



The effect of high-density polyethylene microplastic and cow manure biochar on carbon, nitrogen and some biological properties of soil

Mahshid Mahsefat¹  Safoora Nahidan² 

1. Department of Soil Sciences and Engineering, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran. E-mail: mahshidmahsefat7@gmail.com

2. Corresponding Author, Department of Soil Sciences and Engineering, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran. E-mail: s.nahidan@basu.ac.ir

Article Info

Article type: Research Article

Article history:

Received: Feb. 12, 2025

Revised: Apr. 14, 2025

Accepted: Apr. 23, 2025

Published online: July. 2025

Keywords:

Basal Respiration,
Microbial Biomass,
Nitrogen Mineralization,
Urease.

ABSTRACT

This study investigated the effect of high-density polyethylene microplastic and cow manure biochar on soil organic C, total N and some biological properties affecting carbon and nitrogen cycling. The experiment was conducted in a completely randomized design with treatments including control soil, high-density polyethylene microplastic (2%), biochar (2%) and a mixture of microplastic (2%) and biochar (2%) in three replicates. The soil samples were incubated for 60 days at laboratory temperature and 70% field capacity. The findings indicated that biochar and the combination of biochar and microplastic increased soil organic C and total N. The use of microplastic and biochar in soil either alone or in combination, caused a significant decrease in soil microbial respiration. Experimental treatments did not have a significant effect on microbial biomass nitrogen ($p > 0.05$). Microplastic had no significant effect on microbial biomass carbon but biochar and biochar with microplastic additions caused a significant increase by 73.51 and 78.66%, respectively. A similar trend was observed in the ratio of microbial biomass carbon to microbial biomass nitrogen. Microplastic did not have a significant effect on urease activity, net nitrogen mineralization and nitrification, but biochar with microplastic application caused an 68.08% increase of urease activity and an insignificant decrease of net nitrogen mineralization and nitrification compared to the control. The results showed that although high-density polyethylene microplastic does not have a significant effect on most of the measured soil parameters, biochar can affect the carbon and nitrogen cycling in uncontaminated and microplastic-contaminated soil by altering C and N content as well as biological properties.

Cite this article: Mahsefat, M., & Nahidan, S. (2025). The effect of high-density polyethylene microplastic and cow manure biochar on carbon, nitrogen and some biological properties of soil, *Iranian Journal of Soil and Water Research*, 56 (5), 1289-1307. <https://doi.org/10.22059/ijswr.2025.390305.669883>

© The Author(s).

Publisher: The University of Tehran Press.

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijswr.2025.390305.669883>



EXTENDED ABSTRACT

Background and objectives

Today, a concern called "emerging pollutants" such as microplastics, has received the attention of international and scientific communities. In general, microplastics (plastic particles smaller than 5 mm) can enter the soil from various sources, including landfills, vehicle tire wear, plastics left in the environment, and irrigation with sludge, soil amendments, organic fertilizers and sewage sludge and plastic mulch and atmospheric sediments. Most microplastics in agricultural soils are polypropylene and polyethylene. Microplastics according to their size, type, shape and quantity in soil can have different effects on the soil physical, chemical and biological properties. Soil microorganisms play a vital role in the soil ecosystem through influencing the biochemical elements cycling such as carbon and nitrogen. Therefore, the changes created on the microbial community by microplastics can affect the biochemical elements cycling, finally affect soil health and function. Biochar, as a rich source of carbon produced in an anaerobic or low-oxygen conditions by pyrolysis of organic materials such as wood, agricultural and factory wastes, manure, and urban waste, has attracted attention of many researchers. Many studies have shown that application of biochar in the soil can improve the soil physical, chemical and biological properties. Despite this, the knowledge about the effect of biochar application on biological properties related to nutrient cycling of soil contaminated with microplastics is low and requires more investigations. Therefore, the current research aims to investigate the effect of high-density polyethylene microplastic particles and cow manure biochar on organic C, total N and some biological properties of soil affecting carbon and nitrogen cycling, including microbial respiration, microbial biomass carbon and nitrogen, urease activity, net nitrogen mineralization and nitrification.

Materials and methods

The experiment was conducted in the form of a completely randomized design with three replicates. The treatments included control soil, high-density polyethylene microplastic (2%), biochar (2%) and a mixture of microplastic and biochar (2%+2%), which were incubated for 60 days at laboratory temperature and 70% of field capacity. At the end of the incubation period, some soil properties such as organic C, total N, microbial respiration, microbial biomass carbon and nitrogen, urease activity and net nitrogen mineralization and nitrification were measured.

Results

The results showed that biochar and the combination of biochar and microplastic increased soil organic C and total N. Application of microplastic and biochar in the soil alone and in combination caused a significant decrease in soil microbial basal respiration by 6.89%, 15.10% and 16.31%, in compare to the control, respectively. Experimental treatments had no significant effect on microbial biomass nitrogen ($p>0.05$), but they were significant on microbial biomass carbon and the ratio of carbon to nitrogen microbial biomass ($p<0.05$). The results showed that although microplastic caused an insignificant decrease in soil microbial biomass carbon compared to control, adding of biochar and biochar with microplastics significantly increased microbial biomass carbon by 73.50% and 78.66%, respectively, compared to control. Microplastic alone had no significant effect on the ratio of carbon to nitrogen microbial biomass but the ratio was higher for the biochar treatment alone and with microplastic combination than the control by 79.54% and 84.57%, respectively. The results also showed that microplastic did not have a significant effect on urease enzyme activity, but biochar alone and with microplastic combination caused an increase of 86.66% and 213.33% compared to the control soil, respectively. Microplastic did not have a significant effect on the net nitrogen mineralization and nitrification, but the use of biochar alone and with microplastic combination significantly reduced net nitrogen nitrification by 83.33% and 116.66%, and net nitrogen mineralization by 13.43% and 8.95% in compare to the control, respectively.

Conclusion

The results showed that biochar and biochar combined with microplastic increased soil organic C and total N. Microplastics reduced the soil microbial respiration. The use of biochar reduced microbial respiration in soil with and without microplastic. Microplastics did not have a significant effect on other measured characteristics, but the application of biochar in soil with and without microplastic increased microbial biomass carbon, ratio of carbon to nitrogen microbial biomass and urease activity. The application of biochar alone and with microplastic combination caused a significant reduction in soil net nitrogen mineralization and nitrification. The results generally showed that soil contamination with high density polyethylene microplastic in the applying concentration does not have a significant effect on organic C, total N and the measured biological properties of soil (except for microbial respiration), but biochar can affect the carbon and nitrogen

cycling in both uncontaminated and microplastic-contaminated by changing the content of carbon and nitrogen and biological properties.

Author Contribution

Conceptualization, M.M and S.N.; methodology, M.M and S.N.; software, M.M; validation, S.N.; formal analysis, M.M; investigation, M.M and S.N.; resources, S.N.; data curation, M.M.; writing-original draft preparation, M.M.; writing-review and editing, S.N.; visualization, S.N.; supervision, S.N.; project administration, S.N.

All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Data Availability Statement

Data is available on reasonable request from the corresponding author.

Acknowledgements

The authors are very grateful to the Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran, for supporting this research.

Ethical considerations

The authors avoided data fabrication, falsification, plagiarism, and misconduct.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

تأثیر میکروپلاستیک پلی اتیلن سنگین و بیوپار کود گاوی بر کربن، نیتروژن و برخی از ویژگی‌های زیستی خاک

مهشید ماه‌صفت^۱ | صفورا ناهیدان^۲ ✉^۱. گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران. رایانامه: mahshidmahsefat7@gmail.com^۲. نویسنده مسئول، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران. رایانامه: s.nahidan@basu.ac.ir

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله پژوهشی	
تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۱/۲۳	
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۱/۲۵	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۲/۳	
تاریخ انتشار: مرداد ۱۴۰۴	
واژه‌های کلیدی: تنفس پایه، زیست توده میکروبی، معدنی شدن نیتروژن، اوره‌آز.	پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر ذرات میکروپلاستیک پلی‌اتیلن سنگین و بیوپار کود گاوی بر کربن آلی، نیتروژن کل و برخی از ویژگی‌های زیستی موثر بر چرخه کربن و نیتروژن در خاک انجام شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با تیمارهای شامل خاک شاهد، میکروپلاستیک پلی‌اتیلن سنگین (۲ درصد)، بیوپار (۲ درصد) و مخلوط میکروپلاستیک (۲ درصد) و بیوپار (۲ درصد) در سه تکرار انجام شد. خاک‌های تیمار شده به مدت ۶۰ روز در دمای آزمایشگاه و رطوبت ۷۰ درصد ظرفیت زراعی نگهداری شدند. نتایج نشان داد که بیوپار و بیوپار همراه با میکروپلاستیک باعث افزایش کربن آلی و نیتروژن کل خاک شدند. میکروپلاستیک و بیوپار به تنهایی و کاربرد همزمان هر دو موجب کاهش معنی‌دار تنفس میکروبی خاک شدند. تیمارهای آزمایشی تأثیر معنی‌داری بر نیتروژن زیست توده میکروبی نداشتند ($p > 0.05$). میکروپلاستیک تأثیر معنی‌داری بر کربن زیست توده میکروبی خاک نداشت، ولی بیوپار و بیوپار به همراه میکروپلاستیک باعث افزایش $73/51$ و $78/66$ درصدی کربن زیست توده میکروبی نسبت به خاک شاهد شد. چنین روندی در مورد نسبت کربن به نیتروژن زیست توده میکروبی نیز مشاهده شد. میکروپلاستیک تأثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم اوره‌آز، معدنی‌شدن و نیتریفیکاسیون خالص نیتروژن نداشت، ولی کاربرد همزمان بیوپار و میکروپلاستیک باعث افزایش $68/08$ درصدی اوره‌آز و کاهش غیرمعنی‌دار نیتریفیکاسیون و معدنی‌شدن خالص نیتروژن نسبت به شاهد شد. در مجموع، نتایج نشان داد که اگرچه پلی‌اتیلن سنگین تأثیر چشمگیری بر اکثر ویژگی‌های اندازه‌گیری شده این پژوهش ندارد ولی بیوپار می‌تواند با تغییر مقدار کربن و نیتروژن و ویژگی‌های زیستی خاک بر چرخه کربن و نیتروژن خاک آلوده و غیرآلوده به میکروپلاستیک موثر باشد.
استناد: ماه‌صفت، مهشید؛ ناهیدان، صفورا (۱۴۰۴). تأثیر میکروپلاستیک پلی‌اتیلن سنگین و بیوپار کود گاوی بر کربن، نیتروژن و برخی از ویژگی‌های زیستی خاک، مجله تحقیقات آب و خاک ایران، ۵۶ (۵)، ۱۳۰۷-۱۲۸۹. https://doi.org/10.22059/ijswr.2025.390305.669883	
ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.	© نویسندگان.
DOI: https://doi.org/10.22059/ijswr.2025.390305.669883	



