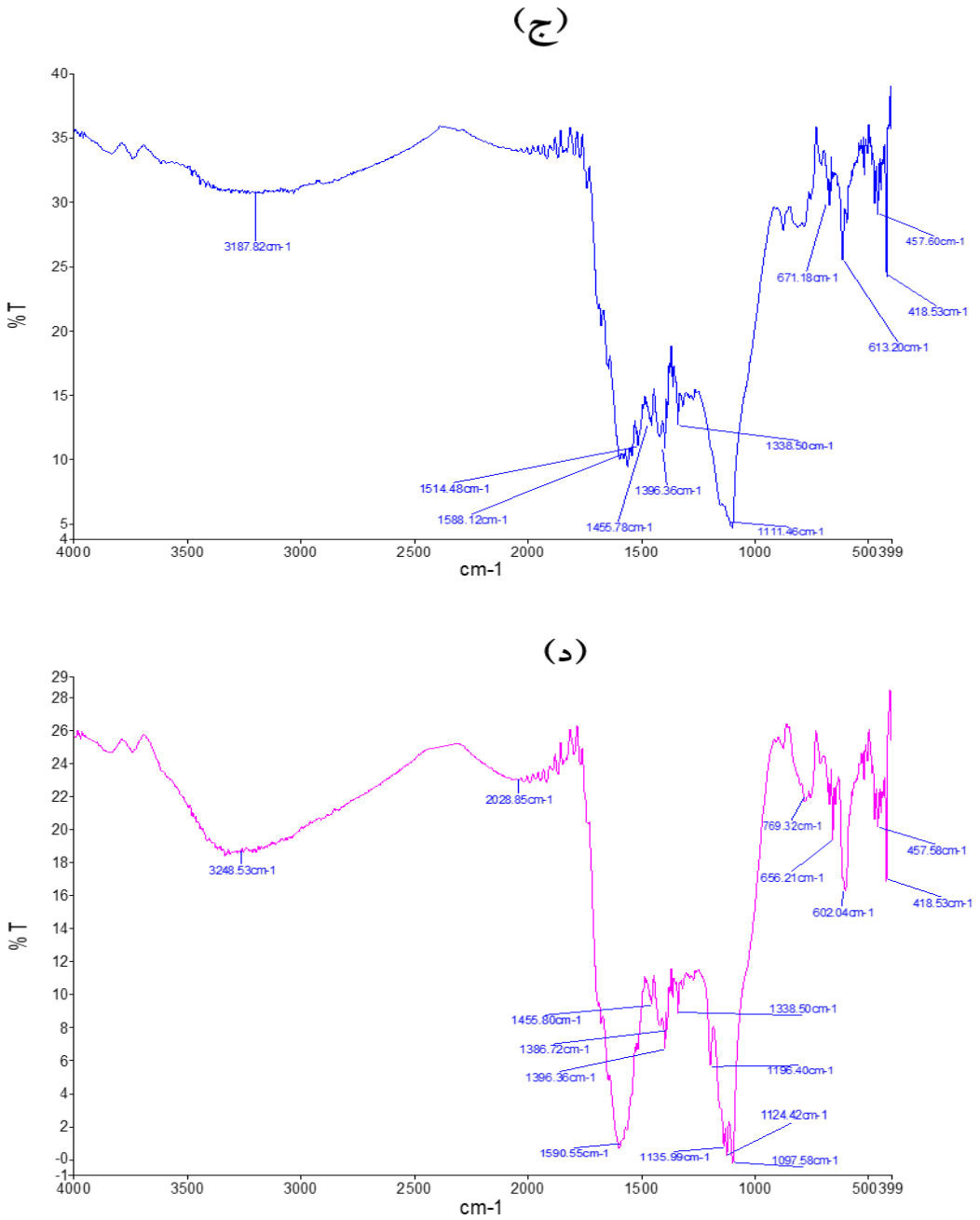
۳-۳- طیف‌سنجی مادون قرمز تیمارهای مورد مطالعه

در شکل ۳ طیف‌سنجی مادون قرمز زغال‌های زیستی باگاس نیشکر اصلاح‌شده، نیشکر اصلاح‌نشده، نخل اصلاح‌شده و اصلاح‌نشده ارائه شده است.



شکل ۳ – طیف‌سنجی مادون قرمز زغال‌های زیستی مورد استفاده؛ زغال‌زیستی باگاس نیشکر اصلاح‌نشده (الف) و باگاس نیشکر اصلاح‌شده (ب)

Figure 3- Infrared spectroscopy of biochar used; unmodified sugarcane bagasse charcoal (a), and modified sugarcane bagasse (b)



ادامهٔ شکل ۳ – طیف‌سنجی مادون قرمز زغال‌های زیستی مورد استفاده؛ زغال‌زیستی نخل اصلاح‌نشده (ج) و زغال‌زیستی نخل اصلاح‌شده (د)

Figure 3- Infrared spectroscopy of biochar used; unmodified palm charcoal (c), and modified palm charcoal (d)

تجزیهٔ طیف‌سنجی مادون قرمز زغال‌های زیستی مورد مطالعه در محدودهٔ cm^{-1} ۴۰۰۰–۴۰۰ انجام شد. نتایج به‌دست آمده در شکل ۳ نشان داد زغال‌های زیستی مورد مطالعه دارای گروه‌های عاملی متنوعی از جمله فنول (-OH) حدود cm^{-1} ۳۴۳۰، گروه‌های زنجیزهٔ آلیفاتیک (CH) حدود cm^{-1} ۲۹۲۲، کششی آروماتیک (C=C) حدود cm^{-1} ۱۶۲۰، گروه‌های (C=O) cm^{-1} حدود ۱۵۸۰، گروه (-COO) حدود cm^{-1} ۱۴۰۰ و گروه‌های (C-O) حدود cm^{-1} ۱۰۸۰ بودند (Wang et al., 2013; Luo et al., 2018; Chen et al., 2018; Dong et al., 2017). نوار cm^{-1} ۳۵۰ باید به نوار CO اشباع اختصاص یابد (Dong et al., 2017). نتایج طیف‌سنجی مادون قرمز نشان‌دهندهٔ افزایش میزان گروه‌های عاملی اکسیژن‌دار در زغال‌های زیستی نسبت به تیمارهای اوّلیّه است. به‌عبارت بهتر از طریق مقایسهٔ بین زغال‌های زیستی اصلاح‌نشده و اصلاح‌شده می‌توان مشاهده کرد که باندهای اختصاص داده شده به گروه‌های

حاوی اکسیژن قوی‌تر بود. ظرفیت فعّال‌سازی زغال‌زیستی با گروه‌های عاملی مرتبط است. اصلاح توسط پراکسیدهیدروژن منجر به قوی‌تر شدن باندهای اختصاص داده شده به گروه‌های حاوی اکسیژن (C=O، COO- و C-O) شد (Sun et al., 2019). در رابطه با تیمارهای مورد بررسی، شدت اوج در زغال‌زیستی باگاس نیشکر اصلاح‌شده نسبت به سایر تیمارها بیش‌تر بود (شکل ۴)، که نشان‌دهندهٔ بیش‌تر بودن گروه‌های حاوی اکسیژن در آن است. این مسئله به احتمال زیاد به علّت افزوده شدن اکسیژن و هیدروژن در اثر اصلاح زغال‌های زیستی اصلاح‌نشده می‌باشد، که منجر به افزایش گروه‌های عاملی حاوی اکسیژن شده است. این موضوع باعث بهبود وضعیت جذب عناصر و تثبیت آلاینده‌ها در زغال‌زیستی می‌شود (Takaya et al., 2016). گروه‌های عاملی -OH و C=O روی سطوح زغال‌زیستی می‌توانند به‌عنوان الکترون عمل کرده و برهم‌کنش‌های الکترون‌ها را با آلاینده فراهم نمایند، که در واقع تأمین‌کنندهٔ هدف ما از تولید و اصلاح زغال‌های زیستی مورد مطالعه است (Chen et al., 2018; Luo et al., 2018). اوج نیز در تیمارهای اصلاحی دارای قلّه‌های بلندتر و شارپ‌تری نسبت به تیمارهای اصلاح‌نشده می‌باشند که بیان‌گر افزایش میزان گروه‌های عاملی می‌باشد. بهترین نتیجه در بین تیمارها در زغال‌زیستی باگاس نیشکر اصلاح‌شده توسط پراکسیدهیدروژن به‌دست آمد. اصلاح زغال‌زیستی با پراکسیدهیدروژن منجر به بیش‌تر شدن گروه‌های عاملی اسیدی مانند کربوکسیل شد. این نتایج با نتایج مطالعهٔ Li et al. (2014)، Chen et al. (2018) و Tan et al. (2018) هم راستا است. نتایج تجزیهٔ واریانس اثر زغال‌زیستی اصلاح‌نشده و اصلاح‌شده و ریزموجودات بر آنزیم دهیدروژناز، کربن زی‌تودهٔ میکروبی، تنفس پایه، تنفس ناشی از سوبسترا (برانگیخته)، نسبت میکروبی و سهم میکروبی در جدول ۵ ارائه شده است

جدول ۵- نتایج تجزیهٔ واریانس اثر زغال‌زیستی اصلاح‌نشده و اصلاح‌شده و ریزموجودات بر آنزیم دهیدروژناز، کربن زی‌تودهٔ خاک، تنفس پایهٔ خاک، تنفس ناشی از سوبسترا (برانگیخته)، نسبت میکروبی و سهم متابولیک

Table 5- The results of variance analysis of repeated measurement of the effect of unmodified and improved biochar and microorganisms on dehydrogenase enzyme, soil carbon dioxide, and soil basal respiration

منبع تغییرات	درجهٔ آزادی	آنزیم دهیدروژناز (میکروگرم تری فنیل فورمازان در یک گرم خاک در روز)	کربن زی‌تودهٔ میکروبی (میلی‌گرم در کیلوگرم خاک)	تنفس پایهٔ خاک (میلی‌گرم دی‌اکسیدکربن-کربن در کیلوگرم خاک در روز)	تنفس ناشی از سوبسترا (برانگیخته) (میلی‌گرم دی‌اکسیدکربن-کربن در کیلوگرم خاک در روز)	نسبت میکروبی	سهم متابولیک
اثرات درون گروهی							
زغال‌زیستی	18	3.83**	08.7**	803.83**	5.77^{ns}	678.0^{**}	0.015^{**}
خطا	38	0.0009	8.34	5.35	380.41	3.57	0.0002
اثرات برون گروهی							
زمان	1	1.03**	73.60**	1383.60**	1693.49^{**}	33.66^{*}	0.008^{**}
زمان × زغال‌زیستی	18	0.06**	3.11 ns	11.92*	5.78^{ns}	47.24^{**}	0.0008^{**}
خطا	38	0.001	3.58	5.07	9.25	7.11	0.0002

ns، * و ** به‌ترتیب نشان‌دهندهٔ عدم معناداری، معناداری در سطح پنج و یک درصد

ns, * and ** indicate non-significance, significance at 5% and 1% level, respectively.
This means that different letters have a significant difference at the 5% probability level (Duncan's test).

