

## ТРАНСФОРМАЦИЯ БИОЧАРА ИЗ РАСТИТЕЛЬНОЙ БИОМАССЫ В СЕРОЙ ЛЕСНОЙ ПОЧВЕ: ОЦЕНКА МЕТОДОМ ИЗОТОПНОЙ МЕТКИ

© 2024 г. П. Ю. Галицкая<sup>a</sup> (<http://orcid.org/0000-0002-5070-786X>),  
С. Ю. Селивановская<sup>a</sup> (<https://orcid.org/0000-0001-6379-7166>),  
К. О. Карамова<sup>a</sup> (<https://orcid.org/0000-0003-0846-251X>),  
А. С. Гордеев<sup>a,\*</sup> (<https://orcid.org/0000-0002-1918-305X>),  
П. А. Курынцева<sup>a</sup> (<https://orcid.org/0000-0002-9274-7077>),  
П. Горбаннежад<sup>b</sup> (<https://orcid.org/0000-0002-6146-8964>)

<sup>a</sup>Казанский федеральный университет, ул. Кремлевская, 18, Казань, 420008 Россия

<sup>b</sup>Университет имени Шахида Бехешти, Бульвар Данешжу, 1, Тегеран, 198396 Иран

\*e-mail: drgor@mail.ru

Поступила в редакцию 17.11.2023 г.

После доработки 21.05.2024 г.

Принята к публикации 22.05.2024 г.

Пиролиз рассматривается как один из перспективных методов переработки сельскохозяйственных отходов и получения удобрений. Эффективность получаемого биочара в качестве удобрения доказана, однако до настоящего времени остаются открытыми вопросы о преимущественных путях декомпозиции органических веществ в его составе — биотическом или абиотическом. В настоящей работе пути трансформации биочара, изготовленного из кукурузы — растения с  $C_4$ -типом фотосинтеза (с повышенным содержанием  $^{13}C$ ) — оценивали с применением твердофазного метода CP/MAS  $^{13}C$  ЯМР-спектроскопии. Биочар помещали в верхний слой почвенного монолита серой лесной почвы, в течение 90 сут имитировали режим осадков, характерный для средней полосы России. На полученных ЯМР-спектрах образцов почвы с биоуглем, пик в области 129 м.д., характерный для ароматических соединений, увеличивался со временем эксперимента в верхнем слое почвы, но не в других слоях. Это говорит о том, что частицы биочара не мигрируют вниз по почвенному профилю в течение одного сезона. При этом интенсивность кумулятивного микробного дыхания в присутствии биочара увеличивалась — с 85.0 г  $CO_2$ /кг в контрольном образце до 201.4 г  $CO_2$ /кг в образце с биоуглем (верхний слой почвы). Согласно ЯМР спектрам соли, образованной при минерализации выделившегося из почвы углекислого газа, в нем содержится меченый углерод: на спектрах имеется пик в районе 169 м.д., характерный для карбонатов. Кумулятивный объем выделившегося  $CO_2$  из почвы с биочаром был в 1.9 раз больше, чем из контрольной. Добавление микроорганизмов-деструкторов привело к дополнительному увеличению объема  $CO_2$  — в 2.4 раза относительно контроля, что свидетельствует о роли микроорганизмов в деструкции органического вещества почвы и биоугля. Однако, основываясь на стабильности содержания общего углерода в почве, можно заключить, что лишь незначительная доля компонентов биочара подвержена биотическому разложению.

**Ключевые слова:** углерод, инновационные удобрения, меченые изотопы, миграция частиц, респираторная активность

**DOI:** 10.31857/S0032180X24I00035, **EDN:** JYCPYM

### ВВЕДЕНИЕ

Биочар (биоуголь, пироуголь), являющийся продуктом бескислородного термического разложения биомассы (растений, органических сельскохозяйственных, бытовых и промышленных

отходов), в последние годы привлекает огромное внимание как ученых, так и представителей реального сектора экономики [25]. Состав биочара преимущественно представлен углеродом и водородом, а также кислородом, азотом и серой, доля которых зависит от исходного сырья и условий получения

биоугля [31, 35]. Обладая высокой пористостью и являясь высокостабильным материалом, биоуголь может использоваться как сорбент, например, в очистке сточных вод [6, 41, 50, 54], а также как почвоулучшитель. В последнем случае биочар улучшает водо- и воздухообмен почвы, создает экологические ниши для обитания полезных микроорганизмов, привносит дополнительные источники углеродного и азотного питания растений [51]. Важным фактором при принятии решения об использовании биочара является и то, что его применение в качестве мелиоранта позволяет секвестрировать значительное количество углерода в почве, что имеет значение для предотвращения глобального изменения климата [39, 40].

Несмотря на накопление значительного научного пула результатов, касающихся применения биочара в качестве почвоулучшителя, до настоящего времени остаются недостаточно охарактеризованы процессы, касающиеся путей его трансформации в почвенной среде. Известно, что она протекает крайне медленно по сравнению с другими видами органических удобрений, например, компостом. Такое продолжительное высвобождение соединений углерода и азота позволяет использовать биочар в качестве удобрения не ежегодно, а один раз в несколько лет [8, 32, 45]. Открытыми остаются вопросы: какие процессы в трансформации биочара являются преобладающими — аэробные или анаэробные [27, 52], в какие соединения гумуса, биомассы или газообразные вещества трансформируется биочар [52]. Отметим, что исследование трансформации биочара, как и других углеродосодержащих удобрений и почвоулучшителей, сопряжено с некоторыми трудностями. Неопределенным является период времени, в течение которого происходит частичная или полная трансформация биочара в почве, по отдельным оценкам, этот период может представлять от сотен часов до сотен лет [4, 52]. Традиционно считается, что начальные этапы декомпозиции биочара предполагают расщепление легкодоступных, водорастворимых фракций, переносимых из биочара в почву под воздействием влажности, расщепления структуры мелиоранта почвенной биотой и др. При этом предполагается, что с течением времени происходят изменения в самой структуре биочара под воздействием времени — так называемое “старение биочара” [43]. Но единого мнения у исследователей об особенностях и природе таких изменений не существует, и стабильность биологического угля является характеристикой, зависящей от условий изготовления биочара и сырья, на основе которого он изготавливается. До конца не исследована роль почвенной биоты, ее состав, разнообразие, видовой состав в деградации биочара, находящегося в почве [12, 26].

В связи с вышеуказанными трудностями при исследовании трансформации углеродосодержащих

объектов применяется метод исследования стабильных или радиоактивных изотопов [15]. Как можно видеть из литературы [26, 47], применение стабильных изотопов — эффективный инструмент современных экологических исследований, который позволяет определить основные этапы полного цикла трансформации углерода в системе почва—растение—атмосфера. Применение изотопномеченных образцов биочара, содержащих  $^{13}\text{C}$  и/или  $^{14}\text{C}$  изотопы, позволяет отследить пути декомпозиции удобрения в почве благодаря различному изотопному содержанию в почве и в образцах биочара [52]. При этом для получения изотопномеченных образцов угля используют сырье растительного происхождения с повышенным содержанием изотопов, например  $^{13}\text{C}$  изотопов [47]. Получить такое сырье можно, выращивая растения в  $^{13}\text{C}$  среде, когда большая часть  $\text{CO}_2$  в атмосфере замещено на  $^{13}\text{CO}_2$ . В этом случае все процессы поглощения углерода растениями из воздушной фазы реализуются с изотопномеченным вариантом  $\text{CO}_2$ , благодаря чему получаемое растительное сырье содержит в своем составе до 99% изотопа  $^{13}\text{C}$  [47]. Данный метод сопряжен с большими техническими трудностями, значительными временными и финансовыми затратами, поэтому наряду с растительным сырьем, полученным указанным методом, применяют  $\text{C}_4$ -растения, для которых характерно накопление  $^{13}\text{C}$  в зеленой массе в естественной среде обитания и нормальных условиях. В литературе имеются примеры применения  $\text{C}_4$ -растений, чаще всего кукурузы, для исследования трансформации удобрений и биочара в почве [26, 52]. В данном случае доля углерода, замещенного на его изотоп, не является постоянной и по разным оценкам составляет от 1.1 до 6 вес. % [47], а также зависит от целого ряда условий. Применение  $\text{C}_4$ -растений как сырья для изготовления биочара не гарантирует замещения углерода в составе биочара на необходимом уровне, что требует дополнительных исследований. Тем не менее, описанный подход зарекомендовал себя в качестве успешного и эффективного в подобного рода исследованиях.

