تحقیقات آب و خاک ایران، دورهٔ ۴۷، شمارهٔ ۴، زمستان ۱۳۹۵ (ص ۸۰۵-۷۹۷)

بهبودپذیری نفوذ آب در یک خاک حساس به فرسایش در شرایط آزمایشگاهی از طریق افزایش مصنوعی جمعیّت ریزموجودات خاک‌زی

سیّد حمیدرضا صادقی[1*] ، حسین خیرفام[2]،مهدی همایی[3]، بهروز زارعی دارکی[4]

۱. استاد گروه مهندسی آبخیزداری، دانشگاه تربیت مدرّس، دانشکده منابع طبیعی، مازندران

۲. دانش آموخته گروه مهندسی آبخیزداری، دانشگاه تربیت مدرّس، دانشکده منابع طبیعی، مازندران

۳. استاد گروه خاک‌شناسی، دانشگاه تربیت مدرّس، دانشکده کشاورزی

۴. استادیار گروه زیست‌شناسی دریا، دانشگاه تربیت مدرّس، دانشکده علوم دریایی، مازندران

(تاریخ دریافت : ۱۳۹۵/۱/۲۱- تاریخ تصویب : ۱۳۹۵/۳/۱۲)

چکیده

ویژگی‌های تولید رواناب یکی از مهم‌ترین مؤلفه‌های هیدرولوژیکی و نمایان‌گر وضعیت آبخیزها می‌باشد. هم‌چنین نفوذ آب در خاک یکی از مؤلفه‌های خاکی مهم تعیین‌کننده تولید رواناب بوده که راه‌کارهای متعددی برای بهبود آن مورد استفاده و بررسی قرار گرفته، ولی نقش افزایش جمعیت ریزموجودات خاک‌زی با هدف بهبود مقدار نفوذ آب در خاک کمتر مورد توجه قرار گرفته است. لذا در پژوهش حاضر سعی شد تأثیر افزایش مصنوعی جمعیت باکتری‌های خاک به عنوان راه‌کاری کاملاً زیستی و نوین در بهبود ویژگی‌های نفوذپذیری خاک مورد ارزیابی قرار گیرد. بر همین اساس، ضمن نمونه‌برداری از یک خاک حساس به فرسایش از منطقه مرزن‌آباد-کندلوس، باکتری‌های مفید خاک شامل گروه *Bacillus subtilis* و *Azotobacter* sp. جداسازی و به‌همراه ماده‌ی غذایی محرّک B4 به‌صورت جداگانه و ترکیبی روی فلوم‌های کوچک فرسایشی تلقیح شدند. با گذشت ۶۰ روز از تلقیح، مقدار نفوذ آب در خاک پس از شبیه‌سازی باران در شرایط آزمایشگاهی اندازه‌گیری شده و تجزیه و تحلیل‌های آماری صورت گرفت. نتایج نشان داد که تمام تیمارهای تلقیحی جداگانه باکتری‌های گروه *Bacillus subtilis* و *Azotobacter* sp.، ماده‌ی غذایی محرّک B4 و ترکیبی باکتری‌ها با ماده‌ی غذایی محرّک B4 در سطح اطمینان ۹۹ درصد باعث افزایش نفوذ آب در خاک و طبعاً کاهش حجم و ضریب رواناب نسبت به تیمار شاهد شدند. تیمارهای تلقیح جداگانه باکتری‌های گروه *Bacillus subtilis* و *Azotobacter* sp.، ماده غذایی B4 و ترکیبی آن‌ها به‌ترتیب منجر به افزایش ۱۸، ۱۰ و ۲۱ درصدی نفوذ آب در خاک شدند. نتایج پژوهش فعلی ضمن تأیید نقش غنی‌سازی جمعیت باکتریایی سطح خاک از طریق تلقیح و تحریک باکتری‌ها در افزایش نفوذ، نشان داد که تلقیح ترکیبی باکتری با ماده حمایتی محرّک و غذایی بهترین عملکرد در افزایش نفوذ آب در خاک مورد مطالعه را داشت.

واژه‌های کلیدی: اصلاح کننده‌های زیستی، اکوهیدرولوژی، تخریب اراضی، حفاظت آب و خاک.

