

اثر کاربرد بیوچارهای هسته خرما بر فعالیت آنزیمی در خاک‌های ریزوسفری و غیرریزوسفری گیاه گل گاوزبان اروپایی

آسیه عباسیان^۱ و محسن شکل آبادی*

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۲۹؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۳/۳۱)

چکیده

این پژوهش با هدف بررسی اثر کاربرد بیوچار و نانوبیوچارهای تهیه شده از پودر هسته خرما بر فعالیت آنزیمی در محیط ریزوسفری و غیرریزوسفری گیاه گل گاوزبان اروپایی انجام شده است. پودر هسته خرما در دو دمای ۴۰۰ و ۸۰۰ درجه سلسیوس پیرولیز شده و به بیوچار تبدیل شده و با خاک‌های مورد بررسی مخلوط شد. چهار نوع خاک تقریباً اسیدی، آهکی، شور-سدیمی و شور-سدیمی شدید با ویژگی‌های متفاوت انتخاب شدند. مقداری از بیوچارها با استفاده از روش گوی غلتان به اندازه نانو تبدیل شدند. با روش هیدروترمال نیز نانوذره مورد نیاز از پودر هسته خرما استخراج شد. پودر هسته خرما، بیوچار و نانوبیوچار به نسبت ۵ درصد و نانوذره به نسبت ۱ درصد با خاک‌ها مخلوط شده و به گلدان‌ها منتقل شدند. گیاه گل گاوزبان اروپایی در گلدان‌ها کشت شده و پس از ۶۰ روز برداشت شدند. خاک‌های ریزوسفری و غیرریزوسفری جدا شده و آنزیم‌های فسفومونواستراز اسیدی، قلیایی، پروتئاز و بتا-گلوکوزیداز اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم‌های فسفومونواستراز اسیدی، پروتئاز و بتا-گلوکوزیداز در خاک اسیدی بیشترین و در خاک شور-سدیمی شدید کمترین بود. اما بیشترین فعالیت آنزیم فسفومونواستراز قلیایی در خاک شور-سدیمی شدید و کمترین مقدار در خاک اسیدی مشاهده شد. فعالیت آنزیم‌ها در خاک ریزوسفری بیش‌تر از خاک غیرریزوسفری بود. بیشترین فعالیت آنزیم‌ها در خاک‌های شاهد بود و با کاربرد بیوچار، نانوبیوچار و نانوذره کاهش یافت. در بسیاری از خاک‌های تیمار شده با نانوذره کمترین فعالیت آنزیم‌ها مشاهده شد. زیاد بودن دشواری شوری و سدیمی خاک‌های مورد بررسی باعث شد تا اثر کاربرد بیوچار و نانوبیوچار بر فعالیت‌های آنزیمی خاک‌ها تحت تأثیر قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: بیوچار، نانوبیوچار، نانوذره، خاک آهکی، خاک شور-سدیمی، فعالیت آنزیمی

مقدمه

فیزیکی و شیمیایی خاک کمک می‌کند (۳۷). با افزودن بیوچار به خاک به علت وجود گروه‌های جذبی و همچنین منافذ ریز و متوسط و برهمکنش عناصر غذایی خاک با گروه‌های عاملی بیوچار (به‌ویژه لیگاندهای رهاکننده اکسیژن از جمله کربوکسیلات) حاصلخیزی خاک بهبود پیدا می‌کند (۳۷). در سال‌های اخیر با توجه به ویژگی‌های جذبی و تخلخل و

بیوچار یک ماده متخلخل، غنی از کربن و ریزدانه است که از پیرولیز بقایای آلی مانند پسماندهای گیاهی، کودهای دامی و سایر ضایعات در دمای ۲۰۰ تا ۹۰۰ درجه سلسیوس در یک محیط بدون اکسیژن یا با میزان اکسیژن محدود به دست می‌آید (۳۱). بیوچار به‌عنوان یک اصلاح‌کننده در بهبود ویژگی‌های

۱- گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: sheklabadi@basu.ac.ir

همچنین گروه‌های عاملی بیوپچار استفاده از بیوپچار به‌عنوان یک اصلاح‌کننده و یا بهبوددهنده ویژگی‌های خاک با منشأ متنوعی از ضایعات آلی کشاورزی و دامی و همچنین روش‌های تهیه متفاوت مورد توجه قرار گرفته و در پژوهش‌های مختلفی اثر آن بر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک‌ها بررسی شده است (۳۱).

پژوهشگران آنزیم‌های خاک را به‌عنوان شاخص‌های حاصلخیزی و کیفیت خاک پیشنهاد کرده‌اند. آنزیم‌های خاک از طریق کاتالیز کردن واکنش‌های بیولوژیک نقش مؤثری در تجزیه بقایای آلی، چرخه عناصر غذایی، تشکیل ماده آلی و ساختمان خاک دارند. آنزیم‌ها از نخستین محصولات میکروبی هستند که دائماً به وسیله گیاهان و یا ریزجانداران خاک تولید شده و می‌توانند در خاک به‌صورت غیرفعال و یا حتی تجزیه شده تجمع یابند و به این ترتیب در چرخه عناصر در کشاورزی اهمیت زیادی دارند (۱۱). فسفاتازها انواعی از آنزیم‌ها هستند که از طریق هیدرولیز پیوندهای استرفسفاته، توانایی معدنی کردن فسفر آلی خاک را دارند. در بین استرهای آلی اسید فسفریک در خاک، اسید فیتانیک یا فیتین بیشترین سهم را دارد. گیاهان برای جذب فسفر از منابع آلی نیاز دارند که فسفر آلی توسط فسفاتازها به ارتوفسفاته‌های اولیه تبدیل شود. مهم‌ترین انواع آن‌ها، فسفاتاز اسیدی و قلیایی هستند که به‌علت اهمیت‌شان در معدنی شدن فسفر آلی خاک و تغذیه گیاهان، بیش از سایر گروه‌های فسفاتاز مورد توجه قرار گرفته‌اند. فسفاتاز اسیدی در خاک‌های اسیدی و فسفاتاز قلیایی در خاک‌های قلیایی غالب هستند (۱۶). منبع این آنزیم‌ها در خاک ترشحات ریشه‌ای گیاهان و میکروب‌های خاک است. بنابراین فعالیت آن‌ها در خاک وابسته به وجود پوشش گیاهی، ویژگی‌های فیزیکی خاک‌ها، مقدار و شدت فعالیت زیست‌توده میکروبی و مقدار کودهای آلی و معدنی در خاک است (۱، ۳ و ۱۲). بیش‌تر گیاهان توان تولید فسفاتاز قلیایی را ندارند، بنابراین فسفاتاز قلیایی به‌طور عمده توسط ریزجانداران خاک تولید می‌شود (۱۹).

افزودن بیوپچار به خاک، باعث تغییر معنی‌دار نسبت باکتری به قارچ و جمعیت میکروبی غالب خاک شده (۸) و همچنین با اثر بر فعالیت آنزیمی و فعالیت میکروبی می‌تواند موجب تغییر عملکرد و نقش خاک شود (۳۹). آواد و همکاران (۴) اثر بیوپچار را بر تجزیه بقایای گیاهی بررسی کرده و دریافتند که کاربرد بیوپچار فعالیت آنزیمی را در خاک شنی بیش‌تر از خاک لومی افزایش می‌دهد. پازفریرو و همکاران (۲۹) افزایش فعالیت آنزیم فسفاتاز با استفاده از بیوپچار را گزارش کردند. مستو و همکاران (۲۰) اثر بیوپچار سنبل آبی بر فعالیت آنزیم‌ها را بررسی کرده و افزایش فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز را گزارش کردند. طلوعی و داراب (۳۵) نیز با بررسی فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز و فسفاتازهای اسیدی و قلیایی در خاک و بیوپچار در کشت گلدانی ذرت تحت تنش کم‌آبی، نشان دادند فعالیت فسفاتازهای اسیدی و قلیایی در خاک‌های تیمار شده با بیوپچار نسبت به خاک‌های بدون بیوپچار افزایش یافت. اثر بیوپچار بر فعالیت آنزیمی به نوع و ویژگی‌های بیوپچار وابسته است (۱۴) و (۳۱). بیلی و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که کاربرد بیوپچار تولید شده از بقایای گیاه *Panicum virgatum* نسبت به بیوپچار چوب، کربن محلول و عناصر غذایی بیش‌تری دارد و می‌تواند منجر به افزایش فعالیت آنزیمی شود (۶). میرزوا هرستک و همکاران (۲۲) اظهار کردند که اثر بیوپچار بر فعالیت آنزیمی به نسبت بیوپچار مصرفی وابسته است و نسبت‌های کم بیوپچار اثر معنی‌داری نسبت به شاهد ایجاد نکردند.

از سویی دیگر خاک‌های مناطق خشک و نیمه‌خشک، به‌علت کمبود بارندگی و تبخیر و تعرق زیاد، دشواری‌های زیادی مانند تجمع نمک‌های محلول یا شوری و سدیمی شدن دارند و به‌علت کمبود و یا نبود پوشش گیاهی کافی و بازگشت مقدار کم بقایای گیاهی به خاک، ماده آلی کمی دارند. تجزیه تدریجی مواد آلی (بیوپچار و کمپوست) کارایی تاثیر عناصر غذایی را افزایش می‌دهد و باعث ماندگار شدن اثر این ترکیبات بر عملکرد گیاهان و ویژگی‌های خاک می‌شود. استفاده از روش تبدیل ضایعات به بیوپچار و نانوبیوپچار و کاربرد آن در خاک

جدول ۱. برخی ویژگی‌ها و مکان نمونه‌برداری خاک‌های مورد بررسی.

Table 1. Selected properties and sampling location of studied soils.