۳-٤- آنزیم دهیدروژناز

نتایج جدول تجزیهٔ واریانس (جدول ۵) اثر زغال‌زیستی اصلاح‌نشده و اصلاح‌شده و ریزموجودات بر آنزیم دهیدروژناز خاک نشان داد که در اثرات برون‌گروهی، تیمارها دارای تفاوت معناداری با یک‌دیگر در سطح یک درصد هستند. در اثرات درون‌گروهی نیز هم‌زمان در بین تیمارها دارای تفاوت معناداری در سطح یک درصد بود. اما برهم‌کنش زمان و تیمارها دارای تفاوت معناداری در سطح یک درصد با یکدیگر بودند.

نتایج مقایسهٔ میانگین (جدول ۶) نشان داد که بیش‌ترین مقدار آنزیم دهیدروژناز در تیمار مخلوط چهار (باگاس اصلاح‌شدهٔ دو درصد و کنسرسیوم باکتری دو درصد) در زمان ۶۰ روز (۱۳/۴۵ میکروگرم تری فنیل فورمازان در یک گرم خاک در روز) به‌دست آمد. کم‌ترین مقدار آنزیم دهیدروژناز نیز متعلق به تیمار شاهد در زمان ۱۲۰ روز (۳/۹۰ میکروگرم میکروگرم تری فنیل فورمازان در یک گرم خاک در روز) بود. تیمار مخلوط چهار در زمان ۶۰ روز آنزیم دهیدروژناز را نسبت به تیمار شاهد (در زمان ۶۰ روز) ۷۰/۹۸ درصد افزایش داده است و نسبت به کم‌ترین میزان (شاهد در زمان ۱۲۰ روز) ۷۲ درصد بیش‌تر بود. اصلاح زغال‌های زیستی سبب افزایش آنزیم دهیدروژناز در تیمارها نسبت به حالت اصلاح‌نشدهٔ آن‌ها شده است. به‌عنوان مثال، در تیمار باگاس اصلاح‌شدهٔ دو درصد در زمان۶۰ روز نسبت

به حالت اصلاح‌نشده، حدود ۲۸/۰۴ درصد افزایش در این شاخص مشاهده شد. استفاده از باکتری در تیمارها سبب افزایش میزان آنزیم دهیدروژناز شده است. به‌عنوان مثال، تیمار مخلوط چهار با زمان ۶۰ روز در مقایسه با تیمار باگاس اصلاح شدهٔ دو درصد تنفس برانگیختهٔ خاک را ۳۵/۸۰ درصد افزایش داد. هم‌چنین، نسبت به تیمار کنسرسیوم باکتری دو درصد نیز ۳۹/۹۹ درصد افزایش داد، که بیان گر تأثیر مثبت زغال‌زیستی بر کارایی باکتری‌ها و وضعیت میکروبی خاک و در نتیجه تنفس پایهٔ میکروبی پایه است. بررسی روند زمانی در تیمارها نشان‌دهندهٔ روند کاهشی آنزیم دهیدروژناز در اثر گذشت زمان است. به گونه‌ای که در زمان ۶۰ روز تیمارها به بیش‌ترین مقدار آنزیم دهیدروژناز رسیده و سپس در زمان ۱۲۰ روز مقدار این شاخص، کاهش یافته است. به‌عنوان مثال، تیمار مخلوط چهار در زمان ۱۲۰ روز نسبت به زمان ۶۰ روز کاهش ۵/۶۱ درصدی را نشان داد.

جدول ٦- مقایسهٔ میانگین اثر زغال‌زیستی اصلاح‌نشده و اصلاح‌شده و ریزموجودات بر آنزیم دهیدروژناز خاک (میکروگرم تری فنیل فورمازان در یک گرم خاک در روز)، کربن زی‌توده میکروبی (میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) و تنفس پایهٔ خاک (میلی‌گرم دی‌اکسیدکربن-کربن در کیلوگرم خاک در روز در کیلوگرم خاک خشک در یک روز)

Table 6- Comparison of the average effect of unmodified and modified biochar and microorganisms on soil dehydrogenase enzyme (μgTPF g^{-1} soil day^{-1}), microbial biomass carbon (mg.kg^{-1}soil), and basic soil respiration (mg CO_2-C/ kg^{-1}soil day)

تیمار	انزیم دهیدروژناز (میکروگرم تری فنیل فورمازان در یک گرم خاک در روز)		کربن زی‌تودهٔ میکروبی (میلی‌گرم در کیلوگرم خاک)		تنفس پایه خاک (میلی‌گرم CO_2.C در کیلوگرم خاک خشک در یک روز)	
	60 روز	120 روز	60 روز	120 روز	60 روز	120 روز
شاهد	3.90 z	3.89 z	15.54 v	11.47 w	18.43 u	18.10 u
کنسرسیوم باکتری یک درصد	7.26 pq	7.21 q	34.42 opq	30.77 qrs	24.08 p	22.58 q
کنسرسیوم باکتری دو درصد	8.07 jk	8.03 jkl	41.64 klm	36.44 nop	25.81 n	25.04 o
باگاس اصلاح‌نشده یک درصد	5.80 u	5.56 w	30.73 qrs	27.38 rst	21.49 r	20.69 s
باگاس اصلاح‌شده یک درصد	8.01 l	7.88 m	46.90 hij	42.63 ijk	29.25 j	27.20 lm
باگاس اصلاح‌نشده دو درصد	6.22 s	5.97 t	37.48 mnop	33.13 pq	22.92 q	21.94 r
باگاس اصلاح‌شده دو درصد	8.64 g	8.57 h	54.70 g	49.92 h	32.45 h	30.50 i
مخلوط یک	8.07 jkl	8.04 jkl	44.67 ijk	39.86 lmn	26.36 n	24.71 o
مخلوط دو	9.53 d	9.52 d	80.47 bc	74.31 d	36.01 de	35.31 f
مخلوط سه	8.42 i	8.38 i	50.51 h	46.82 hij	28.46 k	27.34 lm
مخلوط چهار	13.45 a	12.70 b	91.20 a	83.80 b	40.04 a	39.15 b
نخل خرما اصلاح‌نشده یک درصد	5.40 x	5.17 y	25.82 t	20.34 u	20.28 s	19.22 t
نخل خرما اصلاح‌شده یک درصد	7.98 m	7.89 m	40.96 klm	37.98 mno	26.98 m	25.97 n
نخل خرما اصلاح‌نشده دو درصد	5.95 t	5.69 v	31.18 qr	26.73 st	21.78 r	20.77 s
نخل خرما اصلاح‌شده دو درصد	8.09 j	8.03 kl	47.56 hi	39.69 lmn	29.84 j	27.84 kl
مخلوط پنج	7.28 p	7.03 r	37.28 mnop	33.16 pq	24.85 o	23.55 p
مخلوط شش	9.16 e	8.94 f	68.01 e	62.21 f	35.54 ef	34.65 g
مخلوط هفت	7.71 n	7.48 o	44.51 ijk	37.84 mno	27.05 m	25.98 n
مخلوط هشت	10.19 c	9.52 d	78.33 c	71.07 ed	37.59 c	36.61 d

مخلوط یک: مخلوط باگاس اصلاح‌نشده یک درصد و کنسرسیوم باکتری یک درصد، مخلوط دو: مخلوط باگاس اصلاح‌شده یک درصد و کنسرسیوم باکتری یک درصد، مخلوط سه: مخلوط باگاس اصلاح‌نشده دو درصد و کنسرسیوم باکتری دو دردصد، مخلوط چهار: مخلوط باگاس اصلاح‌شده دو درصد و کنسرسیوم باکتری دو درصد، مخلوط پنج : مخلوط نخل خرما اصلاح‌نشده یک درصد وکنسرسیوم باکتری یک درصد، مخلوط شش: مخلوط نخل خرما اصلاح‌شده یک درصد وکنسرسیوم باکتری یک درصد مخلوط هفت: مخلوط نخل خرما اصلاح‌نشده دو درصد و کنسرسیوم باکتری دو درصد و مخلوط هشت: مخلوط نخل خرما اصلاح‌شده دو درصد و کنسرسیوم باکتری دو دصد. میانگین با حروف غیرمشابه دارای اختلاف معناداری در سطح احتمال پنج درصد هستند (آزمون دانکن)

Mixture one: one percent unmodified bagasse mixture and one percent bacterial consortium, second mixture: one percent modified bagasse mixture and one percent bacterial consortium, third mixture: two percent unmodified bagasse mixture and two percent bacterial consortium, fourth mixture: modified bagasse mixture two percent and bacterial consortium two percent, mixture five: unmodified date palm mixture one percent and bacterial consortium one percent, mixture six: modified date palm mixture one percent and bacterial consortium one percent mixture seven: unmodified date palm mixture two percent and consortium two percent bacteria and eight percent mixture: two percent modified date palm mixture and two percent bacterial consortium. Different letters significantly differ at the five percent probability level (Duncan's test).
Means with different letters have a significant difference at the 5% probability level (Duncan's test)

فعالیت آنزیم خاک یک شاخص مرجع مهم برای فعالیت میکروبی خاک، ظرفیت واکنش بیوشیمیایی، چرخهٔ مواد غذایی خاک و متابولیسم مواد است. فعالیت آنزیم‌های خاک نسبت به تغییرات محیطی بسیار حساس بوده و می‌تواند تغییرات کیفیت خاک را در شرایط مختلف منعکس کند (Dick et al., 1996; Burns, 1978; Huang et al., 2013). فعّالیّت‌های آنزیمی با حساسیت زیادی