مقدمه

امروزه نگرانی در ارتباط با آلاینده‌های نوظهور مانند میکروپلاستیک‌ها، مورد توجه مجامع بین‌المللی و علمی قرار گرفته است (Hasan & Tarannum, 2025). میکروپلاستیک‌ها (ذرات پلاستیک کوچکتر از ۵ میلی‌متر) بر اساس منبع ورودی آن‌ها به اکوسیستم عمدتاً به دو گروه اولیه و ثانویه طبقه‌بندی می‌شوند (Hasan & Tarannum, 2025; Kang et al., 2025). میکروپلاستیک‌های اولیه، مواد پلاستیکی مورد استفاده در تهیه محصولات آرایشی و بهداشتی، الیاف پلاستیکی موجود در لباس، دارو و تجهیزات صنعتی و مهندسی می‌باشند (Auta et al., 2018; Kang et al., 2025). میکروپلاستیک‌های ثانویه از پلاستیک‌های بزرگ‌تر سرچشمه می‌گیرند که به تدریج توسط استفاده مکرر از آن‌ها و همچنین توسط عوامل محیطی مانند باد، آب، گرما و نور فرابنفش به قطعات کوچکتر تقسیم می‌شوند (Guo et al., 2020; Kang et al., 2025). میکروپلاستیک‌ها می‌توانند از منابع مختلف وارد خاک شوند که از آن جمله می‌توان به دفن زباله، سایش لاستیک وسایل نقلیه، پلاستیک‌های رها شده در محیط زیست، آبیاری با فاضلاب، اصلاح کننده‌های خاک، کودهای آلی و کمپوست، لجن فاضلاب، مالچ‌های پلاستیکی و ته نشست‌های اتمسفری اشاره کرد (Yang et al., 2022). پژوهش‌ها نشان داده‌اند که بیشتر میکروپلاستیک‌هایی که در خاک‌های کشاورزی یافت می‌شوند از جنس پلی‌پروپیلن و پلی‌اتیلن و مقادیر کمتری نیز از جنس پلی‌وینیل کلراید و پلی‌اتیلن ترفتالات هستند (Qi et al., 2020). میکروپلاستیک‌ها بسته به اندازه، نوع، شکل و مقدارشان می‌توانند بر ویژگی‌های خاک مانند چگالی ظاهری (Hasan & Tarannum, 2025)، تخلخل (Zhang & Zhang, 2020)، خاکدانه‌سازی، ظرفیت نگهداشت آب (Hasan & Tarannum, 2025)، پی‌اچ (Wang et al., 2022) و ظرفیت تبادل کاتیونی (Boots et al., 2019) تاثیر متفاوتی داشته باشند. با تغییر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک در اثر وجود میکروپلاستیک‌ها، فعالیت و تنوع میکروبی خاک نیز تحت تاثیر قرار می‌گیرد (Zhao et al., 2021).

ریزجانداران خاکزی، نقش کلیدی در اکوسیستم خاک از طریق تاثیر بر چرخه بیوشیمیایی عناصری چون کربن و نیتروژن دارند. بنابراین، تغییرات ایجاد شده بر جامعه میکروبی توسط میکروپلاستیک‌ها می‌تواند چرخه بیوشیمیایی این عناصر و در نهایت عملکرد و سلامت خاک را تحت تاثیر قرار دهد. به عنوان مثال، Liu et al. (2017) مشاهده کردند که میکروپلاستیک پروپیلن در مقدار ۲۸ درصد منجر به تحریک فعالیت میکروبی و افزایش تجزیه ماده آلی خاک شد، اما مقدار نیتروژن قابل دسترس در خاک را کاهش داد. در مطالعه دیگری نیز مشاهده شد که میکروپلاستیک پلی‌وینیل کلراید با تغییر جامعه میکروبی خاک، نیتریفیکاسیون و دنیتریفیکاسیون را در خاک کاهش داد (Zhu et al., 2022). Zhang et al. (2022) مشاهده کردند که حضور مقادیر ۰/۱ و ۱ درصد از میکروپلاستیک پلی‌اتیلن سبک در یک خاک سیلت لوم طی ۳۰ روز انکوباسیون، کربن زیست‌توده میکروبی خاک را تغییر نداد. Auta et al. (2018) بیان کردند که از آنجایی که میکروپلاستیک‌ها خود دارای کربن می‌باشند، می‌توانند به عنوان منبع کربن برای ریزجانداران خاکزی مورد استفاده قرار گیرند. Zhao et al. (2021) بیان کردند که انواع متفاوت میکروپلاستیک شامل پلی‌آمید، پلی‌کربنات، پلی‌استر، پلی‌اتیلن ترفتالات، پلی‌پروپیلن، پلی‌استایرن و پلی‌اورتان بر تنفس میکروبی خاک موثر نیستند. با وجود این، تنفس میکروبی خاک با زمان کاهش یافت و این نتیجه در خاک‌های دارای میکروپلاستیک نسبت به شاهد مشهودتر بود. Zhao et al. (2024) دریافتند که آلودگی میکروپلاستیک، کربن آلی خاک، کربن آلی محلول، فعالیت آنزیم فلورسین دی استات هیدرولاز و زیست‌توده میکروبی را به ترتیب ۲۱، ۱۲، ۱۰ و ۱۷ درصد افزایش داد.

میکروپلاستیک‌ها، مقدار نیتروژن خاک را نیز تحت تاثیر قرار می‌دهند (Shi et al., 2022). در این‌باره، Wang et al. (2022) بیان کردند که میکروپلاستیک‌ها می‌توانند با تاثیر بر فعالیت میکروبی و آنزیمی خاک و فراوانی ژن‌های موثر بر فرآیندهای تثبیت نیتروژن، آمونیفیکاسیون، نیتریفیکاسیون و دنیتریفیکاسیون بر چرخه نیتروژن خاک موثر باشند. Rong et al. (2021) نیز در طی دوره‌ی ۹۰ روزه‌ی انکوباسیون، تاثیر میکروپلاستیک پلی‌اتیلن (۲ و ۷ درصد) بر جوامع میکروبی خاک و چرخه‌ی نیتروژن را مورد بررسی قرار داده و مشاهده کردند که کاربرد ۲ درصد پلی‌اتیلن، تعداد نسبی پروتئوباکتیرا را به اندازه ۲/۹ درصد در روز ۷ام، اکتینوباکتیرا را به اندازه ۱۲/۲ درصد در روز ۳۰ام و باکتریوئیدها را به اندازه ۰/۷ درصد در روز ۶۰ام انکوباسیون افزایش داد. همچنین، غلظت زیاد میکروپلاستیک (۷ درصد)، موجب افزایش فراوانی برخی از باکتری‌های موثر در چرخه نیتروژن شد. Khan and Sikder (2024) نشان دادند که وجود پلی‌اتیلن سبک در خاک، فعالیت آنزیم اوره‌آز را به مقدار ۴۰ درصد کاهش داد. اما Huang et al. (2019) گزارش کردند که پلی‌اتیلن سبک، فعالیت آنزیم اوره‌آز و کاتالاز خاک را افزایش و ترکیب جامعه باکتریایی خاک را تغییر داد. Shi et al. (2022) مشاهده کردند که حضور میکروپلاستیک پلی‌اتیلن و مالچ زیست تخریب‌پذیر، تاثیر اندکی بر تغییرات نیتروژن و قابلیت دسترسی آن در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد داشت اما هر دو میکروپلاستیک، نترات، نیتروژن معدنی، نیتروژن کل محلول، نیتریفیکاسیون و معدنی شدن نیتروژن را در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد کاهش دادند. همچنین تاثیر میکروپلاستیک‌ها بر تغییرات نیتروژن خاک در خاک لوم شنی بیشتر از خاک رسی بود (Shi et al., 2022).

یکی از مواد آلی که استفاده از آن به عنوان بهساز در بهبود کیفیت خاک، مورد توجه بسیاری از پژوهشگران قرار گرفته است، بیوپار می‌باشد (Dhir et al., 2021; Shyam et al., 2025). تجزیه گرمایی (پیرولیز) زیست‌توده‌های آلی مانند چوب، ضایعات کشاورزی و کارخانه‌ها، کود و زباله‌های شهری در شرایط بدون اکسیژن یا با اکسیژن کم منجر به ایجاد یک بخش جامد غنی از کربن به نام بیوپار می‌شود (Lehmann & Joseph., 2015). افزودن بیوپار به خاک‌ها منجر به کربن‌اندوزی و کاهش رها شدن دی‌اکسیدکربن به اتمسفر شده است. افزودن بیوپار به خاک می‌تواند ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی خاک را بهبود بخشد (Banu et al., 2023). همچنین استفاده از بیوپار به عنوان بهساز در بهبود کیفیت خاک‌های آلوده به میکروپلاستیک نیز پیشنهاد شده است (Palansooriya et al., 2022). در این باره، Palansooriya et al. (2022) تاثیر کاربرد بیوپار کاه کلزا و تراشه چوب ساخته شده در دو دمای ۵۵۰ و ۷۰۰ درجه سانتی‌گراد را بر ویژگی‌های شیمیایی و میکروبی یک خاک اسیدی آلوده به میکروپلاستیک پلی‌اتیلن سبک، تحت تنش خشکی (۳۰ درصد ظرفیت زراعی) و آبیاری مناسب (۷۰ درصد ظرفیت زراعی) مورد بررسی قرار دادند. نتایج به طور کلی نشان داد که تاثیر بیوپار در بهبود کیفیت خاک آلوده به میکروپلاستیک، به نوع و دمای ساخت بیوپار و شرایط رطوبتی خاک بستگی دارد. همچنین، Elbasiouny et al. (2023) تاثیر سطوح متفاوت میکروپلاستیک اکریلیک (صفر، ۱/۵، ۷/۵ و ۱۵ درصد) و بیوپار هسته خرما بر ویژگی‌های شیمیایی و زیستی خاک را بررسی و مشاهده کردند که بیوپار باعث کاهش تاثیرات نامطلوب میکروپلاستیک بر عملکرد خاک شد و برخی از ویژگی‌های خاک مانند پی‌اچ، هدایت الکتریکی، ماده آلی و نیتروژن کل را افزایش داد. همچنین، کاربرد همزمان بیوپار و میکروپلاستیک، کربن زیست‌توده میکروبی را افزایش داد. بیشترین مقدار کربن زیست‌توده میکروبی در سطح ۷/۵ درصد میکروپلاستیک همراه با بیوپار مشاهده شد.

با وجود پژوهش‌های متعدد در زمینه تاثیر میکروپلاستیک‌ها و بیوپار به تنهایی بر ویژگی‌های خاک، دانسته‌ها در مورد تاثیر همزمان میکروپلاستیک و بیوپار بر چرخه عناصر غذایی خاک اندک بوده و نیازمند بررسی‌های بیشتری است. همچنین، با توجه به اینکه بیوپار به عنوان بهساز مورد توجه بسیاری از پژوهشگران قرار گرفته است، نیاز است چگونگی تاثیر آن بر کیفیت خاک‌های آلوده به میکروپلاستیک نیز مورد بررسی بیشتری قرار گیرد. بنابراین، پژوهش حاضر با هدف بررسی تاثیر ذرات میکروپلاستیک پلی‌اتیلن سنگین و بیوپار کود گاوی بر کربن آلی، نیتروژن کل و برخی از ویژگی‌های زیستی موثر بر چرخه کربن و نیتروژن خاک شامل تنفس پایه میکروبی، کربن و نیتروژن زیست‌توده میکروبی، فعالیت آنزیم اوره‌آز، معدنی شدن و نیتریفیکاسیون خالص نیتروژن انجام شد.

مواد و روش‌ها

ساخت بیوپار

برای تهیه بیوپار، کود گاوی هوا خشک و از الک ۲ میلی‌متر گذرانده شد. سپس مقدار مشخصی کود گاوی به دور از اکسیژن در کوره الکتریکی در دمای ۴۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ ساعت پیرولیز شد (Lehman & Josef, 2009).