مقدمه

تولید بیش از حد رواناب در سطوح دامنه‌ها از فرآیندهای هیدرولوژیکی چالش برانگیز در بوم‌سازگان‌ها بوده و فرسایش کمّی و کیفی خاک، سیل و در نهایت تخریب اراضی را در پی دارد (Kheirfam and Vafakhah, 2015; Sadeghi *et al.*, 2015b). با این حال ویژگی‌های سطحی و میزان قابلیت نفوذ آب در خاک از مهم‌ترین عوامل مؤثر در رفتار هیدرولوژیکی دامنه‌ها می‌باشند (Kavian *et al.*, 2014). راه‌کارهای متعددی به‌منظور افزایش نفوذپذیری خاک و در نتیجه کاهش رواناب سطحی ارائه و اجرا شده است (Lee *et al.*, 2010). امروزه افزودنی‌ها و اصلاح کننده‌های شیمیایی (Sojka *et al.*, 2007)، آلی (Sadeghi *et al.*, 2015a)، و انواع پلیمرهای مهندسی شده (Awad *et al.*, 2012) با هدف بهبود ویژگی‌ها و پاسخ هیدرولوژیکی خاک استفاده شده است. با این حال، کاربرد آن‌ها به‌سبب محدودیت‌های دسترسی، هزینه و زمان‌بر بودن، ناپایداری و بعضاً اثرات سوء محیط زیستی به چالش کشیده شده است (Blanco and Lal, 2008; Epelde *et al.*, 2013; Rossi *et al.*, 2015).

لذا بهره‌گیری از راه‌کارهایی با ماهیت کاملاً زیستی و سازگار با محیط خاک به‌منظور رفع محدودیت‌ها مترتب بر

* نویسنده مسئول : Sadeghi@modares.ac.ir

افزودنی‌ها و اصلاح‌کننده‌های متداول در اصلاح ویژگی‌های سطحی خاک و در نتیجه افزایش قابلیت نفوذ آب در آن ضروری است. از طرفی اخیراً رابطه مستقیم و معنی‌دار بین غنای ریزموجودات سطح خاک با ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک تأیید شده است (Chamizo *et al*., 2012; Umer and Rajab, 2012) به‌گونه‌ای که افزایش تخلخل (Miralles *et al*., 2011)، ظرفیت نگه‌داشت آب (Chamizo *et al*., 2011) و بهبود پایداری خاک (Strauss *et al*., 2012) در دامنه‌های با خاک سطحی غنی از ریزموجودات خاک‌زی گزارش شده است. امّا با این حال، نه تنها خاک‌های سطحی و غنی از ریزموجودات خاک‌زی در مناطق حساس به فرسایش تخریب یافته (Veum *et al*., 2014)، بلکه به سبب ایجاد سله در سطوح خاک، میزان نفوذ آب در خاک دامنه‌ها نیز به‌شدّت کاهش می‌یابد (Hillel, 2003).

لذا اخیراً احیاء دامنه‌های تخریب یافته از طریق ترزیق مواد غذایی برای تحریک ریزموجودات خاک‌زی (Valencia *et al*., 2014)، انتقال خاک‌های غنی از ریزموجودات به مناطق با خاک تخریب شده و جایگزینی با آن (Zhao *et al*., 2014) و هم‌چنین تلقیح مستقیم ریزموجودات مفید بر سطوح دامنه‌ها (Wang *et al*., 2009) با هدف بهبود ویژگی‌های سطحی خاک مطرح شده است. در این بین، با توجه به موفقیت‌آمیز بودن تلقیح ریزموجودات به اطراف ریشه برای تحریک رشد گیاهان از طریق بهبود شرایط محیط خاک (Maqubela *et al*., 2012)، عدم دست‌خوردگی در خاک و اقتصادی بودن (Rossi *et al*., 2015)، تلقیح ریزموجودات خاک‌زی به‌ویژه باکتری‌های مفید در سطوح گسترده و بدون پوشش گیاهی برای احیاء خاک‌های تخریب یافته، بیش‌تر مورد توجه قرار گرفته است (Sears and Prithiviraj, 2012).

در این راستا، Wang *et al*. (2009) افزایش جمعیت سیانوباکترها و جلبک‌های پوسته‌ی زیستی خاک در سال دوم پس از تلقیح را تا ۴۸ درصد نسبت به شرایط بدون تلقیح گزارش کردند. هم‌چنین Rodríguez-Caballero *et al*. (2013) نقش پوسته‌های زیستی با غالبیت گلسنگ در کاهش تولید رواناب در سطح دامنه را تأیید کردند. با این حال، بر اساس نتایج پژوهش Zhao and Xu (2013) میزان رواناب در دامنه‌های با خاک غنی از گلسنگ‌ها و خزه‌ها ۱۱/۳ درصد افزایش یافت. نتایج Belnap *et al*. (2013) نشان داد که ضریب رواناب در پوسته‌های فقیر و غنی از ریزموجودات خاک‌زی به‌ترتیب ۵۰ و ۱۰ درصد بود. از طرفی دیگر Deng *et al*. (2015) نشان دادند که ترشحات پلی‌ساکاریدی باکتری‌ها تحت شرایط شبیه‌سازی باعث افزایش حفظ آب در خاک در مقیاس منفذ شد. در این راستا، Powell *et al*. (2015) معتقدند که برخی ریزموجودات خاک‌زی توانایی جذب آب و رطوبت تا ۱۲ برابر وزن خشک (یا ۱۰ برابر حجم خود) و انتشار تدریجی آن را دارند. اخیراً نیز Rashid *et al*. (2016) ضرورت اصلاح خاک‌های تخریب یافته از طریق تلقیح باکتری‌ها و قارچ‌ها در سطوح گسترده را توصیه کرده‌اند. هم‌چنین Kheirfam *et al*. (2014) در یک مطالعه‌ی مروری نقش ریزموجودات خاک‌زی در مهار رواناب و هدررفت خاک را تأیید کردند.