	آهکی Calcareous	شور-سدیمی شدید Saline-Highly Sodic	شور-سدیمی Saline-Sodic	اسیدی Acidic
pH	8.6	11.4	12.0	4.4
EC (dS m ⁻¹)	2.61	7.51	36.65	0.55
OC (%)	0.67	0.54	0.21	4.37
CCE (%)	52.5	22.9	33.3	0.0
SAR	7.7	285.2	20.1	3.1
CEC (cmol(+) kg ⁻¹)	11.0	7.3	22.7	68.9
بافت خاک Soil texture	لوم شنی Sandy loam	لوم رسی سیلتی Silty clay loam	لوم رسی Clay loam	لوم رسی Clay loam
مکان نمونه‌برداری Location	کبودر آهنگ Kabodar-Ahang	کبودر آهنگ Kabodar-Ahang	کبودر آهنگ Kabodar-Ahang	لاهیجان Lahijan

EC: رسانایی الکتریکی، OC: کربن آلی، CCE: کربنات کلسیم معادل، SAR: نسبت جذب سدیم، CEC: گنجایش تبادل کاتیونی.

EC: Electrical conductivity; OC: Organic carbon; CCE: Calcium carbonate equivalent; SAR: Sodium adsorption ratio; CEC: Cation exchange capacity.

سدیمی بر فعالیت برخی آنزیم‌های مربوط به چرخه عناصر کربن، فسفر و نیتروژن خاک انجام شده است.

مواد و روش‌ها

چهار نوع خاک روئین با ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی متفاوت برای انجام این آزمایش جمع‌آوری شدند. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مورد بررسی و مکان نمونه‌برداری آنها در جدول (۱) مشخص شده است. خاک‌های مورد بررسی شامل موارد زیر بودند. خاک آهکی با کاربری زراعی (کشت گندم) و مقدار آهک ۵۲/۵ درصد و pH برابر ۸/۵۷، خاک شور-سدیمی با کاربری زراعی (کشت گندم)، با مقدار قابلیت هدایت الکتریکی ۳۶/۶۵ دسی‌زیمنس بر متر، خاک شور-سدیمی شدید با مقدار قابلیت هدایت الکتریکی ۷/۵۱ دسی‌زیمنس بر متر و نسبت جذب سدیم ۲۲۹/۲۰ که از زمینی بایر نمونه‌برداری شده بود و خاک اسیدی با کاربری باغات چای و pH برابر ۴/۳۷ بودند. این نمونه خاک که دارای pH تقریباً اسیدی است، برای مقایسه و درک بهتر اثر مواد جامد زیستی استفاده شد. خاک‌های آهکی و شور-سدیمی از زمین‌های کشاورزی اطراف جاده کبودرآهنگ به همدان نمونه‌برداری شد.

برای بهبود ویژگی‌های خاک از جمله کارایی مصرف آب و یا بهبود جذب و نگهداری عناصر غذایی و سنگین خاک در پژوهش‌های مختلفی بررسی شده است (۳۱). مؤمنی (۲۳) بر اساس بانک اطلاعاتی نقشه ۱:۱۰۰۰۰۰۰ منابع و استعداد خاک‌های ایران، مساحت زمین‌های کشاورزی دارای محدودیت شوری و سدیمی در کشور را ۶۷۸۱۶۲۰ هکتار گزارش کرده است. بنابراین توجه به روش‌هایی که بتوانند برای بهبود وضعیت این خاک‌ها استفاده شوند ضروری به نظر می‌رسد. با این وجود پژوهش خاصی در مورد اثر کاربرد بیوپچار و یا نانوبیوپچارهای تولید شده از آنها در خاک‌های شور-سدیمی انجام نشده است.

با توجه به حساسیت زیاد آنزیم‌های خاک به شرایط شیمیایی و بیولوژیک خاک، بررسی فعالیت آنزیم‌های خاک که در چرخه‌های عناصر فسفر، نیتروژن و کربن مؤثر هستند می‌تواند نشان‌دهنده وضعیت تغییر کیفیت بیولوژیک خاک‌ها پس از استفاده از بیوپچار و نانوبیوپچارها به‌عنوان اصلاح‌کننده خاک باشد. این پژوهش با هدف بررسی اثر استفاده از بیوپچار و نانوبیوپچارهای تهیه شده از پودر هسته خرما در دماهای متفاوت در چند خاک متنوع دارای دشواری‌های آهک زیاد و شوری-

جدول ۲. برخی ویژگی‌های بیوچار، نانوبیوچار و نانوذره تهیه شده از پودر هسته خرما.

Table 2. Selected properties of date kernel's biochar, nano-biochar and nanoparticles.

	DK	Bio 400	Bio 800	NBio 400	Nbio 800	NP
pH	7.58	7.69	8.10	7.86	8.24	7.62
EC (dS m ⁻¹)	3.51	4.48	5.77	4.26	6.67	3.59
OC (%)	3.57	4.30	4.57	5.76	6.28	5.17

EC: قابلیت هدایت الکتریکی، OC: کربن آلی

EC: Electrical conductivity; OC: Organic carbon

حمام^۲ پراکنده شد و به مدت ۸ ساعت در دمای ۲۰۰ درجه سلسیوس در اتوکلاو قرار داده شد. سپس با سانتریفوژ به مدت ۴۵ دقیقه جداسازی انجام گرفت. برخی ویژگی‌های تیمارهای مورد استفاده در جدول (۲) آورده شده است.

برای اجرای این آزمایش، خاک‌ها با ۵ درصد وزنی از تیمارهای پودر هسته خرما، بیوچار ۴۰۰ درجه سلسیوس، بیوچار ۸۰۰ درجه سلسیوس، نانوبیوچار ۴۰۰ درجه سلسیوس، نانوبیوچار ۸۰۰ درجه سلسیوس و ۱ درصد وزنی نانوذره مخلوط شده و به گلدان‌های ۱۰ کیلوگرمی منتقل شدند. برای هر خاک یک تیمار شاهد که هیچگونه مواد جامد زیستی دریافت نکرده بود در نظر گرفته شد و برای انجام آزمایش ۳ *Borago officinalis* در گلدان‌های تیمار و شاهد کشت شده و پس از ۶۰ روز و تکمیل رشد رویشی، گیاهان برداشت شده و خاک‌های ریزوسفری از خاک غیرریزوسفری جدا شد. برای جداسازی خاک ریزوسفری از روش تورپالت (۳۶) استفاده شد. پس از خارج کردن ریشه گیاه از گلدان، خاک‌هایی که بدون تکان دادن غیرریزوسفری و خاک‌هایی که به ریشه چسبیده بوده و پس از تکان دادن و شستشو از ریشه جدا شدند به عنوان خاک ریزوسفری در نظر گرفته شد.

برای بررسی و درک بهتر اثر تیمارها در فرایندهای خاک، چهار آنزیم که در چرخه‌های کربن، فسفر و نیتروژن خاک نقش دارند انتخاب شدند. در هر دو بخش ریزوسفری و غیرریزوسفری خاک، فعالیت آنزیم‌های بتا-گلوکوزیداز،

هسته خرما از جمله ضایعات کشاورزی است که حدود ۱۲-۶ درصد محصول خرما را تشکیل داده و سالانه ۷۰ تا ۱۰۰ هزار تن هسته خرما در کشور تولید می‌شود. برای تهیه تیمارها ابتدا هسته خرما آسیاب شده و پودر آن به عنوان یکی از تیمارها استفاده شد. درصد رطوبت پودر هسته خرما و چگالی ظاهری آن به ترتیب ۱۲-۱۰ درصد و ۰/۸۵۵ گرم بر سانتی‌متر مکعب بود. پودر هسته خرما برای تهیه بیوچار استفاده شد. برای تهیه بیوچار در دمای ۴۰۰ درجه سلسیوس، پودر هسته خرما به تدریج طی ۴ ساعت تا دمای ۴۰۰ درجه سلسیوس رسید و به مدت ۱۰ دقیقه در این دما در شرایط بدون اکسیژن گرمادهی شد. برای تهیه بیوچار در دمای ۸۰۰ درجه سلسیوس، پودر هسته خرما به تدریج در طی ۴ ساعت در شرایط بدون اکسیژن به دمای ۸۰۰ درجه سلسیوس رسید و به مدت ۵ دقیقه در این دما نگهداری شد. نسبت تبدیل پودر هسته خرما به بیوچار ۴۰-۳۸ درصد بود و چگالی ظاهری بیوچار در دماهای ۴۰۰ و ۸۰۰ درجه سلسیوس به ترتیب ۰/۶۵ و ۰/۶۳ گرم بر سانتی‌متر مکعب به دست آمد. مقداری از بیوچارهای تهیه شده در هر دو دما با روش آسیاب گلوله‌ای-سیاره‌ای^۱ به نانوبیوچار تبدیل شدند. مقداری از هر بیوچار در کاسه دستگاه شیکر قرار گرفته و گلوله‌های فلزی در سه اندازه به آن افزوده شده و به مدت یک ساعت شیک شد. سپس پودر حاصل با الک اندازه نانو غربال شد. همچنین در این آزمایش با استفاده از روش هیدروترمال از پودر هسته خرما، نانوذره تهیه شد. در این روش پودر هسته خرما با مقداری آب مقطر برای ۴۰ دقیقه شیک شد. سپس سوسپانسیون به مدت ۳۰ دقیقه با دستگاه اولتراسونیک نوع

2. Bath ultrasound

1. Planetary ball mill

جدول ۳. تجزیه واریانس اثر نوع خاک، بیوچار و ریزوسفر بر آنزیم‌های اندازه‌گیری شده.

Table 3. Analysis of variance of the effect of soil type, biochars and rhizosphere on the measured enzymes.