نمونه‌برداری و آماده‌سازی خاک

نمونه‌برداری خاک از عمق ۰ تا ۱۵ سانتی‌متری یک زمین آیش واقع در همدان با موقعیت جغرافیایی $34^{\circ} 39' 61''$ شرقی و $48^{\circ} 21' 48''$ شمالی انجام شد. بدین منظور، از ۲۰ نقطه مجزا با فاصله ۵ متری نمونه‌های خاک برداشته و با یکدیگر مخلوط شدند تا نمونه مرکب بدست آید. پس از هواخشک شدن، خاک از الک ۲ میلی‌متر گذرانده شد.

ویژگی‌های عمومی خاک و بیوپار

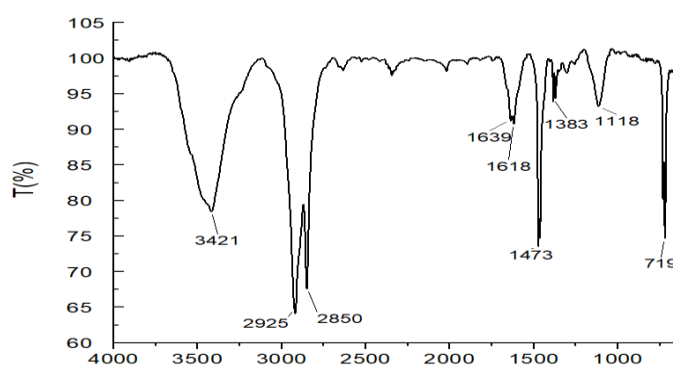
بافت خاک به روش پیپت (Robinson., 1922)، پی‌اچ (Page et al., 1982) و قابلیت هدایت الکتریکی خاک (He et al., 2012) و خاک و بیوپار در نسبت ۱ به ۵ خاک و بیوپار به آب، کربن آلی خاک به روش سوزاندن تر (Walkley & Black., 1934)، نیتروژن کل خاک به روش کج‌لدال (Bremner., 1960)، کربنات کلسیم معادل خاک به روش خنثی‌سازی با اسید کلریدریک و تیتراسیون برگشتی (Loeppert and Suarez., 1996)، آمونیوم و نترات خاک و بیوپار نیز پس از عصاره‌گیری با کلرید پتاسیم (نسبت ۱ به ۱۰ خاک و بیوپار به عصاره‌گیر) با دستگاه تقطیر بخار آب اندازه‌گیری شدند (Keeney & Nelson, 1982). آنالیز عنصری بیوپار شامل اندازه‌گیری درصد کربن، نیتروژن و هیدروژن توسط دستگاه تجزیه عنصری CHNS^۱ انجام شد. ویژگی‌های اندازه‌گیری شده در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱- ویژگی های عمومی خاک و بیوپار

بیوپار	خاک	ویژگی های اندازه گیری شده
-	لوم شنی	بافت خاک
۸/۵۹±۰/۰۴	۸/۳±۰/۰۲	پی اچ (نسبت ۱ به ۵ خاک یا بیوپار به آب)
۵۰.۵±۰/۵۲	۲۰.۹/۳±۰/۵۴	هدایت الکتریکی (نسبت ۱ به ۵ خاک یا بیوپار به آب)
-	۱/۰۷±۰۰	($\mu S cm^{-1}$)
-	۰/۰۸±۰۰	کربن آلی (%)
-	۵/۷۵±۰/۰۳	نیترژن کل (%)
۱۹/۲۵±۰/۰۰۲	۴۲±۱/۴۹	کربنات کلسیم معادل (%)
۱۰۳/۲۵±۰/۰۰۱	۱۱۴/۳۳±۱/۸۰	نیترات ($mg kg^{-1}$)
۳۱/۱۲±۱/۲	-	آمونیم ($mg kg^{-1}$)
۱/۲۱±۰/۰۲	-	کربن عنصری (%)
۱/۷۸±۰/۰۵	-	نیترژن عنصری (%)
	-	هیدروژن عنصری (%)

تهیه میکروپلاستیک پلی اتیلن سنگین

میکروپلاستیک پلی اتیلن سنگین با ذرات کوچکتر از ۲۵۰ میکرومتر از دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات تهیه و سپس طیف سنجی مادون قرمز شد. نتایج طیف سنجی مادون قرمز مشابه با پژوهش های پیشین (Glumine et al., 2002; Bonifazi et al., 2018; Smith, 2021) نشان داد که ساختار این پلیمر، بیشتر متشکل از اتم های کربن و هیدروژن بوده که به صورت زنجیروار به یکدیگر متصل شده اند (شکل ۱ و جدول ۲).



شکل ۱- طیف سنجی مادون قرمز پلی اتیلن سنگین

جدول ۲- معرفی طول موج به همراه گروه های عاملی در طیف سنجی مادون قرمز

طول موج	گروه های عاملی
۳۴۲۱	O-H hydroxyl
۲۹۲۵	C-H stretching
۲۸۵۰	C-H stretching of -CH ₂
۱۶۳۹	C-H stretching -CH ₂
۱۶۱۸	C-O carbonyl
۱۴۷۳	H-C-CH ₂ (vinyl)
۱۳۸۳	carbonyl stretching vibration
۱۱۱۸	C-H Link
۷۱۹	-CH ₂ - wagging
	C-O
	-CH ₂ - rocking, amorphous region

اعمال تیمارها

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. تیمارها شامل خاک شاهد (C)، میکروپلاستیک پلی اتیلن سنگین (Mp)، بیوپار (Bc) و مخلوط میکروپلاستیک با بیوپار (Mp+Bc) بودند. برای آماده سازی نمونه های خاک، به ۶۰۰ گرم خاک هوا خشک مقدار ۲ درصد میکروپلاستیک پلی اتیلن سنگین، ۲ درصد بیوپار کود گاوی و مخلوط میکروپلاستیک و بیوپار هر کدام در مقدار ۲ درصد اضافه شد. تیمار شاهد نیز بدون افزودن هیچ افزودنی در نظر گرفته شد. غلظت میکروپلاستیک بر اساس مقادیر متداول و حدواسط میکروپلاستیک های گزارش شده در خاک (۰/۳ تا ۶/۷ درصد) انتخاب شد (Fuller & Gautam, 2016). مقدار ۲ درصد بیوپار نیز به عنوان مقداری بهینه جهت افزایش جامعه میکروبی خاک، کاهش انتشار گازهای گلخانه ای و افزایش تولید کشاورزی پیشنهاد شده است (Qi et al., 2023). خاک های تیمار شده به رطوبت ۷۰ درصد ظرفیت زراعی رسانده و به مدت ۶۰ روز در دمای آزمایشگاه و رطوبت ثابت انکوباسیون شدند. پس از پایان دوره انکوباسیون، نمونه های خاک برای اندازه گیری کربن آلی (Walkley & Black., 1934) و نیتروژن کل (Bremner., 1960) هوا خشک و برای اندازه گیری ویژگی های زیستی در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

ویژگی های زیستی خاک

کربن و نیتروژن زیست توده میکروبی

برای اندازه گیری کربن و نیتروژن زیست توده ی میکروبی به ترتیب از روش تدخین - انکوباسیون (Jenkinson & Ladd, 1981) و تدخین - عصاره گیری (Brookes et al., 1985) استفاده شد. بدین صورت که نمونه های خاک برای ۲۴ ساعت با گاز کلروفرم تدخین شدند. نمونه های خاک تدخین نشده به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. از اختلاف تنفس میکروبی نمونه های تدخین شده (b) و نشده (a) و با در نظر گرفتن عدد ثابت ۰/۴۵، کربن زیست توده میکروبی (MBC) بر حسب mg Cmic kg^{-1} و از اختلاف نیتروژن معدنی نمونه های تدخین شده (c) و نشده (d) و با در نظر گرفتن عدد ثابت ۰/۵۴، نیتروژن زیست توده میکروبی (MBN) بر حسب mg Nmic kg^{-1} از طریق روابط زیر محاسبه شد:

$$\text{MBC} = \frac{b-a}{0.45} \quad \text{رابطه ۱}$$

$$\text{MBN} = \frac{c-d}{0.54} \quad \text{رابطه ۲}$$

فعالیت آنزیم اوره آز

برای اندازه گیری فعالیت اوره آز از روش (Tabatabai & Bremner 1972) استفاده شد. در آغاز ۵ گرم خاک با ۰/۲ میلی لیتر تولوئن تیمار شد، سپس ۹ میلی لیتر محلول بافر تریس هیدروکسی متیل آمینو متان (THAM) ۰/۱ مولار با $\text{pH} = 9$ و ۱ میلی لیتر محلول سوبسترا (اوره ۰/۵ مولار) به سوسپانسیون افزوده و برای ۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوباسیون شد. پس از انکوباسیون، ۳۵ میلی لیتر محلول ۲/۵ مولار KCl و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر Ag_2SO_4 به آن افزوده و سپس آمونیوم آزاد شده در سوسپانسیون به روش تقطیر با بخار آب اندازه گیری شد. هم زمان با این اندازه گیری یک تیمار شاهد نیز در نظر گرفته شد. تیمار شاهد نمونه ای است که پس از انکوباسیون سوبسترا دریافت می کند. با کم کردن آمونیوم تیمار شاهد از تیمار اصلی، فعالیت آنزیم اوره آز بر حسب $\text{mg NH}_4^+ - \text{N Kg}^{-1} 2\text{h}^{-1}$ گزارش شد.

تنفس پایه میکروبی

برای اندازه گیری تنفس پایه میکروبی، ۵۰ گرم خاک مرطوب (۷۰ درصد ظرفیت زراعی) در حضور هیدروکسید سدیم ۱ نرمال در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد برای ۷ روز انکوباسیون شد. در پایان، هیدروکسید سدیم باقیمانده با اسید سولفوریک ۰/۵ نرمال با افزودن کلرید باریم ۱۰ درصد و شناساگر فنل فتالین تیتراسیون شد. در نهایت، تنفس پایه بر حسب $\text{mg CO}_2 \text{ g soil}^{-1} \text{ day}^{-1}$ گزارش شد (Anderson & Domsch, 1990).

فرآیندهای نیتروژن در خاک

برای اندازه گیری آمونیوم و نیترات نمونه های خاک، ابتدا آمونیوم و نیترات توسط کلرید پتاسیم ۲ مولار با نسبت ۱ به ۱۰ خاک به عصاره گیر، عصاره گیری و سپس آمونیوم و نیترات با دستگاه تقطیر بخار آب اندازه گیری شدند (Keeney & Nelson., 1982). معدنی شدن خالص نیتروژن از تفاوت بین مجموع غلظت آمونیوم و نیترات در نمونه انکوبه شده پس از ۶۰ روز انکوباسیون و غلظت آمونیوم و نیترات در نمونه

اولیه (قبل از انکوباسیون) محاسبه شد. به همین صورت، نیتریفیکاسیون خالص نیتروژن از تفاوت بین غلظت نیترات قبل و بعد از انکوباسیون محاسبه شد (Wei et al., 2017).

طرح آزمایش و آزمون‌های آماری

آنالیز داده‌ها با نرم افزار SAS و ترسیم نمودارها با نرم افزار Excel انجام گرفت. مقایسات میانگین داده‌ها توسط آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

کربن آلی و نیتروژن کل

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تیمارهای اعمال شده بر کربن آلی و نیتروژن کل خاک تاثیر معنی‌داری داشتند (جدول ۳). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که حضور میکروپلاستیک به تنهایی در خاک باعث افزایش کربن آلی خاک شد، ولی این تاثیر نسبت به خاک شاهد معنی‌دار نبود. همچنین، میکروپلاستیک تاثیر معنی‌داری بر نیتروژن کل خاک نداشت. افزودن بیوچار به خاک موجب افزایش ۴۰/۶ و ۲۴ درصدی کربن آلی و نیتروژن کل خاک نسبت به تیمار شاهد شد. همچنین مقدار کربن آلی و نیتروژن کل در تیمار کاربرد همزمان میکروپلاستیک و بیوچار به میزان ۵۰ و ۱۷/۸ درصد بیشتر از تیمار میکروپلاستیک به تنهایی بود (شکل ۲).

