تأثیر بیوچار ضایعات هرس درختان میوه بر برخی خصوصیات بیولوژیکی خاک در شرایط رایزوباکس

رقیه واحدی، میرحسن رسولی صدقیانی و محسن برین[1*]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۶/۲۹ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۳/۶)

چکیده

پیرولیز ضایعات هرس درختان با تبدیل شدن به بیوچار همراه با تلقیح میکروبی از راهکارهای بهبود خصوصیات بیولوژیک در خاک‌های آهکی است. به‌منظور بررسی تأثیر بیوچار بر برخی از خصوصیات بیولوژیکی خاک در حضور میکروارگانیسم‌ها آزمایشی به‌صورت فاکتوریل با طرح کاملاً تصادفی تحت شرایط گلخانه در رایزوباکس اجرا شد. فاکتورها شامل مواد آلی (بیوچار ضایعات هرس و شاهد)، تلقیح میکروبی (قارچ میکوریز آربوسکولار و باکتری PGPR) و خاک (خاک ریزوسفر و غیرریزوسفر) بودند. پس از پایان دوره رشد گیاه گندم، تنفس میکروبی (BR)، تنفس برانگیخته با سوبسترا (SIR)، کربن زیست‌توده میکروبی (MBC)، فسفر زیست‌توده میکروبی (MBP)، آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی (ACP) و قلیایی (ALP) در خاک‌های ریزوسفری و غیرریزوسفری تعیین شد. نتایج نشان داد که کاربرد بیوچار و تلقیح میکروبی باعث افزایش BR، SIR، MBC، MBP، ALP و کاهش ACP نسبت به تیمار شاهد شد. به‌طوری که بیشترین افزایش مقدار BR، SIR و MBC مربوط به تیمار تلقیح میکوریزی بیوچار بود. افزایش ۲/۶۷ برابری فعالیت ACP نسبت به تیمار شاهد در تیمار بیوچار تلقیح باکتریایی مشاهده شد. همچنین بیوچار ضایعات هرس مقدار MBC، MBP وALP را به‌ترتیب ۴۵/۶۵، ۵۶/۲۲ و۳۵/۶۲ درصد در خاک ریزوسفر نسبت به غیرریزوسفر افزایش داد. تلقیح میکروبی منجر به افزایش ۱/۳۱ و ۱/۴۱ برابری MBP و ACP در خاک ریزوسفری در مقایسه با خاک غیر ریزوسفر شد. تلقیح باکتریایی در خاک ریزوسفری ۲۸/۳۱ درصد فعالیت آنزیم ACP در مقایسه با خاک غیرریزوسفر افزایش داد. چنین استنباط می‌شود که کاربرد بیوچار در شرایط تلقیح میکروبی منجر به بهبود خواص بیولوژیکی خاک می‌شود.

واژه‌های کلیدی: پیرولیز، فعالیت میکروبی، رایزوباکس

۱. گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه
*: مسئول مکاتبات: پست الکترونیکی: m.barin@urmia.ac.ir

مقدمه

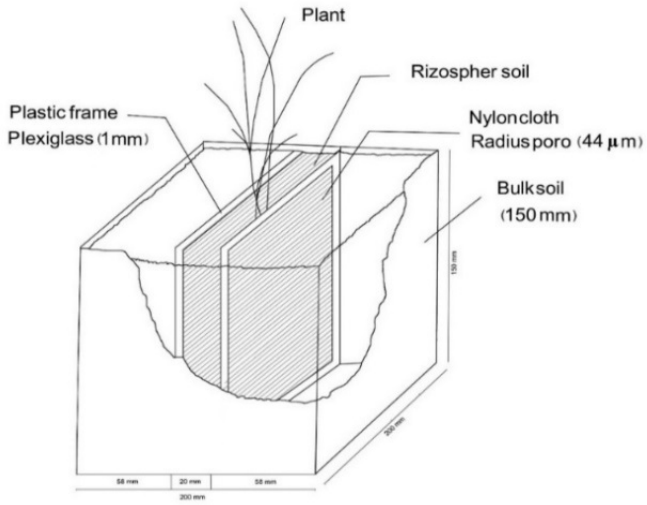
وجود ماده آلی علاوه بر اینکه نشان‌دهنده سلامت و کیفیت خاک است، بلکه با تشدید فعالیت زیستی در خاک به چرخش بهتر عناصر غذایی کمک می‌کند (۷). یکی از راه‌های صحیح و عملی برای بهبود ماده آلی خاک، مدیریت استفاده صحیح از ضایعات هرس درختان میوه است که متاسفانه قسمت اعظم آن سوزانده و یا در جایی رها شده و آلودگی محیط زیست را فراهم می‌کند. ضایعات هرس درختان با تبدیل شدن به بیوچار با جایگزینی یا فراهم کردن عناصر غذایی در خاک، بهبود خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک نقش مهمی نیز بر پویایی و زندگی میکروارگانیسم‌های خاک و ایجاد نوعی تعادل دینامیکی در اجزای زنده و غیرزنده خاک ایفا می‌کنند (۴۸). بیوچار ماده جامد غنی از کربن تولید شده توسط تجزیه گرمایی یا پیرولیز (Pyrolysis) یا گرما کافت توده‌های زیستی با مقدار کمی اکسیژن یا بدون اکسیژن است. مقادیر نسبی و ویژگی بیوچار توسط شرایط گرما کافت مانند دما، میزان حرارت یا سرعت دمایی، مدت زمان، فشار و نوع ماده اولیه کنترل می‌شود (۴۴).

کیفیت خاک علاوه بر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن، دارای ارتباط نزدیکی با خصوصیات بیولوژیکی آن نیز است. از آنجا که خاک بخش مهمی از محیط زیست را تشکیل می‌دهد، ارزیابی کیفیت آن به‌منظور تشخیص وضعیت کیفی محیط زیست ضروری است. برای ارزیابی تغییرات عملکردهای خاک و تغییرات آن بهتر است پارامترها و نمایه‌های زیست‌شیمیایی (تنفس پایه، تنفس برانگیخته، زیست‌توده میکروبی و فعالیت آنزیمی) که نشان‌دهنده تنوع، توزیع زیستی و چگونگی فعالیت میکروارگانیسم‌های خاک هستند، مورد استفاده قرار گیرند (۲۲). تنفس میکروبی نه تنها مشخص کننده وضعیت و فعالیت میکروب‌های خاک است، بلکه مشخص کننده روند، تعادل و چگونگی تجزیه ماده آلی، فعالیت آنزیمی و چرخه برخی عناصر غذایی خاک نیز خواهد بود (۳۶). فراوانی ترکیبات آلی در ریزوسفر، منجر به افزایش تنفس می‌شود چرا که این مواد منبع عناصر غذایی و انرژی لازم برای آنها محسوب می‌شوند. افزون بر این، تنفس برانگیخته با سوبسترا یکی از روش‌های پایه‌ای برای برآورد کمی زیست‌توده میکروبی خاک به‌عنوان بخش بسیار فعال و ناپایدار کربن آلی خاک بررسی شده است (۳۰). گزارش های متناقض از تأثیر بیوچار بر تنفس خاک وجود دارد. لیو و همکاران (۳۵) نشان دادند که بیوچار تأثیر معنی‌داری بر تنفس خاک نداشت. بریک و همکاران (۱۲) مشاهده کردند که تنفس پایه، زیست‌توده میکروبی، رشد جمعیت و کارایی جذب میکروب‌ها به‌صورت خطی و به‌طور قابل توجهی با افزایش غلظت بیوچار چوب (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ گرم در کیلوگرم خاک) افزایش یافته است. نقش زیست‌تودمیکروبی به‌عنوان مخزن قابل توجه عناصرغذایی (۵۷) و تغییر و تبدیلات مواد آلی خاک مسلم است، به‌طوری که گردش و معدنی شدن پیش‌ماده‌های آلی اغلب ناشی از فعالیت زیست‌توده میکروبی خاک است. فسفر زیست تودمیکروبی هم می‌تواند منبع مهمی برای گیاهان باشد. در ریزوسفر، گیاهان و میکروارگانیسم‌ها برای جذب فسفر متحرک شده رقابت می‌کنند (۳۸). بنابراین، فسفر زیست‌توده میکروبی نقشی کلیدی در چرخه عناصر غذایی و تغذیه معدنی گیاهان ایفا می‌کند. کونو و همکاران (۲۹) گزارش کردند که سرعت تجزیه فسفر زیست‌توده میکروبی از سرعت تجزیه کربن زیست توده میکروبی سریع‌تر است. بنابراین، فسفر زیست‌تودمیکروبی می‌تواند منبع مهمی در تأمین فسفر مورد نیاز گیاه باشد. استینرو همکاران (۴۷) گزارش کردند که زیست‌تودمیکروبی در خاک‌های اسیدی برزیل اصلاح شده با بیوچار به‌دلیل افزایش pH، افزایش یافته است. به نظر می‌رسد که بیوچار قادر به تحریک و افزایش زیست‌توده و فعالیت میکروبی، همچنین فعالیت‌های آنزیمی در خاک است. دلیل افزایش فعالیت‌های آنزیمی همانند فعالیت فسفاتازها پس از افزودن بیوچار می‌تواند افزایش دسترسی میکروارگانیسم‌ها به مواد غذایی به‌دنبال افزودن مواد آلی و افزایش ترشحات ریشه‌ای باشد (۵۴). البته تأثیر فعالیت‌های آنزیمی خاک با کاربرد بیوچار متفاوت است. بیشتر آنزیم‌ها فعالیت‌شان در شرایط قلیایی افزایش می‌یابد که نشان‌دهنده افزایش فعالیت اصلاح کننده بیوچار است (۹). فسفاتازها در