وضعیت زیستی خاک‌ها را منعکس می‌کنند (Šíša, 1993). چندین دلیل برای اهمیت آنزیم‌ها به‌عنوان شاخص‌های کیفیت خاک وجود دارد: (۱) آن‌ها به میزان قابل‌توجهی با ویژگی‌های مهم خاک مثل موادّ آلی، ویژگی‌های فیزیکی، فعالیت‌های میکروبی یا زی‌تودهٔ خاک در ارتباط هستند. (۲) آن‌ها زودتر از دیگر ویژگی‌های خاک تغییر می‌کنند. (۳) نسبت به دیگر پارامترهای مهم در کیفیت خاک، تعیین آن‌ها ساده‌تر است (Speir et al., 1995). مواد آلی با تأثیر روی فعالیت‌های میکروبی خاک می‌توانند فعالیت‌های آنزیمی را افزایش دهند. نه تنها مقدار مواد آلی در خاک مهم است؛ بلکه کیفیت مادهٔ آلی نیز به‌منظور فراهمی رشد میکروبی و تولیدات آنزیمی مهم است (Fontaine et al., 2003). دلیل این امر افزایش فعالیت ریزموجودات در حضور مواد آلی در خاک است. در واقع سطح بالای مادهٔ آلی سوبسترای کافی برای زی‌توده میکروبی را فراهم می‌کند. در نتیجه فعالیت‌های آنزیمی افزایش خواهند داشت (Yuan and Yu, 2012). در پژوهشی، Zhang et al. (2010) نشان دادند که فعالیت آنزیم دهیدروژناز و میزان مواد آلی دارای همبستگی مثبت هستند. در پژوهش دیگری، Salazar et al. (2011) فرض کردند که فعالیت آنزیم دهیدروژناز در زیست‌بوم‌های مختلف در چرخهٔ کربن درگیر است و فعالیت این آنزیم به میزان زیادی با تجزیهٔ مادهٔ آلی تغییر خواهد کرد. مقادیر بالای مادهٔ آلی منجر به فعالیت بیش‌تر ریزموجودات شده و شدت تجزیهٔ افزایش خواهد یافت که این امر منجر به تنفس بیش تر خاک و رهایی دی‌اکسیدکربن از ریزوسفر می‌شود (Zhang et al., 2010). فعّالیّت آنزیم دهیدروژناز خاک به‌عنوان شاخص فعّالیّت کل ریزجاندران تصور می‌شود؛ زیرا به‌صورت درون‌سلولی در تمام سلول‌های میکروبی زنده وجود دارد (Quilchano et al., 2002). پس از گذشت ۶۰ روز از افزودن زغال‌های زیستی اصلاح‌نشده و اصلاح‌شده و ریزموجودات به خاک آلوده به نفت خام، مواد آلی تحت فعالیت‌های میکروبی تجزیه شده و در ادامه، در روز ۱۲۰ام کاهش در فعالیت آنزیم دهیدروژناز رخ داد. این نتیجه به‌دلیل بیش‌تر بودن فراهمی عناصر غذایی و مواد سهم‌الوصول و منبع کربنی در خاک بود. زغال‌زیستی از ریزموجودات در برابر شکار محافظت کرده و فراوانی و تنوع گونه‌های میکروبی خاک را بهبود می‌بخشد (Wu et al., 2016). هنگامی‌که زغال‌زیستی روی خاک اعمال می‌شود، ریزموجودات اطراف زغال‌زیستی را مستقیماً تحت تأثیر قرار می‌دهد. این موضوع ممکن است ناشی از کربن آلی فعّال فراوان و مواد غذایی میکرو و ماکرو موجود در زغال‌زیستی باشد که می‌تواند ریزموجودات را تغذیه کرده و سبب بهبود فعّالیّت میکروبی و آنزیمی خاک شود (Wang et al., 2019). در پژوهش‌هایی Mierzwa-Hersztek et al. (2019) و Lehman and Joseph (2009) بیان کردند که دلیل تأثیر زغال‌زیستی در بهبود فعّالیّت آنزیم دهیدروژناز در خاک نقش آن در بهبود خصوصیات فیزیکی وشیمیایی خاک است.

۳-۵- کربن زی‌تودهٔ میکروبی

نتایج جدول تجزیهٔ واریانس (جدول ۵) اثر زغال‌زیستی اصلاح‌نشده و اصلاح‌شده و ریزموجودات بر کربن زی‌تودهٔ خاک نشان داد که در اثرات برون‌گروهی، تیمارها دارای تفاوت معناداری با یک‌دیگر هستند. در اثرات درون‌گروهی نیز زمان دارای تفاوت معناداری در بین تیمارها بود. ولی برهم‌کنش تیمارها و زمان تفاوت معناداری با هم نداشتند. به‌عبارت بهتر اثرات اصلی دارای تفاوت معناداری بودند ولی اثرات متقابل تفاوت معناداری را نشان نداد.

نتایج مقایسهٔ میانگین (جدول ۶) نشان داد که بالاترین مقدار کربن زی‌تودهٔ میکروبی در تیمار مخلوط چهار در زمان۶۰ روز (۹۱/۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) به‌دست آمد. کم‌ترین مقدار کربن زی‌توده هم متعلق به تیمار شاهد در زمان ۱۲۰ روز (۱۱/۴۷ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) بود. تیمار مخلوط چهار در زمان ۶۰ روز کربن زی‌تودهٔ میکروبی را نسبت به تیمار شاهد (۶۰ روز) ۸۲/۹۶ درصد افزایش داده است و نسبت به کم‌ترین تیمار (شاهد ۱۲۰ روز) ۸۷/۴۲ درصد بیش‌تر بود. اصلاح زغال‌های زیستی سبب افزایش کربن زی‌تودهٔ میکروبی در تیمارها نسبت به حالت اصلاح‌نشده آن‌ها شده است. به‌عنوان مثال، در تیمار باگاس اصلاح‌شده دو درصد در زمان ۶۰ روز نسبت به حالت اصلاح‌نشده، حدود ۳۱/۴۸ درصد افزایش در کربن زی‌تودهٔ میکروبی به‌دست آمد. استفاده از باکتری در تیمارها سبب افزایش کربن زی‌تودهٔ میکروبی شده است. به‌عنوان مثال، تیمار مخلوط چهار در زمان ۶۰ روز در مقایسه با تیمار باگاس اصلاح‌شدهٔ دو درصد کربن زی‌تودهٔ میکروبی خاک را ۴۰/۰۲ درصد افزایش داد. هم‌چنین، نسبت به تیمار کنسرسیوم باکتری دو درصد نیز ۵۴/۳۴ درصد افزایش داد که بیان‌گر تأثیر مثبت زغال‌زیستی بر کارایی زغال‌های زیستی و وضعیت میکروبی خاک است. بررسی روند زمانی در تیمارها نشان‌دهندهٔ روند کاهشی کربن زی‌تودهٔ میکروبی است. به گونه‌ای که در زمان ۶۰ روز تیمارها به بیش‌ترین مقدار کربن زی‌تودهٔ میکروبی رسیدند و سپس در زمان ۱۲۰ روز مقدار این شاخص، کاهش یافته است. برای مثال، تیمار مخلوط چهار در زمان ۱۲۰ روز نسبت به زمان ۶۰ روز کاهش ۸/۱۲ درصدی را نشان داد. افزودن زغال‌زیستی اصلاح‌نشده و اصلاح‌شده و ریزموجودات به خاک سبب افزایش معنادار این پارامتر زیستی شد. افزایش کربن زی‌تودهٔ میکروبی خاک در اثر افزودن زغال‌زیستی می

تواند به این دلیل باشد که زغال‌زیستی با داشتن ساختار متخلخل و سطح ویژهٔ بالا می‌تواند زیستگاه میکروبی مناسبی برای ریزموجودات خاک فراهم کند (Frene et al., 2021). در این راستا، Lopes (2001) نیز حضور مواد آلی را به‌دلیل افزایش جمعیت میکروبی خاک و در نتیجه تولید ترکیبات و متابولیت‌های خاص و بهبود حاصل‌خیزی خاک، عاملی مثبت در بهبود زیست‌تودهٔ میکروبی خاک بیان نمودند. کم‌تر بودن نسبت‌های O/C و H/C در تیمارهای اصلاح‌نشده نسبت به اصلاح‌شده (جدول ۳) از دلایل کم‌تر بودن کربن زی‌تودهٔ میکروبی در آن‌هاست. کم‌تر بودن این نسبت‌ها در زغال‌های زیستی اصلاح‌نشده نشان‌دهندهٔ بیش‌تر بودن ساختار آروماتیک آن و پایداری بیش‌تر کربن آن در مقابل تجزیهٔ میکروبی است که سبب کاهش کربن زی‌تودهٔ میکروبی می‌شود. افزون بر این، ممکن است تأثیر بیش‌تر زغال‌های زیستی اصلاح‌شده با پراکسیدهیدروژن بر تغییرات اسیدیته و حلالیت عناصر غذایی در خاک سبب افزایش اثر مثبت آن‌ها بر کربن زی‌تودهٔ میکروبی خاک شده است. کاربرد زغال‌زیستی تازه که دارای کربن ناپایدار بیش‌تری باشد سبب افزایش کربن زی‌تودهٔ میکروبی می‌شود (Major rt al., 2010). در مطالعات عموماً بیان شده که کربن زغال‌زیستی برای ریزموجودات قابل دسترس نیست (Thies and Rillig, 2012). امّا با تغییراتی که در خصوصیات شیمیایی و فیزیکی خاک به وجود آورده و با در دسترس قرار دادن ترکیبات کربنی قابل استفاده سبب افزایش زی‌تودهٔ میکروبی و تحریک فعّالیّت جامعهٔ میکروبی خاک می‌شود (Lehmann and Jospeh, 2009). تغییر در فراوانی جامعهٔ میکروبی ممکن است تنها در اثر معدنی شدن زغال‌زیستی نباشد، بلکه تحت تأثیر عامل دیگری چون معدنی‌شدن کربن خاک باشد. زی‌تودهٔ میکروبی بزرگ‌تر ممکن است به‌دلیل تجزیهٔ بیش‌تر کربن خاک در حضور زغال‌زیستی باشد (Wardle et al., 1992). هم‌چنین، Anderson et al. (2011) تغییر در ساختار جامعهٔ میکروبی خاک و افزایش جمعیت برخی باکتری‌های خاک را در نتیجهٔ افزودن زغال‌زیستی کاج گزارش کردند که این موضوع بر افزایش کربن زی‌تودهٔ خاک مؤثر است.

نتایج تجزیهٔ واریانس نشان داد که تیمارها در اثرات برون‌گروهی سطح یک درصد دارای تفاوت معنادار هستند. در اثرات درون‌گروهی نیز هم‌زمان در بین تیمارها دارای تفاوت معناداری در سطح یک درصد بود. اما هم‌برکنش زمان و تیمارها دارای تفاوت معناداری در سطح پنج درصد با یک‌دیگر بودند. افزایش تنفس میکروبی پایه در تیمارها نسبت به حالت اصلاح‌نشدهٔ آن‌ها شده است. به‌عنوان مثال، در تیمار باگاس اصلاح‌شدهٔ دو درصد با زمان ۶۰ روز نسبت به حالت اصلاح‌نشده، حدود ۲۹/۳۶ درصد افزایش در این شاخص مشاهده شد. استفاده از کنسرسیوم باکتری در تیمارها سبب افزایش میزان تنفس میکروبی پایه شده است. برای مثال، تیمار مخلوط چهار در زمان ۶۰ روز در مقایسهٔ با تیمار باگاس اصلاح شدهٔ دو درصد تنفس برانگیختهٔ خاک را ۱۸/۹۵ درصد افزایش داد. هم‌چنین، نسبت به تیمار کنسرسیوم باکتری دو درصد نیز ۳۵/۵۳ درصد افزایش داد. که بیان‌گر تأثیر مثبت زغال‌زیستی بر کارایی باکتری‌ها و وضعیت میکروبی خاک و در نتیجهٔ تنفس پایهٔ میکروبی است. بررسی روند زمانی در تیمارها نشان‌دهندهٔ روند کاهشی تنفس میکروبی پایه در اثر گذشت زمان است. به گونه‌ای که در زمان ۶۰ روز تیمارها به بالاترین مقدار تنفس میکروبی پایه رسیده و سپس در زمان ۱۲۰ روز مقدار این شاخص، کاهش یافته است. مثلا، تیمار مخلوط چهار در زمان ۱۲۰ روز نسبت به زمان ۶۰ روز کاهش ۲/۲۲ درصدی را نشان داد. جدول مقایسات میانگین اثر زغال‌زیستی اصلاح‌نشده و اصلاح‌شده و ریزموجودات بر تنفس برانگیخته (ناشی از سوبسترا)، نسبت میکروبی و نسبت متابولیک در جدول ۷ آمده است.