Несмотря на то, что ЯМР является эффективным методом, позволяющим изучать структурно-динамические свойства широкого класса объектов и систем, исследования биочара с его помощью носят единичный характер [22, 29, 47]. Например, в работе [7] представлены спектры СР/MAS  $^{13}\text{C}$  ЯМР образцов биочара, изготовленных из разного сырья (куриного помета, хвойных деревьев и тополя) и при разных условиях (пиковая температура пиролиза). Эти спектры состоят из одного широкого сигнала, находящегося в области от 100 до 160 м.д., с центром в 126 м.д. Согласно [24, 34], область между 110 и 160 м.д. обычно относится к ароматическим системам или графитоподобным микрокристаллитам.

Такая схожесть спектров CP/MAS  $^{13}\text{C}$  ЯМР объясняется тем, что согласно литературным данным [3, 9, 13], с повышением температуры пиролиза в диапазоне 250–450°C увеличивается сигнал ароматического углерода, т.е. повышение температуры пиролиза приводит к превращению исходной биомассы в ароматический уголь. Стоит отметить, что несмотря на структурную схожесть образцов, их физико-химические свойства отличаются [7, 21].

При этом форма и параметры ЯМР спектров биочара сильно зависят от типа сырья, его влажности, наличия включений и примесей, вида пиролизной обработки, параметров и режима пиролиза, например пиковой температуры пиролиза и его длительности и др. [17, 29, 47]. Поэтому среди исследователей существуют различные точки зрения на природу формы и параметров ЯМР-спектров. Тем не менее, в большинстве опубликованных работ [17, 22] содержится информация о наличии вклада в области 120–130 м.д. в CP/MAS  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектрах биочара и почвы с биочаром, характерной для ароматических соединений. В работах [37, 38] подчеркивается вклад пиролизованного органического материала в формирование сигнала от алкильных групп и ослабление арильных в изолированном органическом веществе почв при экспериментах по внесению биочара в почву.

Метод меченых изотопов крайне редко применяется для изучения поведения биочара в окружающей среде, прежде всего, в почве, которая характеризуется многообразием одновременно происходящих биотических и абиотических процессов [2, 19].

Цель работы — исследование трансформации в почве биочара на основе растительных остатков. В задачи входили оценка возможности миграции частиц биочара, внесенного в верхний слой почвы, по почвенному профилю, а также анализ степени декомпозиции биочара в почве до  $\text{CO}_2$  и роли микроорганизмов почвы в таком процессе. Эксперимент проводили в интактных почвенных колонках, трансформацию биочара оценивали с использованием метода меченых изотопов.

## ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

**Наработка и проверка биочара с повышенным содержанием изотопа  $^{13}\text{C}$ .** Для создания биочара с повышенным содержанием изотопа  $^{13}\text{C}$  использовали фитомассу растений с  $\text{C}_4$ -циклом фотосинтеза — кукурузу (*Zea mays*). Пиролиз проводили на экспериментальной установке роторного типа при 400°C в течение 2 ч. В качестве контроля использовали биочар, изготовленный из субстрата без повышенного содержания изотопа  $^{13}\text{C}$  — куриного помета. Для очистки пиролизной камеры от следовых количеств продуктов разложения куриного помета перед собственно наработкой партии биочара с повышенным содержанием  $^{13}\text{C}$  проводили

предварительные прожиги трех партий при 400°C. Согласно данным элементного анализа, произведенного согласно ISO 13878:1998 и ISO 10694:1995, используемый в эксперименте биоуголь содержал  $56.97 \pm 0.08\%$  общего углерода при доле изотопа  $^{13}\text{C}$   $7.0 \pm 1.0$  от общей массы биочара и  $1.09 \pm 0.02\%$  общего азота от общей массы биочара. После пиролиза биоуголь представлял собой порошок, который вносили в почву без предварительного фракционирования. Размер частиц в порошке охарактеризовали методом лазерной дифракции на анализаторе частиц Bluewave (Microtrac, США) согласно ISO 13320:2020. В порошке присутствовали частицы от 3 до 700 мкм с преобладанием фракций 1–500 мкм (что составляет 96 об. %). Для проведения съемки твердофазных спектров спектров CP/MAS  $^{13}\text{C}$  ЯМР отбирали 1 г биочара, дополнительной гомогенизации не проводили.

**Эксперимент с интактными почвенными колонками.** Ненарушенные почвенные монолиты отбирали из почвенного разреза, заложенного на опытном участке ТатНИИСХ КазНЦ РАН, расположенном в Лаишевском районе Республики Татарстан, относящемся к лесостепной зоне Российской Федерации [1]. Перед началом эксперимента были охарактеризованы почвы колонок. Тип почвы — пахотная серая лесная (Phaeozem). Коэффициент фильтрации составил 43.2 мм/мин, полная влагоемкость пахотного слоя — 35.2%, наименьшая влагоемкость — 25.7%. Исследуемая почва характеризовалась среднесуглинистым механическим составом с преобладанием иловато-крупнопылевой фракции. Отбор почвенных монолитов осуществляли почвенными колонками из нержавеющей стали, представляющими собой квадратные в сечении призмы, одна из граней которых отсутствовала, а в процессе эксперимента ее закрывали полимерной пленкой. Распределение частиц почвы по размеру охарактеризовано на лазерном дифрактометре Bluewave (Microtrac, США) и представлено диапазоном от 0.5 до 500 мкм с преобладанием частиц 2–100 мкм (что составляет 88 об. %) [44]. Размер почвенных монолитов, извлеченных из разреза, составлял  $10 \times 10 \times 50$  см.

Пять колонок относили к опытным (В), пять других — к контрольным (К). В верхний слой опытных колонок вносили биочар в дозе 8% (от массы почвы в слое 0–5 см). Дополнительно заложили колонки Д, в верхний слой которых, кроме биоугля, добавляли водную вытяжку из компостов с содержанием микроорганизмов. Внесение осуществляли в объемной концентрации 100 мл/кг, при этом в вытяжке содержалось  $1 \times 10^7$  копий 16S рРНК генов.

Далее имитировали выпадение осадков в апреле–июне, т.е. в период снеготаяния и последующие 2 мес. [23, 53]. Для того, чтобы оценить режим и объем полива экспериментальных почвенных колонок использовали следующие статистические метеорологические данные: среднее накопление

твердых осадков за холодный период (с октября по март) для территории Республики Татарстан составляет 165.2 мм, средняя сумма атмосферных осадков — 170.7 мм. Суммарный объем осадков разделили на 30 сут длительности эксперимента. Колонки инкубировали при температуре 20–22°C, относительной влажности 70–75%.

Отбор проб производили на 3, 7, 30, 60 и 90 сут от начала эксперимента. Пробы отбирали при делении монолита послойно: верхние 4 слоя по 5 см (для опытных колонок — BT1a, BT1b, BT2a, BT2b, для контрольных — KT1a, KT1b, KT2a, KT2b, для колонок с микроорганизмами — DT1a, DT1b, DT2a, DT2b), далее — 3 слоя по 10 см (для опытных колонок — BM1, BM2, BL, для контрольных колонок — KM1, KM2, KL, для колонок с микроорганизмами — DM1, DM2, DL) (рис. S1).