چرخه بیوژئوشیمی فسفر نقش مهمی ایفا می‌کنند. فسفات آزاد شده در خاک می‌تواند توسط گیاهان یا میکروارگانیسم‌ها جذب شود (۴۲). اگرچه ریشه‌های گیاه در تولید فسفاتازها نقش دارند اما فسفاتازهای میکروبی (قارچ‌ها و باکتری‌ها) در هیدرولیز ترکیبات آلی خاک مؤثرتر هستند (۵۳). ترشح آنزیم فسفاتاز توسط قارچ‌های میکوریز (AMF) و باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه (PGPR) گزارش شده است (۳۹). آکاسا و ناملی (۲) با مطالعه تأثیر بیوچار کود مرغی بر فعالیت‌های آنزیمی خاک گزارش کردند که با کاربرد بیوچار، فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. لیانگ و همکاران (۳۱) نشان دادند که قرار دادن کود آلی یا ماده آلی (بیوچار) در اطراف ریزوسفر یا خارج از ریزوسفر، سرعت تنفس را در ریزوسفر و توده خاک شور افزایش داد و تأثیر قابل توجهی در فعالیت میکروبی، فعالیت آنزیم فسفاتاز در پی داشته است. تغییرات ایجاد شده در ریزوسفر عمدتًا بیولوژیک هستند (۱۸). اما خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک نیز تحت تأثیر محیط ریزوسفر قرار می‌گیرند. به همین دلیل خواص بیولوژیکی و شیمیایی خاک در ناحیه ریزوسفر در مقایسه با ناحیه غیرریزوسفر متفاوت است. در ریزوسفر تغییراتی مانند اسیدی شدن، افزایش مقدار ماده آلی در هردو فاز جامد و محلول خاک، منجر به تغییر در فعالیت و زیست‌توده میکروبی، تنفس و فعالیت آنزیمی ایجاد می‌شود (۲۵) که باعث ایجاد تفاوت بین خاک ریزوسفری و غیرریزوسفری می‌شود. محدود کردن ریشه برای بررسی تغییرات بیولوژیکی و اینکه این خصوصیات در چه دامنه‌ای از ریزوسفر گسترش یافته‌اند از چالش‌هایی هستند که کمتر مورد توجه قرار گرفته‌اند. رایزوباکس از جمله ابزارهایی است که برای مطالعه تغییرات ریزوسفر مورد استفاده قرار می‌گیرد. چرا که با محدود کردن ریشه‌ها در حجم معینی از خاک، نمونه‌برداری از خاک ریزوسفری را آسان می‌سازد. با توجه به اینکه رابطه بین بیوچار و میکروارگانیسم‌های خاک و تأثیرات آنها در فرآیندهای بیولوژیکی خاک هنوز به اندازه کافی توصیف نشده است و بیشتر مطالعات بیوچار در خاک‌های اسیدی و در شرایط آب هوایی گرم و مرطوب انجام گرفته است. با توجه به اهمیت روز افزون بیوچار و کودهای بیولوژیک در کشاورزی، هدف از این تحقیق تأثیر بیوچار ضایعات هرس درختان سیب و انگور بر برخی خصوصیات کیفی خاک آهکی در حضور میکروارگانیسم‌های خاک در ریزوسفر گندم است.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار که فاکتورها شامل ماده آلی (بیوچار ضایعات هرس درختان سیب و انگور و شاهد بدون ماده آلی)، تلقیح میکروبی (قارچ‌های میکوریز و باکتری‌هایPGPR) و خاک (خاک ریزوسفری و غیرریزوسفری) بود، در گلخانه تحقیقاتی گروه علوم خاک دانشگاه ارومیه اجرا شد. بنابراین تعداد رایزوباکس‌ها با توجه به کل تیمارها و تکرار ۲۴ عدد است. برای سهولت در نمونه‌برداری از خاک ریزوسفری، خاکی با بافت سبک از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متری تهیه شد و بعد از هوا خشک کردن از غربال دو میلی‌متری عبور داده شد. سپس در دستگاه اتوکلاو و با دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس و فشار ۱/۵ اتمسفر به مدت دو ساعت استریل شدند. قبل از استریل کردن خاک، برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی نظیر بافت خاک به روش هیدرومتری (۲۱)، pH و EC در عصاره‌های صاف شده یک به پنج خاک به آب، ماده آلی به روش والکی بلاک (۴۰)، کربنات کلسیم معادل به روش تیتراسیون با سود (۵۲)، نیتروژن کل به روش کجلدال (۱۳)، پتاسیم به روش عصاره‌گیری با استات آمونیوم و با استفاده از دستگاه فلیم‌فتومتر (۱۵) و فسفر قابل جذب به روش اولسن (۴۱) اندازه‌گیری شدند. برای تهیه بیوچار نیز ضایعات هرس درختان میوه از باغ‌های استان آذربایجان غربی شهرستان ارومیه جمع‌آوری و به قطعات ۲۰ میلی‌متری خرد شدند. سپس در آون در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت خشک شدند. نمونه‌های خشک شده ابتدا به راکتور (استوانه فلزی به قطر ۷ و ارتفاع ۳۱ سانتی‌متر) و سپس به کوره الکتریکی برای تولید بیوچار منتقل شدند. تولید بیوچار در دمای ۳۵۰ درجه



شکل ۱. شماتیکی از رایزوباکس

سانتی‌گراد انجام شد. درنهایت بیوچار تولید شده آسیاب و از الک ۰/۵ میلی‌متری عبور داده شد. روی بیوچار تهیه شده خاکستری مشاهده نشد که نشان‌دهنده حذف اکسیژن و صحت روش صحیح تولید بیوچار بود. همچنین pH و EC بیوچار در عصاره‌های صاف شده سوسپانسیون ۱ به ۱۰ بیوچار به آب (۸)، فسفرکل بیوچار به روش هضم با اسید (۴۳)، پتاسیم در عصاره حاصل از هضم تر به روش فلیم‌فتومتری (۴۳)، ازت و کربن بیوچار نیز به روش سوزاندن خشک با دستگاه ESC ۴۰۱۰ CHNSO Analyzer اندازه‌گیری شد. برای بررسی ریزوسفر گندم از رایزوباکس استفاده شد. باکس‌های ریزوسفر در ابعاد ۲۰×۱۵×۲۰ سانتی‌متر (طول، عرض، ارتفاع تهیه شد (شکل ۱). فضای هر باکس با استفاده از صفحات مشبک نایلونی ۳۲۵ مش به دو قسمت: ۱) ناحیه ریزوسفری به ضخامت دو سانتی‌متر، ۲) ناحیه توده خاک یا ناحیه غیرریزوسفری به ضخامت ۵/۸ سانتی‌متر (این ناحیه در طرف دیگر ناحیه ریزوسفری نیز با همان ضخامت تکرار شد) تقسیم شد. برای انجام آزمون‌های گلخانه‌ای، بیوچار ضایعات هرس برحسب ۱/۵ درصد کربن آلی خالص به خاک (۵/۷۹ کیلوگرم خاک برای هر باکس که شامل ۱/۳۷ کیلوگرم خاک برای بخش ریزوسفر و ۴/۴۲ کیلوگرم خاک نیز برای بخش غیرریزوسفر بود) اضافه و به باکس‌ها منتقل شد.