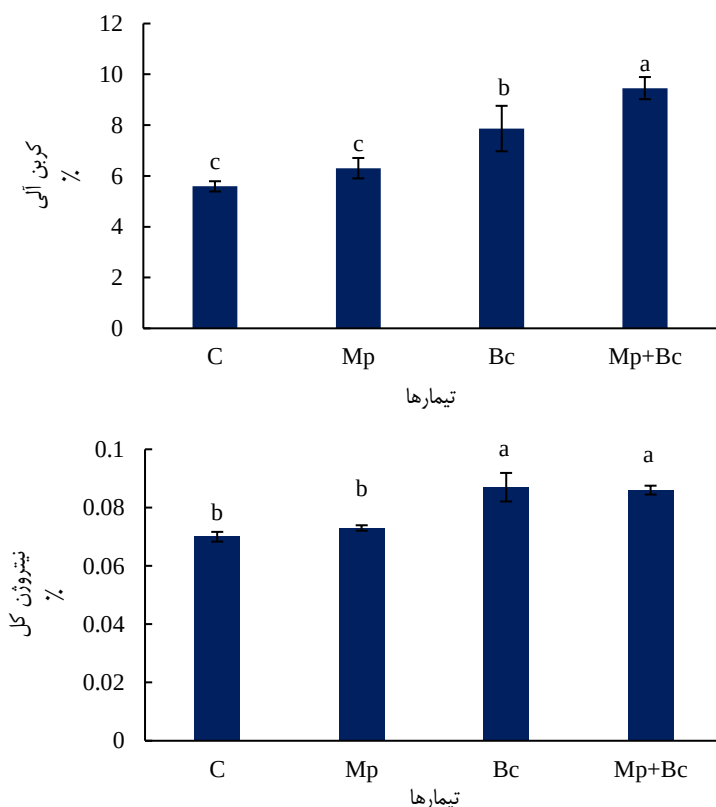
بخش عمده‌ای از ساختار پلیمری میکروپلاستیک‌ها معمولاً از کربن تشکیل شده است. بنابراین ورود میکروپلاستیک به خاک می‌تواند به عنوان عاملی برای افزایش کربن آلی خاک محسوب شود (Wang et al., 2024). در پژوهش‌های گذشته نیز مشاهده شده است که میکروپلاستیک باعث افزایش معنی‌دار کربن آلی خاک شده (Yu et al., 2021) یا بر آن تاثیر اندکی داشته است (Xiang et al., 2024). از آن جایی که در ساختار میکروپلاستیک پلی اتیلن سنگین نیتروژن وجود ندارد، تاثیر غیرمعنی‌دار آن بر نیتروژن کل خاک می‌تواند قابل توجیه باشد. چنین یافته‌ای در پژوهش Su et al. (2024) نیز مشاهده شد.

بیوچار به عنوان یک ماده غنی از کربن که در اثر پیرولیز مواد آلی ایجاد می‌شود می‌تواند به صورت مستقیم با افزون کربن به خاک و یا به صورت غیرمستقیم با افزایش خاکدانه‌سازی (Obia et al., 2016) منجر به افزایش کربن آلی خاک شود. همچنین، بیوچار می‌تواند با تاثیر منفی بر تجزیه ماده آلی خاک و کاهش سرعت انتشار دی اکسید کربن به اتمسفر، به نگهداری کربن در خاک کمک کند (Ge et al., 2020). بنابراین، افزایش بیشتر کربن آلی خاک در اثر وجود توام ترکیبات حاوی کربن مثل میکروپلاستیک و بیوچار دور از انتظار نیست (Elbasiouny et al., 2023). همچنین، بیوچارهای تولید شده از زیست‌توده‌های غنی از نیتروژن مانند کودهای دامی می‌تواند به عنوان منبع ورودی نیتروژن به خاک محسوب شوند (Clough et al., 2013). با وجود این، ساختار متخلخل و بار منفی سطحی بیوچار به صورت غیرمستقیم می‌تواند از طریق جذب آمونیم و کاهش اتلاف آن به صورت گاز آمونیاک (Canatoy et al., 2024)، کاهش تجزیه ماده آلی (Seki et al., 2020) و معدنی شدن نیتروژن (Xu et al., 2021) و نیز جلوگیری از انتشار گاز دی اکسید نیتروژن به اتمسفر به دلیل تغییر وضعیت فیزیکی خاک (Zhang et al., 2025) منجر به حفظ و افزایش نیتروژن در خاک شود.

جدول ۳- تجزیه واریانس تیمارهای مورد مطالعه بر ویژگی‌های زیستی خاک

منابع تغییرات	درجه آزادی	کربن آلی	نیتروژن کل	کربن زیست-توده میکروبی	نیتروژن زیست-توده میکروبی	میانگین مربعات		فعالیت اوره‌آز	معدنی شدن خالص نیتروژن	نیتریفیکاسیون خالص نیتروژن
						نسبت کربن به نیتروژن زیست-توده میکروبی	تنفس میکروبی			
تیمار	۳	۰/۰۰۰۳***	۰/۰۰۰۲***	۰/۰۰۲**	۰/۲۸۱ ^{NS}	۰/۰۰۰۸***	۰/۰۰۱**	۰/۰۱۳*	۰/۰۱۴*	۰/۰۳۴*
خطای آزمایش	۸	۲/۹۴	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۳	۷/۴۱	۲/۶۷	۰/۰۰۰۱	۳۸/۲۱	۱۴/۲۹	۱۷/۴۶
ضریب تغییرات		۳۶.۸	۴/۲۱	۱۷/۹۹	۲/۸۱	۱۶/۲۷	۳/۸۶	۴/۱۸	-۴/۶۴	-۵۰/۵۷

***، ** و * به ترتیب بیانگر معنی‌داری در سطح احتمال ۵، ۱ و ۰/۱ درصد می‌باشند. ^{NS} بیانگر عدم وجود تفاوت معنی‌دار می‌باشد.



شکل ۲- تاثیر میکروپلاستیک، بیوجار و کاربرد همزمان آن‌ها بر کربن آلی و نیتروژن کل خاک (C، شاهد؛ Mp، میکروپلاستیک؛ Bc، بیوجار و Mp+Bc، میکروپلاستیک+بیوجار). حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنادار بین تیمارها است. هر یک از داده‌ها نشان دهنده میانگین سه تکرار همراه با خطای استاندارد است.

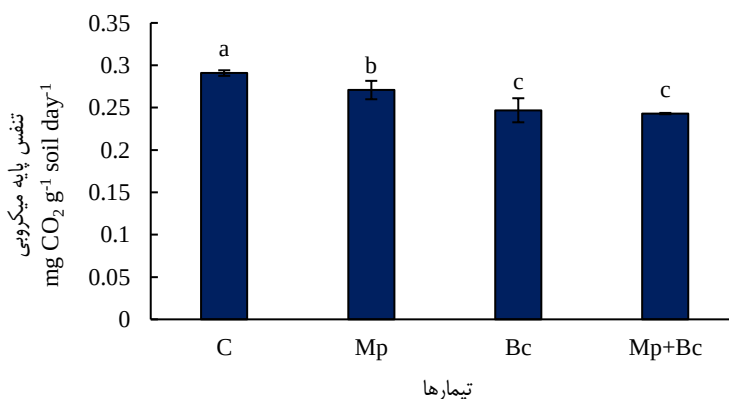
تنفس پایه میکروبی خاک

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تاثیر تیمارها بر تنفس پایه میکروبی خاک معنی‌دار است (جدول ۳). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین مقدار تنفس پایه میکروبی در تیمار شاهد مشاهده شد و کاربرد میکروپلاستیک و بیوجار در خاک و کاربرد همزمان هر دو موجب کاهش معنی‌دار تنفس پایه میکروبی نسبت به خاک شاهد شد. تفاوت معنی‌داری بین تیمار بیوجار به تنهایی و بیوجار به همراه میکروپلاستیک از لحاظ تنفس پایه میکروبی مشاهده نشد (شکل ۳).

در مطالعات مختلف مشاهده شده است که تاثیر میکروپلاستیک بر تنفس پایه میکروبی خاک می‌تواند متغیر باشد و این مساله به شکل (Lozano et al., 2021)، مقدار، نوع میکروپلاستیک، اندازه و مدت زمان آلودگی (Liu et al., 2023) بستگی داشته است. Liu (2023) et al. گزارش کردند که ذرات میکروپلاستیک در اندازه بزرگتر از ۵۰۰ میکرومتر باعث کاهش تنفس میکروبی خاک شد. Zhao et al. (2021) مشاهده کردند که پس از ۳۱ روز انکوباسیون خاک با میکروپلاستیک، تنفس میکروبی خاک کاهش یافت و دلیل آن را به تجمع ترکیبات سمی ناشی از شیرابه‌های میکروپلاستیک‌ها و تاثیر آن‌ها بر ریزجانداران خاکری نسبت دادند. میکروپلاستیک‌ها همچنین توانایی حمل ترکیبات سمی را داشته و به عنوان یک حامل در انتقال سایر آلودگی‌ها در خاک موثر هستند. از طرفی، در زمان تولید میکروپلاستیک‌ها به دلیل بالا بردن طول عمر و ویژگی‌های پلیمری آن‌ها، افزودنی‌هایی (مانند بیس فنول^۱، استرهای اسید فتالات^۲) به آن‌ها اضافه می‌شود که پس از آزادسازی آن‌ها به محیط خاک می‌توانند اثرات منفی بر فعالیت موجودات خاکری بگذارند (Hahladakis et al., 2018). مشاهده شده است که آزادسازی ترکیبات سمی از میکروپلاستیک‌های با اندازه کوچکتر، بیشتر بوده است (Rillig et al., 2021). Horn et al. (2004) بیان کردند که ترکیبات افزودنی میکروپلاستیک‌ها (مثل روان کننده‌ها) در خاک به طور کامل تجزیه نمی‌شوند و ایجاد ترکیبات حدواسط سمی و مقاوم‌تری مثل ۲- اتیل هگزانول و ۲- اتیل هگزانوئیک می‌کنند. همچنین گزارش شده است که ترکیبات افزودنی میکروپلاستیک‌ها مانند استرهای اسید فتالیک چربی دوست با تجمع در کنار مناطق آب گریز غشای سیتوپلاسمی میکروب‌ها و ایجاد تورم در آن، در فعالیت

متابولیسمی غشا اختلال ایجاد کرده و بدین ترتیب منجر به کاهش فعالیت و تنوع میکروبی خاک می‌شوند (Wang et al., 2024). میکروپلاستیک‌ها همچنین بصورت غیر مستقیم با تغییر ویژگی‌های فیزیکی خاک مانند ظرفیت نگهداری آب، چگالی ظاهری و خاکدانه‌سازی بر ریزجانداران خاکری تاثیر دارند (Xu et al., 2020., De Souza Machado et al., 2018). برخی از میکروپلاستیک‌ها (مانند فیلم‌های پلی‌اتیلن سبک) با اثر منفی بر خاکدانه‌سازی و هوادهی خاک به دلیل ساختار مسطح‌شان، زیستگاه ریزجانداران را برای داشتن عملکردی مناسب با مشکل مواجه می‌کنند. با کاهش انتشار اکسیژن در منافذ خاک و اثرات آن بر جریان آب، تنفس میکروب‌های هوازی خاک دچار مشکل می‌شود (Kim et al., 2021).