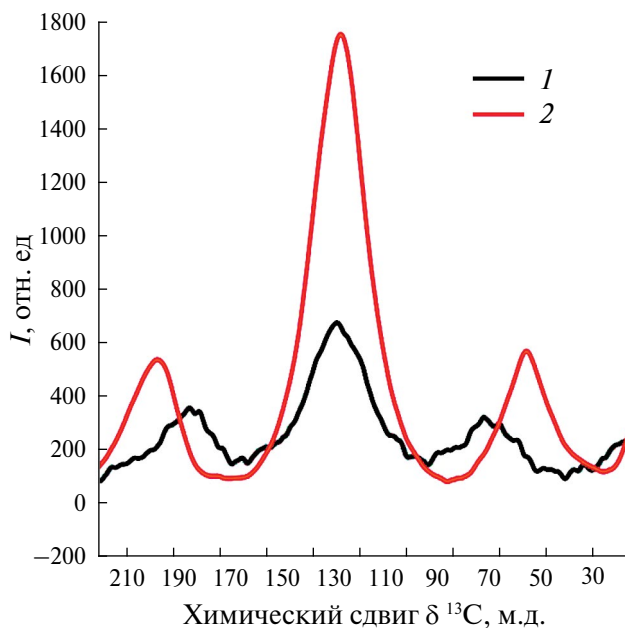
В образцах десятисантиметровых слоев контрольных образцов почвы KT1, KT1, KM1, KM2 и KL и образцов с добавлением биочара BT1, BT1, BM1, BM2 и BL определяли содержание общего азота и общего углерода на автоматическом CN-анализаторе Vario Max Cube (Elementar, Германия) согласно ISO 13878:1998 и ISO 10694:1995, респираторную активность почвенных микроорганизмов — согласно ISO 16072:2002, путем инкубирования почвенных образцов в закрытых сосудах и последующего титриметрического определения выделившегося CO<sub>2</sub> после его улавливания щелочью. Физиологический профиль микробного сообщества почвы оценивали методом мультисубстратного тестирования системой Biolog Ecoplate, из тех образцов почвы, которые были послойно отобраны на 90 сут для определения общих C и N. Из этих образцов готовили суспензии (1 : 1000), которые раскапывали по 140 мкл в 96-луночные планшеты Biolog Ecoplate (Biolog, Int, США). Планшеты инкубировали при 25°C в течение 5 сут (до прекращения роста степени окрашенности ячеек), измерения оптической плотности производили с периодичностью в 24 ч на планшетном ридере Multiskan FC (Thermo Fisher Scientific, США). По средней интенсивности окрашивания среды в ячейках (31 ячейка для каждого образца), просуммированной за 5 сут (AWCD), судили об интенсивности потребления субстрата и общей метаболической активности микроорганизмов. Для оценки микробного функционального разнообразия рассчитывали индекс Шеннона (по 31 субстрату для каждого образца) [43].

Образцы почвы, а также смесь растворов щелочи и карбоната натрия, образовавшуюся после улавливания CO<sub>2</sub>, отбирали и готовили для ЯМР-спектроскопии.

**ЯМР-спектроскопия.** CP/MAS <sup>13</sup>C ЯМР-спектроскопию осуществляли для следующих твердых образцов: биочар, почва слоя 0–5 см, твердый осадок после выпаривания смеси растворов щелочи

с карбонатом натрия. Подготовка биоугля заключалась в отборе репрезентативной пробы массой 1.0 г непосредственно после окончания пиролиза и охлаждения. Подготовка почвенных образцов заключалась в их сушке в течение 12 ч при температуре 105°C. Такая подготовка позволила нивелировать влияние влажности на ЯМР-данные и удовлетворить требованиям, предъявляемым к физическим свойствам образцов для твердотельного ЯМР-эксперимента с вращением в датчике под магическим углом специального ротора. Подготовка твердого осадка заключалась в следующем: отбирали аликвоту раствора, содержащего остатки щелочи NaOH и карбонат натрия, в объеме 5 мл. Раствор выпаривали при температуре 105°C в течение 12 ч и анализировали кристаллические образцы.

CP/MAS <sup>13</sup>C ЯМР-спектроскопию проводили на спектрометре Bruker Avance III, с величиной магнитного поля 9.4 Тл, оснащенным 4-миллиметровым MAS-зондом. Поддерживали постоянную температуру 25.0 ± 0.1°C. Частота вращения циркониевого ротора под магическим углом составляла 7000 ± 1 Гц, время повторения — 4 с, время контакта — 1 мс, количество сканов — 10 000. Сравнение спектров образцов биочара, полученного из кукурузы, и биочара сравнения, полученного из куриного помета и подготовленного к анализу аналогичным образом, подтвердило, что пиролиз фитомассы кукурузы позволяет получить биоуголь с повышенным содержанием изотопа <sup>13</sup>C (рис. 1).



**Рис. 1.** Спектры CP/MAS <sup>13</sup>C ЯМР образцов биочара, полученного из куриного помета (1), и биочара, полученного из кукурузы (2): при температуре пиролиза 400°C и длительности удерживания 2 ч.

**Статистическая обработка результатов.** Каждое измерение производили в трехкратной повторности. Статистический анализ данных выполняли в пакете Statistica. Для определения статистической значимости использовали однофакторный анализ ANOVA и множественный ранговый критерий Манна–Уитни, различия считались значимыми при  $p < 0.05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

**Влияние биочара на содержание общего азота и общего углерода в почве.** На рис. 2 представлены данные об изменении содержании общего углерода и общего азота в почве. Видно, что в контрольной колонке содержание обоих элементов было высоким и равным в слоях КТ1, КТ2, КМ1 – 2.52–2.68% для С и 0.20–0.22% для N и не изменялось во времени. Далее содержание элементов уменьшалось вниз по профилю, составив в образце КЛ 1.18–1.58% для С и 0.08–0.11% для N.

Внесение биочара в дозе 8% привело к повышению содержания азота и углерода в слое ВТ1 – в 1.8 раз для С и 1.4 для N. Колебания содержания обоих элементов во времени в слое ВТ1 можно объяснить изначальной неравномерностью распределения биоугля в почве и, соответственно, невозможностью получить гомогенные образцы, а также увеличением равномерности распределения во времени. Следует отметить, что изменения содержания общего азота и общего углерода в опытных колонках по сравнению с контрольными зарегистрировано лишь для верхнего слоя ВТ1, в который и был внесен биочар. Несмотря на интенсивный полив и фильтрацию значительных объемов воды вниз по почвенному профилю, содержание общего азота и общего углерода в указанных слоях не зарегистрировано, что свидетельствует об отсутствии процессов миграции основной части биоугля и его компонент в нижележащие горизонты почвы. С практической точки зрения это означает, что биочар следует вносить сразу на всю глубину корнеобитаемого слоя с целью обеспечения питания растений и микроорганизмов ризосферы.

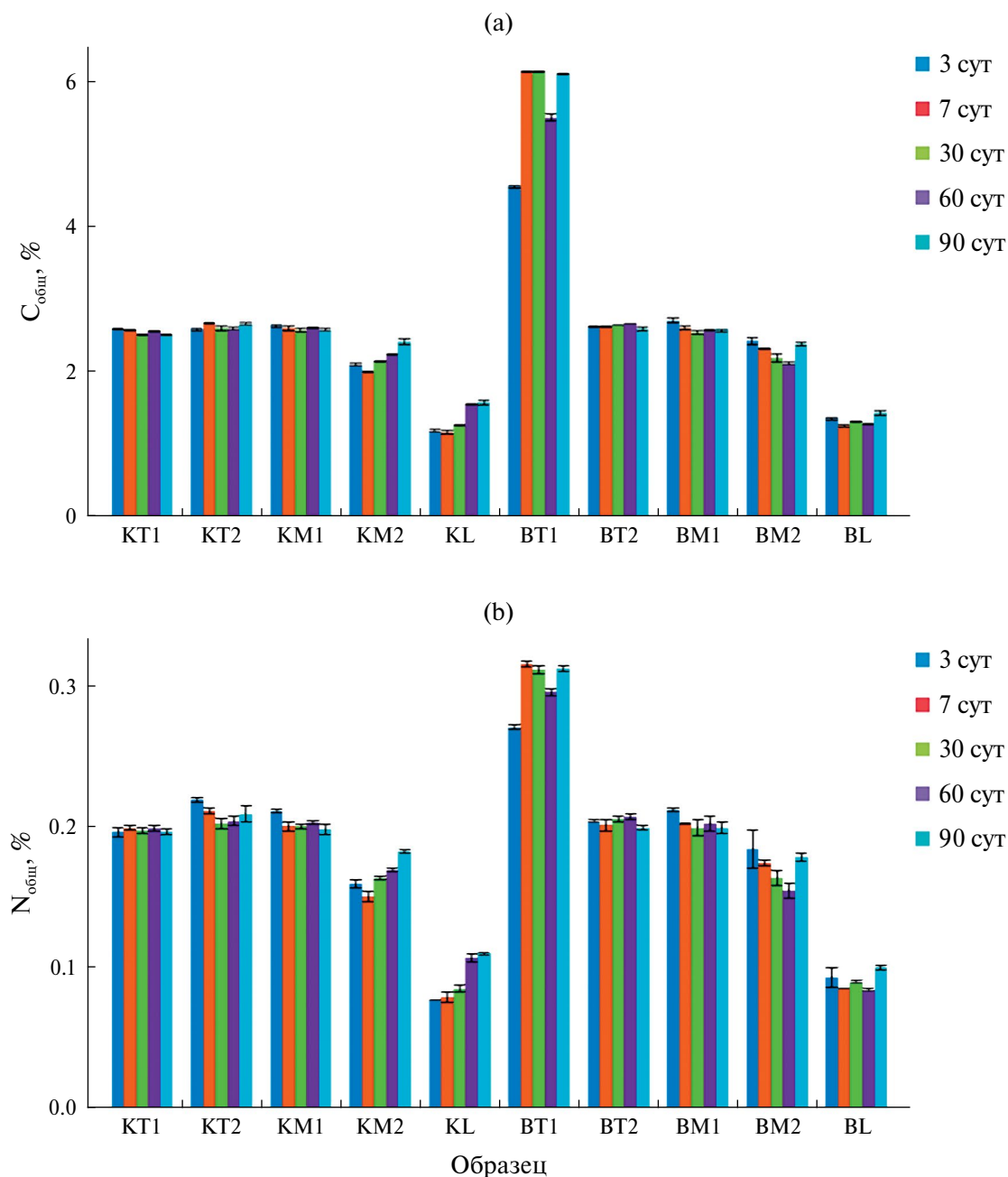
В колонках D, в которые вносили биочар и микроорганизмы, содержание общих углерода и азота достоверно не отличалось от таковых в колонках В (табл. S1, S2). Действительно, внесение микроорганизмов может влиять на такие параметры, как содержание растворимого органического углерода и легкогидролизуемого азота, но не интегральные параметры как содержание общего азота и общего углерода [14, 49].