	فسفومونواسترز اسیدی Acidic Phosphomonoesterase		فسفومونواسترز قلیایی Alkaline Phosphomonoesterase		پروتئاز Protease		بتا-گلوکوزیداز β -glucosidase
	df	MS	df	MS	df	MS	MS
Soil	3	10433**	3	19672**	3	12691**	4788**
Bio	6	5340**	6	5848**	6	3498**	1981**
Rh	1	9691**	1	6960**	1	7406**	3427**
Soil \times Bio	17	440**	16	581**	15	370**	124**
Soil \times Rh	3	1331**	3	294**	3	813**	13**
Rh \times Bio	6	97**	6	47**	6	58**	13**
Soil \times Bio \times Rh	17	129**	16	25**	15	97**	6**
Res	108	4	104	6	100	5	3

Soil: نوع خاک، Bio: تیمارهای استفاده شده، Rh: ریزوسفر-غیرریزوسفر، Res: باقیمانده، Df: درجه آزادی، MS: میانگین مربعات.

Soil: Soil type; Bio: Applied treatments; Rh: Rhizosphere/Non-rhizosphere; Res: Residuals; Df: Degree of freedom; MS: Mean squares.

ریزوسفر و غیرریزوسفر با استفاده از روش دانکن در سطح ۱ درصد آماری مقایسه شدند.

نتایج و بحث

جدول تجزیه واریانس آنزیم‌های اندازه‌گیری شده در جدول (۳) ارائه شده است. آثار سه‌گانه برهم‌کنش‌های خاک، مواد جامد زیستی و جایگاه ریزوسفری بر همه آنزیم‌های اندازه‌گیری شده در سطح احتمال ۱ درصد آماری معنی‌دار شدند.

جدول (۴) مقایسه میانگین برهم‌کنش‌های سه‌گانه برای آنزیم فسفومونواسترز اسیدی را نشان می‌دهد. بیش‌ترین فعالیت آنزیم فسفومونواسترز اسیدی در خاک اسیدی تیمار شاهد و کم‌ترین مقادیر در خاک شور-سدیمی شدید تیمار نانوذره مشاهده شد. تفاوت‌های مشاهده شده بین خاک‌های مختلف در سطح ۱ درصد آماری معنی‌دار بود. بیش‌ترین فعالیت آنزیم فسفومونواسترز اسیدی در بخش ریزوسفری مشاهده شد که به دلیل اثر فعالیت‌های ریشه و ترشحات آن است. در بسیاری از خاک‌های مورد بررسی تفاوت معنی‌داری بین بخش ریزوسفری و غیرریزوسفری خاک‌ها مشاهده شد. اما فعالیت آنزیم فسفومونواسترز اسیدی در بخش‌های ریزوسفر و غیرریزوسفر خاک شور-سدیمی شدید تفاوت معنی‌داری نداشتند و افزایش

فسفومونواسترز اسیدی، فسفومونواسترز قلیایی و پروتئاز با روش‌های استاندارد اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری بتا-گلوکوزیداز پس از افزودن سالیسین به‌عنوان بستره، نمونه‌های خاک به مدت ۳ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس نگهداری شده و سپس مقدار سالیسین آزاد شده از بستره، در طول موج ۵۷۸ نانومتر اندازه‌گیری شد (۳۲). برای اندازه‌گیری فسفومونواسترز اسیدی و فسفومونواسترز قلیایی پس از افزودن محلول بافر پارانیتر و فنیل فسفات، نمونه‌ها به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس نگهداری شده، پارانیتر و فنل آزاد شده در اثر فعالیت فسفومونواسترزهای مختلف استخراج شده و در طول موج ۴۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (۲). اندازه‌گیری پروتئاز با استفاده از بستره کازئین انجام شد. نمونه‌های خاک و کازئین به مدت ۲ ساعت در ۵۰ درجه سلسیوس و pH برابر ۸/۱ نگهداری شده و اسیدهای آمینه آزاد شده طی مدت انکوباسیون استخراج شد. باقیمانده بستره به‌وسیله تری‌کلرو استیک اسید رسوب داده شد. اسیدهای آمینه آروماتیک با روش رنگ‌سنجی اندازه‌گیری شد (۱۷).

آزمایش انجام شده در قالب فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی و با سه تکرار با استفاده از نرم‌افزار R تجزیه آماری شد و میانگین آثار اصلی و برهم‌کنش خاک و تیمارها در دو ناحیه

جدول ۴. مقایسه میانگین اثر کاربرد بیوچار، نانوبیوچار و نانوذره تهیه شده از پودر هسته خرما در خاک‌های مختلف بر فعالیت آنزیم فسفومونواستراز اسیدی (میکروگرم پارانیتروفنل بر گرم-ساعت).

Table 4. Mean comparisons of the effect of application of date kernel's biochar, nano-biochar and nanoparticles in different soils on acidic phosphomonoesterase activity ($\mu\text{g pnp g}^{-1} \text{h}^{-1}$).

NP	Nbio 800	NBio 400	Bio 800	Bio 400	DK	Blank	خاک‌ها Soils
Rhizosphere ریزوسفر							
55.00 ^{ghi}	63.00 ^f	85.33 ^d	74.33 ^e	93.00 ^c	121.00 ^b	147.00 ^a	اسیدی Acidic
46.00 ^{j-n}	32.00 ^{tu}	47.67 ^{j-m}	46.00 ^{j-n}	50.33 ^{ijk}	63.67 ^f	74.67 ^e	آهکی Calcareous
45.00 ^{j-n}	41.67 ^{m-q}	60.33 ^{fg}	55.33 ^{ghi}	64.33 ^f	72.33 ^e	88.33 ^{cd}	شور-سدیمی Saline-Sodic
35.00 ^{rst}	36.00 ^{q-t}	46.33 ^{j-n}	-	38.33 ^{o-s}	43.00 ^{l-p}	50.00 ^{ijk}	شور-سدیمی شدید Saline-Highly Sodic
Non-rhizosphere غیرریزوسفر							
44.33 ^{k-o}	40.33 ^{n-r}	56.33 ^{gh}	44.67 ^{j-n}	62.67 ^f	74.00 ^e	91.33 ^c	اسیدی Acidic
29.33 ^{uv}	40.00 ^{n-r}	33.00 ^{stu}	35.67 ^{q-t}	44.00 ^{k-o}	55.67 ^{ghi}	64.33 ^f	آهکی Calcareous
32.00 ^{tu}	36.00 ^{q-t}	48.67 ^{jkl}	44.33 ^{k-o}	51.00 ^{hij}	60.33 ^{fg}	75.33 ^e	شور-سدیمی Saline-Sodic
20.67 ^w	25.00 ^{vw}	38.00 ^{p-t}	-	27.67 ^{uv}	35.67 ^{q-t}	47.00 ^{j-m}	شور-سدیمی شدید Saline-Highly Sodic

در جدول فوق Blank: خاک شاهد، DK: پودر هسته خرما، Bio 400: بیوچار ۴۰۰ درجه سلسیوس، Bio 800: بیوچار ۸۰۰ درجه سلسیوس، NBio400:

نانوبیوچار ۴۰۰ درجه سلسیوس، NBio 800: نانوبیوچار ۸۰۰ درجه سلسیوس و NP: نانوذره است.

در کل جدول میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح آماری ۱ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

Blank: Blank soil; DK: Date kernel; Bio 400: Biochar 400 °C; Bio 800: Biochar 800 °C; NBio 400: Nano-biochar 400 °C; Nbio 800: Nano-biochar 800 °C; NP: Nano-particle.

In table, numbers with similar letters are not significantly different (Duncan, $p < 0.01$).

آنزیم فسفومونواستراز در خاک شور-سدیمی شدید و بیش‌ترین فعالیت این آنزیم در هر دو بخش‌های ریزوسفر و غیرریزوسفر خاک اسیدی مشاهده شد. در بخش‌های ریزوسفر و غیرریزوسفر چهار خاک مورد بررسی استفاده از تیمارهای بیوچار باعث تفاوت معنی‌داری این آنزیم نسبت به تیمار شاهد شد. اما در خاک شور-سدیمی شدید، بخش ریزوسفر تیمار نانوبیوچار ۴۰۰ درجه سلسیوس با شاهد اختلاف معنی‌دار نداشت. همچنین تیمار نانوبیوچار ۴۰۰ درجه سلسیوس با تیمار نانوبیوچار ۸۰۰ درجه سلسیوس برای این آنزیم تفاوت معنی-داری به‌وجود آورد (جدول ۴).

معنی‌داری در بخش ریزوسفر مشاهده نشد. فعالیت آنزیم فسفومونواستراز اسیدی در تیمار شاهد (خاک تنها) بیش‌تر بوده و با اعمال تیمارهای بیوچار و نانوبیوچار فعالیت آنزیم کاهش چشم‌گیری یافت. مقادیر این آنزیم با کاربرد تیمارهای بیوچار و نانوبیوچار در هر دو بخش ریزوسفر و غیرریزوسفر نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت، اما در بخش ریزوسفر تمام خاک‌ها فعالیت آنزیم بیش از فعالیت در بخش غیرریزوسفر بود. در بخش‌های ریزوسفر و غیرریزوسفر خاک شور-سدیمی فعالیت این آنزیم نسبت به خاک آهکی بیشتر بود. با این حال در مقایسه بین تیمارهای اعمال شده کم‌ترین فعالیت

جدول ۵. مقایسه میانگین اثر کاربرد بیوچار، نانوبیوچار و نانوذره تهیه شده از پودر هسته خرما در خاک‌های مختلف بر فعالیت آنزیم فسفومونواستراز قلیایی (میکروگرم پارانیتروفنل بر گرم-ساعت).

Table 5. Mean comparisons of the effect of application of date kernel's biochar, nano-biochar and nanoparticles in different soils on alkaline phosphomonoesterase activity ($\mu\text{g pnp g}^{-1} \text{h}^{-1}$).