همچنین مقدار ۸۰ میلی‌گرم فسفر از منبع خاک فسفات به‌عنوان منابع نامحلول فسفر در هر کیلوگرم خاک به فاصله پنج سانتی‌متری زیر بذرها قرار داده شد. برای تلقیح میکروبی از سویه‌های میکروبی موجود در گروه علوم خاک دانشگاه ارومیه شامل سودوموناس‌های گروه فلورسنت (ترکیبی از گونه‌های *P.sp*، *P. aeruginosa*، *P.fluorescens* و *P. putida*) و قارچ میکوریزی گونه گلوموس (*G. fasiculatum*) استفاده شد. پس از افزودن مایه‌های تلقیح، که برای تلقیح بذرها از روش اضافه کردن محلول باکتری‌ها (یک میلی لیتر از سوسپانسیون برای هر بذر) به خاک اطراف بذرها همزمان با کاشت استفاده شد. مقدار قارچ میکوریزا برای هر باکس حدود ۷۰ گرم بود که به قطر نیم سانتی‌متر و به فاصله یک لایه مانده از سطح خاک ریزوسفری به‌طور یکنواخت تلقیح و توزیع شد و بعد از تلقیح با سطحی یکنواخت از خاک پوشانده شد. برای کشت گیاه، بذرهای گندم (*Triticum aestivum* L.) رقم پیشتاز پس از ضدعفونی با هیپوکلریت سدیم به تعداد شش بذر در قسمت ریزوسفری ریزوباکس‌ها کشت شدند. پس از جوانه زدن بذرها، چهار بوته (بوته‌های سالم‌تر و قوی‌تر) نگه‌داشته شدند. در پایان پس از ۶۵ روز، رایزوباکس‌ها باز شدند. در طول دوره کشت از آب مقطر به‌منظور آبیاری و برای تأمین مواد غذایی مورد نیاز برای تغذیه

جدول ۱. نتایج برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی بستر کشت مورد استفاده

بافت خاک	pH	EC	O.C	$CaCO_3$	N	P	K
		($dS\ m^{-1}$)	(٪)	(٪)	(٪)	($mg\ kg^{-1}$)	($mg\ kg^{-1}$)
شن لومی	۷/۵۳	۰/۴۷	۰/۲۵	۱۴/۲۵	۰/۰۸	۷/۶۴	۹۸

جدول ۲. برخی از ویژگی‌های بیوچار حاصل از ضایعات هرس درختان سیب و انگور

خصوصیات مورد مطالعه	سیب	انگور
pH	۷/۱۱	۷/۴۷
EC ($dS\ m^{-1}$)	۰/۰۶	۰/۱۰
C (٪)	۶۴/۰۲	۷۱/۳۰
N (٪)	۰/۲۲	۰/۸۶
K ($g\ kg^{-1}$)	۱۶/۴۴	۲۲/۵۶
فسفر کل ($mg\ kg^{-1}$)	۴۱۵۹/۲۳	۱۳۳۶/۹۰
C/N	۲۹۱	۸۲/۹۱

گیاهان از محلول غذایی Rorison عاری از فسفر استفاده شد. خاک‌های ریزوسفری وغیرریزوسفری هر رایزوباکس بعد از برداشت در یخچال در دمای چهار درجه سلسیوس به‌منظور اندازه‌گیری ویژگی‌های بیولوژیکی خاک نگهداری شدند. تنفس پایه (BR) (۶)، تنفس برانگیخته با سوبسترا (SIR) (۳)، کربن زیست‌میکروبی (MBC) (۲۶) ، فسفر زیست‌توده میکروبی (MBP) (۱۴)، آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی (ACP) و قلیایی (ALP) (۵۱) اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل آماری شامل تجزیه واریانس و مقایسه‌های میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد با نرم‌افزار MSTATC و رسم نمودارها با نرم افزار Execl انجام شد.

نتایج

برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی بستر مورد استفاده در کشت گلخانه‌ای و مخلوط بیوچار ضایعات هرس سیب و انگور به‌ترتیب در جدول (۱) و (۲) نشان داده شده است. خاک مورد استفاده دارای بافت شن لومی (رس۴/۱۶، سیلت ۱۰ و شن ۸۵/۸۴ درصد) بود که دارای فسفر قابل دسترس پایین (۷/۶۴ میلی‌گرم برکیلوگرم) با ۱۴/۲۵درصد کربنات کلسیم معادل به‌عنوان خاک آهکی، غیر شور (۰/۴۷ دسی زیمنس بر متر)، pH قلیایی ضعیف و با مقدار کربن آلی (۰/۲۵ درصد) کم بود. تجزیه اولیه بیوچار حاصل از ضایعات سیب و انگور نشان داد که به‌طور میانگین بیوچار ضایعات هرس درختان دارای pH خنثی تا قلیایی ضعیف (۷/۲۹)، هدایت الکتریکی پایین (۰/۰۸ دسی زیمنس بر متر)، مقدار کربن آلی (۶۷/۶۶ درصد) و مقدار فسفرکل ۲۷۴۸/۰۶ میلی‌گرم در کیلوگرم و C/N بالا (۱۸۶/۹۵) بود.

نتایج تجزیه واریانس جدول‌های (۳) و (۴) نشان داد که اثرات اصلی ماده آلی، تلقیح میکروبی و خاک برشاخص‌های میکروبی اندازه‌گیری شده معنی‌دار ($p<0/001$) بود. ولی اثر اصلی تلقیح میکروبی بر فسفر زیست‌توده میکروبی و آنزیم فسفاتاز قلیایی معنی‌دار نبود. همچنین اثرات متقابل ماده آلی و تلقیح میکروبی نیز بر تنفس پایه، تنفس برانگیخته با سوبسترا، آنزیم فسفاتاز اسیدی، آنزیم فسفاتاز قلیایی ($p<0/001$)، کربن زیست‌توده میکروبی ($p<0/01$) و فسفر زیست‌توده میکروبی ($p<0/05$) معنی‌دار بود. در ارتباط با میزان تنفس پایه، تنفس برانگیخته با سوبسترا، کربن زیست‌توده میکروبی، آنزیم فسفاتاز

جدول ۳. نتایج تجزیه واریانس ماده آلی، تلقیح میکروبی و اثر متقابل آنها بر شاخص‌های میکروبی خاک

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		BR	SIR	MBC	MBP
ماده آلی (O.M)	۱	۷۰۰۴/۱۶۷ ***	۱۲۶۰۴/۱۶۷***	۲۶۲۸۲۲/۲۱۳***	۷۳۵/۳۸۰***
تلقیح میکروبی (M)	۱	۱۵۰۴/۱۶۷***	۴۰۴/۱۶۷***	۱۴۱۱۵۲/۵۵۵***	۰/۰۲۹ns
خاک (S)	۱	۲۲۰۴/۱۶۷***	۴۰۴/۱۶۷***	۲۳۷۳۷۱/۲۵۲***	۷۹/۰۲۵***
O.M×M	۱	۵۰۴/۱۶۷***	۲۲۰۴/۱۶۷***	۲۱۶۰۲/۴۰۲**	۲/۹۱۲*
O.M×S	۱	۴/۱۶۷***	۴/۱۶۷***	۶۳۰۶۸/۲۵۹***	۸/۲۴۹**
M×S	۱	۴/۱۶۷*	۲۰۴/۱۶۷*	۲۰۶۹۴/۱۰۶**	۰/۳۹۳*
O.M×M×S	۱۶	۴/۱۶۷*	۱۰۴/۱۶۷*	۳۸۱/۲۸۵*	۰/۹۰۱*
ضریب تغییرات (٪)	–	۳/۹۲	۱۱/۳۹	۱۳/۲۱	۷/۴۱

***،**، * و ns به‌ترتیب معنی‌دار در سطح ۰/۱ درصد، ۱ درصد، ۵ درصد و غیر معنی‌دار

BR، SIR، MBC و MBP به‌ترتیب تنفس پایه، تنفس برانگیخته با سوبسترا، کربن زیست‌توده میکروبی و فسفر زیست‌توده میکروبی

جدول ۴. نتایج تجزیه واریانس ماده آلی، تلقیح میکروبی و اثر متقابل آنها بر برخی شاخص‌های میکروبی خاک

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		ACP	ALP
ماده آلی (O.M)	۱	۶۵۲۵/۰۹۳***	۲۳۱۵۵/۲۳۱***
تلقیح میکروبی (M)	۱	۱۱۶/۵۵۶***	۰/۷۰۴ns
خاک (S)	۱	۱۷۴۷/۱۱۵***	۵۳۴۹/۴۲۰***
O.M×M	۱	۳۵۷۹/۷۲۸***	۳۵۸۲/۱۷۱***
O.M×S	۱	۲۰/۴۸۰***	۱۵۹۳/۹۷۷***
M×S	۱	*۰/۵۷۴	۱۴۴/۱۰۹****
O.M×M×S	۱۶	۹/۲۳۸*	۳۵۳/۰۵۰***
ضریب تغییرات (٪)	–	۶/۴۷	۲/۶۸

***،**، * و ns به‌ترتیب معنی‌دار در سطح ۰/۱ درصد، ۱ درصد، ۵ درصد و غیر معنی‌دار

ACP و ALP به‌ترتیب آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی

اسیدی، آنزیم فسفاتاز قلیایی (p<۰/۰۰۱) و نیز فسفر زیست‌توده میکروبی (p<۰/۰۱) نتایج نشانگر معنی‌دار بودن اثر متقابل ماده آلی و خاک بر مقدار این شاخص‌ها بود. تجزیه و تحلیل داده‌ها مشخص کرد که تنفس پایه، تنفس برانگیخته با سوبسترا، فسفر زیست‌توده میکروبی، آنزیم فسفاتاز اسیدی (p<۰/۰۵) و کربن زیست‌توده میکروبی (p<۰/۰۱) همچنین آنزیم فسفاتاز قلیایی (p<۰/۰۰۱) در خاک ریزوسفری و غیرریزوسفری تحت نوع تلقیح میکروبی قرار گرفته است.