**Содержание меченого углерода в почвенных колонках.** Рассмотрим изменения, наблюдаемые в ЯМР-спектрах образцов почвы. На рис. 3 представлены спектры для слоя ВТ1а на 3 и 7 сут эксперимента опытных колонок. Для сравнения приведен

спектр для контрольного образца КТ1а (без внесения биочара), отобранный на 3 сут эксперимента: данный спектр не содержит разрешенных пиков, пригодных для идентификации и последующего анализа. Отметим, что спектр контрольных образцов для всех суток отбора и всех почвенных слоев имеет аналогичный вид, что является ожидаемым результатом, так как контрольные образцы не содержат биочар, и, соответственно, не имеют повышенного содержания  $^{13}\text{C}$ . Видно, что интегральная интенсивность пиков для карбоксильных групп и алифатических соединений близка по значению в пределах ошибки эксперимента для образцов, отобранных на 3 и 7 сут, при этом пик, характерный для ароматических соединений, растет со временем эксперимента.

Аналогичную тенденцию можно наблюдать с увеличением времени эксперимента (рис. 3а): в образцах из верхнего почвенного слоя ВТ1а, в который непосредственного вносили биочар, в ЯМР-спектрах присутствуют основные пики, представленные в спектре биоугля с повышенным содержанием  $^{13}\text{C}$ . При этом имеется тенденция к росту уровня сигнала для основных пиков, но достоверное увеличение интегральной интенсивности сигнала регистрируется только для пика с максимумом в области 128 м.д., приписываемого графитоподобным структурам. Поскольку 90% регистрируемого ЯМР-сигнала, в том числе в динамике эксперимента принадлежит ароматическим группам, а с увеличением времени эксперимента не наблюдается уменьшение уровня данного ЯМР-пика, можно предположить, что основная часть биочара не подвергается трансформации при его взаимодействии с почвой в течение 90 сут. Иными словами, наблюдается скорее перераспределение между компонентами биочара различной химической природы, а точнее уменьшается сигнал от карбоксильных и алифатических групп и повышается от ароматических, что можно наблюдать при сравнении формы ЯМР-спектров, характерных для начального состояния биоугля при его смешении с почвой. Предположительно, изменения структуры биочара во времени связаны с процессами его микробной трансформации.

**Микробное дыхание почвы почвенных колонок.** Микроорганизмы являются основными агентами разложения органического вещества в почве. Внесенный в почву биочар, являющийся органическим веществом, может по-разному повлиять на микроорганизмы почвы. С одной стороны, он может стать для них дополнительным источником питания, в таком случае их активность при внесении биоугля увеличится, что может привести не только к быстрому разложению внесенного удобрения, но и к изменению скорости трансформации органического вещества самой почвы [10]. Это будет выражаться на увеличении активности ферментов,

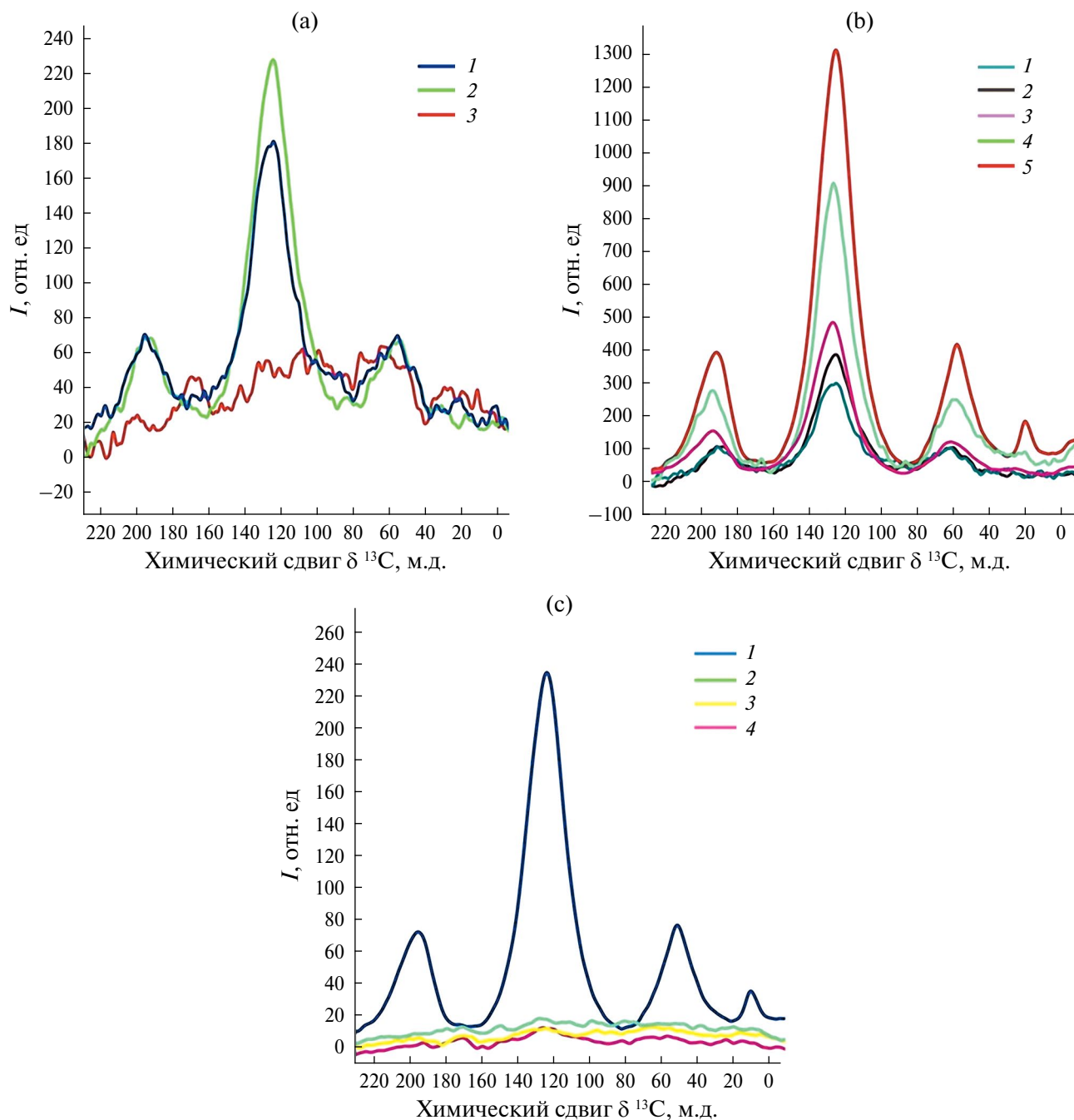


**Рис. 2.** Содержание общего углерода (a) и азота (b) в контрольных и опытных колонках (с изотопномеченным био-чаром).

особенно задействованных в цикле углерода, увеличении почвенного дыхания. В случае, если компоненты биочара будут использованы в катаболических процессах, в составе  $\text{CO}_2$ , выделяемого из почвы, будет присутствовать меченый углерод. Если же биоуголь будет применен для синтеза новых органических соединений, меченый углерод будет регистрироваться в почве при ЯМР-спектроскопии, в составе характерных для данного почвоулучшителя, а также новых пиков. С другой

стороны, биочар может ингибировать активность микроорганизмов из-за наличия в нем токсичных компонент. В таком случае будет отмечено уменьшение активности микроорганизмов, выражающееся в снижении уровня почвенного дыхания, ферментативной активности и т.д.