NP	Nbio 800	NBio 400	Bio 800	Bio 400	DK	Blank	خاک‌ها Soils
ریزوسفر Rhizosphere							
26.33 ^{wx}	31.33 ^{vw}	43.33 ^{rst}	28.00 ^{vwx}	33.33 ^{uv}	41.33 st	53.67 ^{n-q}	اسیدی Acidic
47.00 ^{qrs}	47.33 ^{qrs}	59.67 ^{lmn}	52.00 ^{opq}	66.67 ^{jk}	79.00 ^{fg}	86.00 ^e	آهکی Calcareous
43.33 ^{rst}	52.33 ^{opq}	67.67 ^{ijk}	84.00 ^{ef}	71.00 ^{hij}	83.00 ^{ef}	96.67 ^d	شور-سدیمی Saline-Sodic
57.00 ^{mno}	-	84.33 ^{ef}	-	93.67 ^d	119.67 ^b	145.00 ^a	شور-سدیمی شدید Saline-Highly Sodic
غیرریزوسفر Non-rhizosphere							
15.67 ^y	22.67 ^x	34.00 ^{uv}	14.00 ^y	23.67 ^x	34.67 ^{uv}	43.00 ^{rst}	اسیدی Acidic
38.67 ^{tu}	32.67 ^{uv}	40.33 ^{pqr}	42.67 ^{rst}	55.33 ^{nop}	63.00 ^{klm}	73.33 ^{ghi}	آهکی Calcareous
34.00 ^{uv}	41.67 st	52.33 ^{opq}	73.33 ^{ghi}	63.67 ^{kl}	73.67 ^{ghi}	79.33 ^{fg}	شور-سدیمی Saline-Sodic
44.00 ^{rst}	-	61.67 ^{klm}	-	76.00 ^{gh}	94.00 ^d	109.00 ^c	شور-سدیمی شدید Saline-Highly Sodic

در جدول فوق Blank: خاک شاهد، DK: پودر هسته خرما، Bio 400: بیوچار ۴۰۰ درجه سلسیوس، Bio 800: بیوچار ۸۰۰ درجه سلسیوس، NBio400:

نانوبیوچار ۴۰۰ درجه سلسیوس، NBio 800: نانوبیوچار ۸۰۰ درجه سلسیوس و NP: نانوذره است.

در کل جدول میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح آماری ۱ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

Blank: Blank soil; DK: Date kernel; Bio 400: Biochar 400 °C; Bio 800: Biochar 800 °C; NBio 400: Nano-biochar 400 °C; Nbio 800: Nano-biochar 800 °C; NP: Nano-particle.

In table, numbers with similar letters are not significantly different (Duncan, $p < 0.01$).

خاک‌های اسیدی، آهکی و شور-سدیمی شدید باعث شد تا تفاوت معنی‌داری در فعالیت آنزیم فسفومونواستراز قلیایی نسبت به تیمار شاهد مشاهده شود (جدول ۵). بیش‌ترین فعالیت آنزیم فسفومونواستراز قلیایی در خاک شور-سدیمی شدید و کم‌ترین فعالیت در خاک اسیدی مشاهده شد. فعالیت آنزیم فسفومونواستراز قلیایی در خاک اسیدی حدود یک سوم فعالیت آن در خاک شور-سدیمی شدید و ۵۰ تا ۷۰ درصد فعالیت آن در خاک‌های آهکی و شور-سدیمی بود. با توجه به ماهیت قلیایی آنزیم نتیجه مشاهده شده قابل انتظار بود و مقایسه جدول‌های (۴) و (۵) نشان‌دهنده روند معکوس تغییرات

کاربرد بیوچار با دمای بیشتر در فرایند تولید باعث شد تا فعالیت آنزیم فسفومونواستراز اسیدی کاهش یابد. هر چند که این درصد کاهش در خاک اسیدی و بخش ریزوسفر بیش‌تر و در خاک‌های دیگر و در بخش غیرریزوسفری کم‌تر باشد. همچنین تبدیل بیوچار به نانو و تولید نانوبیوچار نیز باعث افزایش فعالیت این آنزیم نشده و کم‌ترین مقادیر فعالیت آنزیم در خاک‌های با کاربرد این تیمارها دیده شد.

جدول (۵) مقایسه میانگین برهم‌کنش‌های سه‌گانه برای آنزیم فسفومونواستراز قلیایی را نشان می‌دهد. کاربرد تیمارهای بیوچار و نانوبیوچار در بخش‌های ریزوسفر و غیرریزوسفر

بررسی کرده و نشان دادند که در خاک ریزوسفری فعالیت فسفاتازها بیش تر بوده و گونه‌های زراعی فعالیت فسفاتاز ریزوسفر را به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم از طریق افزایش ترشحات ریشه‌ای و یا تحریک فعالیت میکروبی افزایش داده‌اند. بالیک و همکاران (۷) با بررسی اثر کود آلی بر فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز در ریزوسفر گیاهان با استفاده از ریزوباکس گزارش کردند که فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی به‌طور معنی‌داری نسبت به توده خاک افزایش یافت. چن (۱۰) فعالیت آنزیم فسفاتاز را در یک خاک با دوازده سال کشت یک نوع درخت بومی چین، بررسی کرد. نتایج وی نشان داد که فعالیت آنزیم در خاک ریزوسفری بیش‌تر از خاک غیرریزوسفری بوده و فعالیت آنزیم فسفاتاز و توزیع جزءهای فسفر در خاک ریزوسفری و غیرریزوسفری، نتیجه برهمکنش‌های بین خاک، گیاه و ریزجانداران است. افزایش فعالیت فسفاتاز قلیایی در خاک ریزوسفری نسبت به خاک غیرریزوسفری را می‌توان ناشی از فعالیت میکروبی و ریشه‌ای گیاه دانست (۳۳). نانی‌پیری و همکاران (۲۴) بیان داشتند که فراوانی فسفر معدنی، فعالیت فسفاتازها را در خاک متوقف می‌کند. افزایش فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز در خاک ریزوسفری می‌تواند مربوط به مقدار کم‌تر فسفر قابل استفاده در خاک‌های ریزوسفری نسبت به خاک غیرریزوسفری باشد. نورزمان و همکاران (۲۵) گزارش کردند که فعالیت فسفاتاز اسیدی در ریزوسفر گیاهان لگوم و گندم تحت شرایط کمبود فسفر افزایش یافت.

با توجه به ماهیت آنزیم فسفاتاز اسیدی، قلیایی بودن خاک و همچنین قلیایی بودن بیوجار باعث شده تا شرایط نامساعدی برای فعالیت این آنزیم ایجاد شده و فعالیت آن در خاک‌های غیراسیدی و با کاربرد تیمارهای بیوجار و نانوبیوجار کاهش یابد. جین و همکاران (۱۵) گزارش کردند که فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی با کاربرد بیوجار کود دامی کاهش یافت، درحالی که فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی افزایش نشان داد. کاهش فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی با افزودن بیوجار به خاک

فعالیت دو آنزیم فسفومونواستراز اسیدی و قلیایی در خاک‌های با ویژگی‌های متفاوت است. نتایج نشان داد که فعالیت این آنزیم در بخش ریزوسفری همه خاک‌ها به‌صورت معنی‌داری بیش از خاک غیرریزوسفری بود. فعالیت آنزیم فسفومونواستراز قلیایی در بخش ریزوسفر خاک شور-سدیمی با استفاده از تیمارهای بیوجار و نانوبیوجار نسبت به تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری را ایجاد کرد درحالی که در بخش غیرریزوسفر تیمارهای پودر هسته خرما و بیوجار ۸۰۰ درجه سلسیوس با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری را مشاهده نشد (جدول ۵). مقایسه کاربرد مواد جامد زیستی در خاک‌ها نشان داد که کاربرد بیوجار و نانوبیوجار در همه خاک‌ها باعث شد تا فعالیت آنزیم فسفومونواستراز قلیایی کاهش یابد. این کاهش در خاک اسیدی شدیدتر بوده و با کاربرد بیوجار و نانوبیوجار ۸۰۰ درجه سلسیوس و نانوذره فعالیت آنزیم فسفومونواستراز قلیایی در بخش ریزوسفر حدود ۵۰ درصد و در بخش غیرریزوسفری تا ۶۷ درصد کاهش یافت. اما در خاک‌های آهکی و شور-سدیمی شدت کاهش فعالیت آنزیم کم‌تر بود. در خاک‌های اسیدی و آهکی کاربرد بیوجار تهیه شده در دمای ۸۰۰ درجه سلسیوس به‌صورت معنی‌داری باعث کاهش بیش‌تری در فعالیت آنزیم فسفومونواستراز قلیایی نسبت به کاربرد بیوجار ۴۰۰ درجه سلسیوس شد. اما در خاک شور-سدیمی روند مشخصی دیده نشد. کاربرد نانوذره در همه خاک‌ها باعث کاهش فعالیت آنزیم فسفومونواستراز قلیایی شده و به نوعی باعث مهار آنزیم در خاک‌ها شد. اما این اثر در خاک اسیدی بسیار شدیدتر بوده و تا ۷۰ درصد فعالیت آنزیم را کاهش داد. با توجه به ماهیت قلیایی بیوجار و نانوبیوجار استفاده شده در این پژوهش (جدول ۲) انتظار می‌رود که با کاربرد آن‌ها در خاک به‌ویژه در خاک اسیدی فعالیت آنزیم فسفومونواستراز قلیایی افزایش یابد، اما نتایج به‌دست آمده از این پژوهش چنین نتیجه‌گیری را نشان نمی‌دهد.