با این حال، افزایش نفوذ آب در خاک در دامنه‌ها با تراکم متوسط گلسنگ‌ها توسط Kidron *et al*. (2012) تأیید شده است. هم‌چنین افزایش دو برابری سرعت نفوذ رواناب در خاک‌های با سطحی غنی از ریزموجودات نسبت به خاک‌های فقیر توسط Kakeh *et al*. (2014) گزارش شده است. در صورتی که یافته‌های Valencia *et al*. (2014) حاکی از کاهش ۶۰ درصدی نفوذپذیری خاک در اثر تزریق ماده غذایی محرّک ریزموجودات خاک‌زی بود.

پیشینه پژوهشی حاکی از آن است که محدودیت‌های متعدد مترتب بر افزودنی‌ها و اصلاح‌کننده‌های خاک، استفاده از جایگزین‌های زیستی را ضروری کرده است. هم‌چنین نقش سطوح خاکی غنی از ریزموجودات در افزایش نفوذ و کاهش حجم رواناب‌های سطحی دامنه‌ها تأیید شده است. با این حال، غنای کم زیستی دامنه‌های تخریب یافته و حساس به فرسایش از یک سو و مساحت قابل توجه آن‌ها در کشور از سوی دیگر، غنی‌سازی خاک سطحی دامنه‌ها با هدف افزایش قابلیت نفوذ آب در خاک را اجتناب‌ناپذیر کرده است. بر همین اساس، پژوهش حاضر با هدف افزایش قابلیت نفوذ آب در خاک حساس به تخریب از طریق غنی‌سازی سطح خاک با تلقیح مستقیم باکتری‌ها در مقیاس فلوم و تحت باران شبیه‌سازی شده در شرایط آزمایشگاهی برنامه‌ریزی شد. هم‌چنین امکان تحریک پذیری باکتری‌های خاک نیز از طریق تزریق یک ماده غذایی محرّک نیز به‌صورت جداگانه و ترکیب با باکتری‌های تلقیحی مورد بررسی قرار گرفت. لذا، سه تیمار جداگانه و ترکیبی تلقیح باکتری و ماده غذایی محرّک با طول دوره آزمایش ۶۰ روزه برنامه‌ریزی شد. خاک مورد مطالعه برای پژوهش از منطقه حساس به فرسایش و تخریب‌پذیر مرزن‌آباد-کندلوس تهیه و فرآیند شبیه‌سازی نیز در آزمایشگاه شبیه‌ساز باران و فرسایش دانشگاه تربیت مدرس انجام شد.

مواد و روش‌ها

منطقه نمونه‌برداری از خاک

پژوهش حاضر روی یک نمونه خاک تهیه شده از یک واحد هیدرولوژیک آبخیز رودخانه‌ی چالوس واقع در غرب استان مازندران، جنوب شهرستان نوشهر و از توابع بخش کجور انجام شد. وجود تشکیلات و خاک حساس، نفوذپذیری کم و تولید رواناب و در نتیجه تولید رسوب بالا از ویژگی‌های حاکم بر منطقه می‌باشد (Fonon Ab Hasti Consulting Engineers، ۲۰۱۱). بافت خاک منطقه از نوع رسی-سیلتی-لومی بوده و دارای رژیم رطوبتی زریک و حرارتی مزیک می‌باشد.