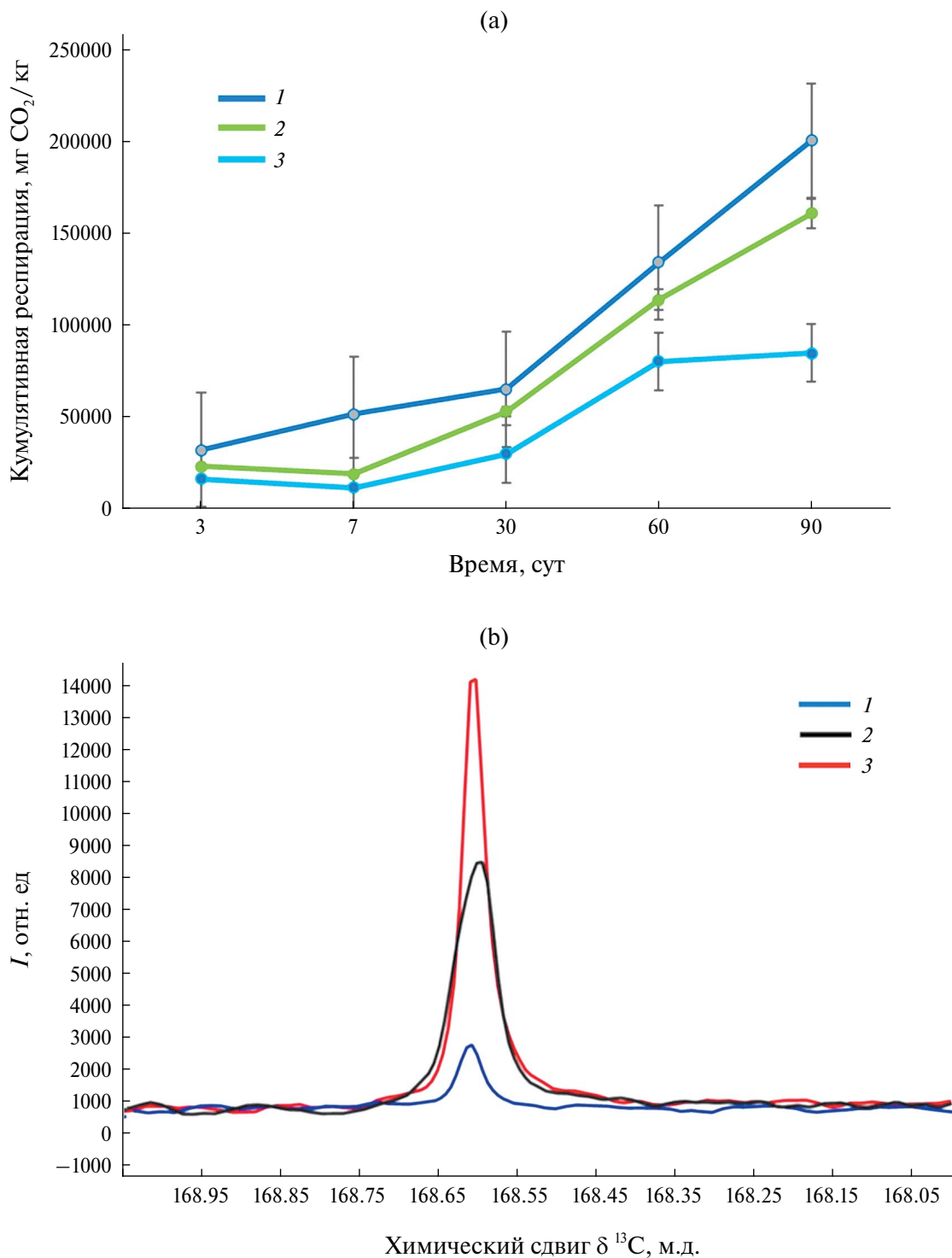
На основании вышеизложенного оценивали выход  $\text{CO}_2$  (респирация) и наличия меченого углерода в слоях BT1a и KT1a опытных и контрольных образцов. Кривые кумулятивной респирации



**Рис. 3.**  $^{13}\text{C}$  СРМАС ЯМР-спектры образца почвы: (а) – слоя ВТ1а на 3 сут (1) и 7 сут (2) из колонок с биочаром и на 3 сут из контрольной колонки КТ1а (3), (б) – слоя ВТ1а отобранных из колонок с биочаром на 3 сут (1), 7 сут (2), 30 сут (3), 60 сут (4), и 90 сут (5), (с) – слоев ВТ1а (1), ВТ1б (2), ВТ2а (3), ВТ2б (4), отобранных из колонок с биочаром на 30 сут эксперимента.

из опытных и контрольных колонок представлены на рис. 4б. Дополнительно, для подтверждения микробной составляющей в разложении органических соединений биоугля, продублировали эксперимент с почвенной колонкой и биочаром, к которому добавили водную вытяжку из компостов, предполагая, что такая вытяжка богата

микроорганизмами-деструкторами (колонки Д, слой ДТ1а) Прием, когда сообщество микроорганизмов-деструкторов добавляют к некоему субстрату, а затем измеряют увеличение эмиссии  $\text{CO}_2$ , чтобы показать долю именно биологической составляющей в минерализации субстрата, достаточно широко используется исследователями [16, 20, 35].



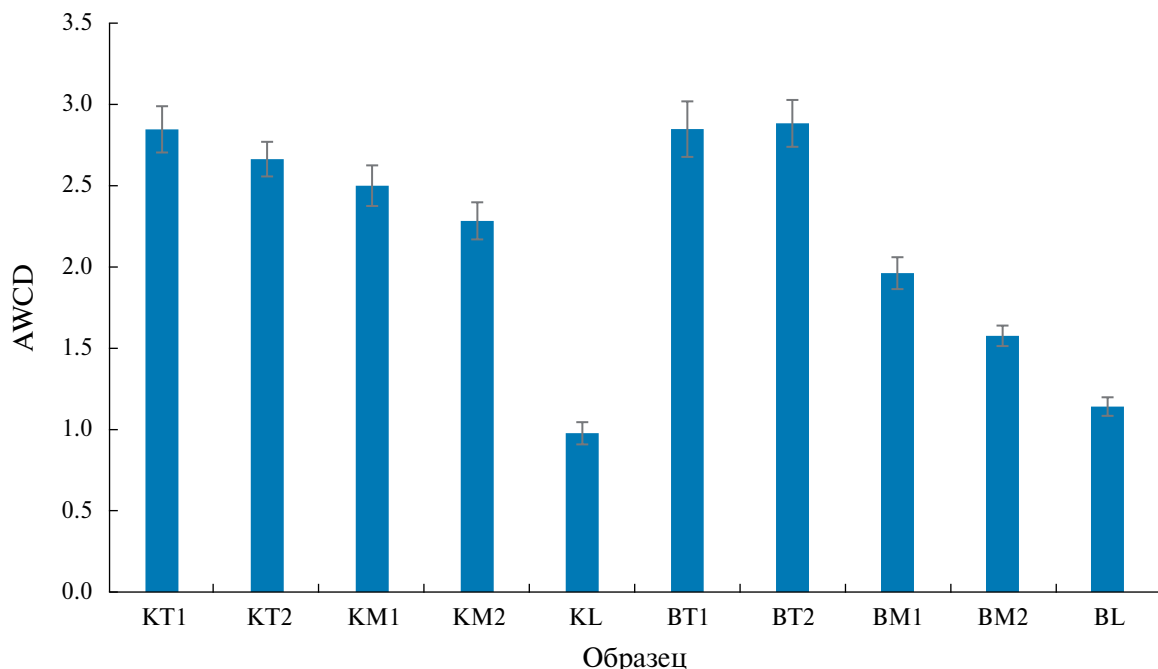
**Рис. 4.** (а) — Кумулятивная респирация почвы верхнего слоя контрольных почвенных колонок (КТ1а) (1), колонок с биочаром (ВТ1а) (2), колонок с биочаром и внесенными микроорганизмами деструкторами (ДТ1а) (3); (б) —  $^{13}\text{C}$  ЯМР-спектры уловленного щелочью  $\text{CO}_2$ , выделившегося из верхнего почвы слоя, контрольных почвенных колонок КТ1а (1), колонок ВТ1а с биочаром (2), колонок ДТ1а с биочаром и внесенными микроорганизмами деструкторами в течение 3 сут (3).