صفری و شریفی (۳۰) تغییرات فسفر قابل دسترس و فعالیت فسفاتاز در ریزوسفر چند گیاه زراعی و غیر زراعی را

که مواد اصلاحی دریافت نکرده بودند از نظر فعالیت آنزیم پروتئاز دارای تفاوت معنی داری بودند، اما با کاربرد بیوچار و نانوبیوچار و نانوذره در خاک‌ها تفاوت مشاهده شده کاهش یافته و از نظر آماری معنی دار نشد. اما فعالیت آنزیم پروتئاز در خاک شور و سدیمی شدید حتی پس از دریافت نانوذره به دست آمده از پودر هسته خرما به شدت کاهش یافته و با بقیه خاک‌ها تفاوت بسیار معنی داری داشت. در بخش ریزوسفری، فعالیت آنزیم پروتئاز در همه خاک‌ها به صورت معنی داری بیش از بخش غیرریزوسفر بوده و در بیش تر خاک‌ها و تیمارها تفاوت معنی داری نیز بین فعالیت آنزیم پروتئاز در خاک‌ها مشاهده شد. تنها در خاک‌های با کاربرد نانوبیوچار ۴۰۰ و ۸۰۰ درجه سلسیوس و نانوذره تفاوت معنی داری بین خاک‌ها در این بخش مشاهده نشد. اما بیش ترین کاهش فعالیت آنزیم پروتئاز در همه تیمارهای خاک شور-سدیمی شدید نسبت به دیگر خاک‌ها مشاهده شد و حتی در تیمارهای کاربرد نانوبیوچار ۴۰۰ و ۸۰۰ درجه سلسیوس و نانوذره نیز تفاوت معنی داری با بقیه خاک‌ها داشت.

با کاربرد تیمارهای پودر هسته خرما و بیوچار و نانوبیوچار و نانوذره در همه خاک‌ها فعالیت آنزیم پروتئاز در هر دو بخش ریزوسفری و غیرریزوسفری کاهش یافت. در خاک اسیدی مقدار کاهش قابل توجه بوده و بین ۱۰ تا ۵۰ درصد در تیمار نانوذره فعالیت آنزیم پروتئاز کاهش یافت. کاربرد مواد زیستی در خاک شور و سدیمی شدید نیز باعث کاهش شدید فعالیت آنزیم پروتئاز شده و در بخش غیرریزوسفری با کاربرد نانوذره مقدار کاهش فعالیت به ۷۵ درصد رسید. هر چند تبدیل بیوچار به نانوبیوچار و کاربرد آن در خاک باعث کاهش فعالیت آنزیم پروتئاز در خاک‌ها شد اما تفاوت بین فعالیت آنزیم پروتئاز در اثر کاربرد بیوچارهای تهیه شده در دو دمای ۴۰۰ و ۸۰۰ درجه سلسیوس معنی دار نبوده و تفاوت چشم‌گیری در فعالیت آنزیم ایجاد نکردند. پژوهش‌های محدودی اثر بیوچار بر آنزیم‌های چرخه نیتروژن را بررسی کرده‌اند. وو و همکاران (۴۰) فعالیت آنزیم اوره‌آز که از آنزیم‌های چرخه نیتروژن است و بتا-گلوکوزیداز را بررسی کرده و پی بردند که کاربرد بیوچار گندم باعث

دور از انتظار نبود چرا که خاک مورد بررسی آن‌ها با pH قلیایی و شرایط آهکی و بیوچار ضایعات هرس با واکنش قلیایی برای فعالیت این آنزیم مناسب نبود.

پاتک و همکاران (۲۷) پس از بررسی فعالیت آنزیم‌ها در خاک‌های شور و قلیایی رابطه‌ای منفی بین شوری خاک و فعالیت آنزیم‌ها مشاهده کردند. یکی از تبیین‌های ممکن درباره کاهش فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی در این پژوهش می‌تواند به دلیل اثر منفی شوری خاک و بیوچار بر فعالیت آن‌ها باشد. مقادیر فسفر کل اندازه‌گیری شده در پودر هسته خرما، بیوچار ۴۰۰ و ۸۰۰ درجه سلسیوس به ترتیب ۱۸۱۴، ۳۳۵۲ و ۴۱۳۲ میلی گرم فسفر بر کیلوگرم هسته خرما یا بیوچار بود. بنابراین با توجه به اینکه پودر هسته خرما و بیوچار و نانوبیوچار تهیه شده از آن دارای مقدار زیادی فسفر هستند، بر اساس یافته‌های نانی‌پیری و همکاران (۲۴)، کاهش فعالیت هر دو آنزیم فسفومونواسترازهای اسیدی و قلیایی در خاک‌های تیمار شده با پودر هسته خرما، بیوچار و نانوبیوچار و نانوذره تهیه شده از آن می‌تواند مربوط به افزایش مقدار فسفر در دسترس خاک باشد که باعث شده تا فعالیت این آنزیم‌ها در خاک کاهش یابد. فسفاتازها جزو آنزیم‌های القاء‌شونده هستند که در شرایط کمبود فسفر قابل جذب، تولید و فعالیت آن‌ها با کاهش فسفر قابل جذب خاک، افزایش می‌یابد (۲۱). در واقع آنزیم فسفاتاز باعث افزایش فسفر معدنی خاک می‌شود اما زمانی که فسفر خاک زیاد باشد موجب کاهش فعالیت آنزیم فسفاتاز خاک می‌شود. فسفاتازها آنزیم‌های ریزجانداران هوازی اجباری^۱ هستند که به صورت عمده در شرایط کمبود فسفر معدنی قابل دسترس تولید می‌شوند (۳۴).

مقایسه میانگین برهم‌کنش‌های سه‌گانه آنزیم پروتئاز در بخش‌های ریزوسفر و غیرریزوسفر خاک‌های مختلف در جدول (۶) نشان داده شده است. بیش‌ترین فعالیت آنزیم پروتئاز در خاک اسیدی و کم‌ترین آن در خاک شور و سدیمی شدید مشاهده شد. در بخش غیرریزوسفری هر چند خاک‌های شاهد

1. Enzymes of obligate aerobes

جدول ۶. مقایسه میانگین اثر کاربرد بیوچار، نانوبیوچار و نانوذره تهیه شده از پودر هسته خرما در خاک‌های مختلف بر فعالیت آنزیم پروتئاز (میکروگرم تیروزین بر گرم-ساعت).

Table 6. Mean comparisons of the effect of application of date kernel's biochar, nano-biochar and nanoparticles in different soils on Protease activity ($\mu\text{g tyr g}^{-1} \text{h}^{-1}$).

NP	Nbio 800	NBio 400	Bio 800	Bio 400	DK	Blank	خاک‌ها Soils
ریزوسفر Rhizosphere							
46.00 ^{k-n}	51.00 ^{g-k}	54.33 ^{f-i}	61.67 ^{de}	64.33 ^d	77.33 ^b	86.00 ^a	اسیدی Acidic
49.33 ^{i-m}	52.00 ^{g-j}	65.00 ^d	52.67 ^{f-j}	57.67 ^{e-j}	62.00 ^{de}	79.33 ^b	آهکی Calcareous
44.67 ^{lmn}	49.33 ^{i-m}	53.67 ^{f-i}	44.00 ^{no}	49.67 ^{kl}	58.00 ^{ef}	64.00 ^d	شور-سدیمی Saline-Sodic
19.67 ^s	-	-	-	33.67 ^q	39.00 ^{op}	43.67 ^{mno}	شور-سدیمی شدید Saline-Highly Sodic
غیرریزوسفر Non-rhizosphere							
35.67 ^{pq}	41.33 ^{n-l}	46.33 ^{k-n}	52.00 ^{g-j}	54.00 ^{f-i}	62.67 ^{de}	71.33 ^c	اسیدی Acidic
39.00 ^{op}	45.33 ^{mn}	56.00 ^{f-m}	47.67 ^{j-m}	49.33 ^{i-m}	55.33 ^{fgh}	66.00 ^d	آهکی Calcareous
32.00 ^q	41.00 ^{no}	46.00 ⁿ	33.67 ^q	42.00 ^{no}	51.00 ^{g-k}	55.00 ^{f-i}	شور-سدیمی Saline-Sodic
9.33 ^t	-	-	-	24.33 ^r	30.67 ^q	32.00 ^q	شور-سدیمی شدید Saline-Highly Sodic

در جدول فوق Blank: خاک شاهد، DK: پودر هسته خرما، Bio 400: بیوچار ۴۰۰ درجه سلسیوس، Bio 800: بیوچار ۸۰۰ درجه سلسیوس، NBio400:

نانوبیوچار ۴۰۰ درجه سلسیوس، NBio 800: نانوبیوچار ۸۰۰ درجه سلسیوس و NP: نانوذره است.

در کل جدول میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح آماری ۱ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

Blank: Blank soil; DK: Date kernel; Bio 400: Biochar 400 °C; Bio 800: Biochar 800 °C; NBio 400: Nano-biochar 400 °C; Nbio 800: Nano-biochar 800 °C; NP: Nano-particle.

In table, numbers with similar letters are not significantly different (Duncan, $p < 0.01$).

آنزیم‌ها به کاربرد بیوچار و ورود منابع اضافی کربن و عناصر غذایی و هم چنین افزایش گنجایش جذبی خاک و اثر غیرمستقیم آن در نگهداری آب نسبت داده شد. ایشان پی بردند که اثر منفی بیوچار بر فعالیت آنزیمی به گنجایش زیاد جذب سطحی بیوچار برای سوبسترای آنزیم بستگی دارد (۲۶). وانگ و همکاران (۳۸) در یک خاک با رژیم رطوبتی آکوئیک مشاهده کردند که افزودن بیوچار ذرت باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های پروتئاز و اوره‌آز شده است. گال و همکاران (۱۴) مشاهده کردند که استفاده از دمای زیاده‌تر پیرولیز اغلب بیوچارهای قلیایی تولید می‌کند که می‌تواند اثر مثبت و افزایشی بر

افزایش فعالیت اوره‌آز و کاهش فعالیت آنزیم بتا-گلوکوزیداز شد. اولسکزوک و همکاران (۲۶) نیز اثر آفت‌کش‌ها را بر گیاه، میکروب‌ها و فعالیت آنزیمی در حضور مقادیر ۳۰ و ۴۵ تن در هکتار بیوچار دمای ۶۵۰ درجه سلسیوس بررسی کردند. نتایج به دست آمده حاکی از تحریک فعالیت آنزیمی توسط بیوچار و کاهش اثر آفت‌کش بر فعالیت آنزیمی و گروه‌های خاصی از میکروب‌ها بود. در این پژوهش فعالیت آنزیم‌های دهیدروژناز، فسفاتاز قلیایی، اوره‌آز، و پروتئاز ارزیابی و مشخص شد که متناسب با سطح بیوچار مصرف شده، فسفاتاز ۱۹۸ و ۲۰۰ درصد و پروتئاز ۷۴ و ۷ درصد افزایش یافت. افزایش فعالیت

جدول ۷. مقایسه میانگین اثر کاربرد بیوچار، نانوبیوچار و نانوذره تهیه شده از پودر هسته خرما در خاک‌های مختلف بر فعالیت آنزیم بتا-گلوکوزیداز (میکروگرم سالیجین بر گرم-ساعت).