نتایج دیگر بررسی تیمارهای آزمایشی پژوهش حاضر بر تنفس میکروبی خاک که در بالا به آن اشاره شد نشان داد که وجود بیوجار در خاک می‌تواند تنفس پایه میکروبی خاک آلوده به میکروپلاستیک را ۱۰ درصد کاهش دهد. از آن جایی که وجود بیوجار به تنهایی در خاک توانسته منجر به کاهش تنفس میکروبی خاک شود، در نتیجه کاربرد بیوجار در خاک، تاثیر کاهشی میکروپلاستیک بر تنفس میکروبی خاک را نیز تشدید کرده است. Ge et al. (2020) بیان کردند که بیوجار می‌تواند با تاثیر منفی بر تجزیه مواد آلی خاک بر سرعت انتشار دی اکسید کربن از خاک موثر باشد. همچنین گزارش شده است که کاهش تنفس میکروبی خاک در اثر کاربرد بیوجار می‌تواند به دلیل کاهش فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده کربن مانند بتاگلوکوزیداز و سلوبیوهیدرولاز در اثر افزایش بخش کربن مقاوم به تجزیه در خاک، جذب مستقیم عناصر غذایی توسط ساختار متخلخل بیوجار و کاهش قابلیت دسترسی آن‌ها برای ریزجانداران خاکری باشد (Dewi et al., 2024).



شکل ۳- تاثیر میکروپلاستیک، بیوجار و کاربرد همزمان آن‌ها بر تنفس پایه میکروبی خاک. (C، شاهد؛ Mp، میکروپلاستیک؛ Bc، بیوجار و Mp+Bc، میکروپلاستیک+بیوجار). حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنادار بین تیمارها است. هر یک از داده‌ها نشان دهنده میانگین سه تکرار همراه با خطای استاندارد است.

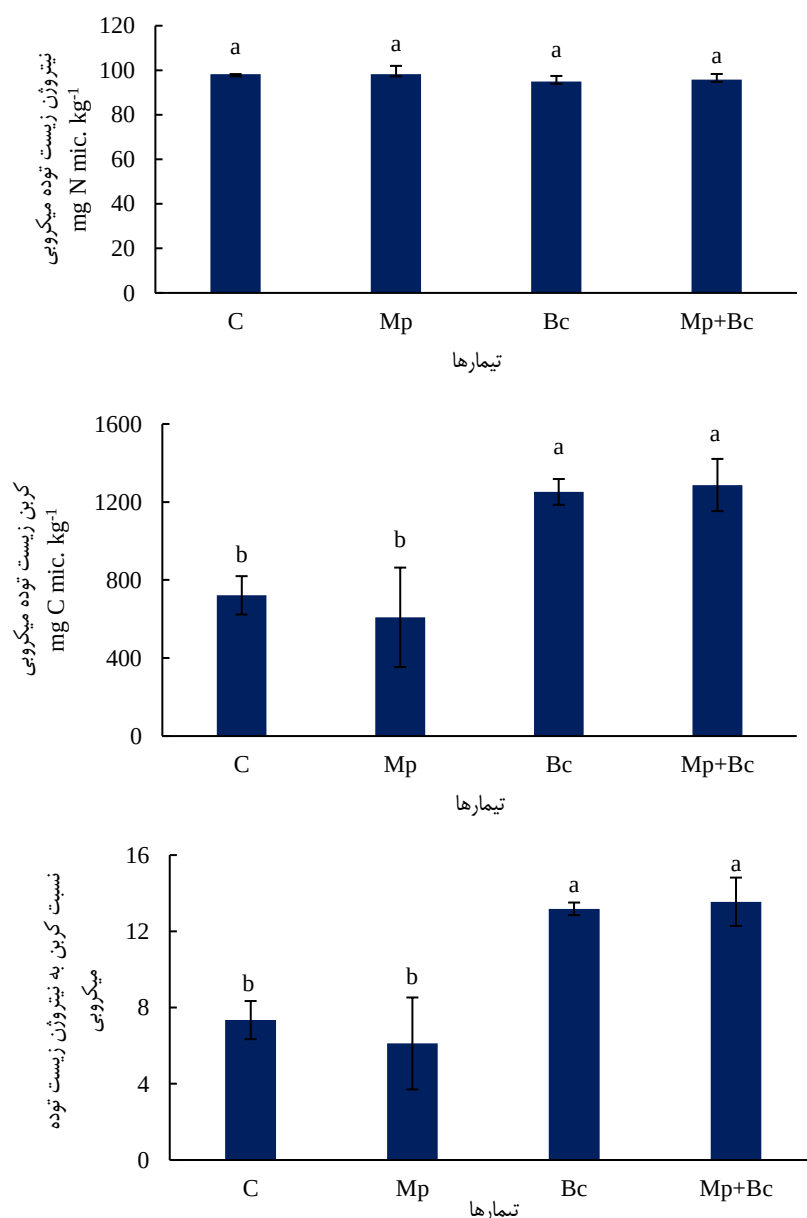
کربن و نیتروژن زیست‌توده میکروبی و نسبت آن‌ها

جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تاثیر تیمارها بر نیتروژن زیست‌توده میکروبی معنی‌دار نشد ولی بر کربن زیست‌توده میکروبی و نسبت کربن به نیتروژن زیست‌توده میکروبی معنی‌دار شد (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که ذرات میکروپلاستیک باعث کاهش غیرمعنی‌دار کربن زیست‌توده میکروبی خاک نسبت به شاهد شد اما افزودن بیوجار و بیوجار به همراه میکروپلاستیک افزایش معنی‌داری در مقدار کربن زیست‌توده میکروبی نسبت به خاک شاهد ایجاد کرد. کربن زیست‌توده میکروبی در تیمار کاربرد همزمان میکروپلاستیک و بیوجار به مقدار ۱۲۲ درصد بیشتر از تیمار میکروپلاستیک به تنهایی بود و با تیمار بیوجار به تنهایی اختلاف معنی‌داری نداشت (شکل ۴).

Blöcker et al. (2020) مشاهده کردند که کاربرد میکروپلاستیک پلی‌پروپیلن و پلی‌اتیلن سبک منجر به کاهش کربن زیست‌توده میکروبی در خاک با مدیریت زراعی سنتی و ارگانیک و کاهش نیتروژن زیست‌توده میکروبی در خاک با مدیریت زراعی ارگانیک شدند ولی تاثیر معنی‌داری بر نیتروژن زیست‌توده میکروبی در خاک با مدیریت زراعی سنتی نداشتند. این پژوهشگران، جذب کاتیون‌های خاک توسط گروه‌های کربوکسیل میکروپلاستیک و کاهش قابلیت دسترسی آن‌ها برای میکروب‌های خاک را دلیل تاثیر کاهشی میکروپلاستیک بر زیست‌توده میکروبی خاک دانستند. در رابطه با کاربرد همزمان بیوجار و میکروپلاستیک در خاک، Khalid et al. (2023) مشاهده کردند که کربن زیست‌توده میکروبی و همچنین فراوانی باکتری‌ها و قارچ‌های خاک در اثر کاربرد میکروپلاستیک پلی‌وینیل کلراید کاهش یافتند ولی کاربرد بیوجار ساقه کتان در خاک با ایجاد شرایط مناسب در زیستگاه موجودات زنده باعث کاهش تاثیر منفی میکروپلاستیک بر

میکروب‌های خاک شد که با نتایج پژوهش حاضر همخوانی دارد. در واقع، بیوچار با افزایش کربن آلی خاک، بهبود خاکدانه سازی و تامین عناصر غذایی می‌تواند منجر به رشد ریزجانداران خاکزی شود (Kabir et al., 2023; Saleem et al., 2022). همچنین، ساختار متخلخل بیوچار می‌تواند زیستگاهی مناسب برای میکروب‌های خاک محسوب شود (Thies & Rillig, 2012). برخی از ریزجانداران خاکزی می‌توانند با سکونت در منافذ بیوچار، از شکار توسط سایر جانداران خاکزی محافظت شوند؛ این مسئله باعث می‌شود که زیست‌توده و تنوع میکروبی در خاک دارای بیوچار بیشتر از بدون بیوچار شود (Warnock et al., 2007).

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها همچنین نشان داد که نسبت کربن به نیتروژن زیست‌توده میکروبی در خاک دارای میکروپلاستیک (۶/۱۱) و شاهد (۷/۳) کمترین و در خاک دارای میکروپلاستیک به همراه بیوچار بیشترین (۱۳/۵۴) مقدار را داشت (شکل ۳). تیمار بیوچار و میکروپلاستیک همراه بیوچار باعث افزایش معنی‌دار نسبت کربن به نیتروژن زیست‌توده میکروبی نسبت به تیمار شاهد به ترتیب به مقدار ۷۹/۵۴ درصد و ۸۴/۵۷ درصد شدند ولی اختلاف معنی‌داری بین تیمار میکروپلاستیک و شاهد و بین تیمار میکروپلاستیک به همراه بیوچار و بیوچار به تنهایی دیده نشد. نسبت کربن به نیتروژن زیست‌توده میکروبی در تیمار کاربرد میکروپلاستیک به همراه بیوچار به طور معنی‌داری بیشتر از تیمار میکروپلاستیک به تنهایی بود (شکل ۴).



شکل ۴- تاثیر میکروپلاستیک، بیوچار و کاربرد همزمان آن‌ها بر نیتروژن زیست‌توده میکروبی، کربن زیست‌توده میکروبی و نسبت کربن به زیست‌توده میکروبی به نیتروژن زیست‌توده میکروبی (C، شاهد؛ Mp، میکروپلاستیک؛ Bc، بیوچار و Mp+Bc، میکروپلاستیک + بیوچار). حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنادار بین تیمارها است. هر یک از داده‌ها نشان‌دهنده میانگین سه تکرار همراه با خطای استاندارد است.