Видно, что объем выделившегося  $^{13}\text{CO}_2$  из почвы с биочаром был больше, чем из контрольной почвы: на 90 сут эксперимента разница составила 1.9 раз. Добавление микроорганизмов-деструкторов привело к дополнительному увеличению объема выделившегося из почвы  $\text{CO}_2$  в 2.4 раза относительно контроля, что свидетельствует о роли микроорганизмов в деструкции органического вещества почвы и биочара. Для того, чтобы определить, является ли выделившийся  $\text{CO}_2$  продуктом разложения удобрения (а не только органического вещества почвы), после завершения эксперимента проанализировали смеси щелочи и карбонатной соли, полученной при улавливании  $\text{CO}_2$ . На рис. 4b для примера представлены результаты ЯМР-спектроскопии кристаллической фазы, полученной при выпаривании раствора щелочи и карбоната на 3 сут эксперимента по оценке респираторной активности почв слоев KT1a, BT1a и DT1a. Видно, что на отдельных участках спектра имеется единичная узкая линия в районе 169 м.д. Данный пик характерен для карбонатсодержащих минеральных фаз [46]. Наличие сигнала от контрольного образца обусловлено естественным содержанием  $^{13}\text{C}$ , повышенный уровень от образца с биочаром подтверждает факт превращения его компонент в  $\text{CO}_2$ . Сигнал образца, содержавшего как биоуголь, так и внесенные микроорганизмы-деструкторы еще выше, что свидетельствует о роли микроорганизмов в разложении органического вещества биочара. Следует отметить, что количество  $^{13}\text{C}$

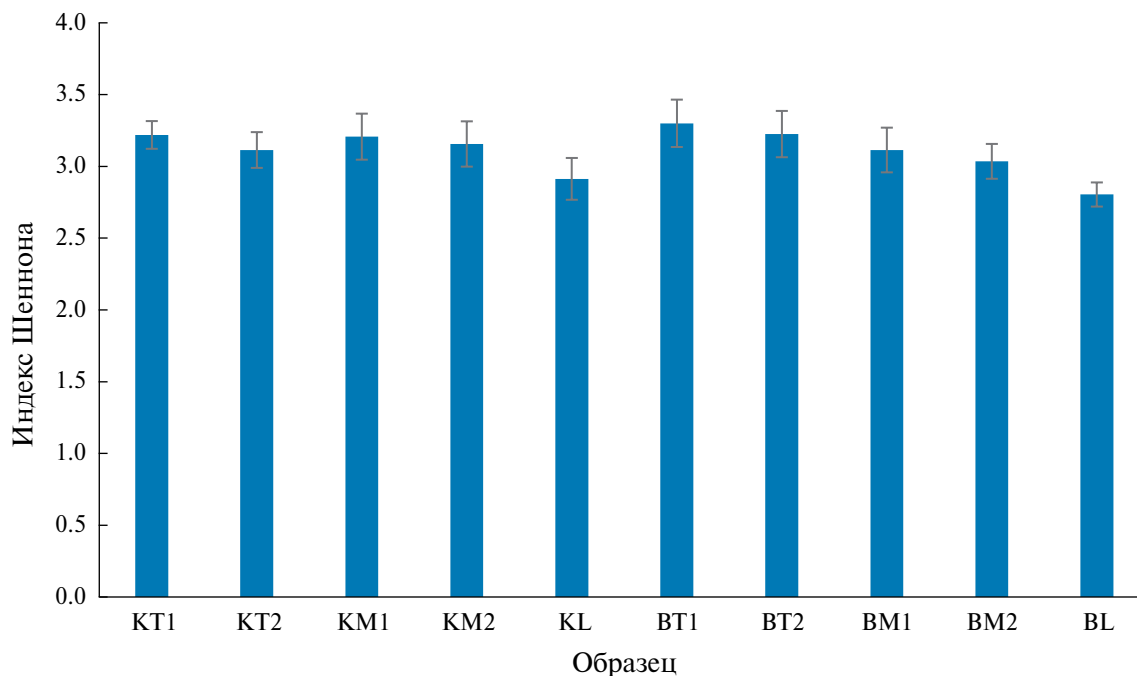
углерода, перешедшего в состав  $\text{CO}_2$  из биоугля, значительно меньше, чем количество углерода  $^{13}\text{C}$ , оставшегося в почве, но подвергнувшегося трансформации. Это говорит о том, что в основном микробная трансформация биочара направлена на синтез новых соединений. Количество почвоулучшителя, не претерпевшего трансформации при инкубировании в почве в течение 90 сут, еще больше, что подтверждает данные о стабильности данного вещества и его способности к секвестрации углерода в почве [18, 31].

**Физиологический профиль микробных сообществ почвенных колонок.** Кроме микробного дыхания, в почвенных колонках оценивали изменения функционирования микробных сообществ под влиянием биоугля. Для этого в образцах контрольной почвы и почвы с биочаром анализировали способность сообществ разлагать различные углеродсодержащие субстраты с использованием метода Biolog Escoplate на 90 сут эксперимента. Для характеристики изменения метаболической активности почвенного сообщества использовали показатель средней окрашенности ячеек (AWCD) (рис. 5), для характеристики изменения биологического разнообразия почвенного сообщества — индекс Шеннона (рис. 6).

Согласно полученным данным, в контрольных образцах метаболическая активность (AWCD) уменьшалась от верхнего слоя почвы KT1 (2.84) к нижнему KL (0.97). Данная тенденция соответ-



**Рис. 5.** Метаболическая активность почвенных микроорганизмов в контрольных образцах почвы и образцах из монолитов с биочаром, отобранных на 3, 7, 30, 60 и 90 сут эксперимента.



**Рис. 6.** Индекс Шеннона, рассчитанный для 120 ч инкубирования в контрольных образцах почвы и образцах с биочаром, отобранных на 3, 7, 30, 60 и 90 сут эксперимента.

ствуется литературным данным и отражает различающиеся общее количество и активность микроорганизмов в почвенных слоях [5]. Внесение биочара не привело к достоверным изменениям метаболической активности микроорганизмов в образцах, отобранных в соответствующих слоях. Аналогичное отсутствие достоверных различий контрольных образцов от таковых с мелиорантом наблюдалось и для индекса Шеннона. Действительно, биочар, в отличие от других видов органических удобрений, таких как компост, не приводит к взрывообразному изменению активности почвенных микроорганизмов, напротив, он является медленнодействующим мелиорантом, приводящим к постепенному сдвигу в составе сообществ, но не изменяющим его кардинально. Такое мягкое воздействие биоугля на микробные сообщества на фоне стимулирующего эффекта на рост и развитие растений, а также возможность секвестрации углерода оценивается исследователями как его преимущество по сравнению с другими видами удобрений [28, 30, 38, 55].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование процессов трансформации биочара с повышенным содержанием изотопа  $^{13}\text{C}$  в почве проводили в почвенных колонках. Показано, что внесенный в верхний слой биочар полностью остается в нем, и не мигрирует вниз по почвенному профилю. На основании CP/MAS  $^{13}\text{C}$  ЯМР-спектров почвенных образцов биоугля с повышенным

содержанием изотопов  $^{13}\text{C}$ , отобранных в динамике эксперимента, установлено доминирование в составе биочара химических групп ароматической природы, наиболее вероятно относящихся к протяженным ароматическим структурам или графитоподобным микрокристаллитам, составляющим углеродистую пористую основу удобрения, а также увеличение доли ароматических и снижение доли карбоксильных и алифатических групп со временем эксперимента. Кумулятивная респирация за 90 сут эксперимента из верхнего пятисантиметрового слоя почвы при внесении мелиоранта выросла почти вдвое. В составе выделившегося из почвы  $\text{CO}_2$  присутствовали меченые изотопы углерода  $^{13}\text{C}$ , что свидетельствует об их происхождении из биоугля. Доказана роль микроорганизмов в минерализации биочара. Установлено, что большая часть удобрения остается неизменной в почве, основной путь трансформации меньшей части связан с отщеплением концевых функциональных групп от углеродистой основы и синтезом новых органических соединений. Полученные результаты позволяют предположить, что с практической точки зрения биочар улучшает сельскохозяйственные характеристики почвы, в частности содержание в ней углерода и азота, не приводит к ингибированию почвенных микробных сообществ, при этом в малой доле включается в процессы микробной трансформации в почве. Основная же масса биоугля длительно сохраняется в почве, что позволяет предположить возможность его использования

в качестве удобрения с периодичностью один раз в несколько лет, а кроме того, свидетельствует о его потенциале в качестве секвестратора углерода. Для разработки практических рекомендаций по использованию данного почвоулучшителя в указанных целях необходимо проведение мелкоделяночных и долгосрочных полевых экспериментов с биочаром на основе C4-растений.

### ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности, проект № FZSM-2024-0004.

### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В данной работе отсутствуют исследования человека или животных.

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

### ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Онлайн-версия содержит дополнительные материалы, доступные по адресу <https://doi.org/10.31857/S0032180X24100035>

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ермолаев О.П. Ландшафты Республики Татарстан. Региональный ландшафтно-экологический анализ. Казань: Слово, 2007. 411 с.
2. Ameloot N., Graber E.R., Verheijen F.G.A., De Neve S. Interactions between biochar stability and soil organisms: review and research needs // *Eur. J Soil Sci.* 2013. V. 4(64). P. 379–390.
3. Ascough P.L., Bird M.I., Wormald P., Snape C.E., Apperley D. Influence of production variables and starting material on charcoal stable isotopic and molecular characteristics // *GCA.* 2008. V. 72(24). P. 6090–6102.
4. Banfield C.C., Dippold M.A., Pausch J., Hoang D.T.T., Kuzyakov Y. Biopore history determines the microbial community composition in subsoil hotspots // *Biol. Fert. Soils.* 2017. V. 5(53). P. 573–588.
5. Blume E., Bischoff M., Reichert J.M., Moorman T., Konopka A., Turco R.F. Surface and subsurface microbial biomass, community structure and metabolic activity as a function of soil depth and season // *Appl. Soil. Ecol.* 2002. V. 3(20). P. 171–181.
6. Bogusz A., Oleszczuk P., Dobrowolski R. Adsorption and desorption of heavy metals by the sewage sludge and biochar-amended soil // *Environ. Geochem. Health.* 2019. V. 41. P. 1663–1674.
7. Cimò G., Kucerik J., Berns A.E., Schaumann G.E., Alonzo G., Conte P. Effect of heating time and temperature on the chemical characteristics of biochar from poultry manure // *J. Agric. Food Chem.* 2014. V. 62(8), P. 1912–1918.
8. Clough T., Condrón L.M., Kammann C., Müller C. A Review of Biochar and Soil Nitrogen Dynamics // *Agron.* 2013. V. 2(3). P. 275–293.
9. Czimczik C.I., Preston C.M., Schmidt M.W.I., Werner R.A., Schulze E-D. Effects of charring on mass, organic carbon, and stable carbon isotope composition of wood // *Org. Geochem.* 2002. V. 11(33). P. 1207–1223.
10. Ding Y., Liu Y., Liu S., Huang X., Li Z., Tan X., Zeng G., Zhou L. Potential benefits of biochar in agricultural soils: a review // *Pedosphere.* 2017. V. 4(27). P. 645–661.
11. Dong X., Li G., Lin Q., Zhao X. Quantity and quality changes of biochar aged for 5 years in soil under field conditions // *Catena.* 2017. V. 159. P. 136–143.
12. Farrell M., Kuhn T.K., Macdonald L.M., Madder T.M., Murphy D.V., Hall P.A., Singh B.P., Baumann K., Krull E.S., Baldock J.A. Microbial utilisation of biochar-derived carbon // *Sci. Total Environ.* 2013. V. 465. P. 288–297.
13. Freitas J.C.C., Bonagamba T.J., Emmerich F.G. <sup>13</sup>C High-Resolution Solid-State NMR Study of Peat Carbonization // *Energ Fuel.* 1999. V. 1(13). P. 53–59.
14. Geisseler D., Horwath W.R. Relationship between carbon and nitrogen availability and extracellular enzyme activities in soil // *Pedobiologia.* 2009. V. 1(53). P. 87–98.
15. Glaser B. Compound-specific stable-isotope( $\delta^{13}\text{C}$ ) analysis in soil science // *J Plant. Nutr. Soil Sci.* 2005. V. 168(5). P. 633–648.
16. Gougoulis C., Clark J.M., Shaw L.J. The role of soil microbes in the global carbon cycle: tracking the below-ground microbial processing of plant-derived carbon for manipulating carbon dynamics in agricultural systems // *J Sci. Food Agric.* 2014. V. 12(94). P. 2362–2371.
17. Hagemann N., Subdiaga E., Orsetti S., de la Rosa J.M., Knicker H., Schmidt H-P., Kappler A., Behrens S. Effect of biochar amendment on compost organic matter composition following aerobic composting of manure // *Sci Total Environ.* 2018. V. 613-614. P. 20–29.
18. Hui D., Yu C-L., Deng Q., Saini P., Collins K., De Koff J. Weak Effects of Biochar and Nitrogen Fertilization on Switchgrass Photosynthesis, Biomass, and Soil Respiration // *Agriculture.* 2018. V. 9(8). P. 143.
19. Jaafar N.M., Clode P.L., Abbott L.K. Biochar-Soil Interactions in Four Agricultural Soils // *Pedosphere.* 2015. V. 5(25). P. 729–736.
20. Jagadamma S. Mayes M.A., Steinweg J. M., Schaeffer S. M. Substrate quality alters the microbial mineralization