Table 7. Mean comparisons of the effect of application of date kernel's biochar, nano-biochar and nanoparticles in different soils on β -glucosidase activity ($\mu\text{g saligen g}^{-1} \text{h}^{-1}$).

NP	Nbio 800	NBio 400	Bio 800	Bio 400	DK	Blank	خاک‌ها
ریزوسفر Rhizosphere							
55.00 ^{hij}	65.00 ^f	87.00 ^d	81.00 ^{de}	92.67 ^c	107.00 ^b	131.00 ^a	اسیدی Acidic
44.33 ^{l-o}	54.33 ^{hij}	42.33 ^{mno}	60.33 ^{fgh}	52.33 ^{ijk}	63.67 ^{fg}	77.00 ^e	آهکی Calcareous
49.33 ^{j-m}	45.33 ^{lmn}	56.33 ^{hij}	54.67 ^{hij}	63.67 ^{fg}	76.00 ^e	82.00 ^{de}	شور-سدیمی Saline-Sodic
23.67 ^s	-	-	-	28.67 ^{rs}	25.00 ^s	34.67 ^{pqr}	شور-سدیمی شدید Saline-Highly Sodic
غیرریزوسفر Non-rhizosphere							
43.33 ^{mno}	46.00 ^{k-n}	57.67 ^{ghi}	53.67 ^{hij}	64.00 ^{fg}	81.67 ^{de}	93.33 ^c	اسیدی Acidic
37.67 ^{opq}	43.33 ^{m-o}	54.00 ^{hij}	40.67 ^{nop}	47.00 ^{k-n}	51.00 ^{i-l}	64.67 ^f	آهکی Calcareous
37.67 ^{opq}	34.67 ^{pqr}	41.33 ^{no}	44.33 ^{l-o}	46.33 ^{k-n}	55.00 ^{hij}	66.00 ^f	شور-سدیمی Saline-Sodic
12.00 ^t	-	-	-	24.67 ^s	28.67 ^{rs}	32.33 ^{qr}	شور-سدیمی شدید Saline-Highly Sodic

در جدول فوق Blank: خاک شاهد، DK: پودر هسته خرما، Bio 400: بیوچار ۴۰۰ درجه سلسیوس، Bio 800: بیوچار ۸۰۰ درجه سلسیوس، NBio400:

نانوبیوچار ۴۰۰ درجه سلسیوس، NBio 800: نانوبیوچار ۸۰۰ درجه سلسیوس و NP: نانوذره است.

در کل جدول میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح آماری ۱ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

Blank: Blank soil; DK: Date kernel; Bio 400: Biochar 400 °C; Bio 800: Biochar 800 °C; NBio 400: Nano-biochar 400 °C; Nbio 800: Nano-biochar 800 °C; NP: Nano-particle.

In table, numbers with similar letters are not significantly different (Duncan, $p < 0.01$).

ریزجانداران در محدوده آن و موادی که از ریشه‌ها ترشح می-شود به صورت معنی‌داری فعالیت آنزیم بتا-گلوکوزیداز در بخش ریزوسفری بیشتر از بخش غیرریزوسفری بود. تنها در خاک شور-سدیمی شدید به علت رشد کم گیاه و توسعه ضعیف ریشه‌ها تفاوت معنی‌داری بین دو بخش ریزوسفر و غیرریزوسفری دیده نشد (جدول ۷).

کاربرد بیوچار و نانوبیوچار در خاک‌های مختلف به صورت معنی‌داری باعث کاهش ۴۰ تا ۵۹ درصد فعالیت آنزیم بتا-گلوکوزیداز نسبت به خاک شاهد که اصلاح‌کننده دریافت نکرده بود، شد. کاربرد بیوچار و نانوبیوچارهای با دمای ۸۰۰

آنزیم‌های چرخه نیتروژن داشته باشد. اما در پژوهش حاضر با وجود اینکه بیوچار تولید شده در دمای ۸۰۰ درجه سلسیوس قلیایی‌تر بود اما کاربرد آن در خاک باعث کاهش فعالیت آنزیم پروتئاز شد.

جدول (۷) مقایسه میانگین‌های برهم‌کنش‌های سه‌گانه فعالیت آنزیم بتا-گلوکوزیداز در بخش‌های ریزوسفر و غیرریزوسفری خاک‌های مختلف در اثر تیمارهای بیوچار و نانوبیوچار را نشان می‌دهد. بیش‌ترین فعالیت آنزیم بتا-گلوکوزیداز در خاک اسیدی و کم‌ترین فعالیت آن در خاک شور و سدیمی شدید مشاهده شد. به دلیل فعالیت ریشه و

حاضر، آواد و همکاران (۴) گزارش کردند که کاربرد بیوچار اثری بر فعالیت آنزیمی خاک ندارد. گالوز و همکاران (۱۳) نشان دادند بیوچار اثر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم‌های بتا-گلوکوزیداز، لوسین آمینوپپتیداز و فسفاتاز نداشت که علت این عدم افزایش فعالیت نیز بخاطر عدم افزوده شدن سوبسترای این آنزیم‌ها عنوان شد. بامینگر و همکاران (۸) نیز در یک پژوهش انکوباسیونی آثار زیستی بیوچار را در دو خاک جنگلی و زراعی بر فعالیت آنزیم‌های آلفاگلوکوزیداز، بتا-گلوکوزیداز، بتازایلوزیداز، کیتیناز، اسید فسفاتاز و لوسین آمینوپپتیداز بررسی کردند. در این پژوهش تنها فعالیت بتا-گلوکوزیداز در خاک جنگلی افزایش یافت که به افزایش تولید آنزیم‌هایی که سوبسترای آن‌ها موجود است، نسبت داده شد.

در آنزیم‌های مختلف، خاک اسیدی فعالیت آنزیمی بیش‌تری داشت. فعالیت آنزیمی بیشتر این خاک می‌تواند به مقدار کربن آلی اولیه این خاک (جدول ۱) ارتباط داشته باشد. لیروس و همکاران (۱۸) افزایش فعالیت آنزیم‌ها را با کاربرد مواد آلی گزارش کردند. در صورتی که خاک‌های دیگر مقدار کربن آلی بسیار کم‌تری داشتند. با توجه به اینکه با کاربرد بیوچار و نانوبیوچار در خاک‌های مورد بررسی فعالیت آنزیم‌های اندازه‌گیری شده کاهش یافت، اما بسیاری از پژوهش‌ها نشان داده‌اند که کاربرد بیوچار در خاک می‌تواند باعث تحریک و افزایش فعالیت آنزیم‌های خاک شوند. ممکن است در بیوچار استفاده شده در این پژوهش، موادی که باعث محدودیت ترشح و یا فعالیت آنزیم می‌شود وجود داشته و برهم‌کنش آن با آنزیم‌های خاک باعث بی‌تحرک شدن^۱ و حذف آنزیم از خاک شده باشد. فعالیت آنزیم‌های برون سلولی به مکانی از آنزیم که با سطح ذرات بیوچار برهم‌کنش می‌دهد، بستگی دارد. اگر جایگاه فعال آنزیم بدون پوشش، عملیاتی و آزاد باشد تا با محیط واکنش دهد، افزایش فعالیت اتفاق خواهد افتاد. در صورت مسدود شدن جایگاه فعال، فعالیت کاهش خواهد یافت (۹). بنابراین گروه‌های خاصی از آنزیم‌ها با افزودن بیوچار فعال‌تر

درجه سلسیوس باعث کاهش بیشتری نسبت به بیوچار و نانوبیوچار ۴۰۰ درجه سلسیوس شد و فعالیت آنزیم را به‌ویژه در بخش ریزوسفری به‌صورت معنی‌داری کاهش داد. کاربرد نانوذره‌ها در خاک‌های مختلف باعث شد تا بیش‌ترین کاهش فعالیت آنزیم بتا-گلوکوزیداز در اثر کاربرد مواد اصلاحی در خاک‌ها مشاهده شود و این شدت کاهش در خاک اسیدی شدت بیش‌تری داشته و تا ۵۹ درصد باعث کاهش فعالیت آنزیم بتا-گلوکوزیداز شد (جدول ۷).

مشابه با یافته‌های این پژوهش، کاهش فعالیت آنزیم‌های برون سلولی با کاربرد بیوچار توسط بیلی و همکاران (۶) و جین و همکاران (۱۵) گزارش شده است. جین و همکاران (۱۵) نشان دادند که کاربرد نسبت‌های مختلف ۱، ۱۲ و ۳۰ کیلوگرم بر هکتار بیوچار ساقه ذرت (پیرولیز شده در ۵۵۰ درجه سلسیوس) باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های چرخه کربن از جمله آنزیم‌های بتا-گلوکوزیداز و بتا-سلولاز شد. نتایج بیلی و همکاران (۶) نیز نشان داد که فعالیت آنزیم بتا-گلوکوزیداز در اثر کاربرد ۲ درصد وزنی بیوچار کاهش یافت. وو و همکاران (۴۰) نیز نشان دادند که استفاده از بیوچار باعث کاهش فعالیت آنزیم بتا-گلوکوزیداز می‌شود. پازفریرو و همکاران (۲۸) نیز کاهش فعالیت آنزیم بتا-گلوکوزیداز را با استفاده از بیوچار گزارش کردند.