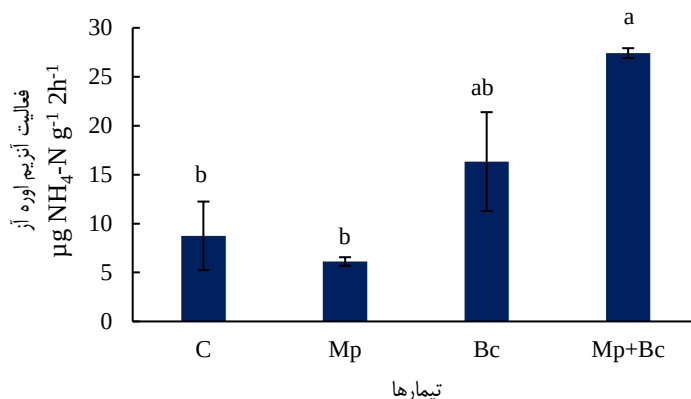
نسبت کربن به نیتروژن زیست توده میکروبی اغلب برای توصیف ساختار و وضعیت جامعه میکروبی خاک استفاده می شود (Moore et al., 2000). عدد بالای نسبت کربن به نیتروژن زیست توده میکروبی نشان می دهد که زیست توده میکروبی حاوی تعداد بیشتری قارچ است، در حالی که مقدار کم این نسبت نشان می دهد که جمعیت باکتری ها در خاک غالب هستند؛ به طوری که در جدایه های میکروبی استخراج شده از خاک گزارش شده است که نسبت کربن به نیتروژن زیست توده میکروبی بین ۳ تا ۶ برای باکتری ها و ۷ تا ۱۲ برای قارچ ها متغیر می باشد (Moore et al., 2000). همچنین (Moore et al., 2000) به نقل از (Joergensen 1995) نسبت کربن به نیتروژن زیست توده میکروبی بین ۵/۲ در یک خاک کشاورزی تا ۲۰/۸ در یک خاک جنگلی با میانگین ۶/۸ را گزارش نمودند. این نسبت تحت تاثیر رطوبت، پی اچ، بافت خاک، در دسترس بودن عناصر برای میکروب ها، نسبت ریزجانداران فعال در برابر ریزجانداران خفته، آلودگی و مدیریت خاک قرار می گیرد (Moore et al., 2000). با توجه به مسائل بیان شده، افزایش نسبت کربن به نیتروژن زیست توده میکروبی در اثر کاربرد بیوجار در مقایسه با شاهد در پژوهش حاضر نشان می دهد که ساختار جامعه میکروبی خاک تغییر کرده و احتمالاً جمعیت قارچ های خاک را افزایش داده است. این مساله در اثر کاربرد همزمان بیوجار و میکروپلاستیک نیز مشاهده شد (شکل ۳). از آن جایی که بین خاک تیمار شده با میکروپلاستیک و بیوجار با بیوجار به تنهایی اختلاف معنی داری وجود نداشت این احتمال وجود دارد که میکروپلاستیک نتوانسته تاثیر معنی داری بر فراوانی جمعیت میکروبی باکتری ها و قارچ های خاکری بگذارد. با این حال، بررسی این احتمال نیاز به مطالعات دقیق تری دارد. در این راستا، Blöcker et al. (2020)، گزارش کردند که پلی اتیلن سبک و پلی پروپیلن، موجب تغییر معنی داری در جامعه میکروبی خاک (آرکی، آ، باکتری ها و قارچ ها) طی ۲۸ روز انکوباسیون نشد. نتایج Gao et al. (2021) نیز نشان داد که کاربرد بیوجار تغییری در فراوانی و تنوع باکتری ها در خاک نداشت، اما فراوانی قارچ های خاک را بطور معنی داری افزایش داد.

فعالیت آنزیم اوره‌آز

نتایج تجزیه واریانس داده ها نشان داد که تیمارهای اعمال شده بر خاک بر فعالیت آنزیم اوره‌آز تاثیر معنی داری داشتند (جدول ۳). مقایسه میانگین داده ها نشان داد که حضور میکروپلاستیک به تنهایی در خاک باعث کاهش فعالیت آنزیم اوره‌آز شد ولی این تاثیر معنی دار نبود (شکل ۵). افزودن بیوجار و بیوجار به همراه میکروپلاستیک به خاک موجب افزایش فعالیت آنزیم اوره‌آز نسبت به تیمار شاهد شدند. همچنین مقدار فعالیت آنزیم اوره‌آز در تیمار کاربرد همزمان میکروپلاستیک و بیوجار به میزان ۳۴۷ درصد بیشتر از تیمار میکروپلاستیک به تنهایی بود. بنابراین افزودن بیوجار به خاک دارای میکروپلاستیک می تواند باعث افزایش فعالیت آنزیم اوره‌آز خاک شود (شکل ۵).

آنزیم های خاک نقش اساسی در چرخه عناصر غذایی خاک دارند. فعالیت آنزیم اوره‌آز نقش عمده ای در چرخه نیتروژن خاک دارد و به عنوان شاخص سلامت خاک استفاده می شود (Feng et al., 2019). میکروپلاستیک ها می توانند ویژگی های فیزیکی (تخلخل، چگالی ظاهری، ظرفیت نگهداری آب) و شیمیایی (هدایت الکتریکی، پی اچ، محتوای عناصر غذایی) خاک را تغییر دهند و در نتیجه بر تنوع، فعالیت میکروبی و آنزیمی خاک اثر بگذارند (Du and Wang., 2021). گزارش شده است که میکروپلاستیک ها، فعالیت آنزیم های خاک را افزایش یا کاهش داده یا بر فعالیت آن ها بدون اثر بوده اند و این مساله به نوع، مقدار، اندازه، شکل میکروپلاستیک ها و مدت زمان تماس آن ها با خاک و همچنین شرایط محیطی خاک و نوع آنزیم بستگی داشته است (Yu et al., 2021). مشاهده شده است که پلی آمید (۲ درصد)، فعالیت آنزیم اوره‌آز، کاتالاز و بتاگلوکوزیداز را در زمان ۲۰ روز انکوباسیون کاهش داد ولی در زمان ۷۰ روز تاثیری بر فعالیت این آنزیم ها نداشت (Chen et al., 2020). Sobarzo-Palma et al. (2024) نیز مشاهده کردند که پلی اتیلن سبک، پلی پروپیلن و پلی آمید (۲ درصد) بر فعالیت اوره‌آز تاثیر معنی داری نداشت. با وجود این، پلی اتیلن (۲ درصد) باعث افزایش فعالیت آنزیم اوره‌آز و کاتالاز شد ولی بر فعالیت آنزیم اینورتاز تاثیر معنی داری نداشت (Huang et al., 2019). Yi et al. (2021) مشاهده کردند که پلی پروپیلن فیری^۱ و پلی اتیلن غشایی^۲ ابتدا باعث افزایش فعالیت آنزیم اوره‌آز شدند ولی با گذشت زمان تاثیر کاهشی داشتند. پلی پروپیلن میکروسفری^۳، فعالیت آنزیم اوره‌آز را کاهش داد و با گذشت زمان این تاثیر بیشتر شد. Khaid et al. (2023) گزارش کردند که میکروپلاستیک پلی وینیل کلراید باعث کاهش فعالیت آنزیم اوره‌آز شد و هنگامی که بیوجار ساقه کتان به خاک دارای میکروپلاستیک افزوده شد، تاثیر منفی میکروپلاستیک را کاهش داد و باعث پایداری عملکرد جامعه میکروبی خاک شد که با نتایج پژوهش حاضر همخوانی دارد. در واقع، حضور بیوجار در خاک دارای میکروپلاستیک نتوانسته است شرایط مناسب تری را در زیستگاه میکروب های تولید کننده آنزیم اوره‌آز فراهم کند (Palansooriya et al.,).

Palansooriya et al. (2022) (2019) همچنین مشاهده کردند که افزودن بیوجار (چوب نرم و کاه کلزا تهیه شده در دو دمای متفاوت ۵۵۰ و ۷۰۰ درجه سانتی‌گراد) به خاک آلوده به پلی‌اتیلن سبک در شرایط خشکی باعث کاهش فعالیت آنزیم اوره‌آز شد ولی در شرایط رطوبت مناسب، بیوجار چوب نرم ساخته شده در دمای ۷۰۰ درجه سانتی‌گراد، فعالیت آنزیم اوره‌آز را افزایش داد ولی سایر بیوجارها تاثیری بر فعالیت آنزیم اوره‌آز نداشتند. بنابراین، این نتایج نشان می‌دهد که نوع، ویژگی‌های اولیه بیوجار و دمای پیرولیز آن و همچنین شرایط رطوبتی خاک بر فعالیت آنزیم اوره‌آز در خاک آلوده به میکروپلاستیک تاثیرگذار بوده است.



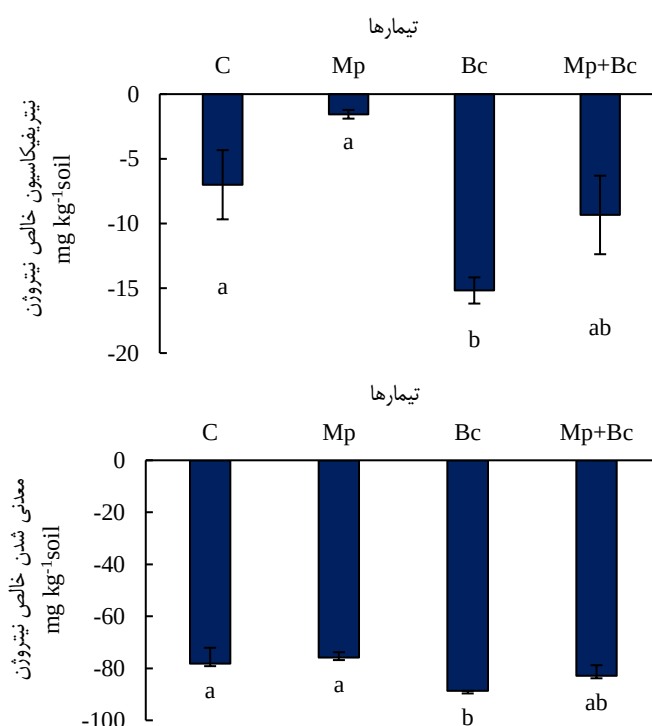
شکل ۵- تاثیر میکروپلاستیک، بیوجار و کاربرد همزمان آن‌ها بر فعالیت آنزیم اوره‌آز (C، شاهد؛ Mp، میکروپلاستیک؛ Bc، بیوجار و Mp+Bc، میکروپلاستیک+بیوجار). حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنادار بین تیمارها است. هر یک از داده‌ها نشان‌دهنده میانگین سه تکرار همراه با خطای استاندارد است.

معدنی شدن و نیتریفیکاسیون خالص نیتروژن

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تیمارهای خاک توانستند تاثیر معنی‌داری بر معدنی شدن و نیتریفیکاسیون خالص نیتروژن خاک بگذارند (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که در پایان انکوباسیون، آلی شدن نیتروژن (به دلیل منفی شدن اعداد معدنی شدن خالص نیتروژن) اتفاق افتاده است. کاربرد بیوجار به تنهایی در خاک باعث کاهش معنی‌دار معدنی شدن نیتروژن و نیتریفیکاسیون و یا به عبارتی افزایش آلی شدن بیشتر نیتروژن شد. کاربرد میکروپلاستیک و میکروپلاستیک به همراه بیوجار اگرچه تاثیر معنی‌داری بر معدنی شدن و نیتریفیکاسیون خالص نیتروژن در مقایسه با خاک شاهد نداشت ولی حضور میکروپلاستیک به همراه بیوجار باعث شد که در مقایسه با تیمار بیوجار تا حدودی معدنی شدن نیتروژن و نیتریفیکاسیون افزایش یابد یا به عبارت دیگر از شدت آلی شدن نیتروژن کاسته شود ولی نسبت به تیمار میکروپلاستیک به تنهایی، به آلی شدن نیتروژن افزوده شد (شکل ۶).

Liu et al. (2022) گزارش کردند که با افزودن پلی‌اتیلن (۱ و ۵ درصد) به خاک در زمان ۳۰ روزه انکوباسیون هیچ تغییری در سرعت معدنی شدن خالص نیتروژن ایجاد نشد. Blöcker et al. (2020) همچنین گزارش کردند که با کاربرد پلی‌پروپیلن و پلی‌اتیلن سبک (۱ درصد)، تغییری در معدنی شدن نیتروژن و نیتریفیکاسیون خاک ایجاد نشد. از طرفی Zhou et al. (2024) بیان کردند که پلی‌اتیلن (۲ درصد) موجب افزایش به ترتیب ۱۴۸/۹ و ۳۸/۸۳ درصدی سرعت آمونیفیکاسیون و نیتریفیکاسیون ناخالص نیتروژن نسبت به شاهد شد. Wang et al. (2024)، نیز بیان کردند که میکروپلاستیک‌ها با تاثیر بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک مانند پی‌اچ، ظرفیت نگهداشت آب، تخلخل، خاکدانه‌سازی، مقدار کربن آلی محلول بر تغییر شکل نیتروژن در خاک موثر هستند. چگونگی تاثیر میکروپلاستیک‌ها بر تغییر شکل نیتروژن در خاک به شکل، سایز، غلظت میکروپلاستیک و نوع خاک و همچنین شرایط محیطی آن وابسته است.