جدول ۷- مقایسهٔ میانگین اثر زغال‌زیستی اصلاح‌نشده و اصلاح‌شده و ریزموجودات بر تنفس ناشی از سوبسترا (برانگیخته) (میلی‌گرم دی‌اکسیدکربن-کربن در کیلوگرم خاک در یک روز)، نسبت میکروبی و سهم متابولیک خاک

Table 8- Comparison of the average effect of unmodified and modified biochar and microorganisms on substrate (stimulated) respiration (mg CO_2-C/kg^{-1} soil day), microbial ratio, and soil metabolic contribution (mg CO-C/kg^{-1} soil day))

تیمار	تنفس ناشی از سوبسترا (برانگیخته (میلی‌گرم CO_2.C در کیلوگرم خاک خشک در یک روز)		سهم میکروبی		سهم متابولیک	
	زمان اندازه‌گیری (روز)					
	60	120	60	120	60	120
شاهد	20.67 v	20.28 v	0.31 ijk	0.24 kl	1.18 b	1.58 a
کنسرسیوم باکتری یک درصد	26.90 pq	25.23 r	0.75 d	0.74 d	0.70 defghi	0.73 defg
کنسرسیوم باکتری دو درصد	28.81 n	27.95 o	0.94 b	0.98 ab	0.62 ghijklm	0.69 defghi
باگاس اصلاح‌نشده یک درصد	24.03 s	23.14 t	0.31 hijk	0.31 hij	070 defghi	0.75 def
باگاس اصلاح‌شده یک درصد	32.68 j	30.37 m	0.45 g	0.51 fg	0.62 ghijklm	0.64 fghijkil
باگاس اصلاح‌نشده دو درصد	25.62 r	24.53 s	0.34 hi	0.32 hij	0.61 ghijklm	0.66 feghijk
باگاس اصلاح‌شده دو درصد	36.18 h	34.00 i	0.32 hij	0.31 ijk	0.59 hijklmn	0.61 ghiklm
مخلوط یک	29.41 n	27.57 op	0.47 g	0.48 g	0.59 hijklmno	0.62 ghijklm
مخلوط دو	40.07 de	39.31 f	0.84 c	1.03 a	0.45 qr	0.47 opqr
مخلوط سه	31.74 k	30.50 lm	0.35 hi	0.38 h	0.56 jklmnopq	0.58 ijklmnop
مخلوط چهار	44.51 a	43.62 b	0.56 ef	0.58 e	0.44 r	0.47 q
نخل خرما اصلاح‌نشده یک درصد	22.69 t	21.51 u	0.35 hi	0.30 ijk	0.78 d	0.94 c
نخل خرما اصلاح‌شده یک درصد	30.16 m	29.023 n	0.47 g	0.47 g	0.66 efghijk	0.68 defghi
نخل خرما اصلاح‌نشده دو درصد	24.35 s	23.23 t	0.26 jkl	0.22 l	0.70 defghi	0.78 de
نخل خرما اصلاح‌شده دو درصد	33.31 ij	31.10 kl	0.33 jkl	0.30 ijk	0.63 ghijklm	0.70 defghi
مخلوط پنج	27.76 o	26.31 q	0.57 ef	0.54 ef	0.67 defghijk	0.71 defgh
مخلوط شش	39.57 ef	38.59 g	0.57 ef	0.56 ef	0.52 mnopqq	0.56 klmnopq
مخلوط هفت	30.20 m	29.00 n	0.58 ef	0.62 e	0.61 hijklm	0.69 defghi
مخلوط هشت	41.81 c	40.74 d	0.58 e	0.63 e	0.48 nopqr	0.51 mnopqr

مخلوط یک: مخلوط باگاس اصلاح‌نشده یک درصد و کنسرسیوم باکتری یک درصد، مخلوط دو: مخلوط باگاس اصلاح‌شده یک درصد و کنسرسیوم باکتری یک درصد، مخلوط سه: مخلوط باگاس اصلاح‌نشده دو درصد و کنسرسیوم باکتری دو دردصد، مخلوط چهار: مخلوط باگاس اصلاح‌شده دو درصد و کنسرسیوم باکتری دو درصد، مخلوط پنج : مخلوط نخل خرما اصلاح‌نشده یک درصد وکنسرسیوم باکتری یک درصد، مخلوط شش: مخلوط نخل خرما اصلاح‌شده یک درصد وکنسرسیوم باکتری ۱یک درصد مخلوط هفت: مخلوط نخل خرما اصلاح‌نشده دو درصد و کنسرسیوم باکتری دو درصد و مخلوط هشت: مخلوط نخل خرما اصلاح‌شده دو درصد و کنسرسیوم باکتری دو دصد. میانگین با حروف غیرمشابه دارای اختلاف معناداری در سطح احتمال پنج درصد هستند (آزمون دانکن)

Mixture one: one percent unmodified bagasse mixture and one percent bacterial consortium, second mixture: one percent modified bagasse mixture and one percent bacterial consortium, third mixture: two percent unmodified bagasse mixture and two percent bacterial consortium, fourth mixture: modified bagasse mixture two percent and bacterial consortium two percent, mixture five: unmodified date palm mixture one percent and bacterial consortium one percent, mixture six: modified date palm mixture one percent and bacterial consortium one percent mixture seven: unmodified date palm mixture two percent and consortium two percent bacteria and eight percent mixture: two percent modified date palm mixture and two percent bacterial consortium. Means with different letters significantly differ at the five percent probability level (Duncan's test).

Means with different letters have a significant difference at the five probability level (Duncan's test)

نتایج تجزیهٔ واریانس (جدول ۵) اثر زغال‌زیستی اصلاح‌نشده و اصلاح‌شده و ریزموجودات بر تنفس برانگیختهٔ (ناشی از سوبسترا) خاک نشان داد که در اثرات برون‌گروهی، تیمارها دارای تفاوت معناداری با یک‌دیگر هستند. در اثرات درون‌گروهی نیز هم زمان در بین تیمارها دارای تفاوت معناداری بود. اما برهم‌کنش زمان و تیمارها دارای تفاوت معناداری با یکدی‌گر نبودند.

نتایج مقایسهٔ میانگین (جدول ۷) نشان داد که بیش‌ترین مقدار تنفس میکروبی ناشی از سوبسترا در تیمار مخلوط چهار در زمان ۶۰ روز (۴۴/۵۱ میلی‌گرم دی‌اکسیدکربن-کربن در کیلوگرم خاک در روز) به‌دست آمد. کم‌ترین مقدار تنفس میکروبی ناشی از سوبسترا نیز متعلق به تیمار شاهد ۱۲۰ روز (۲۰/۲۸ میلی‌گرم دی‌اکسیدکربن-کربن در کیلوگرم خاک در روز) بود. تیمار مخلوط چهار در زمان ۶۰ روز تنفس میکروبی ناشی از سوبسترا را نسبت به تیمار شاهد (۶۰ روز) ۵۳/۵۵ درصد افزایش داده است و نسبت به کم‌ترین میزان آن (شاهد ۱۲۰ روز) ۵۴/۴۴ درصد بیش‌تر بود. اصلاح زغال‌های زیستی سبب افزایش تنفس میکروبی ناشی از سوبسترا در تیمارها نسبت به حالت اصلاح‌نشده آن‌ها شده است. برای مثال، در تیمار باگاس اصلاح‌شدهٔ دو درصد با زمان ۶۰ روز نسبت به حالت اصلاح‌نشده، حدود ۲۹/۱۷ درصد افزایش در این شاخص به‌دست آمد. استفاده از کنسرسیوم باکتری در تیمارها سبب افزایش میزان تنفس میکروبی ناشی از سوبسترا شده است. به‌عنوان مثال، تیمار مخلوط ۴ در زمان ۶۰ روز در مقایسهٔ با تیمار باگاس اصلاح‌شدهٔ دو درصد تنفس برانگیخته خاک را ۱۸/۷۲ درصد افزایش داد. هم‌چنین، نسبت به تیمار کنسرسیوم باکتری دو درصد نیز ۳۵/۲۷ درصد افزایش داد. که بیان‌گر تأثیر مثبت زغال‌زیستی بر کارایی باکتری‌ها و وضعیت میکروبی خاک است.

بررسی روند زمانی در تیمارها نشان‌دهندهٔ روند کاهشی تنفس میکروبی ناشی از سوبسترا است. به‌گونه‌ای که در زمان ۶۰ روز تیمارها به بالاترین مقدار تنفس برانگیخته رسیدند و سپس در زمان ۱۲۰ روز مقدار این شاخص، کاهش یافته است. مثلا، تیمار مخلوط چهار در زمان ۱۲۰ روز نسبت به زمان ۶۰ روز کاهش ۱/۹۹ درصدی (حدود دو درصد) را نشان داد.

در روزهای اوّلیّهٔ آلودگی تا روز ۶۰ام به‌دلیل مرگ گونه‌های میکروبی حساس و افزایش زیست‌تودهٔ آن‌ها به خاک، گونه‌های پایدارتر بقای بهتری یافته و گونه‌های میکروبی برای مقابلهٔ با آلودگی انرژی بیش‌تری مصرف می‌کنند. که این امر با افزایش تنفس در آن‌ها همراه است. ولی با گذشت زمان و کاهش منابع غذایی و انرژی باکتری‌ها قادر به فعالیت زیستی، مانند قبل نبوده و فعالیت‌های زیستی آن‌ها کم می‌شود (Diaz-Ravina et al., 2007; Saeed et al., 2022). افزایش تنفس میکروبی خاک در اثر کاربرد تیمارهای زغال‌زیستی اصلاح‌نشده و اصلاح‌شده می تواند به‌دلیل مواد فرار و ترکیبات جذب سطحی شده روی سطح زغال‌زیستی باشد. به‌دلیل این‌که این ترکیبات می‌توانند به‌عنوان سوبسترای قابل‌دسترس برای ریزموجودات خاک عمل نموده و سبب افزایش رشد و فعالیت میکروبی در خاک‌های تیمارشده با زغال‌زیستی و زغال‌زیستی و ریزموجودات شوند (Rutigliano et al., 2014). افزایش تنفس ناشی از سوبسترا در تیمارهای کاربرد زغال‌های زیستی نشان می‌دهد در اثر کاربرد زغال‌های زیستی زیست‌تودهٔ فعّال ریزموجودات خاک افزایش می‌یابد؛ زیرا این شاخص جمعیّت فعّال میکروبی خاک را نشان می‌دهد (Song et al., 2018). کاربرد زغال‌زیستی اصلاح‌نشده و اصلاح‌شده به همراه ریزموجودات سبب افزایش معنادار تنفس پایه و تنفس ناشی از سوبسترا خاک در مقایسهٔ با تیمار شاهد شد. این بیان‌گر تأثیر مثبت استفاده از مادهٔ آلی و ریزموجودات در تضعیف تأثیر نفت خام بر جامعهٔ میکروبی خاک است. در این راستا، (Saeed et al. 2022) نیز نتایج مشابهی را در مورد تأثیر زغال‌زیستی و ریزجانداران بر تنفس میکروبی خاک در مطالعات خود گزارش داده‌اند. هم‌چنین، Purakayastha et al. (2015) اذعان داشتند که زغال‌زیستی تولید شده از پوست برنج، کاه گندم و بقایای ذرت در دمای ۴۰۰ و ۶۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۶۰ روز انکوباسیون، افزایش مقدار تجمعی دی‌اکسیدکربن را تا روز ۴۰ام از شروع آزمایش داشتند و بعد از آن کاهش مقدار تصاعد مشاهده شد. می‌توان دلیل افزایش تصاعد دی‌اکسیدکربن با افزایش درصد زغال‌زیستی کاربردی را فعالیت بیش‌تر ریزموجودات دانست.