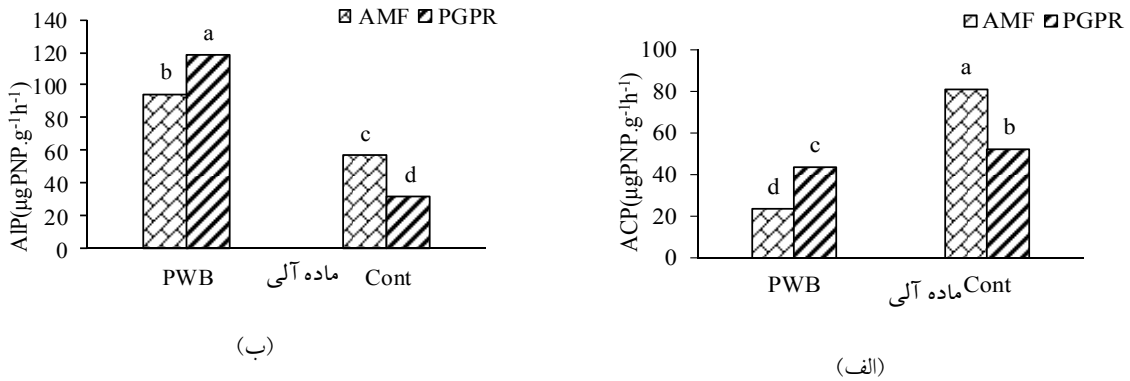
مقایسه میانگین اثر متقابل ماده آلی و تلقیح میکروبی منجر به افزایش معنی‌دار تنفس پایه، تنفس برانگیخته با سوبسترا، کربن زیست‌توده میکروبی، آنزیم فسفاتاز اسیدی، آنزیم فسفاتاز اسیدی و قلیایی شد (جدول ۵ و شکل ۲). به‌طوری که بیشترین

جدول ۵. نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل ماده آلی و تلقیح میکروبی بر شاخص‌های میکروبی خاک

ماده آلی	تلقیح میکروبی	BR	SIR	MBC	MBP
		($mg\ CO_2\text{-}C\ kg^{-1}day^{-1}$)		($mg\ kg^{-1}$)	
PWB	AMF	۸۵/۰۰^{a}	۱۳۵/۰۰^{a}	۶۱۶/۳^{a}	۱۹/۲۰^{a}
	PGPR	۵۳/۳۳^{b}	۹۰/۰۰^{b}	۴۰۲/۹^{b}	۱۸/۵۷^{a}
Cont	AMF	۳۵/۰۰^{c}	۷۰/۰۰^{c}	۳۴۷/۰^{bc}	۷/۴۳^{b}
	PGPR	۳۵/۰۰^{c}	۶۳/۳۳^{c}	۳۵۳/۶^{c}	۸/۱۹^{b}
LSD	–	۳/۵۳	۱۷/۶۷	۹۴/۹۸	۱/۷۱

میانگین‌های داری حروف مشترک بر اساس آزمون دانکن درسطح احتمال پنج درصد اختلاف آماری معنی‌داری ندارند.

BR، SIR، MBC، MBP، PWB، Cont، AMF وPGPR به‌ترتیب تنفس پایه، تنفس برانگیخته با سوبسترا، کربن زیست‌توده میکروبی، فسفر زیست‌توده میکروبی، بیوچار ضایعات هرس، شاهد بدون ماده آلی، قارچ میکوریز آربوسکولار و باکتری‌های محرک رشد



شکل ۲. مقایسه میانگین اثر متقابل ماده آلی و تلقیح میکروبی بر فعالیت آنزیم‌های الف) فسفاتاز اسیدی و ب) قلیایی ACP و ALP، PWB، Cont، AMF و PGPR به‌ترتیب آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی، قلیایی، بیوچار ضایعات هرس، شاهد بدون ماده آلی، قارچ میکوریز آربوسکولار و باکتری‌های محرک رشد

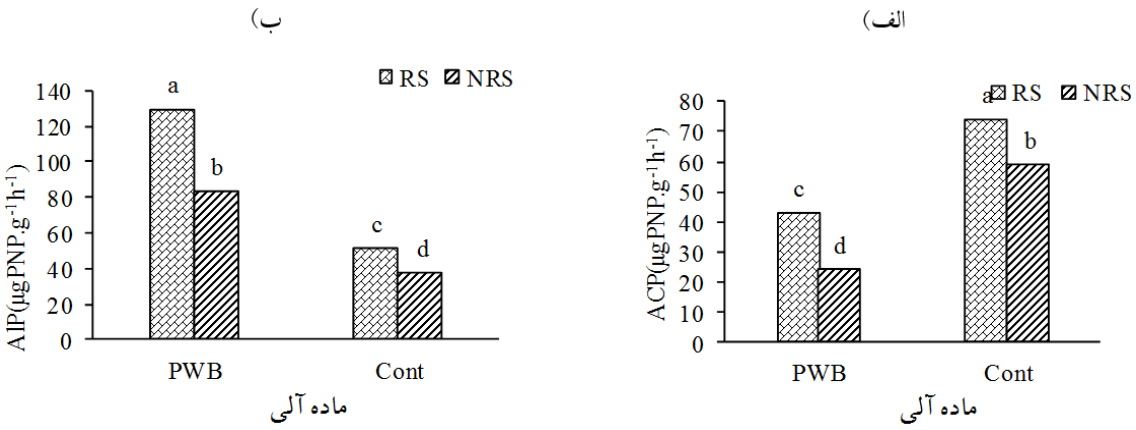
افزایش میزان تنفس پایه ($85\ mg\ CO_2.C\ .kg^{-1}day^{-1}$) و تنفس برانگیخته با سوبسترا ($135\ mg\ CO_2\text{-}C\ .kg^{-1}day^{-1}$) مربوط به تیمار تلقیح میکوریزی بیوچار بود. همچنین تلقیح میکوریزی میزان کربن زیست‌توده میکروبی و فسفر زیست‌توده میکروبی را نیز در تیمار بیوچار نسبت به تیمار شاهد در هر دو سطح تلقیح میکروبی به‌ترتیب ۱/۷۶ و ۲/۴۶ برابر افزایش داد. هر چند که تلقیح میکوریزی تفاوت معنی‌داری با تلقیح باکتریایی در افزایش میزان فسفر زیست‌توده میکروبی نداشت. در ارتباط با فعالیت آنزیم‌ها نیز مشاهده می‌شود که تیمار شاهد تلقیح میکروبی بیشترین میزان فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی را به خود اختصاص داد به‌طوری که تلقیح میکوریزی تیمار شاهد افزایش ۵۳/۵۸ درصدی در مقایسه با تیمار بیوچار تلقیح میکروبی نشان داد (شکل ۲- الف). همچنین بالاترین میزان فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در تیمار بیوچار تلقیح باکتریایی مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با تلقیح میکوریزی داشت و افزایش ۲/۶۷ برابری نسبت به تیمار شاهد در هر دو سطح تلقیح داشت (شکل۲- ب). حضور ماده آلی در خاک ریزوسفری و غیرریزوسفری منجر به افزایش معنی‌دار شاخص‌های بیولوژیک ذکر شده به استثنای

جدول ۶ نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل ماده آلی و خاک بر شاخص‌های میکروبی خاک

ماده آلی	خاک	BR	SIR	MBC	MBP
		($mg\ CO_2\text{–}C\ kg^{-1}day^{-1}$)		($mg\ kg^{-1}$)	
PWB	RS	۸۳/۳۳^{a}	۱۲۸/۳۰^{a}	۶۶۰/۳۰^{a}	۲۱/۲۸^{a}
	NRS	۵۳/۰۰^{b}	۹۶/۶۷^{b}	۳۵۸/۹۰^{b}	۱۶/۴۸^{b}
Cont	RS	۴۰/۰۰^{c}	۷۶/۶۷^{c}	۳۴۸/۵۰^{b}	۹/۰۴^{c}
	NRS	۳۰/۰۰^{d}	۵۶/۶۷^{d}	۲۵۲/۱۰^{c}	۶/۵۸^{d}
LSD	–	۳/۵۳	۱۷/۶۷	۹۴/۹۸	۱/۷۱

میانگین‌های داری حروف مشترک بر اساس آزمون دانکن درسطح احتمال پنج درصد اختلاف آماری معنی‌داری ندارند.