اما نتایج متفاوتی برای اثر بیوچار بر فعالیت آنزیمی خاک گزارش شده است. بیلی و همکاران (۶) نشان دادند که آثار بیوچار بر فعالیت آنزیمی خاک به نوع خاک، نوع بیوچار و آثار برهم‌کنش آن‌ها وابسته است. پازفریرو و همکاران (۲۹) افزایش فعالیت آنزیم بتا-گلوکوزیداز در اثر کاربرد بیوچار ۶۰۰ درجه سلسیوس را گزارش کردند و دلایل افزایش فعالیت آنزیمی را جذب سطحی باکتری‌ها توسط بیوچار و ممانعت از شکار شدن توسط سایر جانداران و همچنین شستشوی آن‌ها از خاک، حفاظت باکتری‌ها و قارچ‌ها در برابر چرخه شدن توسط سایر جانداران، تأمین بخشی از نیاز غذایی میکروب‌ها توسط بیوچار عنوان کردند (۲۹). اما در برابر پژوهش‌های بالا و پژوهش

گلوکوزیداز را داشت که می‌تواند به دلیل مقدار کربن آلی زیاد این خاک باشد. اما آنزیم‌ها در خاک‌های شور و سدیمی و آهکی فعالیت کمتری داشتند و در خاک سدیمی شدید کم‌ترین فعالیت آنزیم‌های فسفومونواستراز اسیدی، پروتئاز و بتا-گلوکوزیداز مشاهده شد. کاربرد پودر هسته خرما و بیوچار و نانوبیوچارها در هیچکدام از خاک‌ها نتوانست باعث افزایش فعالیت آنزیم‌ها شود و با وجود اینکه افزودن بیوچار و پودر هسته خرما، کربن آلی تازه به خاک افزود اما فعالیت آنزیم‌های اندازه‌گیری شده افزایش نیافته و حتی کاهش یافت. به نظر می‌رسد وجود برخی ترکیبات محدودکننده در بیوچار و نانوبیوچارها باعث شد تا آنزیم‌های فوق از طریق مکانیسم‌های مختلفی مانند جذب و یا کلات شدن و بی‌تحرك شدن مهار شده و فعالیت مناسب نداشته باشند. در این پژوهش خاک‌هایی با مشکل شور-سدیمی شدید استفاده شد. به نظر می‌رسد زیاد بودن مشکل شوری و سدیمی خاک‌ها باعث شده تا اثر تیمارها بر ویژگی‌های خاک‌ها تحت تأثیر قرار گیرد. پیشنهاد می‌شود پژوهش‌های مشابه در خاک‌هایی با مقدار شوری و سدیمی بودن کم‌تر نیز انجام گیرد.

شده و گروه دیگر بسته به ترکیب ملکولی و ویژگی‌های تاخوردگی و چگونگی جذب سطحی به بیوچار کاهش فعالیت نشان می‌دهند (۲۸). انتظار می‌رود که ترکیب‌های قابل حل در آب مانند اسیدها، الکل‌ها، آلدئیدها، کتون‌ها و قندها که توسط ریزجانداران خاک به آسانی متابولیزه می‌شوند، آثار مثبتی بر ریزجانداران خاک داشته باشند درحالی که ممکن است حضور ترکیب‌هایی مانند هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای، زایلنوز، اکرولین، فرمالدهید، کرسولز و سایر ترکیب‌های کربوکسیلی سمی که بسته به شرایط گرماکافت ممکن است از طریق بیوچار به خاک افزوده شوند، دارای آثار ضدباکتریایی و ضدقارچی باشند (۵).

نتیجه‌گیری

در این پژوهش فعالیت چهار نوع آنزیم در اثر کاربرد پودر هسته خرما، بیوچار ساخته شده در دو دمای ۴۰۰ و ۸۰۰ درجه سلسیوس و نانوبیوچار آن‌ها و نانوذره هیدروترمال بر خاک‌های با ویژگی‌های مختلف در بخش‌های ریزوسفر و غیرریزوسفر گیاه گل گاوزبان اروپایی بررسی شد. خاک اسیدی بیش‌ترین فعالیت آنزیم‌های فسفومونواستراز اسیدی، پروتئاز و بتا-

منابع مورد استفاده

1. Aleksieva, P., Spasova, D., Radoerska, S., 2003. Acid phosphatase distribution and localization in the fungus *humicola lutea*. *Zeitschrift fur Naturforschung C* 58(3): 239-243.
2. Aliasgharzad, N., 2010. *Methods in Soil Biology*. Tabriz University Press. (Translated in Persian)
3. Aseri, G.K., Neelam J., Tarafdar, J.C., 2009. Hydrolysis of organic phosphate forms by phosphatases and phytase producing fungi of arid and semi-arid soils of India. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science* 5(4): 564-570.
4. Awad, Y.M., Blagodatskaya, E., Ok, Y.S., Kuzyakov, Y., 2012. Effects of polyacrylamide, biopolymer and biochar on decomposition of soil organic matter and plant residues as determined by ^{14}C and enzyme activities. *European Journal of Soil Biology* 48: 1-10.
5. Azimzadeh, Y., Najafi, N., 2017. Effects of biochar on soil physical, chemical, and biological properties. *Journal of Land Management* 4(2): 161-173. (in Persian with English abstract)
6. Bailey, V.L., Fansler, S.J., Smith, J.L., Bolton, H., 2011. Reconciling apparent variability in effects of biochar amendment on soil enzyme activities by assay optimization. *Soil Biology and Biochemistry* 43: 296-301
7. Balík J., Pavlíková D., Vaněk V., 2007. The influence of long-term sewage sludge application on the activity of phosphatases in the rhizosphere of plants. *Plant, Soil and Environment* 53: 375-381.
8. Bamminger, C., Marschner, B., Juschke, E., 2014. An incubation study on the stability and biological effects of pyrogenic and hydrothermal biochar in two soils. *European Journal of Soil Science* 65: 72-82.
9. 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.

10. Chen, H., 2003. Phosphatase activity and P fractions in soils of an 18-year-old Chinese fir (*Cunninghamia lanceolata*) plantation. *Forest Ecology and Management* 178: 301–310.
11. Dick, R.P., Sandor, J.A., Eash, N.S., 1994. Soil enzyme activities after 1500 years of terrace agriculture in the colca Vally, Peru. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 50: 123–131.
12. Fereidooni, M., Raiesi, F., Falah, S., 2011. The trend of CO₂ production and alteration of microbial biomass carbon in soils treated with urea fertilizer and broiler litter. *Journal of Water and Soil Science* 14(54): 97–110. (in Persian with English abstract)
13. Galvez, A., Siniccoa, T., Cayuelac, M.L., Mingoranceb, M.D., Fornasiera, F., Mondinia, C., 2012. Short term effects of bioenergy byproducts on soil C and N dynamics, nutrient availability and biochemical properties. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 160: 3–14.
14. Gul, S., Whalen, J.K., Thomas, B.W., Sachdeva, V., Deng, H., 2015. Physicochemical properties and microbial responses in biochar-amended soils: mechanisms and future directions. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 206: 46–59.
15. Jin, Y., Liang, X., He, M., Liu, Y., Tian, G., and Shi, J., 2016. Manure biochar influence upon soil properties, phosphorus distribution and phosphatase activities: a microcosm incubation study. *Chemosphere* 142: 128–135.
16. Juma, N.G., Tabatabai, M.A., 1977. Effects of trace elements on phosphatase activity in soils. *Soil Science Society of America Journal* 41: 343–346.
17. Ladd, J.N., Butler, J.H.A., 1972. Short term assay of soil proteolytic enzyme activities using proteins and dipeptide derivatives as substrates. *Soil Biology and Biochemistry* 4: 19–30.
18. Leirós, M.C., Trasar-Cepeda, C., Seoane, S., Gil-Sotres, F., 2000. Biochemical properties of acid soils under oak vegetation (Atlantic oakwood) in an area of the European temperate-humid zone (Galicia, NW Spain): general parameters. *Soil Biology and Biochemistry* 32: 733–745.
19. Malcolm, R.E., 1983. Assessment of phosphatase activity in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 15: 403–408.
20. Masto, R.E., Kumar, S., Rout, T.K., Sarkar, P., George, J., Ram, L.C., 2013. Biochar from water hyacinth (*Eichornia crassipes*) and its impact on soil biological activity. *Catena* 111: 64–71.
21. McGill, W.B., Cole, C.V., 1981. Comparative aspects of cycling of organic C, N, S and P through soil organic matter. *Geoderma* 26: 267–286.
22. Mierzwa-Hersztek, M., Gondek, K., Baran, A., 2016. Effect of poultry litter biochar on soil enzymatic activity, ecotoxicity and plant growth. *Applied Soil Ecology* 105: 144–150.
23. Momeni, A., 2010. Geographical distribution of salinity in Iran's soil resources. *The Iranian Journal of Soil Research* 24: 203–216. (in Persian)
24. Nannipieri, P., Giagnoni, L., Renella, G., Puglisi, E., Ceccanti, B., Masciandaro, G., Fornasier, F., Moscatelli, M.C., Marinari, S., 2012. Soil enzymology: classical and molecular approaches. *Biology and Fertility of Soils* 48: 743–762.
25. Nuruzzaman, M., Lambers, H., Bolland, M.D.A., 2006. Distribution of carboxylates and acid phosphatase and depletion of different phosphorus fractions in the rhizosphere of a cereal and three grain legumes. *Plant and Soil* 281: 109–120.
26. Oleszczuk, P., Josko, I., Futa, B., Pasieczna-Patkowska, S., Palys, E., Kraska, P., 2014. Effect of pesticides on microorganisms, enzymatic activity and plant in biochar-amended soil. *Geoderma* 214–215: 10–18
27. Pathak, H., Rao, D.L.N., 1998. Carbon and nitrogen mineralization from added organic matter in saline and alkali soils. *Soil Biology and Biochemistry* 30: 695–702.
28. Paz-Ferreiro, J., Fu, S., Mendez, A., Gasco, G., 2014. Interactive effects of biochar and the earthworm (*Pontoscolex corethrurus*) on plant productivity and soil enzyme activities. *Journal of Soils and Sediments* 14: 483–494.
29. Paz-Ferreiro, J., Gasco, G., Gutierrez, B., Mendez, A., 2012. Soil biochemical activities and the geometric mean of enzyme activities after application of sewage sludge and sewage sludge biochar to soil. *Biology and Fertility of Soils* 48: 511–517.
30. Safari, S.A., Sharifi, Z., 2007. Changes of available phosphorus and phosphatase activity in the rhizosphere of some field and vegetation crops in the fast growth stage. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management* 11: 113–118.
31. Sohi, S.P., Krull, E., Lopez-Capel, E., Bol, R., 2010. A review of biochar and its use and function in soil. *Advances in Agronomy* 105: 47–82.
32. Strobl, W., Traumuller, M., 1996. β -Glucosidase activity. In: Schinner, F., Öhlinger, R., Kandeler, E., Margesin, R., (Eds.), *Methods in Soil Biology*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg. pp: 198–200.
33. Tarafdar J.C., Jungk A., 1987. Phosphatase activity in the rhizosphere and its relation to the depletion of soil organic phosphorus. *Biology and Fertility of Soils* 3: 199–204.
34. Thomson, B., Robson, A.D., Abbott, L.K., 1986. Effects of phosphorus on the formation of mycorrhizas by *Gigaspora* and *Glomus fasciculatum* in relation to root carbohydrates. *New Phytologist* 103: 751–763.