۳-۶- نسبت میکروبی

نتایج تجزیهٔ واریانس (جدول ۵) اثر زغال‌زیستی اصلاح‌نشده و اصلاح‌شده و ریزموجودات بر سهم (نسبت) میکروبی خاک نشان داد که در اثرات برون گروهی، تیمارها دارای تفاوت معناداری با یک‌دیگر هستند. در اثرات درون‌گروهی هم‌زمان و هم برهم‌کنش زمان و تیمارها دارای تفاوت معناداری با یک‌دیگر بودند.

نتایج مقایسهٔ میانگین (جدول ۷) نشان داد که بالاترین مقدار سهم (نسبت) میکروبی در تیمار مخلوط سه (مخلوط باگاس نیشکر اصلاح‌شدهٔ یک درصد و کنسرسیوم باکتری یک درصد) در زمان ۱۲۰ روز (۱/۰۳) به‌دست آمد. کم‌ترین مقدار سهم (نسبت) میکروبی هم متعلق به تیمار شاهد ۱۲۰ روز (۰/۲۴) بود. تیمار مخلوط سه در زمان ۱۲۰ روز سهم (نسبت) میکروبی را نسبت به تیمار شاهد ۱۲۰ روز ۷۶/۷۰ درصد افزایش داده است. اصلاح زغال‌های زیستی تقریباً در تمام تیمارها نسبت به حالت اصلاح‌نشده سبب افزایش سهم (نسبت) میکروبی شده بود. تنها در تیمار باگاس اصلاح‌شدهٔ دو درصد اندکی کاهش نشان داد. که آن هم معنادار نبود. روند زمانی در تیمارها دارای روند یکسانی نبود. در بعضی تیمارها شاهد افزایش نسبت میکروبی و در بعضی شاهد کاهش این نسبت بودیم. این مورد بستهٔ به میزان کربن آلی در این تیمارها بوده که روی این نسبت تأثیرگذار بود. به نظر می‌رسد که میزان کربن آلی بیش‌تر در زغال‌های زیستی می‌تواند برای مدت طولانی‌تری کیفیت خاک را ارتقا بخشد.

نسبت کربن زی‌تودهٔ میکروبی به کربن آلی خاک (نسبت میکروبی) الگوی متفاوتی را با کربن زی‌تودهٔ میکروبی نشان داد. چون در نمونه‌های خاک علاوه‌بر تفاوت در کربن زی‌تودهٔ میکروبی، میزان کربن آلی نیز متفاوت بود. که این امر سبب الگوی متفاوت تغییرات آن در مقایسه با کربن زی‌تودهٔ میکروبی شد. در مطالعه‌ای، Liao et al. (2007) گزارش کردند که نسبت میکروبی در شرایط طبیعی خاک در حدود یک تا چهار درصد است. ولی در خاک‌هایی که در معرض آلاینده‌ها هستند این نسبت معمولاً کم شده و به زیر یک درصد خواهد رسید. اندازهٔ کم نسبت میکروبی در تیمارهای شاهد خاک‌های آلوده می‌تواند وابستهٔ به کاهش بازدهٔ بهره‌گیری از بسترهٔ توسط ریزموجودات باشد. چون ریزموجودات خاک انرژی بیش‌تری را برای زنده ماندن خود در خاک مصرف می‌کنند که بیش‌تر این انرژی برای ساخت پیکرهٔ آن‌ها به‌کار می‌رود. در مطالعهٔ دیگری، Brookes (1995) بیان نمود که آلودگی خاک‌ها منجر به کاهش نسبت میکروبی خاک می‌شود. هم‌چنین، Smith et al. (2010) افزایش نسبت میکروبی خاک را در نتیجهٔ افزودن زغال‌زیستی گزارش دادند. افزایش نسبت میکروبی خاک شاخصی مناسب از کیفیت خاک است که بالاتر بودن آن نشان‌دهندهٔ کیفیت مطلوب خاک از نظر حضور ریزموجودات است. زغال‌زیستی به‌دلیل افزایش نگهداشت

رطوبت، در دسترس‌بودن مواد غذایی و مواد آلی ناپایدار در سطح زغال‌زیستی، سبب بهبود شرایط محیطی و کاهش رقابت شده و در نتیجه افزایش فراوانی و فعالیت میکروبی خاک را به‌دنبال دارد (Dempster et al., 2012). افزایش این نسبت در خاک نشان‌دهندهٔ بهبود کیفیت خاک است. معمولاً تنش‌های محیطی مانند آلودگی سبب کاهش نسبت میکروبی خاک شده و کربن زی تودهٔ میکروبی در شرایط تنش‌زا سریع‌تر از کربن آلی خاک کاهش می‌یابد (Domene et al., 2014). گزارش‌هایی مبنی بر تأثیر زغال‌زیستی روی افزایش فعالیت میکروبی و تجزیهٔ مادهٔ آلی در خاک و بهبود نسبت میکروبی خاک وجود دارد (Xu et al., 2020; Li et al., 2021; Wang et al., 2022; Farkhian et al., 2023; Kermannejad et al., 2023).

۳-۷- سهم متابولیک

نتایج جدول تجزیهٔ واریانس (جدول ۵) اثر زغال‌زیستی اصلاح‌نشده و اصلاح‌شده و ریزموجودات بر سهم متابولیک خاک نشان داد که در اثرات برون‌گروهی، تیمارها دارای تفاوت معناداری با یک‌دیگر هستند. در اثرات درون‌گروهی نیز زمان و برهم‌کنش زمان و تیمارها دارای تفاوت معناداری با یک‌دیگر بودند.

نتایج مقایسهٔ میانگین (جدول ۷) نشان داد که بالاترین مقدار سهم متابولیک در تیمار شاهد ۱۲۰ روز (۱/۵۸) به‌دست آمد. کم ترین مقدار سهم متابولیک هم متعلق به تیمار مخلوط چهار در زمان ۶۰ روز (۰/۴۴) بود. تیمار مخلوط چهار در زمان ۱۲۰ روز سهم میکروبی را نسبت به تیمار شاهد (۱۲۰ روز) ۷۲/۱۸ درصد کاهش داده است. اصلاح زغال‌های زیستی سبب کاهش سهم میکروبی در تیمارها نسبت به حالت اصلاح‌نشدهٔ آن‌ها شده است. به‌عنوان مثال، در تیمار باگاس اصلاح‌شدهٔ دو درصد ۶۰ روز نسبت به حالت اصلاح‌نشده، حدود ۲۵/۹۴ درصد کاهش در سهم میکروبی به‌دست آمد. استفادهٔ از باکتری در تیمارها سبب کاهش سهم میکروبی شده است. برای مثال، تیمار مخلوط چهار در زمان ۶۰ روز در مقایسهٔ با تیمار باگاس اصلاح شده دو درصد سهم متابولیک خاک را ۲۵/۹۷ درصد کاهش داد. هم‌چنین، نسبت به تیمار کنسرسیوم باکتری دو درصد ۶۰ روز نیز ۲۹/۰۸ درصد کاهش داد. این بیان‌گر تأثیر مثبت زغال‌زیستی بر کارایی باکتری ها و چرخهٔ میکروبی خاک است. بررسی روند زمانی در تیمارها نشان‌دهندهٔ روند افزایشی سهم میکروبی خاک است. به گونه‌ای که در زمان ۶۰ روز تیمارها به کم‌ترین مقدار سهم میکروبی رسیدند و سپس در زمان ۱۲۰ روز مقدار این شاخص، افزایش یافته است. مثلا، تیمار مخلوط چهار در زمان ۱۲۰ روز نسبت به زمان ۶۰ روز افزایش ۵/۹۹ درصدی (حدود شش درصد) را نشان داد.

سهم متابولیک بیان‌گر دی‌اکسیدکربن حاصل از تنفس پایه در واحد وزن بیومس میکروبی کربن در خاک است. در واقع به‌طور غیرمستقیم کارایی انرژی میکروبی را در خاک بیان می‌کند. با گذشت زمان سهم متابولیک افزایش یافته است. این موضوع بیان گر افزایش صرف انرژی توسط ریزموجودات جهت زنده‌ماندن است. در حقیقت افزایش سهم متابولیک نشان‌دهندهٔ مرگ و میر بالای ریزموجودات و در نتیجه، کاهش کربن زی‌تودهٔ میکروبی در خاک است. می‌توان گفت که هر چه سهم متابولیک کم‌تر باشد چرخه‌های میکروبی کارآمدتر هستند. پژوهش‌گران دربارهٔ کاهش مقدار سهم متابولیک در اثر کاربرد زغال‌زیستی نتایج مشابهی را گزارش کرده‌اند (Li et al., 2021; Saeed et al., 2022; Wang et al., 2022). در حقیقت تجزیهٔ زغال‌زیستی با میزان سهم متابولیک نسبت عکس دارد. به گونه‌یی که افزایش تجزیهٔ زغال‌زیستی سبب کاهش سهم متابولیکی می‌شود. هر چند این موضوع را نمی‌توان به درصد زغال‌زیستی افزوده‌شده مرتبط دانست (Deenik et al., 2010). کاهش سهم متابولیک نشان‌دهندهٔ بهبود شرایط حاکم بر زیستگاهٔ ریزموجودات است. با کاربرد زغال‌زیستی رطوبت و کربن آلی خاک افزایش یافته و با بهبود شرایط فیزیکی و شیمیایی خاک کربن زی‌تودهٔ میکروبی افزایش یافته و سهم متابولیکی خاک کاهش یافته است.