BR، SIR، MBC، MBP، PWB، Cont، RS و NRS به‌ترتیب تنفس پایه، تنفس برانگیخته با سوبسترا، کربن زیست‌توده میکروبی، فسفر زیست‌توده میکروبی، بیوچار ضایعات هرس، شاهد بدون ماده آلی، خاک ریزوسفر و غیر ریزوسفر



شکل ۳. مقایسه میانگین اثر متقابل ماده آلی و خاک بر فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی ACP و ALP، PWB، Cont، RS و NRS به‌ترتیب آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی، قلیایی، بیوچار ضایعات هرس، شاهد بدون ماده آلی، خاک ریزوسفر و غیرریزوسفر

آنزیم فسفاتاز اسیدی نسبت به تیمار شاهد در هر دو سطح خاک شد (جدول ۶ و شکل ۳). بیشترین مقدار تنفس پایه و تنفس برانگیخته با سوبسترا در خاک ریزوسفری تیمار بیوچار ضایعات هرس بود که به‌ترتیب ۱/۵۹ و ۱/۵۰برابر نسبت به خاک غیر ریزوسفری افزایش داشت. همچنین بیوچار ضایعات هرس میزان کربن زیست‌توده میکروبی و فسفر زیست‌توده میکروبی را در خاک ریزوسفری نسبت به خاک غیرریزوسفر به‌ترتیب ۴۵/۶۵ و ۵۶/۲۲ درصد افزایش داد. در حالی‌که بالاترین میزان فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی در خاک ریزوسفری تیمار شاهد بود که ۱/۲۶ برابر نسبت به خاک غیر ریزوسفری و ۲/۲۱ برابر در مقایسه با تیمار تلقیح میکروبی در هر دو سطح خاک افزایش داشت (شکل ۳- الف). همچنین نتایج نشان داد که بیوچار ضایعات هرس سبب افزایش (۳۵/۶۲ درصدی) فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در ریزوسفر نسبت به غیرریزوسفر شد و نیز تفاوت معنی‌داری با هر دو سطح خاک تیمار شاهد داشت (شکل ۳- ب). تلقیح میکروبی سبب افزایش شاخص‌های بیولوژیک در خاک ریزوسفر و غیرریزوسفر شدند که این افزایش در خاک ریزوسفری بارزتر بود (جدول ۷ و ۸). به‌طوری که افزایش ۱/۳۱،

جدول ۷. نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل تلقیح میکروبی و خاک بر شاخص‌های میکروبی خاک

تلقیح میکروبی	خاک	BR	SIR	MBC	MBP
		($mg\ CO_2\text{-}C\ kg^{-1}day^{-1}$)		($mg\ kg^{-1}$)	
AMF	RS	۷۰/۰۰^{a}	۱۱۵/۰۰^{a}	۶۱۰/۵۰^{a}	۱۵/۲۶^{a}
	NRS	۵۰/۰۰^{b}	۹۰/۰۰^{b}	۳۵۲/۸۰^{bc}	۱۱/۳۷^{b}
PGPR	RS	۵۳/۳۳^{b}	۹۰/۰۰^{b}	۳۹۸/۴۰^{b}	۱۵/۰۷^{a}
	NRS	۳۵/۰۰^{c}	۶۳/۳۳^{c}	۲۵۸/۲۰^{c}	۱۱/۷۰^{b}
LSD	–	۳/۵۳	۱۷/۶۷	۹۴/۹۸	۱/۷۱

میانگین‌های داری حروف مشترک بر اساس آزمون دانکن درسطح احتمال ۵ درصد اختلاف آماری معنی‌داری ندارند.

BR، SIR، MBC، MBP، AMF، PGPR، RS و NRS به‌ترتیب تنفس پایه، تنفس برانگیخته با سوبسترا، کربن زیست‌توده میکروبی، فسفر زیست‌توده میکروبی، قارچ میکوریز آربوسکولار، باکتری‌های محرک رشد، خاک ریزوسفر و غیرریزوسفر

جدول ۸ مقایسه میانگین اثر متقابل تلقیح میکروبی و خاک بر برخی شاخص‌های میکروبی خاک

تلقیح میکروبی	خاک	ACP	ALP
		($\mu gPNP\ g^{-1}h^{-1}$)	
AMF	RS	۶۰/۹۵^{a}	۸۸/۱۷^{b}
	NRS	۴۳/۵۸^{b}	۶۳/۲۱^{c}
PGPR	RS	۵۶/۲۴^{a}	۹۲/۷۲^{a}
	NRS	۳۹/۴۸^{b}	۵۷/۹۶^{d}
LSD	–	۵/۶۰	۱/۷۱

میانگین‌های داری حروف مشترک بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد اختلاف آماری معنی‌داری ندارند.

AMF، PGPR، RS و NRS به‌ترتیب قارچ میکوریز آربوسکولار، باکتری‌های محرک رشد، خاک ریزوسفر و غیر ریزوسفر

۱/۲۸ برابری و۳۴/۷۴ درصدی تنفس پایه، تنفس برانگیخته با سوبسترا و کربن زیست‌توده میکروبی در خاک ریزوسفری تلقیح میکوریزی نسبت به تلقیح باکتریایی مشاهده شد. در حالی‌که تلقیح میکوریزی و باکتریایی منجر به افزایش ۱/۳۱ برابری فسفر زیست‌توده میکروبی در خاک ریزوسفری در مقایسه با خاک غیرریزوسفر شد. همچنین فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی در هر دو سطح تلقیح در خاک ریزوسفری (۱/۴۱ برابری) فعالیت بیشتری نسبت به خاک غیرریزوسفر داشت. باکتری‌های PGPR در خاک ریزوسفری منجر به افزایش ۲۸/۳۱ درصدی فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در مقایسه با غیرریزوسفر شد که تفاوت معنی داری با تلقیح میکوریزی در هر دو سطح خاک داشت.

بحث

نتایج به‌دست آمده نشان داد که کاربرد بیوچار در خاک به‌همراه تلقیح میکروبی تأثیر بسزایی در افزایش شاخص‌های بیولوژیکی خاک ریزوسفری و غیرریزوسفری داشت و این تأثیر در خاک ریزوسفری در مقایسه با غیرریزوسفر چشمگیر بود. همچنین به‌طورکلی نقش قارچ‌های میکوریزی در افزایش این شاخص‌ها بارزتر از باکتری‌های PGPR بود. بیوچار تهیه شده از چوب می‌تواند فعالیت‌های میکروبی در خاک را با فراهمی کردن