35. Toloei Darab, A., 2016. Activity of urease, acidic and alkaline phosphatases enzymes in soil and biochar in pot culture of corn under water stress. MSc Thesis, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.
36. Turpault, MP., 2006. Sampling of rhizosphere soil for physico-chemical and mineralogical analyses by physical separation based on dyeing and shaking. In: Luster, J., Finlay, R., (Eds.), Handbook of Methods Used in Rhizosphere Research. Swiss Federal Research Institute WSL, pp. 196–197.
37. Vaccari, F., Baronti, S., Lugato, E., Genesio, L., Castaldi, S., Fornasier, F., Miglietta, F., 2011. Biochar as a strategy to sequester carbon and increase yield in durum wheat. *European Journal of Agronomy* 34(4): 231–238.
38. Wang, X., Song, D., Liang, G., Zhang, Q., Ai, C., Zhou, W., 2015. Maize biochar addition rate influences soil enzyme activity and microbial community composition in a fluvio-aquic soil. *Applied Soil Ecology* 96: 265–272.
39. Watzinger, A., Feichtmair, S., Kitzler, B., Zehetner, F., Kloss, S., Wimmer, B., Boltenstern, S.Z., Soja, G., 2014. Soil microbial communities responded to biochar application temperate soils and slowly metabolized ¹³C-labelled biochar as revealed by ¹³C PLFA analysis: results from a short-term incubation and pot experiment. *European Journal of Soil Science* 65: 40–51.
40. Wu, F., Jia, Z., Wang, S.S., Chang, X., Startse, A., 2013. Contrasting effects of wheat straw and its biochar on greenhouse gas emissions and enzyme activities in a Chernozemic soil. *Biology and Fertility of Soils* 49: 555–565.



Effect of Date Kernel Biochars on Enzymatic Activity in Rhizosphere and Non-rhizosphere Soils of European Borage (*Borago officinalis* L.)

A. Abbasian¹ and M. Sheklabadi*

(Received: 19 March 2021; Accepted: 21 June 2021)

Abstract

The aim of this study was to investigate the effect of date kernel biochar and nano-biochar on enzymatic activities of rhizosphere and non-rhizosphere environment of European borage. The date kernel was converted to biochar at 400 and 800 °C pyrolysis temperatures and mixed with different soils. Four soils with different characteristics including acidic, calcareous, saline-sodic and saline-highly sodic were selected. Biochars were then converted to nano-size materials using the rolling ball method. Also nanoparticles were extracted from date kernel powder by hydrothermal method. The obtained biochars were mixed with soil and transferred to greenhouse pots. European borage was planted and harvested after 60 days. Rhizospheric and non-rhizospheric soils were collected and the activity of acidic and alkaline-phosphomonoesterase, protease and β -glucosidase enzymes were measured. The highest and lowest activities of acid-phosphomonoesterase, protease and β -glucosidase enzymes were found in the acidic and saline-highly sodic soils, respectively. However, the highest alkaline-phosphomonoesterase activity was observed in the saline-highly sodic soil. The activity of enzymes in the rhizosphere soil was greater than in the non-rhizosphere soil. The highest activities of enzymes were found in the control and were reduced by using biochar, nano-biochar and nanoparticle biochars. The conversion of biochar to nano-biochar could not increase the activity of enzymes in the soil.

Keywords: Biochar, Calcareous soil, Enzyme activity, Nano-biochar, Nano-particle, Saline-sodic soil.

Background and Objective: Soil enzymes are important for catalyzing the vital processes of soil microorganisms, decomposition of organic residues, element cycles, organic matter formation and soil structure. A few investigations have been performed on the effect of applying biochar or nano-biochar in saline or sodic soils. The aim of this study was to investigate the effect of using date kernel biochar and nano-biochar produced at two different temperatures in salt- and sodium-affected soils on the activity of some soil enzymes in the rhizosphere of European borage species.

Methods: Four topsoils with different physical and chemical properties were collected: calcareous soil with agricultural use (52.5% of CCE), saline-sodic soil with agricultural use (36.65 dS m⁻¹), saline-highly sodic soil (taken from a bare land with EC of 7.51 dS m⁻¹, and SAR of 229.2), and acidic soil (pH = 4.37) sampled from a tea garden. Date kernel powder was used to produce biochar at two different temperatures (400 and 800 °C) in oxygen-free conditions. The biochar prepared at 400 and 800 °C were converted to nano-biochar

1- Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University

* Corresponding Author, Email: sheklabadi@basu.ac.ir

by the ball mill method and sieved with a nano-sized mesh. In addition, nanoparticles were prepared from date kernel powder using hydrothermal method. Soils were mixed with 5% by weight of the treatments, and transferred to 10 kg pots with 3 replicates. For each soil, a control treatment receiving no biochar was used. A variety of European borage (*Borago officinalis* L.) was planted in pots and after 60 days harvested. Rhizosphere soils were separated from non-rhizosphere soils for each pot. In both rhizosphere and non-rhizosphere soils, the activities of β -glucosidase, acid-phosphomonoesterase, alkaline-phosphomonoesterase and protease were measured by standard methods. The experiment was analyzed as a factorial with a completely randomized design and three replications.

Results: The highest and lowest activities of acid-phosphomonoesterase, protease and β -glucosidase were observed in the acidic and saline-highly sodic soils, respectively. A significant difference was observed between the rhizosphere and non-rhizosphere environments due to the effect of root and microorganism's activity and their secretions. However, the activity of acid-phosphomonoesterase and β -glucosidase in the rhizosphere of saline-highly sodic soil was not significantly increased owing to depressed plant growth and poor root development. The activity of acid-phosphomonoesterase, protease and β -glucosidase were the highest in the control and were significantly decreased by applying biochar and nano-biochar in both rhizosphere and non-rhizosphere soils. Application of biochar and nano-biochar to all soils significantly reduced the activity of β -glucosidase by 40–59% compared to the control. However, the activity of protease enzyme in the saline-highly sodic soil decreased sharply even after receiving biochar. In the rhizosphere, the protease activity in all soils was significantly higher than in the non-rhizosphere soils. Applying of biochars to the acidic and saline-highly sodic soils caused significant decrease in protease activity by 50 to 75%. The highest and lowest activities of alkaline-phosphomonoesterase were observed in the saline-highly sodic and acidic soils. The activity of alkaline-phosphomonoesterase in acidic soil was about 30% of its activity in the saline-highly sodic soil and 50 to 70% of its activity in the calcareous and saline-sodic soils. Due to the alkaline nature of the enzyme, the observed results were expected. The activity of this enzyme in the rhizosphere part of all soils was significantly higher than the non-rhizosphere soil. The application of biochar and nano-biochar and also nano-particles caused a significant decrease in the activity of alkaline-phosphomonoesterase in all four soils. The negative effect of soil salinity and phosphorus concentration can be related to the activity of these enzymes in soils. Phosphatase enzyme increases soil mineral phosphorus whereby, it reduces soil phosphatase activity (3). Bailey et al. (1) showed that the effects of biochar on soil enzymatic activity depend on soil type, biochar type and their interactions. Many studies have shown that the application of biochar in soil can stimulate and increase the activity of soil enzymes (2). The biochar may contain substances that limits the activity, immobilizes or removes the enzymes from the soil.

Conclusions: Acidic soil had the highest activity of acid-phosphomonoesterase, protease and β -glucosidase enzymes, which could be attributed to high soil organic matter. Application of date kernel powder, biochar and nano-biochar did not increase the activity of enzymes studied and despite the addition of fresh organic carbon to the soil, no proper enzymatic response was observed. The composition of applied biochar and nano-biochar may cause inhibition of enzymes by various mechanisms.

References:

1. Bailey, V.L., Fansler, S.J., Smith, J.L., Bolton Jr, H., 2010. Reconciling apparent variability in effects of biochar amendment on soil enzyme activities by assay optimization. *Soil Biology and Biochemistry* 43: 296–301.
2. Paz-Ferreiro, J., Fu, S., Mendez, A., Gasco, G., 2014. Interactive effects of biochar and the earthworm (*Pontoscolex corethrurus*) on plant productivity and soil enzyme activities. *Journal of Soils and Sediments* 14: 483–494.
3. Saha, S., Mina, B.L., Gopinath, K.A., Kundu, S., Gupta, H.S., 2008. Relative changes in phosphatase activities as influenced by source and application rate of organic composts in field crops. *Bioresource Technology* 99: 1750–1757.