٤- نتیجه‌گیری

در این پژوهش به مطالعهٔ تأثیر زغال‌زیستی اصلاح‌نشده و اصلاح‌شده و ریزموجودات بر برخی ویژگی‌های میکروبی و اکوفیزیولوژیک خاک آلوده به نفت خام پرداخته شد. نتایج به دست‌آمده در این مطالعه نشان داد که کلیهٔ ویژگی‌های میکروبی و شاخص‌های اکوفیزیولوژیک اندازه‌گیری شده در خاک شامل آنزیم دهیدروژناز، کربن زی‌تودهٔ میکروبی، تنفس پایه، تنفس برانگیخته (ناشی از سوبسترا)، سهم میکروبی و سهم متابولیک تفاوت معناداری را با تیمار شاهد داشتند. هم‌چنین، نتایج این پژوهش نشان داد که افزودن زغال‌زیستی اصلاح‌نشده و اصلاح‌شده چه به‌صورت تنها و چه در تعامل با ریزجاندارن و ریزموجودات به خاک‌های آلودهٔ به نفت خام می‌تواند تا حدودی از تأثیرات نامطلوب نفت خام بر جامعهٔ میکروبی بکاهد (سبب بهبود این پارامترها در خاک آلودهٔ به نفت خام شود). زغال‌زیستی (اصلاح‌نشده و اصلاح‌شده به همراه ریزموجودات) می‌تواند در افزایش کارایی فعالیت‌های میکروبی مانند آنزیم دهیدروژناز، تنفس میکروبی (پایه و برانگیخته)، کربن زی‌تودهٔ میکروبی، سهم میکروبی و سهم متابولیک در خاک مؤثر باشد. بنابراین، پیشنهاد می‌شود که کاربرد زغال‌زیستی اصلاح‌نشده و اصلاح‌شده و ریزموجودات در خاک‌های آلوده به نفت خام امکان کاهش تأثیرات

نامطلوب این ماده بر فعالیت‌های میکروبی را دارا است و می‌تواند در مدیریت پایدار خاک استفاده شود. اصلاح زغال‌زیستی با استفادهٔ از پراکسیدهیدروژن، به‌عنوان یک عامل اصلاح‌کنندهٔ نسبتاً ارزان‌قیمت و دوستدار محیط‌زیست، سبب افزایش تأثیر زغال‌زیستی بر خصوصیات زیستی و اکوفیزیولوژیکی مورد مطالعه داشت. به‌طوری‌که بهترین نتایج متعلق به تیمارهای اصلاح‌شده بود و زغال‌زیستی باگاس نیشکر نسبت به ضایعات نخل خرما نتیجهٔ بهتری داشت و در ترکیب با ریزموجودات این بهبود بیش تر بود. زغال‌زیستی می‌تواند به‌عنوان یک زیستگاه برای ریزموجودات عمل کرده و با توجه به پتانسیل‌ها و ویژگی‌های خود مانند تخلخل، میزان کربن بالا و عناصر فراوان در خود و گروه‌های عاملی سبب تحریک جمعیت میکروبی در خاک می‌شود. زغال‌زیستی که به‌عنوان طلای سیاه شناخته می‌شود، توجّه روزافزونی را در زمینه‌های آینده به خود جلب کرده است، به‌صورتی که گزارش‌های پژوهش‌های علمی مربوطه هم هر سال افزایش می‌یابد. این موضوع عمدتاً به‌دلیل پتانسیل بالای زغال‌زیستی در بهبود کیفیت خاک، توانایی احیای بوم‌شناختی و استفاده منطقی از زباله و مدیریت ضایعات است.

سپاسگزاری

با تشکر از گروه زیست‌شناسی دانشکدهٔ علوم دانشگاه شهید چمران اهواز و دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان که امکان انجام این مطالعه را فراهم نمودند.

تضاد منابع نویسندگان

نویسندگان این مقاله اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافعی در خصوص نگارش و انتشار مطالب و نتایج این پژوهش وجود ندارند.

دسترسی به داده‌ها

داده‌ها و نتایج استفاده شده در این پژوهش از طریق مکاتبه با نویسندهٔ مسئول در اختیار قرار خواهد گرفت.

مشارکت نویسندگان

میلاد بی‌ریا: انجام طرح و آزمایشات، انجام و بررسی تجزیهٔ نرم‌افزاری/آماری، نگارش نسخهٔ اولیهٔ مقاله، ویرایش مقاله؛ **حبیب‌اله نادیان قمشه:** راهنمایی انجام طرح و آزمایشات، بررسی تجزیهٔ نرم‌افزاری/آماری، نگارش نسخهٔ اولیهٔ مقاله، ویرایش مقاله، ارسال مقاله و مکاتبات؛ **حسین معتمدی:** راهنمایی انجام طرح و آزمایشات، بررسی تجزیهٔ نرم‌افزاری/آماری و راهنمایی طرح آماری، مفهوم‌سازی، ویرایش و بازبینی مقاله، کنترل نتایج؛ **بیژن خلیلی‌مقدم:** راهنمایی، مفهوم‌سازی، ویرایش و بازبینی مقاله، کنترل نتایج؛ **نفیسه رنگ‌زن:** راهنمایی، مفهوم‌سازی، ویرایش و بازبینی مقاله، کنترل نتایج.

منابع

اداره کل هواشناسی استان خوزستان (۱۳۹۶). خبرنامه فنی هواشناسی. خوزستان، اهواز، ۳۵ صفحه. doi: 10.059/ijswr.019.7746.668143

استانداردهای آلودگی منابع خاک و راهنماهای آن (۱۴۰۱). معاونت محیط زیست انسانی، دفتر آب و خاک، https://wsm.doe.ir/portal/home/?generaltext/673823/ /1010221.

امیدپور، آهنگ (۱۳۹۵). جداسازی باکتری‌های مقاوم به فلزات سنگین و تجزیه‌کننده هیدروکربن‌های نفت از پسماندهای گل حفاری. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه شهید چمران اهواز.

بسالت‌پور، اصغر (۱۳۸۶). زیست پالایی خاک های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی به روش Phytostimulation. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه صنعتی اصفهان.

ترکاشوند، مریم، لکزیان، امیر، فتوت، امیر، و محمدی، مهدی (۱۳۹۹). جداسازی، غربالگری و کارایی جدایه‌های سودوموناس در تشکیل بیوفیلم بر حامل‌های آلی و معدنی و تجزیه فنانترن. *دنیای میکروب‌ها*، ۱۳(۱)(۴))، ۶-۲۰. dor:20.1001.1.20083068.1399.13.42

حبیبی, حمید, متشرع زاده, بابک, و علیخانی, حسینعلی (۱۳۹۶). تأثیر بیوچار و تیمارهای زیستی بر غلظت عناصر غذایی (فسفر، پتاسیم، کلسیم، منیزیم، آهن و منگنز) گیاه‌تاج‌خروس (*Amaranthus*) در یک خاک آلوده به ترکیبات نفتی. تحقیقات آب و خاک ایران, ۴۸(۲), ۳۶۹-۳۸۴. doi: 10.22059/ijswr.2017.62645

حیدری‌فرد، محمدحسین (۱۳۸۱). بررسی نیکل و وانادیم مخازن آسماری و بنگستان میدان بی‌بی حکیمه. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه شهید چمران اهواز.

سلیمی، مهران، ابراهیمی، سهیلا، و قربانی نصرآبادی، رضا (۱۳۹۹). بهینه‌سازی زنده مانی باکتری غیر بومی تجزیه‌گر موثر نفت خام در حامل های مختلف. *علوم و تکنولوژی محیط زیست*، doi:10.034/jest.00.34708.4186

شریفی حسینی، سارا، شهبازی، علی، یزدی‌پور، عبدالرحمن، و کامرانفر، ایمان (۱۳۸۸). پالایش زیستی خاک‌های آلوده به نفت خام با کودهای شیمیایی. *آب و خاک* (علوم و صنایع کشاورزی)، ۳(۳)، ۱۴۵-۱۵۵. doi:10.22067/jsw.v0i0.2322

شهسوارزاده جنگی، پگاه، شجاع الساداتی، سید علی، و هاشمی نجف‌آبادی، سمیره (۱۳۸۷). ارزیابی اثر بافت خاک بر زیست پالایی خاک های آلوده به نفت خام. دوازدهمین کنگره ملی مهندسی شیمی ایران، دانشگاه صنعتی سهند تبریز. /https://civilica.com/doc/57716

کاووسی بافتی، مهرداد، اسرار، زهرا، حسن‌شاهیان، مهدی، و کرامتیان، بتول (۱۳۹۳). بررسی اثر آلودگی نفتی و باکتری‌های

تجزیه‌کننده نفت خام بر برخی شاخص‌های بیوشیمیایی و رشد گیاه ذرت. *زیست‌شناسی گیاهی ایران*، ۱(۶)، ۷۱-۸۴. 20.1001.1.20088264.1393.6.21.7.2

فرخیان فیروزی، احمد، بی‌ریا، میلاد، معزی، عبدالامیر، و راهنما، افراسیاب (۱۴۰۲). اثر بیوچار کنوکارپوس بر برخی ویژگی‌های فیزیکی و مکانیکی خاک آهکی تحت کشت ذرّت. مدل*سازی و مدیریت آب و خاک*، doi: 10.22098/mmws.2023.12233.1217

کرمان‌نژاد، جلیل، ترابی‌پوده، حسن، قنبری عدیوی، الهام، شاهی‌نژاد، بابک (۱۴۰۲). حذف سدیم از زه آب کشاورزی با استفاده از زغال زیستی. مدل*سازی و مدیریت آب و خاک*، doi: 10.22098/mmws.2023.13129.1308

References

Alef, K., & Nannipieri, P. (1995). Methods in applied soil microbiology and biochemistry. Academic Press, London. 608 pages. Paperback ISBN: 9780125138406.

Ali, S., Rizwan, M., Noureen, S., Anwar, S., Ali, B., Naveed, M., Abd_Allah, E.F., Alqarawi, A.A., & Ahmad, P. (2019). Combined use of biochar and zinc oxide nanoparticle foliar spray improved the plant growth and decreased the cadmium accumulation in rice (*Oryza sativa* L.) plant. *Environmental Science and Pollution Research*, *26*, 11288-11299. doi: 10.1007/s11356-019-04554-y.

Anderson, C.R., Condron, L.M., Clough, T.J., Fiers, M., Stewart, A., Hill, R.A., & Sherlock, R.R. (2011). Biochar induced soil microbial community change: implications for biogeochemical cycling of carbon, nitrogen and phosphorus. *Pedobiologia*, *54*(5-6), 309-320. doi :10.1016/j.pedobi.2011.07.005.

Beiyuan, J., Qin, Y., Huang, Q., Wang, H., Tsang, D.C., & Rinklebe, J. (2021). Effects of modified biochar on as-contaminated water and soil: A recent update. *Advances in Chemical Pollution, Environmental Management and Protection*, *7*, 107-136.

Brookes, P.C. (1995). The use of microbial parameters in monitoring soil pollution by heavy metals. *Biology and Fertility of Soils*, *19*, 269–279.

Burns, R.G. (1978). Soil enzymes. Academic Press, New York, pp: 149-196. doi:10.1016/B978-012513840-6/50022-7.

Basaltpour, A. (2005). Bioremediation of soil contaminated with petroleum hydrocarbons by Phytostimulation method. Master's Thesis, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran. [In Persian]

Cassida, L.E., Klein, J.D., & Santoro, D. (1964). Soil dehydrogenase activity. *Soil Science*, *98*, 371-374. doi: 10.1097/00010694-196412000-00004.