زیستگاه، رطوبت، کربن، منابع لبایل و عناصر مغذی برای میکروارگانیسم‌ها افزایش دهد. همچنین قطر منافذ ۸۰-۲ میکرومتر در بسیاری از بیوچارهای مشتق شده از چوب مشاهده شده است، این محدوده اندازه منافذ می‌تواند فعالیت‌های قارچ‌ها را پشتیبانی کند (۲۴). بنابراین ایجاد چنین خلل و فرج در بیوچار قابل دسترس برای هیف‌های قارچی و باکتری‌ها باعث افزایش فعالیت‌های بیولوژیکی آنها در تعامل با بیوچار می‌شود (۴۹). با توجه به ماهیت بسیار متخلخل، بیوچار ممکن است به‌عنوان پناهگاه از میکروب‌های خاص خاک در مقابل با سایر میکروب‌های تغذیه کننده و رقابت کننده از آنها محافظت می‌کند (۵۵). قارچ‌های AMF درحضور بیوچار سایت‌های کلونیزاسیون ریشه را در ریزوسفر افزایش می‌دهند، که این افزایش کلونیزاسیون ریشه به‌علت افزایش ماده آلی خاک است و با توجه به اینکه ریزوسفر به‌عنوان نقطه داغ فعالیت و اشغال میکروبی است که در مقایسه با خاک غیریزوسفری، جایی که منابع آلی در حد پایینی است، با سطوح بالاتری از عناصر، منبع تأمین کننده عناصر غذایی طی فرآیند فتوسنتز شده و باعث می‌شود محیط مناسبی برای میکروارگانیسم‌ها ایجاد شود و در نهایت منجر بهبود فعالیت‌های بیولوژیک در خاک شود. افزایش کوتاه‌مدت در فعالیت و جمعیت میکروبی همچنین تنفس خاک بلافاصله پس از کاربرد بیوچار به اجزای لبایل مرتبط با بیوچار تازه تهیه شده است (مقایسه بین بیوچار تازه تهیه شده و بیوچار قدیمی‌تر در خاک) (۴۶). این امر به‌ویژه برای بیوچار که از چوب در دمای گرماکافت پایین تهیه می‌شود صادق است که منجر به حفظ طیف گسترده‌ای از ترکیبات شامل قندها و آلدئیدها در سطح خود می‌شود که تأثیراتشان بر رشد میکروبی با گلوکز یکسان است (۴۷). بیوچار ضایعات هرس با C/N بالا می‌تواند در تنفس (پایه و برانگیخته با سوبسترا) مؤثر باشد (جدول ۲). علیزاده و همکاران (۴) گزارش کردند که در ترکیبات آلی با کربن زیاد و نیتروژن کم (C/N بالا) جمعیت میکروبی افزایش یافت و منجر به افزایش تنفس (میکروبی و برانگیخته با سوبسترا) شد. تجادا و گونزالز (۵۴) گزارش کردند که وقتی ماده آلی به‌طور جداگانه به خاک اضافه می‌شود، به‌علت C/N بالا آلی شدن اتفاق می‌افتد، این افزایش در معدنی شدن، زمان لازم برای ماده آلی موجود در کود آلی برای تجزیه شدن و فراهم شدن عناصر تغذیه‌ای را کاهش می‌دهد، بنابراین با افزایش فراهمی مواد آلی، افزایش رشد گیاهان و ریشه آنها میزان جمعیت میکروبی و فعالیت آنها را افزایش داده که به تبع آن میزان تنفس (میکروبی و برانگیخته باسوبسترا) افزایش می‌یابد (۱۷). اربانکوا و همکاران (۵۶) با مطالعه تأثیر بیوچار بر تنفس میکروبی در خاک ریزوسفری و غیرریزوسفری در شرایط رایزوباکس گزارش کردند که بیوچار تأثیر مثبتی بر تنفس میکروبی داشت به‌طوری که افزایش قابل توجهی در مقدار تنفس میکروبی خاک ریزوسفری نسبت به خاک غیرریزوسفری مشاهده شد. با توجه نتایج به‌دست آمده در این پژوهش ارتباط مثبت و بین شاخص‌های بیولوژیک به‌ویژه تنفس و زیست‌توده میکروبی وجود داشت به‌عبارت دیگر با افزایش تنفس خاک، زیست‌توده میکروبی نیز افزایش یافته بود که با نتایج به‌دست آمده توسط شارما و همکاران (۴۵) مطابقت دارد. آنها ارتباط قوی و معنی‌داری بین تنفس خاک با زیست‌توده میکروبی خاک و نیز ماده آلی مشاهده کردند. جین (۲۷) با مطالعه خواص کلونیزاسیون میکروبی بیوچار و تأثیر بیوچار به‌عنوان اصلاح کننده خاک مشاهده کرد که بیوچار در تعامل با قارچ‌های میکوریز آربوسکولار منجر به افزایش فراوانی قارچ‌های میکوریزی شد و کربن زیست‌توده میکروبی در خاک ریزوسفری را نسبت به غیرریزوسفر افزایش داد. همچنین کربن زیست‌توده میکروبی در قارچ‌های میکوریزی بیشتر از باکتری‌ها بود که علت افزایش فعالیت قارچی نسبت به باکتری به‌دلیل بازده رشد بیشتر قارچ‌ها و تجزیه کمتر کربن تجمع یافته در زیست‌توده قارچی بیان شد. زیرا قارچ‌ها با ایجاد شبکه‌های هیفی گسترده قادر به تشکیل پل‌های هیفی بین بیوچار و ریشه گیاه باشند. همچنین دی نیرگارد و مجید (۱۸) گزارش کردند که افزودن مواد آلی منجر به افزایش MBC در خاک ریزوسفر گیاه چاودار نسبت به خاک غیرریزوسفر شد. قارچ‌های

میکوریزی بعد از پایان چرخه زندگی از بین رفته و به کل زیست‌توده میکروبی اضافه می‌شوند، بنابراین اجساد سلولی اضافه شده به خاک ریزوسفری می‌تواند دلیل افزایش کربن زیست‌توده میکروبی بر اثر تلقیح میکوریزی در ریزوسفر باشد (۲). قارچ میکوریز در کشت ذرت، کربن زیست‌توده میکروبی را بیش از دو برابر در خاک ریزوسفری افزایش داد (۳۲). لیو و همکاران (۳۳) با استفاده از شرایط رایزوباکس مشاهده کردند که کربن زیست‌توده میکروبی درخاک ریزوسفری بیشتر از خاک غیرریزوسفر بود. به‌طور کلی فسفر زیست‌توده میکروبی می‌تواند مخزن مهمی برای فسفر محلول از طریق رقابت با گیاهان برای جذب فسفر یا منبع مهمی از فسفر از طریق تأمین قسمتی از فسفر مورد نیاز گیاه باشد. بنابراین فسفر زیست‌توده میکروبی می‌تواند یک مکانیسم حفاظتی فسفر لبایل در خاک‌های با دسترسی پایین فسفر باشد (۱). با افزایش نسبت‌های بیوچار به خاک فسفر زیست‌توده میکروبی خاک افزایش می‌یابد. این افزایش در فسفر زیست‌توده میکروبی را می‌توان به‌طور مستقیم به کربن بالا و قابل دسترس بودن عناصر غذایی بیوچار (۱۱) یا به‌طور غیرمستقیم افزایش فعالیت ریشه گیاه توسط بیوچار نسبت داد (۵). تجدا و همکاران (۵۴) گزارش کردند که تلقیح قارچ‌های حل کننده فسفر و ماده آلی باعث افزایش فسفر زیست‌توده میکروبی در خاک شد. مارشنر و همکاران (۳۷) گزارش کردند که خاک ریزوسفری گندم منجر به افزایش معنی‌دار فسفر زیست‌توده میکروبی نسبت به خاک غیرریزوسفری pH از ۴/۴ تا ۸/۷ شد.

کاهش فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی با افزودن بیوچار به خاک دور از انتظار نبود چرا که خاک مورد مطالعه (جدول ۱) و بیوچار ضایعات هرس مصرفی با pH قلیایی(جدول ۲) برای فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی مناسب بود. بسیاری از تحقیقات گزارش شده که خاکستر بیوچار حاوی کاتیون‌های بازی بوده و منجر به افزایش pH خاک شده است (۵۸). همچنین فسفاتاز اسیدی بیشتر توسط قارچ‌ها ترشح شده و pH مطلوب برای این آنزیم شرایط اسیدی تا خنثی بود و فسفاتاز قلیایی بیشتر توسط باکتری‌ها ترشح شده و در pH > ۷ فعالیت بالاتری دارد (۲۰) که نتایج این تحقیق مؤید این مطلب است. جین و همکاران (۲۸) گزارش کردند که فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی پس از افزودن بیوچار کود دامی کاهش یافت، درحالی که فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی افزایش نشان داد. بررسی نتایج نشان داد که مقدار کاهش فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی در خاک ریزوسفری تیمار بیوچار کمتر از خاک غیرریزوسفری است. بنابراین محیط ریزوسفر اثر اصلاح کننده بر اثر منفی بیوچار بر فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی داشته است. سرعت میکروارگانیسم‌ها در سنتز و آزادسازی فسفاتازها به pH خاک مرتبط است. پایداری و فعالیت فسفاتاز قلیایی با افزایش pH افزایش می‌یابد، به‌طوری که در pH، ۱۱ حداکثر فعالیت را نشان می‌دهد (۵۰). افزایشpH خاک به‌دلیل افزودن بیوچار به خاک باعث افزایش فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در خاک شد (۱۶). در این مطالعه همچنین ارتباط مثبتی و مستقیمی بین میزان فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی با کربن زیست‌توده میکروبی و فسفر زیست‌توده میکروبی مشاهده شد. چنانچه در تأثیر متقابل منابع آلی و خاک مشاهده شد، بیشترین میزان زیست‌توده میکروبی، فسفر میکروبی و فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در تیمار بیوچار بود. مشابه با نتایج به‌دست آمده در این تحقیق، دودور و طباطبایی (۱۹) در تحقیقات خود مشاهده کردند که بین آلکالین فسفاتاز با کربن زیست‌توده میکروبی و فسفر زیست‌توده میکروبی ارتباط معنی‌داری برقرار است. همچنین لیو و همکاران (۳۴) گزارش کرد که باکتری‌های حل کننده فسفر و بیوچار باعث افزایش فسفر زیست‌توده میکروبی و فعالیت آنزیم فسفاتاز شد. احتمالا بیوچار حاوی سوبستراهای قابل دسترس بیشتری برای میکروارگانیسم‌ها بوده که سبب افزایش فعالیت میکروب‌های خاک و به تبع آن افزایش خصوصیات بیولوژیک خاک شده است (۲۳). علاوه بر نقش مواد آلی و تلقیح میکروبی بر میزان شاخص‌های بیولوژیکی خاک، گیاهان نیز ترکیباتی مانند قند و اسیدهای آمینه و ویتأمین‌ها را به ریزوسفر ترشح می‌کنند و باعث اختلاف خاک ریزوسفری و غیرریزوسفری می‌شوند، همچنین به‌واسطه ترشحات ریشه‌ای