معدنی شدن خالص نیتروژن و نیتریفیکاسیون در خاک می‌تواند تحت تاثیر وجود مواد آلی با نسبت کربن به نیتروژن بالا مثل بیوجار محدود شود (Xu et al., 2021; Šlapáková et al., 2018). بنابراین این مساله می‌تواند کاهش نیتروژن معدنی خاک بدون و دارای میکروپلاستیک را در اثر کاربرد بیوجار توجیه کند. هنگامی که میکروپلاستیک به همراه بیوجار در خاک استفاده شده است، مقداری هر چند غیر معنی‌دار از آلی شدن نیتروژن توسط بیوجار کاسته شده است که این مساله ممکن است به دلیل افزایش اندکی در مقدار آمونیوم و نترات خاک توسط میکروپلاستیک باشد. در این راستا Zhou et al. (2023)، گزارش کردند که پلی‌اتیلن می‌تواند منجر به افزایش نترات و آمونیوم در خاک شود.



شکل ۶- تاثیر میکروپلاستیک، بیوجار و کاربرد همزمان آن‌ها بر معدنی شدن و نیتریفیکاسیون خالص نیتروژن خاک (C، شاهد؛ Mp، میکروپلاستیک؛ Bc، بیوجار و Mp+Bc، میکروپلاستیک+ بیوجار). حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنادار بین تیمارها است. هر یک از داده‌ها نشان دهنده میانگین سه تکرار همراه با خطای استاندارد است.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که میکروپلاستیک باعث کاهش معدنی‌دار تنفس میکروبی خاک شد ولی بر سایر ویژگی‌های اندازه‌گیری شده این پژوهش، تاثیر معدنی‌داری نداشت. کاربرد بیوجار در خاک باعث کاهش تنفس میکروبی خاک بدون و دارای میکروپلاستیک شد. چنین روندی در مورد معدنی شدن و نیتریفیکاسیون خالص نیتروژن هم مشاهده شد. با وجود این، بیوجار باعث افزایش کربن آلی، نیتروژن کل، کربن زیست‌توده میکروبی، نسبت کربن به نیتروژن زیست‌توده میکروبی و همچنین فعالیت آنزیم اوره‌آز در هر دو خاک بدون و دارای میکروپلاستیک شد. نتایج همچنین، گویای آن است که در میان ویژگی‌های میکروبی اندازه‌گیری شده، تنفس میکروبی به عنوان شاخص حساس خاک به آلودگی میکروپلاستیک معرفی می‌شود. با وجود این، از آن جایی که شواهدی از تغییرات ویژگی‌های زیستی اندازه‌گیری شده خاک (هرچند به طور غیرمعدنی‌دار) در اثر وجود میکروپلاستیک، در نتایج پژوهش حاضر دیده شده است، پیشنهاد می‌شود که به منظور بررسی عمیق‌تر، تاثیر اندازه و مقادیر مختلف میکروپلاستیک در زمان‌های متوالی و در خاک‌های مختلف، مورد بررسی قرار گیرد. همچنین، نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که تاثیر کاربرد بیوجار کود گاوی بر ویژگی‌های زیستی خاک متفاوت و بسته به نوع ویژگی خاک می‌تواند تاثیر مثبت و یا منفی داشته باشد ولی در مجموع سبب شده که مقدار کربن آلی و نیتروژن کل خاک بهبود یابد. با وجود این، نیاز است مطالعات بیشتری در این زمینه در خاک‌های متنوع و حتی در مقیاس‌های بزرگتر در حد مزرعه انجام شود. همچنین از آن جایی که تاثیرگذاری مواد به‌ساز در خاک به زمان وابسته است لذا توصیه می‌گردد که چگونگی تاثیر بیوجار بر کیفیت خاک در زمان‌های طولانی‌تری بررسی شود.

"هیچ گونه تعارض منابع بین نویسندگان وجود ندارد"

REFERENCES

- Anderson, T. H., & K. H. Domsch. (1990). Application of eco-physiological quotients (qCO₂ and Dq) on microbial biomasses from soils of different cropping histories. *Soil Biology and Biochemistry*, 22: 251-255.
- Auta, H. S., Emenike, C. U., Jayanthi, B., & Fauziah, S. H. (2018). Growth kinetics and biodeterioration of

- polypropylene microplastics by *Bacillus* sp. and *Rhodococcus* sp. isolated from mangrove sediment. *Marine Pollution Bulletin*, 127, 15-21.
- Banu, M. R., Rani, B., Kavaya, S. R., & Nihala Jabin, P. P. (2023). Biochar: A black carbon for sustainable agriculture. *International Journal of Environment and Climate Change*, 13(6), 418-432.
- Blöcker, L., Watson, C., Wichern, F. (2020). Living in the plastic age- different short-term microbial response to microplastics addition to arable soils with contrasting soil organic matter content and farm management legacy. *Environmental Pollution*, 267, 115468.
- Boots, B., Russell, C. W., Green, D. S. (2019). Effects of microplastics in soil ecosystems: above and below ground. *Environmental Science and Technology*, 53(19), 11496-11506.
- Bonifazi, G., Capobianco, G., & Serranti, S. (2018). A hierarchical classification approach for recognition of low-density (LDPE) and high-density polyethylene (HDPE) in mixed plastic waste based on short-wave infrared (SWIR) hyperspectral imaging. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 198, 115-122.
- Bremner, J. M. (1960). Determination of nitrogen in soil by the Kjeldahl method. *The Journal of Agricultural Science*, 55(1), 11-33.
- Brookes P. C., Landman, A., Pudén, G., Jenkinson, D. S. (1985). Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: a rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 17: 837-842.
- Canatoy, R. C., Cho, S. R., Galgo, S. J. C., Park, S. Y., & Kim, P. J. (2024). Biochar manure decreases ammonia volatilization loss and sustains crop productivity in rice paddy. *Frontiers in Environmental Science*, 12, 1421320.
- Chen, H., Wang, Y., Sun, X., Peng, Y., & Xiao, L. (2020). Mixing effect of polylactic acid microplastic and straw residue on soil property and ecological function. *Chemosphere*, 243, 125271.
- Clough, T. J., Condon, L. M., Kammann, C., & Müller, C. (2013). A review of biochar and soil nitrogen dynamics. *Agronomy*, 3(2), 275-293.
- Dewi, R. K., Gong, Y., Huang, Q., Li, P., Hashimi, R., & Komatsuzaki, M. (2024). Addition of biochar decreased soil respiration in a permanent no-till cover crop system for organic soybean production. *Soil and Tillage Research*, 237, 105977.
- Dhir, B. (2021). Biochar amendment improves crop production in problematic soils. *Handbook of Assisted and Amendment: Enhanced Sustainable Remediation Technology*, 189-204.
- Du, H., & Wang, J. (2021). Characterization and environmental impacts of microplastics. *Gondwana Research*, 98, 63-75.
- Duis, K., Coors, A. (2016). Microplastics in the aquatic and terrestrial environment: sources (with a specific focus on personal care products), fate and effects. *Environmental Sciences Europe*, 28(1), 1-25.
- Elbasiouny, H., Mostafa, A. A., Zedan, A., Elbltagy, H. M., Dawoud, S. F., Elbanna, B. A., Safaa A. El-Shazly et al Elbehiry, F. (2023). Potential Effect of Biochar on Soil Properties, Microbial Activity and Vicia faba Properties Affected by Microplastics Contamination. *Agronomy*, 13(1), 149.
- Feng, C., Ma, Y., Jin, X., Wang, Z., Ma, Y., Fu, S., & Chen, H. Y. (2019). Soil enzyme activities increase following restoration of degraded subtropical forests. *Geoderma*, 351, 180-187.
- Fuller, S., Gautam, A. (2016). A procedure for measuring microplastics using pressurized fluid extraction. *Environmental Science and Technology*, 50, 5774-5780.
- Gao, W., Gao, K., Guo, Z., Liu, Y., Jiang, L., Liu, C., & Wang, G. (2021). Different responses of soil bacterial and fungal communities to 3 years of biochar amendment in an alkaline soybean soil. *Frontiers in Microbiology*, 12, 630418.
- Ge, X., Cao, Y., Zhou, B., Xiao, W., Tian, X., & Li, M. H. (2020). Combined application of biochar and N increased temperature sensitivity of soil respiration but still decreased the soil CO₂ emissions in moso bamboo plantations. *Science of the Total Environment*, 730, 139003.
- Gulmine, J. V., Janissek, P. R., Heise, H. M., & Akcelrud, L. (2002). Polyethylene characterization by FTIR. *Polymer testing*, 21(5), 557-563.
- Guo, J. J., Huang, X. P., Xiang, L., Wang, Y. Z., Li, Y. W., Li, H., Cai, Q., Mo, C., Wong, M. H. (2020). Source, migration and toxicology of microplastics in soil. *Environment International*, 137, 105263.
- Hahladakis, J. N., Velis, C. A., Weber, R., Iacovidou, E., & Purnell, P. (2018). An overview of chemical additives present in plastics: Migration, release, fate and environmental impact during their use, disposal and recycling. *Journal of Hazardous Materials*, 344, 179-199.
- Hasan, M. M., & Tarannum, M. N. (2025). Adverse impacts of microplastics on soil physicochemical properties and crop health in agricultural systems. *Journal of Hazardous Materials Advances*, 100528.