Chen, T., Luo, L., Deng, S., Shi, G., Zhang, S., Zhang, Y., Deng, O., Wang, L., Zhang, J., & Wei, L. (2018). Sorption of tetracycline on H3PO4 modified Biochar derived from rice straw and swine manure. *Bioresource Technology*, *267*, 431-437. doi: 10.1016/j.biortech.2018.07.074.

Deenik, J.L., McClellan, T., Uehara, G., Antal, M.J., & Campbell, S. (2010). Charcoal volatile matter content influences plant growth and soil nitrogen transformations. *Soil Science Society of America Journal*, *74*(4), 1259-1270. doi: 10.2136/sssaj2009.0115.

Dempster, D.N., Gleeson, D.B., Solaiman, Z.I., Jones, D.L., & Murphy, D.V. (2012). Decreased soil microbial biomass and nitrogen mineralisation with Eucalyptus Biochar addition to a coarse textured soil. *Plant and Soil*, *354*, 11-324. doi:10.1007/s11104-011-1067-5

Diaz-Ravina, M., Calvo, D., Anta, R., & Baath, E, (2007). Tolerance (PICT) of the bacterial communities to copper in Vineyards soils from Spain. *Journal of Environmental Quality*, *36*, 1760-1764. doi: 10.2134/jeq2006.0476.

Dick, R.P., Breakwell, D.P., & Turco, R.F. (1996). Soil enzyme activities and biodiversity measurements as integrative microbiological indicators. 247-271. In: Doran, J.W., & A.J. Jones (eds), Methods for assessing soil quality. Special Publication No. 49, Soil Science Society of America Journal, USA., Madison, WI. doi:10.2136/SSSASPECPUB49.C15

Domene, X., Mattana, S., Hanley, K., Enders, A., & Lehmann, J. (2014). Medium-term effects of corn Biochar addition on soil biota activities and functions in a temperate soil cropped to corn. *Soil Biology and Biochemistry*, *72*, 152-162. doi 10.1016/j.soilbio.2014.01.035

Dong, H., Zhang, C., Hou, K., Cheng, Y., Deng, J., Jiang, Z., Tang, L., & Zeng, G. (2017). Removal of trichloroethylene by Biochar supported nanoscale zero-valent iron in aqueous solution. *Separation and Purification Technology*, *188*, 188-196. doi:10.1016/j.seppur.2017.07.033

Farkhian Firouzi, A., Milad Biria, M., Moezzi., A. B., & Rahnam. (2023). The effect of Cenocarpus biochar on some physical and mechanical properties of calcareous soil under corn cultivation. *Water and Soil Management and Modeling*. doi:10.22098/mmws.2023.12233.1217 [In Persian]

Fontaine, S., Marotti, A., & Abbadie, L. (2003). The priming effect of organic matter: A question of microbial competition. S*oil Biology and Biochemistry*, *35*, 837-843. doi:10.1016/S0038-0717(03)00123-8.

Frene, J.P., Frazier, M., Liu, S., Clark, B., Parker, M., & Gardner, T. (2021). Early effect of pine Biochar on peach-tree planting on microbial

community composition and enzymatic activity. *Applied Sciences, 11*(4), 1473. doi:10.3390/app11041473.

General Department of Meteorology of Khuzestan Province (2016). Meteorological technical newsletter. Khuzestan, Ahvaz, 35 pages. doi: 10.059/ijswr.019.7746.668143. [In Persian]

Habibi, H., Motsharazadeh., B., & Alikhani., H.A. (2017). The effect of biological treatments on the concentration of nutrients (phosphorus, potassium, calcium, magnesium, iron and manganese) of Amaranthus plant in a soil contaminated with oil compounds. *Iran Water and Soil Research*, *48*(2), 369-384.

Heydari Fard, M.H. (2002). Investigation of nickel and vanadium in Asmari and Bangestan reservoirs in Bibi Hakimeh square. Master's Thesis, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran. [In Persian]

Horwath W.R., & Paul E.A. (1984). Microbial biomass. In: Buxton DR(Ed). Methods of Soil Analysis, Part 2: Microbiological and Biochemical Properties. *Soil Science Society of America Journal*, *5*, 753-773. doi:10.2136/sssabookser5.2.c36.

Huang, M., Yang, L., Qin, H., Jiang, L., & Zou, Y. (2013). Quantifying the effect of Biochar amendment on soil quality and crop productivity in Chinese rice paddies. *Field Crops Research*, *154*, 172-177. doi:10.1016/j.fcr.2013.08.010

Jiang, Z., Lian, F., Wang, Z., & Xing, B. (2020). The role of Biochars in sustainable crop production and soil resiliency. *Journal of Experimental Botany, 71*(2), 520-542. doi: 10.1093/jxb/erz301.

Kermannejad, J., Torabi Podeh, H., Ghanbari Adivi, E., & Shahinejad, B. (2023). Drainage Water Sodium Removal by Biochar. Water and Soil Management and Modeling. doi: 10.22098/mmws.2023.13129.1308. [In Persian]

Kavousi Bafti, M., Asrar, Z., Hassan Shahian, M., & Karamatian, B. (2013). Investigating the effect of oil pollution and crude oil-decomposing bacteria on some biochemical indicators and corn plant growth. Iranian Plant Biology, 1(6), 71-84. 20.1001.1.20088264.1393.6.21.7.2 [In Persian]

Lehmann J., & Joseph S. (2009). Biochar for environmental management-an introduction. In: Lehmann J. and Joseph S. (Eds). Biochar for environmental management: Science and Technology. Earthscan, London, pp: 1–11. ISBN: 978-1-84407-658-1.

Li, M., Xiong, Y., & Cai, L. (2021). Effects of Biochar on the soil carbon cycle in agroecosystems: An promising way to increase the carbon pool in dryland. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, IOP Publishing. doi: 10.1088/1755-1315/693/1/012082.

Li, Y., Shao, J., Wang, X., Deng, Y., Yang, H., & Chen, H. (2014). Characterization of modified Biochars derived from bamboo pyrolysis and their utilization for target component (furfural) adsorption. *Energy Fuels*, *28*(8), 5119–5127. doi:10.1021/ef500725c

Liao, M., Chen, CL., Zeng, LS., & Huang, CY. (2007). Influence of lead acetate on soil microbial biomass and community structure in two different soils with the growth of Chinese cabbage (Brassicachinensis). *Chemosphere*, 66, 1197–1205. doi: 10.1016/j.chemosphere.2006.07.046.

Lominchar, M.A., Lorenzo, D., Romero, A., & Santos, A. (2018). Remediation of soil contaminated by PAHs and TPH using alkaline activated persulfate enhanced by surfactant addition at flow conditions. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, *93*, 1270–1278. doi: 10.3390/ijerph16030441.

Lopes, E.B. (2001). Diversidademetabólicaem solo tratado com biossólidos, M.Sc. Dissertation, Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, Brasil, 65. Martens R, 1991. Methodenzur quantitative Bestimmung und Charakterisierung dermikrobiellen biomasse in Boden. Eigenverlag des institutes fürBodenbiologie der FAL Braunschweig. doi: 10.11606/D.11.2002.tde-29042002-160938.

Luo, J., Li, X., Ge, C., Müller, K., Yu, H., Huang, P., Li, J., Tsang, D.C., Bolan, N.S., Rinklebe, J., & Wang, H. (2018). Sorption of norfloxacin, sulfamerazine and oxytetracycline by KOH-modified Biochar under single and ternary systems. *Bioresource Technology*, *263*, 385-392. doi: 10.1016/j.biortech.2018.05.022.

Major, J., Rondon, M., Molina, D., Riha, S.J., & Lehmann, J. (2010). Maize yield and nutrition during 4 years after Biochar application to a Colombian savanna oxisol. *Plant and Soil*, 333, 117-128. doi:10.1007/s11104-010-0327-0.

Mansoor, S., Kour, N., Manhas, S., Zahid, S., Wani, O.A., Sharma, V., Wijaya, L., Alyemeni, M.N., Alsahli, A.A., El-Serehy, H.A., Paray, B.A., Ahmad, P. (2021). Biochar as a tool for effective management of drought and heavy metal toxicity. *Chemosphere*, *271*, 129458. doi: 10.1016/j.chemosphere.

Martens, R. (1991). Methodenzur quantitative bestimmung und charakterisierung dermikrobiellen biomasse in Boden. Eigenverlag des institutes fürBodenbiologie der FAL Braunschweig. https://www.openagrar.de/receive/timport_mods_00005888.

McLean, E.O. (1983). Soil pH and lime requirement. Methods of soil analysis: Part 2 Chemical and

microbiological properties, *9*, 199-224. doi:10.2134/agronmonogr9.2.2ed.c12.

Metson, A.J. (1961). Methods of Chemical Analaysis for Soil Survey Samples, Soil Bureau Bulletin 12, Depth Scientific; Industrial Research, New Zealand.

Mierzwa-Hersztek, M., Wolny-Koładka, K., Gondek, K., Gałązka, A., & Gawryjołek, K., (2020). Effect of coapplication of Biochar and nutrients on microbiocenotic composition, dehydrogenase activity index and chemical properties of sandy soil. *Waste and Biomass Valorization, 11*, 3911-3923. doi:10.1007/s12649-019-00757-z.

Mishra, S., Lal, B., Jyot, J., & Rajan, S. (1991). Field study in situe Bioremidiation od oily sludge contaminated land using oilzapper, hazardous and industrial wastes, industrial and hazardous confrance, University of Connecticut.

Olsen, S., Cole, C., Watanabe, F., & Dean, L. (1954). Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. USDA Circular Nr 939, US Gov.Print. Office, Washington, D.C. oclc/17316676.

Omidpur, A. (2015). Isolation of bacteria resistant to heavy metals and decomposing oil hydrocarbons from drilling mud residues. Master's Thesis, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran. [In Persian]

Page, A.L., Miller, R.H., & Keeney, D.R. (1982). Methods of soil analysis agronomy No G. Partz USA. Inc. doi: 10.2134/agronmonogr9.2.2ed.frontmatter

Park, J.H., Cho, J.S., Ok, Y.S., Kim, S.H., Kang, S.W., Choi, I.W., Heo, J.S., DeLaune, R.D., & Seo, D.C. (2015) Competitive adsorption and selectivity sequence of heavy metals by chicken bone-derived Biochar: batch and column experiment. *Journal of Environmental Science and Health*, *50*(11) ,1194-1204. doi: 10.1080/10934529.2015.1047680.

Purakayastha, T.J., Kumari, S., & Pathak, H. (2015). Characterisation, stability, and microbial effects of four Biochars produced from crop residues. *Geoderma, 239*, 293-303. doi:10.1016/j.geoderma.2014.11.009

Pollution Standards of Soil Resources and its Guidelines (2022). Human Environment Deputy, Water and Soil Office. https://wsm.doe.ir/portal/home/?generaltext/673823/1010221/. [In Persian]

Quilchano, C., & Maranon, T. (2002). Dehydrogenase activity in mediterranean forest soils. *Biology and Fertility of Soils, 35*(2), 102-107. doi:10.1007/s00374-002-0446-8.