سبب افزایش زیست‌توده میکروبی می‌شوند، چرا که ترشحات ریشه‌ای محیط ریزوسفر را به محیطی برای فعالیت میکروبی تبدیل می‌کند و رشد گیاه و تولید متابولیت‌های میکروبی آن را افزایش می‌دهد (۱۰).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان این گونه بیان کرد که استفاده از بیوچار در این مطالعه، خصوصیات بیولوژیکی ریزوسفر را به‌طور چشمگیری تغییر داد و منجر به افزایش خصوصیات بیولوژیکی در خاک آهکی شد. به‌طورکلی بیوچار تأثیر معنی‌داری بر ویژگی‌های بیولوژیکی خاک به استثنای آنزیم فسفاتاز اسیدی دارد که منجر به ایجاد تفاوت بین خاک ریزوسفری و غیرریزوسفری شد که دلیل کاهش فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی، احتمالاً به دلیل افزایش pH خاک توسط بیوچار بوده است. زیرا pH مطلوب برای این آنزیم شرایط اسیدی تا خنثی است. استفاده توأم بیوچار و تلقیح میکروبی سبب افزایش فعالیت‌های بیولوژیکی همانند تنفس، کربن زیست توده میکروبی، فسفر زیست توده میکروبی، فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز در خاک ریزوسفری در مقایسه با خاک غیر ریزوسفری شد. لذا استفاده از مواد آلی اصلاحی همانند بیوچار و استفاده از پتانسیل بیولوژیکی میکروارگانیسم‌ها یکی از مهم‌ترین راه‌های تشدید فعالیت‌های بیولوژیکی و تنوع زیستی در خاک است و منجر به افزایش کیفیت خاک‌های کشاورزی می‌شود. البته لازم است نتایج این مطالعه با انجام آزمایش‌های گلخانه‌ای و مزرعه‌ای با کشت گیاهان مختلف تأیید شود و ارزیابی اقتصادی کاربرد بیوچار در خاک به انجام گیرد.

منابع مورد استفاده

1. Agbenin, J. O. and T. Adeniyi. 2005. The microbial biomass properties of a savanna soil under improved grass and legume pastures in northern Nigeria. *Agriculture Ecosystems and Environment Journal* 109: 245–254.
2. Akça, M. O. and A. Namli. 2015. Effects of poultry litter biochar on soil enzyme activities and tomato, pepper and lettuce plants growth. *Eurasian Journal of Soil Science* 4(3): 203-210.
3. Alef, K. and P. Nannipieri. 1995. Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry. Academic Press, London.
4. Alizadeh, M., M. Chorom and N. Enayatizamir. 2015. Effect of plant residues on soil microbial parameters and some growth characteristics of barley at different levels of soil salinity. *Agriculture Engineering* 38: 14-28 (In Farsi).
5. Anders, E., A. Watzinger, F. Rempt, B. Kitzler, B. Wimmer, F. Zehetner, K. Stahr, S. Zechmeister-Boltenstern and G. Soja. 2013. Biochar affects the structure rather than the total biomass of microbial communities in temperate soils. *Agricultural and Food Science* 22: 404–423.
6. Anderson, J. P. E. 1982. Soil Respiration. PP. 831-872. *In*: A. L. Page et al. (Eds.), Methods of Soil Analysis. 2nd ed. Part 2. American Society of Agronomy, U.S.A.
7. Antonio, S. S., S. A. Jua, J. Margarita, J. Juana and B. Dolores. 2006. Improvement of iron uptake in table grape by addition of humic substances. *Journal of Plant Nutrition* 30(1): 1-7.
8. ASTM standard. 2009. Standard test method for chemical analysis of wood charcoal. American Society for Testing and Materials (ASTM) International: Conshohocken, PA.
9. Bailey, V. L., S. J. Fansler, J. L. Smith and H. Jr. Bolton. 2011. Reconciling apparent variability in effects of biochar amendment on soil enzyme activities by assay optimization. *Soil Biology and Biochemistry* 43: 296–301.
10. Benizri, E., C. Nguyen, S. Piutti, S. Slezack-Deschaumes and L. Philippot. 2007. Additions of maize root mucilage to soil changed the structure of the bacterial community. *Soil Biology and Biochemistry* 39: 1230–1233.
11. Biederman, L. A. and W. S. Harpole. 2012. Biochar and its effects on plant productivity and nutrient cycling: a meta-analysis. *GCB Bioenergy* 5: 202–214.
12. Birk, J. J., C. Steiner, W. C. Teixeira, W. Zech and B. Glaser. 2009. Microbial response to charcoal amendments and

fertilization of a highly weathered tropical soil. PP. 309-324. *In*: W. I. Woods, W. G. Teixeira, J. Lehmann, C. Steiner, A. M. G. A. WinklerPrins and L. Rebellato (Eds.), Amazonian Dark Earths: Wim Sombroek's Vision. Springer, Berlin.

13. Bremner, J.M. and C.S. Mulvaney. 1982. Nitrogen-Total. PP: 595-624. *In:* Page, A. L., Miller, R. H. and D. R. Keeney (Eds.), Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties, American Society of Agronomy, Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin,
14. Brookes, P. C., D. S. Powlson and D. S. Jenkinson. 1982. Measurement of microbial biomass phosphorus in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 14: 319-329.
15. Chapman, H. D. and P. F. Pratt. 1978. PP. 3043. Methods of Analysis for Soils, Plants and Waters. Division of Agricultural Sciences, University of California, Berkeley, USA.
16. Chen, J., X. Liu, J. Zheng, B. Zhang, H. Lu, Z. Chi, G. Pan, L. Li, J. Zheng and X. Zhang. 2013. Biochar soil amendment increased bacterial but decreased fungal gene abundance with shifts in community structure in a slightly acid rice paddy from Southwest China. *Applied Soil Ecology* 71: 33–44.
17. Dehghan Manshadi, H., M. A. Bahmanyar, A. Lakzian and S. Salek Gilani. 2012. Effect Application of Sewage Sludge and Sewage Sludge Enriched with Chemical Fertilizer on the Rate of Organic Carbon, Respiration and Enzyme Activity of Soil under Basil Cultivation, *Journal of Water and Soil* 26(3): 554-562 (In Farsi).
18. De Neergaard, A. and J. Magid. 2001. Influence of the rhizosphere on microbial biomass and recently formed organic matter. *European Journal of Soil Science* 52: 377-384.
19. Dodor, D. E. and M. A. Tabatabai .2003. EFffect of cropping systems on phosphatases in soils. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 166: 7-13.
20. Eivazi, F. and M. A. Tabatabai. 1977. Phosphatase in soils. *Soil Biology and Biochemistry* 9: 167-172.
21. Gee, G. W. and J. W. Bauder. 1986. Physical and mineralogical methods. PP. 383-409. *In*: A. Clute (Eds.), Methods of Soil Analysis, ASA and SSSA, Medison Wisconsin.
22. Gil-Sotres, F., C. Trasar-Cepeda, M. C. Leiros and S. Seoane. 2005. Different approaches to evaluating soil quality using biochemical properties. *Soil Biology and Biochemistry* 37: 877–887.
23. Guenet, B., J. Leloup, X. Raynaud, G. Bardoux and L. Abbadie. 2010. Negative priming matter mineralization in a smectite-rich soil. *Environmental Science and Technology* 45: 9611-9618.
24. Hammer, E. C., Z. Balogh-Brunstad, I. Jakobsen, P. A. Olsson, S. L. S Stipp and M. C. Rillig. 2014. A mycorrhizal fungus grows on biochar and captures phosphorus from its surfaces. *Soil Biology Biochemistry* 77: 252–260.
25. Hartmann, A., M. Schmid, D. Van Tuinen and G. Berg. 2009. Plant-driven selection of microbes. *Plant and Soil* 321: 235-257.
26. Jenkinson, D. S. and J. N. Ladd. 1981. Microbial biomass in soil: measurement and turnover. PP. 415-417. *In*: E. A. Powl and J. N. Ladd (Eds.), Soil Biochemistry. Dekker, New York.
27. Jin, H. Y. 2010. Characterization of microbial life colonizing biochar and biochar-amended soils. PhD. Thesis, Cornell University, Ithaca, USA.
28. Jin, Y., X. Liang, M. He, Y. Liu, G. Tian and J. Shi. 2016. Manure biochar influence upon soil properties, phosphorus distribution and phosphatase activities: a microcosm incubation study. *Chemosphere* 142: 128–135.
29. Kouno, K., J. Wu and P. C. Brooks. 2002. Turnover of biomass C and P in soil following incorporation of glucose or ryegrass. *Soil Biology and Biochemistry* 34: 617-622.
30. Lewandowski, A. and M. Zumwinkle. 1999. Assessing the soil system a review of soil quality litrature, Minnesota department of agriculture, energy and sustainable agriculture program. Minnesota department of agriculture: St Paul. Avalaible online at: http://www.mda.state.mn.us/. June, 1999.
31. Liang. Y., M. Nikolic, Y. Peng, W. Chen and Y. Jiang. 2005. Organic manure stimulates biological activity and barley growth in soil subject to secondary salinization. *Soil Biology and Biochemistry* 37: 1185–1195.
32. Li, H., X. Li, Z. Dou and J. Zhang. 2012. Earthworm (*Aporrectodea trapezoides*)–mycorrhiza (*Glomus intraradices*) interaction and nitrogen and phosphorus uptake by maize, *Biology and Fertility of Soils* 48: 75–85.
33. Liu, D., Sh. Fang, Y. Tian and X. Dun. 2012. Variation inrhizosphere soil microbial index of tree species on seasonal floodingland: An in situ rhizobox approach. *Soil Ecology* 59: 1– 11.
34. Liu, S., J. Meng, L. Jiang, X. Yang, Y.Lan, X. Cheng and W. Chen. 2017. Rice husk biochar impacts soil

phosphorous availability, phosphatase activities and bacterial community characteristics in three different soil types. *Soil Ecology* 116:12-22.