- He, Y., DeSutter, T., Prunty, L., Hopkins, D., Jia, X., & Wysocki, D. A. (2012). Evaluation of 1:5 soil to water extract electrical conductivity methods. *Geoderma*, 185, 12-17.
- Huang, Y., Zhao, Y., Wang, J., Zhang, M., Jia, W., Qin, X., (2019). LDPE microplastic films alter microbial community composition and enzymatic activities in soil. *Environmental Pollution*, 254, 112983.
- Jenkinson, D. S., & J. N. Ladd. (1981). Microbial biomass in soil: Measurement and turnover. In: *Soil Biochemistry*, (Eds.): E.A. Paul and J.N. Ladd. Vol. 5. Marcel Dekker, New York. 415-471.
- Joergensen, R.G., & Wichern, F., (2018). Alive and kicking: why dormant soil microorganisms matter. *Soil Biology and Biochemistry*, 116, 419-430.
- Kabir, E., Kim, K. H., & Kwon, E. E. (2023). Biochar as a tool for the improvement of soil and environment. *Frontiers in Environmental Science*, 11, 1324533.
- Kang, Q., Zhang, K., Dekker, S. C., & Mao, J. (2025). Microplastics in soils: A comprehensive review. *Science of The Total Environment*, 960, 178298.
- Keeney, D.R., & Nelson. D.W. (1982). Nitrogen-inorganic forms. In: A.L. Page (Ed.), *Methods of Soil Analysis*, Part 2. *American Society of Agronomy*, Madison WI, USA. 643-698.
- Khalid, A. R., Shah, T., Asad, M., Ali, A., Samee, E., Adnan, F., & Haider, G. (2023). Biochar alleviated the toxic effects of PVC microplastic in a soil-plant system by upregulating soil enzyme activities and microbial abundance. *Environmental Pollution*, 332, 121810.
- Khan, T. F., & Sikder, A. H. F. (2024). Microplastic Can Decrease Enzyme Activities and Microbes in Soil. *Open Journal of Soil Science*, 14(01), 1-12.
- Kim, S. W., Liang, Y., Zhao, T., & Rillig, M. C. (2021). Indirect effects of microplastic-contaminated soils on adjacent soil layers: Vertical changes in soil physical structure and water flow. *Frontiers in Environmental Science*, 9, 681934.
- Lehmann, J., & Joseph, S. (2009). Biochar for environmental management- an introduction. In J. Lehmann & S. Joseph (Eds.), *Biochar for environmental management: Science and Technology*, 1-11. London. Earth scan.
- Lehmann, J., & Joseph, S. (2015). Biochar for environmental management: an introduction. In *Biochar for Environmental Management*, (1-13). Routledge.
- Liu, H., Yang, X., Liu, G., Liang, C., Xue, S., Chen, H., Ritsema, C. J., Geissen, V. (2017). Response of soil dissolved organic matter to microplastic addition in Chinese loess soil. *Chemosphere*, 185, 907-917.
- Liu, W., Cao, Z., Ren, H., & Xi, D. (2022). Effects of microplastics addition on soil available nitrogen in farm and soil. *Agronomy*, 13(1), 75.
- Liu, X., Li, Y., Yu, Y., & Yao, H. (2023). Effect of nonbiodegradable microplastics on soil respiration & enzyme activity: a meta-analysis. *Applied Soil Ecology*, 184, 104770.
- Loeppert, R. H., Suarez, D. L., (1996). Carbonates and gypsum. In: Sparks, D.L. (Ed.), *Methods of Soil Analysis*. Part 3, Chemical Methods. SSSA, Madison, Wisconsin, USA. 437-474.
- Lozano, Y. M., Lehnert, T., Linck, L. T., Lehmann, A., & Rillig, M. C. (2021). Microplastic Shape, Polymer Type, and Concentration Affect Soil Properties and Plant Biomass. *Frontiers of Plant Science*, 12, 616645.
- Mukherjee, A., & Lal, R. (2013). Biochar impacts on soil physical properties and greenhouse gas emissions. *Agronomy*, 3(2), 313-339.
- Obia, A., Mulder, J., Martinsen, V., Cornelissen, G., & Børresen, T. (2016). In situ effects of biochar on aggregation, water retention and porosity in light-textured tropical soils. *Soil and Tillage Research*, 155, 35-44.
- Page, A. L., R. H. Miller & D. R. Keeney (1982). Methods of soil analyses. *American Soil Science Agronomy Monograph*, 1159.
- Palansooriya, K. N., Sang, M. K., Igalavithana, A. D., Zhang, M., Hou, D., Oleszczuk, P., Sung, J., Ok, Y. S. (2022). Biochar alters chemical and microbial properties of microplastic-contaminated soil. *Environmental Research*, 209, 112807.
- Palansooriya, K. N., Wong, J. T. F., Hashimoto, Y., Huang, L., Rinklebe, J., Chang, S.X., Bolan, N., Wang, H., Ok, Y. S., (2019). Response of microbial communities to biochar-amended soils: a critical review. *Biochar*, 1, 3-22.
- Qi, R., Jones, D. L., Li, Z., Liu, Q., Yan, C. (2020). Behavior of microplastics and plastic film residues in the soil environment: A critical review. *Science of the Total Environment*, 703, 134722.
- Rillig, M. C., Kim, S. W., Kim, T. Y., Waldman, W. R. (2021). The global plastic toxicity debt. *Environmental Science and Technology*, 55, 2717-2719.
- Robinson, G. W. (1922). A new method for the mechanical analysis of soils and other dispersions. *The Journal*



- of *Agricultural Science*, 12, 306-321.
- Rong, L., Zhao, L., Zhao, L., Cheng, Z., Yao, Y., Yuan, C., Wang, L., Sun, H. (2021). LDPE microplastics affect soil microbial communities and nitrogen cycling. *Science of the Total Environment*, 773, 145640.
- Saleem, I., Riaz, M., Mahmood, R., Rasul, F., Arif, M., Batool, A., Akmal, M, H., Azeem, F., & Sajjad, S. (2022). Biochar and microbes for sustainable soil quality management. *Microbiome under changing climate*, Woodhead Publishing. 289-311.
- Seki, M., Sugihara, S., Miyazaki, H., Jegadeesan, M., Kannan, P., & Tanaka, H. (2020, May). Biochar combined with manure application can decrease organic matter decomposition compared to manure alone in the dry tropical cropland of south India. In *EGU General Assembly Conference Abstracts*. 17848.
- Shi, J., Wang, J., Lv, J., Wang, Z., Peng, Y., & Wang, X. (2022). Microplastic presence significantly alters soil nitrogen transformation and decreases nitrogen bioavailability under contrasting temperatures. *Journal of Environmental Management*, 317, 115473.
- Shyam, S., Ahmed, S., Joshi, S. J., & Sarma, H. (2025). Biochar as a Soil amendment: implications for soil health, carbon sequestration, and climate resilience. *Discover Soil*, 2(1), 18.
- Šlapáková, B., Jeřábková, J., Voříšek, K., Tejnecký, V., & Drábek, O. (2018). The biochar effect on soil respiration and nitrification. *Plant Soil Environment*, 64, 114-119.
- Smith, B. (2021). The infrared spectra of polymers II: polyethylene. *Spectroscopy*, 24-29.
- Sobarzo-Palma, C., López-Belchí, M. D., Noriega, F. A., Zornoza, R., Tortella, G., & Schoebitz, M. (2024). Microplastics Can Alter Plant Parameters Without Affecting the Soil Enzymatic Activity in White Lupine. *Sustainability*, 17(1), 149.
- Su, J., Zhu, Y., Chen, X., Lu, X., Yan, J., Yan, L., & Zou, W. (2024). Biochar influences polyethylene microplastic-contaminated soil properties and enzyme activities. *Agronomy*, 14(12), 2919.
- Tabatabai, M. A. & Bremner, J. M. (1972). Assay of urease activity in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 4: 479-486.
- Thies, J. E., & Rillig, M. C. (2012). Characteristics of biochar: biological properties. In *Biochar for Environmental Management*, (117-138). Routledge.
- Walkley, A., & Black, I. A. (1934). "An examination of the method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method". *Soil Science*, Vol. 37, No. 1, pp 29-38.
- Wang J., Zhang M., Chen G., Zhu T., Zhang S., Teng Y., Christie P., Luo Y. (2016). Effects of plastic film residues on occurrence of phthalates and microbial activity in soils. *Chemosphere*, 151:171-177.
- Wang, F., Wang, Q., Adams, C. A., Sun, Y., Zhang, S. (2022). Effects of microplastics on soil properties: current knowledge and future perspectives. *Journal of Hazardous Materials*, 424, 127531.
- Wang, S., Wang, W., Rong, S., Liu, G., Li, Y., Wang, X., & Liu, W. (2024). Key Factors and Mechanisms of Microplastics Affecting Soil Nitrogen Transformation: A Review. *Soil and Environmental Health*, 100101.
- Horn, O., Nalli, S., Cooper, D., & Nicell, J. (2004). Plasticizer metabolites in the environment. *Water Research*, 38(17), 3693-3698.
- Warnock, D. D., Lehmann, J., Kuyper, T. W., Rillig, M.C. (2007). Mycorrhizal responses to biochar in soil- concepts and mechanisms. *Plant and Soil*, 300, 9-20.
- Wei, X., Wang, X., Ma, T., Huang, L., Pu, Q., Hao, M., & Zhang, X. (2017). Distribution and mineralization of organic carbon and nitrogen in forest soils of the southern Tibetan Plateau. *Catena*, 156, 298-304.
- Xiang, Y., Rillig, M. C., Peñuelas, J., Sardans, J., Liu, Y., Yao, B., & Li, Y. (2024). Global responses of soil carbon dynamics to microplastic exposure: A data synthesis of laboratory studies. *Environmental Science and Technology*, 58(13), 5821-5831.
- Xu, B., Liu, F., Cryder, Z., Huang, D., Lu, Z., He, Y., Wang, H., Lu, Z., Brookes, P.C., Tang, C., Gan, J., Xu, J. (2020). Microplastics in the soil environment: occurrence, risks, interactions and fate – a review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 50, 2175-2222.
- Xu, H., Cai, A., Wu, D., Liang, G., Xiao, J., Xu, M., & Zhang, W. (2021). Effects of biochar application on crop productivity, soil carbon sequestration, and global warming potential controlled by biochar C: N ratio and soil pH: A global meta-analysis. *Soil and Tillage Research*, 213, 105125.
- Yang, H., Yumeng, Y., Yu, Y., Yinglin, H., Fu, B., & Wang, J. (2022). Distribution, sources, migration, influence and analytical methods of microplastics in soil ecosystems. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 243, 114009.
- Yi, M., Zhou, S., Zhang, L., & Ding, S. (2021). The effects of three different microplastics on enzyme activities and microbial communities in soil. *Water Environment Research*, 93(1), 24-32.
- Yu, H., Qi, W., Cao, X., Hu, J., Li, Y., Peng, J., Hu, C., Qu, J., 2021. Microplastic residues in wetland

- ecosystems: do they truly threaten the plant-microbe-soil system? *Environment International*, 156, 106708.
- Zhang, G. S., Zhang, F. X. (2020). Variations in aggregate-associated organic carbon and polyester microfibers resulting from polyester microfibers addition in a clayey soil. *Environmental Pollution*, 258, 113716.
- Zhang, Y., Li, X., Xiao, M., Feng, Z., Yu, Y., & Yao, H. (2022). Effects of microplastics on soil carbon dioxide emissions and the microbial functional genes involved in organic carbon decomposition in agricultural soil. *Science of the Total Environment*, 806, 150714.
- Zhang, Y., Yan, C., Wang, T., Zhang, G., Bahn, M., Mo, F., & Han, J. (2025). Biochar strategy for long-term N₂O emission reduction: Insights into soil physical structure and microbial interaction. *Soil Biology and Biochemistry*, 202, 109685.
- Zhao, T., Lozano, Y. M., & Rillig, M. C. (2021). Microplastics increase soil pH and decrease microbial activities as a function of microplastic shape, polymer type, and exposure time. *Frontiers in Environmental Science*, 9, 675803.
- Zhao, S., Rillig, M. C., Bing, H., Cui, Q., Qiu, T., Cui, Y., & Fang, L. (2024). Microplastic pollution promotes soil respiration: A global-scale meta-analysis. *Global Change Biology*, 30(7), 17415.
- Zhou, Z., Hua, J., & Xue, J. (2023). Polyethylene microplastic and soil nitrogen dynamics: Unraveling the links between functional genes, microbial communities, and transformation processes. *Journal of Hazardous Materials*, 458, 131857.
- Zhou, Z., Hua, J., Xue, J., & Yu, C. (2024). Differential impacts of polyethylene microplastic and additives on soil nitrogen cycling: A deeper dive into microbial interactions and transformation mechanisms. *Science of the Total Environment*, 173771.
- Zhu, F., Yan, Y., Doyle, E., Zhu, C., Jin, X., Chen, Z., Wang, C., He, H., Zhou, D., Gu, C. (2022). Microplastics altered soil microbiome and nitrogen cycling: the role of phthalate plasticizer. *Journal of Hazardous Materials*, 427, 127944.