Rahbari-Sisakht, M., Pouranfard, A., Darvishi, P., & Ismail, A.F. (2017). Biosurfactant production for enhancing the treatment of produced water and bioremediation of oily sludge under the conditions of Gachsaran oil field. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, *92*, 1053-1064. doi;10.1002/jctb.5081.

Rajapaksha, A.U., Chen, S.S., Tsang, D.C.W., Zhang, M., Vithanage, M., Mandal, S., Gao, B., Bolan, N.S., & Ok, Y.S. (2016). Engineered/designer Biochar for contaminant removal/immobilization from soil and water: Potential and implication of Biochar modification. *Chemosphere*, *148*, 276–291. doi:10.1016/j.chemosphere.2016.01.043

Rajkovich, S., Enders, A., Hanley, K., Hyland, C., Zimmerman, A.R., & Lehmann, J. (2011). Corn growth and nitrogen nutrition after additions of Biochars with varying properties to a temperate soil. *Biology and Fertility of Soils*, *48*(3), 271-284. doi:10.1007/s00374-011-0624-7.

Rhoads. J.D., Ingvabon, R.D., & Hatcher, D.D. (1970). Labortory determination Leacheable soil boron. *Soil Science Society of America Journal*, *34*, 871-875. doi:10.2136/sssaj1970.03615995003400060018x.

Rutigliano, F.A., Romano, M., Marzaioli, R., Baglivo, I., Baronti, S., Miglietta, F., & Castaldi, S. (2014). Effect of Biochar addition on soil microbial community in a wheat crop. *European Journal of Soil Biology*, *60*, 9-15. doi:10.1016/j.ejsobi.2013.10.007.

Saeed, M., Ilyas, N., Jayachandran, K., Gaffar, S., Arshad, M., Ahmad, M.S., Bibi, F., Jeddi, K., & Hessini, K. (2022). Biostimulation potential of Biochar for remediating the crude oil contaminated soil and plant growth. *Saudi Journal of Biological Sciences, 28*(5), 2667-2676. doi: 10.1016/j.sjbs.2021.03.044.

Sahin, O., Taskin, M.B., Kaya, E.C., Atakol, O., Emir, E., Inal, A., & Gunes, A. (2017). Effect of acid modification of Biochar on nutrient availability and maize growth in a calcareous soil. *Soil Use and Management*, *33*(3), 447-456. doi:10.1111/sum.12360.

Salazar, S., Sanchez, L., Alvarez, J., Valverde, A., Galindo, P., Igual, J., Peix, A. (2011). Correlation among soil enzyme activities under different forest system management practices. *Ecological Engineering 37*, 1123-1131. doi:10.1016/j.ecoleng.2011.02.007.

Shaaban, A., Se, S.M., Mitan, N.M.M., & Dimin, M.F. (2013). Characterization of Biochar derived from rubber wood sawdust through slow pyrolysis on surface porosities and functional groups. *Procedia Engineering*, *68*, 365-371. doi: 10.1016/j.proeng.2013.12.193.

Šíša, R. (1993). Enzym ová aktivit apůdyja koukazate ljejíbiologi ckéaktivity. *Rostl. Výr*, *39*, 817–825. doi: 10.17221/4131-PSE.

Smith, J.L., Collins, H.P., & Bailey, V.L. (2010). The effect of young Biochar on soil respiration. *Soil Biology and Biochemistry, 42*(12), 2345-2347. doi:10.1016/j.soilbio.2010.09.013

Song, D., Tang, J., Xi, X., Zhang, S., Liang, G., Zhou, W., & Wang, X. (2018). Responses of soil nutrients and microbial activities to additions of maize straw Biochar and chemical fertilization in a calcareous soil. *European Journal of Soil Biology, 84*, 1-10. doi:10.1016/j.ejsobi.201711.003.

Speir, T.V., Kettles, H.A., Parshotam, A,, Searle P.L., Vlaar, L.N.C. (1995). A simple kinetic approach to derive the ecological dose value ED 50, for the assessment of Cr (VI) toxicity to soil biological properties. *Soil Biology and Biochemistry, 27*, 801–811.doi:10.1016/s0038-0717(98)00169-2.

Suárez-Hernández, L., & Barrera-Zapata, R. (2017). Morphological and physicochemical characterization of Biochar produced by gasification of selected forestry species. *Revista Facultad de Ingeniería, 26*(46), 123-130. doi:10.19053/01211129.v26.n46.2017.7324.

Sun, C., Chen, T., Huang, Q., Wang, J., Lu, S., & Yan, J. (2019). Enhanced adsorption for Pb (II) and Cd (II) of magnetic rice husk Biochar by KMnO 4 modification. *Environmental Science and Pollution Research, 26*, 8902-8913. doi: 10.1007/s11356-019-04321-z.

Salimi, M., Ebrahimi, S., & Ghorbani Nasrabadi, R. (2019). Optimizing the survival of non-native bacteria that effectively decompose crude oil in different carriers. Environmental Science and Technology, doi:10.034/jest.00.34708.4186. [In Persian]

Sharifi Hosseini, S., Shahbazi, A., Yazdipour, A., & Kamranfar, I. (2008). Biological remediation of soil contaminated with crude oil with chemical fertilizers. *Water and Soil (Agricultural Sciences and Industries), 3*(3), 155-145. doi:10.22067/jsw.v0i0.2322. [In Persian]

Shaheswarzadeh Jangi, P., Shoja Al-Sadati, S.A., & Hashemi Najafabadi, S. (2007). Evaluating the effect of soil texture on the bioremediation of soils contaminated with crude oil. The 12th National Congress of Chemical Engineering of Iran, Sahand University of Technology, Tabriz. Iran. https://civilica.com/doc/57716/. [In Persian]

Takaya, C.A., Fletcher, L.A., Singh, S., Okwuosa, U.C., Ross, A.B. (2016). Recovery of phosphate with chemically modified Biochars. *Journal of Environmental Chemical Engineering, 4*(1), 156-1165. doi:10.1016/j.jece.2016.01.011

Tan, Z., Zou, J., Zhang, L., & Huang, Q. (2018). Morphology, pore size distribution, and nutrient characteristics in Biochars under different pyrolysis temperatures and atmospheres. *Journal of Material Cycles and Waste Management, 20*(2), 1036-1049. doi: 10.1007/s10163-017-0666-5.

Tarkashvand, M., Lakzian, A., Fotovat, A., & Mohammady, M. (2019). Isolation, screening and efficiency of Pseudomonas isolates in biofilm formation on organic and inorganic carriers and phenanthrene degradation. *Journal of Microbial World, 13*(4), 6-0. dor:20.1001.1.20083068.1399.13.42. [In Persian]

Tavalla, I.H., & Massomi, T. (1998). Simulation kinetic spectrophotometric determination of vanadium and iron. Talanta, 479-485. doi: 10.1016/s0039-9140(98)00156-8.

Thies, J.E., & Rillig, M.C. (2012). Characteristics of Biochar: biological properties. In Biochar for Environmental Management. pp. 117-138. Routledge. doi: 10.4324/9781849770552-13.

Usman, A.R., Ahmad, M., El-Mahrouky, M., Al-Omran, A., Ok, Y.S., Sallam, A.S., El- Naggar, A.H., & AlWabel, M.I. (2015). Chemically modified Biochar produced from conocarpus waste increases NO 3 removal from aqueous solutions. *Environmental Geochemistry and Health, 38*(2), 511–521. doi : 10.1007/s10653-015-9736-6.

Walkley, A., & Black, I.A. (1934). An examination of the degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science, 37*, 29-38. doi:10.1097/00010694-193401000-00003.

Wang, C., Li, Y., Tan, H., Zhang, A., Xie, Y., Wu, B., & Xu, H., (2019). A novel microbe consortium, nano-visible light photocatalyst and microcapsule system to degrade PAHs. *Chemical Engineering Journal, 359*, 1065-1074. doi:10.1016/j.cej.2018.11.07.

Wang, H., Zhang, R., Zhao, Y., Shi, H., & Liu, G., (2022). Effect of Biochar on rhizosphere soil microbial diversity and metabolism in tobacco-growing soil. *Ecologies, 3*(4), 539-556. doi:10.3390/ecologies3040040

Wang, Z., Zheng, H., Luo, Y., Deng, X., Herbert, S., & Xing, B. (2013). Characterization and influence of Biochars on nitrous oxide emission from agricultural soil. *Environmental pollution, 174*, 289-296. doi: 10.1016/j.envpol.2012.12.003.

Wardle, D.A. (1992). A comparative assessment of factors which influence microbial biomass carbon and nitrogen levels in soil. *Biological Reviews, 67*(3), 321-358. doi:10.1111/j.1469-185X.1992.tb00728.x.

Wu, M., Dick, W.A., Li, W., Wang, X., Yang, Q., Wang, T., Xu, L., Zhang, M., & Chen, L. (2016). Bioaugmentation and biostimulation of hydrocarbon degradation and the microbial community in a petroleum contaminated soil. *International Biodeterioration and Biodegradation., 107*, 158–164. doi:10.1016/j.ibiod.2015.11.019.

Xu, W., Whitman, W.B., Gundale, M.J., Chien, C., & Chiu, C. (2020). Functional response of the soil microbial community to Biochar applications. *GCB Bioenergy*, *13*(1), 269–281. doi:10.1111/gcbb.12773.

Xue, J., Wu, Y., Shi, K., Xiao, X., Gao, Y., Li, L., & Qiao, Y. (2019). Study on the degradation performance and kinetics of immobilized cells in straw-alginate beads in marine environment. Bioresource Technology, *280*, 88-94. doi:10.1016/j.biortech.2019.02.019.

Yuan, B., & Yue, D, (2012). Soil microbial and enzymatic activities across a chronosequenceof chinese pine plantation development on the loess plateau of china. *Pedosphere*, *22*, 1-12. doi:10.1016/S1002-0160(11)60186-0.

Zhang, N., He, X., Gao, Y., Li, Y., Wang, H., Ma, D., Zhang, R., & Yang, S. (2010). Pedogenic carbonate and soil dehydrogenase activity in response to soil organic matter in artemisia ordosica community. *Pedosphere*, *20*, 229-235. doi:10.1016/S1002-0160(10)60010-0.

Zhang, B., Zhang, L., & Zhang, X. (2019). Bioremediation of petroleum hydrocarboncontaminated soil by petroleum-degrading bacteria immobilized on Biochar. RSC advances. *9*, 35304–35311. doi:10.1039/C9RA06726D.

Zingaro, K.A., Nicolaou, S.A., & Papoutsakis, E.T. (2013). Dissecting the assays to assess568 microbial tolerance to toxic chemicals in bioprocessing. *Trends in Biotechnology: Cell Press*. *31*, 643-653. doi: 10.1016/j.tibtech.2013.08.005.