- of added substrate and soil organic carbon // *Biogeosciences*. 2014. V. 17(11). P. 4665–4678.
21. Jeguirim M., Limousy L. Biomass Chars: Elaboration, Characterization and Applications II // *Energies*. 2019. V. 3(12). P. 384.
  22. Kida M., Kondo M., Tomotsune M., Kinjo K., Ohtsuka T., Fujitake N. Molecular composition and decomposition stages of organic matter in a mangrove mineral soil with time // *Estuar. Coast. Shelf Sci*. 2019. V. 231, P. 106478.
  23. Kirk G.J.D., Yu T.R., Choudhury F.A. Phosphorus chemistry in relation to water regime. // Phosphorus requirements for sustainable agriculture in Asia and Oceania. Proceedings of a symposium, 6–10 March 1989. 1990. P. 211–223.
  24. Knicker H. Pyrogenic organic matter in soil: Its origin and occurrence, its chemistry and survival in soil environments // *Quat. Int.* 2011. V. 2(243). P. 251–263.
  25. Kochanek J., Soo R.M., Martinez C., Dakuidreketi A., Mudge A.M. Biochar for intensification of plant-related industries to meet productivity, sustainability and economic goals: A review // *Resour. Conserv. Recycl.* 2022. V. 179. P. 106109.
  26. Kuzyakov Y., Subbotina I., Chen H., Bogomolova I., Xu X. Black carbon decomposition and incorporation into soil microbial biomass estimated by  $^{14}\text{C}$  labeling // *Soil Biol. Biochem.* 2009. V. 2(41). P. 210–219.
  27. Kuzyakov Y., Blagodatskaya E. Microbial hotspots and hot moments in soil: Concept review // *Soil Biol. Biochem.* 2015. V. 83. P. 184–199.
  28. Kuzyakov Y., Bogomolova I., Glaser B. Biochar stability in soil: Decomposition during eight years and transformation as assessed by compound-specific  $^{14}\text{C}$  analysis // *Soil Biol. Biochem.* 2014. V. 70. P. 229–236.
  29. Lawrinenko M., Laird D.A., Johnson R.L., Jing D. Accelerated aging of biochars: Impact on anion exchange capacity // *Carbon*. 2016. V. 103. P. 217–227.
  30. Li X., Wang T., Chang S.X., Jiang X., Song Y. Biochar increases soil microbial biomass but has variable effects on microbial diversity: A meta-analysis // *Sci. Total Environ.* 2020. V. 749. P. 141593.
  31. Liu X., Liao J., Song H., Yang Y., Guan C., Zhang Z. A biochar-based route for environmentally friendly controlled release of nitrogen: urea-loaded biochar and bentonite composite // *Scientific Reports*. 2019. V. 9. P. 9548.
  32. Lu N., Lu X.-R., Du Z., Wang Y.-D. Effect of biochar on soil respiration in the maize growing season after 5 years of consecutive application // *Soil Res.* 2014. V. 5(52). C. 505.
  33. Marcińczyk M., Oleszczuk P. Biochar and engineered biochar as slow- and controlled-release fertilizers // *J Clean. Prod.* 2022. V. 339. P. 130685.
  34. McBeath A.V., Smernik R.J. Variation in the degree of aromatic condensation of chars // *Org. Geochem.* 2009. V. 12(40). P. 1161–1168.
  35. Mierzwa-Hersztek M., Gondek K., Kopec M., Ukalska-Jaruga M. Biochar changes in soil based on quantitative and qualitative humus compounds parameters // *Soil ukalska-jaruga science annual*. 2018. V. 69 (4). P. 234–242.
  36. Nocentini C., Guenet B., Mattia E.D. Certini G., Bardoux G., Rumpel C. Charcoal mineralisation potential of microbial inocula from burned and unburned forest soil with and without substrate addition // *Soil Biol. Biochem.* 2010. V. 9(42). P. 1472–1478.
  37. Orlova N., Abakumov E.V., Orlova E., Yakkonen K. Soil organic matter alteration under biochar amendment: study in the incubation experiment on the Podzol soils of the Leningrad region (Russia) // *J. Soil Sediment.* 2019. V. 6(19). P. 2708–2716.
  38. Orlova N., Orlova E., Abakumov E., Smirnova K., Chukov S. Humic Acids Formation during Compositing of Plant Remnants in Presence of Calcium Carbonate and Biochar // *Agronomy*. 2022. V. 10(12). P. 2275.
  39. Osman A.I., Fawzy S., Farghali M., El-Azazy M., Elgarahy A.M., Fahim R.A., Maksoud M.I.A.A. Ajlan A.A., Yousry M., Saleem Y., Rooney D.W. Biochar for agronomy, animal farming, anaerobic digestion, composting, water treatment, soil remediation, construction, energy storage, and carbon sequestration: a review // *Environ. Chem. Lett.* 2022. V. 4(20). P. 2385–2485.
  40. Qambrani N.A., Rahman M.M., Won S., Shim S., Ra C. Biochar properties and eco-friendly applications for climate change mitigation, waste management, and wastewater treatment: A review // *Renew. Sustain. Energy Rev.* 2017. V. 79. P. 255–273.
  41. Rangabhashiyam S., dos Santos Lins P.V., de Magalhaes Oliveira L.M.T., Sepulveda P., Ighalo J.O., Rajapaksha A.U., Meili L. Sewage sludge-derived biochar for the adsorptive removal of wastewater pollutants: A critical review. // *Environmental Pollution*. 2022. V. 293. P. 118581.
  42. Rosa J.M. de la, Rosado M., Paneque M., Knicker H. Effects of aging under field conditions on biochar structure and composition: Implications for biochar stability in soils // *Sci. Total Environ.* 2018. V. 613–614. P. 969–976.
  43. Rutgers M., Wouterse M., Drost S.M., Breure A.M., Mulder C., Stone D., Creamer R.E., Winding A., Bloem J. Monitoring soil bacteria with community-level physiological profiles using Biolog<sup>TM</sup> ECO-plates in the Netherlands and Europe // *Appl. Soil Ecol.* 2016. V. 97. P. 23–35.
  44. Ryzak M., Bieganski A. Methodological aspects of determining soil particle-size distribution using the laser diffraction method // *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 2011. V. 4(174). P. 624–633.
  45. Sarkhot D.V., Berhe A. A., Ghezzehei T.A. Impact of Biochar Enriched with Dairy Manure Effluent on Carbon and Nitrogen Dynamics // *J. Environ. Qual.* 2012. V. 4(41). P. 1107–1114.
  46. Sevelsted T.F., Herfort D., Skibsted J.  $^{13}\text{C}$  chemical shift anisotropies for carbonate ions in cement

- minerals and the use of  $^{13}\text{C}$ ,  $^{27}\text{Al}$  and  $^{29}\text{Si}$  MAS NMR in studies of Portland cement including limestone additions // *Cement Concrete Res.* 2013. V. 52. P. 100–111.
47. Soong J.L., Reuss, D., Pinney C., Boyack T., Had-dix M.L., Stewart, C.E., Cotrufo M.F. Design and operation of a continuous  $^{13}\text{C}$  and  $^{15}\text{N}$  labeling chamber for uniform or differential, metabolic and structural, plant Isotope Labeling // *J. Vis. Exp.* V. 83. P. 51117.
  48. Sousa J.R. de, Correia J.A.C., de Almeida J.G.L., Rodrigues S., Pessoa O.D.L., Melo V.M.M., Gonçalves L.R.B. Evaluation of a co-product of bio-diesel production as carbon source in the production of biosurfactant by *P. aeruginosa* MSIC02 // *Process Biochem.* 2011. V. 9(46). P. 1831–1839.
  49. Su P., Brookes P.C., He Y., Wu J., Xu J. An evaluation of a microbial inoculum in promoting organic C decomposition in a paddy soil following straw incorporation // *J. Soil Sediment.* 2016. V. 6(16). P. 1776–1786.
  50. Tan Ch., Zeyu Zh., Rong H., Ruihong M., Hongtao W., Wenjing L. Adsorption of cadmium by biochar derived from municipal sewage sludge: Impact factors and adsorption mechanism // *Chemosphere.* 2015. V. 134. P. 286–293.
  51. Tauqeer H.M., Turan V., Farhad M., Iqbal M. Sustainable agriculture and plant production by virtue of biochar in the era of Climate Change/Hasanuz-zaman G.J., Ahammed K. Nahar, Singapore: Springer Nature, 2022. P. 21–42.
  52. Wang J., Xiong Z., Kuzyakov Y. Biochar stability in soil: Meta-analysis of decomposition and priming effects // *GCB Bioenergy.* 2016. V. 8. № 3. P. 512–523.
  53. Zeng Q., Brown P.H. Soil potassium mobility and up-take by corn under differential soil moisture regimes // *Plant Soil.* 2000. V. 2(221). P. 121–134.
  54. Zhang J., Shao J., Jin Q., Lia Z., Zhang X., Chen Y., Zhang S., Chen H. Sludge-based biochar activation to enhance Pb(II) adsorption // *Fuel.* 2019. V. 252. P. 101–108.
  55. Zhang Q. Duan P., Gunina A., Xi Z. Mitigation of carbon dioxide by accelerated sequestration from long-term biochar amended paddy soil // *Soil Till. Res.* 2021. V. 209. P. 104955.

## Transformation of Biochar from Plant Biomass in Soil: Evaluation by Isotopic Labelling Method

P. Yu. Galitskaya<sup>1</sup>, S. Yu. Selivanovskaya<sup>1</sup>, K. O. Karamova<sup>1</sup>,  
A. S. Gordeev<sup>1, \*</sup>, P. A. Kuryntseva<sup>1</sup>, and P. Ghorbannezhad<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Kazan Federal University, Kazan, 420008 Russia

<sup>2</sup>Shahid Beheshti University, Tehran, 198396 Iran

\*e-mail: drgor@mail.ru

Pyrolysis is considered as one of the promising methods for processing agricultural waste and producing fertilizers. The effectiveness of the resulting biochar as a fertilizer has been proven, but to this day questions remain open about the preferential ways of decomposition of organic substances in its composition – biotic or abiotic. In this work, the transformation pathways of biochar made from corn – a plant with the  $\text{C}_4$  type of photosynthesis (with an increased content of  $^{13}\text{C}$ ) – were assessed using the solid-phase CP/MAS  $^{13}\text{C}$  NMR spectroscopy method. The biochar was placed in the top layer of a soil monolith of gray forest soil, and for 90 days the precipitation regime characteristic of central Russia was simulated. In the obtained NMR spectra of soil samples with biochar, the peak at 129 ppm, characteristic of aromatic compounds, increased with the time of the experiment in the upper soil layer, but not in other layers. This suggests that biochar particles do not migrate down the soil profile during one season. At the same time, the intensity of cumulative microbial respiration in the presence of biochar increased – from  $85.0 \text{ g CO}_2 \text{ kg}^{-1}$  in the control sample to  $201.4 \text{ g CO}_2 \text{ kg}^{-1}$  in the sample with biochar (top soil layer). According to the NMR spectra of the salt formed during the mineralization of carbon dioxide released from the soil, it contains labeled carbon: the spectra have a peak at 169 ppm, characteristic of carbonates. The cumulative volume of  $\text{CO}_2$  released from the soil with biochar was 1.9 times greater than from the control soil. The addition of decomposer microorganisms led to an additional increase in the volume of  $\text{CO}_2$  – 2.4 times relative to the control, which indicates the role of microorganisms in the destruction of soil organic matter and biochar. However, based on the stability of the total carbon content in the soil, it can be concluded that only a small proportion of biochar components is susceptible to biotic decomposition.

**Keywords:** carbon, biochar, isotope label, particle migration, respiratory activity