35. Liu, X., J. Zheng, D. Zhang, K. Cheng, H. Zhou, A. Zhang, L. Li, S. Joseph, P. Smith, D. Crowley, Y. Kuzyakov and G. Pan. 2016. Biochar has no effect on soil respiration across Chinese agricultural soils. *Science of The Total Environment* 554: 259–265.
36. Luo, Y. and X. Zhou.2006. Soil Respiration and the Environment. Academic Press, San Diego.
37. Marschner, P., Z. M. Solaiman and Z. Rengel. 2005. Growth phosphorus uptake and rhizosphere microbial community composition of a phosphorus-efficient wheat cultivar in soils differing in pH. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 168: 343-351.
38. Marschner, P., Z. Solaiman and Z. Rengel. 2007. Brassica genotypes differ in growth, phosphorus uptake and rhizosphere properties under P-limiting conditions. *Soil Biology and Biochemistry* 39: 87-98.
39. Mishra, R. R. 2007. Soil Microbiology. PP. 179. Translated by: A. Fallah, H. Besharati and H. Khosravi, Aeeizh Publisher (In Farsi).
40. Nelson, D.W. and L.E. Sommers. 1982. Total carbon, organic carbon, and organic matter. PP. 539-580. *In:* Page, A. L., Miller R. H. and Keeney, D. R. (Eds.), Methods of Soil Analysis. Part II, 2nd ed. American Society of Agronomy, Madison, USA.
41. Olsen, S. R., C. V. Cole, F. S. Watanabe and L. A. Dean. 1954. Estimation of Available Phosphorus in Soils by Extracting with sSodium Bicarbonate. USDA Cric. 939. U. S. Gov. Print. Office, Washington, DC.
42. Quiquampoix, H. and D. Mousain. 2005. Enzymatic hydrolysis of organic phosphorus. PP. 89-112. *In*: B. L. Turner, E. Frossard and D. S. Baldwin (Eds.), Organic phosphorous in the environment. CABI, Wallingford, UK.
43. Rajkovich, S., A. Enders, K. Hanley, C. Hyland, A. R. Zimmerman and J. Lehmann. 2011. Corn growth and nitrogen nutrition after additions of biochars with varying properties to a temperate soil. *Biology and Fertility of Soils* 48(3): 271-284.
44. Roberts, G. K., B. A. Gloy, S. Joseph, N. R. Scott and J. Lehmann. 2010. Life cycle assessment of biochar system: estimating the enegetic, economic, and climate change potential. *Environmental Science and Technology* 44: 827-833.
45. Sharma, C. M., N. P. Baduni, S. Gairola, S. K. Ghildiyal and S. Suyal. 2010. Tree diversity and carbon stocks of some major forest types of Garhwal Himalaya, India. *Forest Ecology and Management* 260: 2170-2179.
46. Smith, J. L., H. P. Collins and V. L. Bailey. 2010. Th e effect of young biochar on soil respiration. *Soil Biology and Biochemistry* 42: 2345–2347.
47. Steiner, C., W. G. Teixeira, J. Lehmann and W. Zech. 2004. Microbial Response to Charcoal Amendments of Highly Weathered Soils and Amazonian Dark Earths in Central Amazonia Preliminary Results. Springer Verlag: Heidelberg.
48. Singh, H. P., D. R. Batish and R. K. Kohli. 2003. Allelopathic interactions and allelochemicals: new possibilities or sustainable weed management. *Critical Review of Plant Science* 22: 239-311.
49. Swift, M. J., O. W. Heal and J. M. Anderson. 1979. Decomposition in Terrestrial Ecosystems. University of California Press, Berkeley.
50. Tabatabai, M. A. 1994. Soil enzymes. PP. 775-833. *In*: R. W. Weaver, J. S. Angle and P. S. Bottomley (Eds.), Methods of Soil Analysis. Part 2 – Microbiologicaland Biochemical Properties. Soil Science Society of America and American Society of Agronomy, Madison, WI, US.
51. Tabatabai, M. A. and J. M. Bremner. 1969. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biology and Biochemistry* 1: 301-307
52. Tandon, H. L. S. 1998. Methods of Analysis of Soils, Plants, Waters and Fertilizers. Fertilizers Development and Consultancy Organization, New Dehli.
53. Tarafdar, J. C. and A. Jungk. 1987. Phosphatase activity in the rhizosphere and its relation to the depletion of soil organic phosphorus. *Biology and Fertility of Soils* 3: 199-204.
54. Tejada, M. and J. L. Gonzalez. 2006. Crushed cotton gin compost on soil biological properties and rice yield. *European Journal of Agronomy* 25: 22–29.
55. Thies, J. E. and M. C. Rillig. 2009. Characteristics of biochar: biological properties. PP. 85-105. *In*: J. Lehmann and

S. Joseph (Eds.), Biochar for Environmental Management: Science and Technology. Earthscan, London, UK.
56. Urbankova, O., J. ELBL and J. Zahora. 2014. The effects of biochar on soil respiration in rhizosphere and non-rhizosphere soil. *Mendel Net* 326-329.
57. Vig, K., M. Megharaj, N. Sthunathan and R. Naidu. 2003. Bioavailability and toxicity of cadmium to microorganisms and their activities in soil: a review. *Advances in Environmental Research* 8: 121-135.
58. Yuan, J. H., R. K. Xu and H. Zhang. 2011. The forms of alkalis in the biochar produced from crop residues at different temperatures. *Bioresour Technology* 102: 3488–3497.

Journal of Water and Soil Science (Science and Technology of Agriculture and Natural Resources)
Vol. 23, No. 1, Spring 2019, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.

The Effect of Fruit Trees Pruning Waste Biochar on some Soil Biological Properties under Rhizobox Conditions

R. Vahedi, M. H. Rasouli Sadaghiani and M. Barin[1*]

(Received: September 20-2017 ; Accepted: May 27-2018)

Abstract

The pyrolysis of fruit trees Pruning waste to be converted to biochar with microbial inoculation is a strategy improving the biological properties in calcareous soils. In order to investigate the biochar effect on some soil biological properties of the soil in the presence of microorganisms, a factorial experiment was carried out in a completely randomized design in the rhizobox under greenhouse condition. The factors included organic matter (pruning waste biochar and control), microbial inoculation (arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting rhizobacteria) and soil (rhizosphere and non-rhizosphere). After the end of the wheat plant growth period, microbial respiration (BR), Substrate-induced respiration (SIR), microbial biomass carbon (MBC), microbial biomass phosphorus (MBP), acid phosphatase (ACP) and alkaline phosphatase (ALP) enzymes in the rhizosphere soil and non-rhizosphere soil were determined. The results showed that the biochar and microbial inoculation application increased BR, SIR, MBC, MBP and ALP and decreased ACP, as compared to the control. So, the highest increase in the value of BR, SIR and MBC was related to mycorrhizal inoculation with biochar. An increase of 2.67 fold of ACP activity was observed in the treatment of bacterial inoculation with Biochar, as compared to the control treatment. Also, pruning waste biochar increased the amounts of MBC, MBP and ALP by 45.62%, 56.22% and 62.6% in the rhizosphere soil rather than non-rhizosphere soil, respectively. Microbial inoculation led to the increase of 1.31 and 1.41 folds by MBP and ACP in the rhizosphere soil, as compared with non-rhizosphere soil. Bacterial inoculation in the rhizosphere soil increased the ACP enzyme activity (28.31%), as compared with non-rhizosphere soil. It could be concluded that application of biochar in the conditions of microbial inoculation improved the soil biological properties.

Keywords: Pyrolysis, Microbial activity, Rhizobox

1. Department of Soil Science, Faculty of Agricultvre, Urmia University, Urmia, Iran.
*: Corresponding Author, Email: m.barin@urmia.ac.ir