روش پژوهش

پس از برداشت حجمی خاک، نمونه‌برداری از خاک سطحی (صفر تا پنج سانتی‌متری) برای جداسازی و شناسایی باکتری های خاک مطابق با روش پیشنهادی Chamizo *et al*., (2011, 2012) انجام شد. پس از انتقال به آزمایشگاه میکروبیولوژی، نمونه‌های خاک برای کشت باکتری‌ها آماده شد. سپس یک گرم خاک در لوله‌های آزمایش سانتریفیوژ شده و با استفاده از روش سری رقت[1] (Cappuccino and Sherman, 2007) به ظرف‌های پتری منتقل و اقدام به جداسازی باکتری‌های خاک با محیط کشت عمومی Nutrient Agar (Lutton *et al*., 2013) شد. کلونی‌های تشکیل شده در ظرف‌های پتری، روی لام‌های شمارش منتقل، رنگ‌آمیزی گرم[2] شده و اقدام به شناسایی باکتری‌ها در حد جنس زیر میکروسکوپ نوری و با استفاده از ویژگی‌های ریخت‌شناسی شد (Abrusci *et al*., 2005). هرچند استفاده از روش‌های توالی‌یابی دقت بالایی در شناسایی باکتری‌ها در حد گونه را نیز دارد ولی در پژوهش حاضر به‌سبب جلوگیری از کاهش تنوع گونه‌ای در خاک غنی‌سازی شده از باکتری‌ها در حد جنس (Abrusci *et al*., 2005) استفاده شد. هم‌چنین از آن‌جایی که در مرحله دوم پس از جداسازی تمام باکتری‌ها از محیط کشت‌های اختصاصی برای جداسازی باکتری‌های مفید انتخاب شده استفاده شد و باکتری‌های مورد نظر در محیط کشت‌های اختصاصی خود جداسازی شدند، و شناسایی باکتری‌های مذکور با استفاده از رنگ‌آمیزی گرم و میکروسکوپ نوری نیز تأیید شد. از بین باکتری‌های شناسایی شده، باکتری‌های *Azotobacter* sp. و *Bacillus* sp. بر اساس معیارهایی از قبیل توانایی ترشح پلی‌ساکارید، سیستم تغذیه‌ای مستقل، دوست‌دار محیط زیست و ایجاد شرایط محیطی مناسب در قابلیت نفوذ آب در خاک برای فرآیند تلقیح انتخاب شدند. باکتری‌های *Bacillus sp.* ۲۵ درصد جمعیت باکتریایی خاک را تشکیل داده که بر اساس تقسیم‌بندی به‌صورت دو گروه عمده *Bacillus cereus* و *Bacillus subtilis* در خاک حضور دارند. گروه *Bacillus cereus* عامل بیماری‌های انسانی بوده در حالی که گروه *Bacillus subtilis* (نه گونه *Bacillus subtilis*) نه‌تنها بیماری‌زا نبوده بلکه به‌سبب ترشح قابل توجه پلی‌ساکارید به‌عنوان پادشاه تولیدکننده پلی‌ساکارید شناخته می‌شوند (Höper *et al*., 2005). در نهایت باکتری‌های انتخاب شده با استفاده از محیط‌های کشت اختصاصی منحصر به خود (محیط کشت Azotobacter Agar, Modified II برای *Azotobacter* sp. و محیط کشت DSMZ1 برای گروه *Bacillus* subtilis)، خالص‌سازی شده (Atlas, 2010) و به محیط غذایی مایع Luria Broth منتقل و اقدام به تکثیر $۱۰^{۱۲}$ عدد سلول در لیتر شدند. فرآیند شمارش باکتری‌ها نیز با استفاده از سه روش تعداد کلونی‌ها، میکروسکوپی و هم‌چنین روش جذب نوری انجام شد (Awad *et al*., 2011). از طرفی ماده محرّک غذایی به نام B4 نیز با انحلال ۱۵ گرم بر لیتر استات کلسیم، چهار گرم بر لیتر عصاره‌ی مخمر و پنج گرم بر لیتر دکستروز و با pH برابر هشت تهیه شد (Valencia *et al*., 2014).

پس از آماده‌سازی و تهیه نیم لیتر به‌ازای هر فلوم از باکتری‌ها و ماده محرّک غذایی، فلوم‌های مکعبی آزمایش با طول، عرض و ارتفاع به‌ترتیب ۰/۵، ۰/۵، ۰/۵ متر مطابق با روش کار پیشنهادی Sadeghi *et al*. (2015b) آماده شد. بدین منظور، ابتدا خاک هواخشک شده و از الک هشت میلی‌متری تا زیر سطح دو سانتی‌متری خاک و از الک سه میلی‌متری برای سطح دو سانتی‌متری بالای خاک برای حداکثر تشابه با حالت طبیعی عبور داده شد (Sadeghi *et al*., 2015b). سپس تا عمق ۳۵ تا ۴۰ سانتی‌متر فلوم‌ها از پوکه معدنی پر شده و خاک به ضخامت حدود ۱۳ سانتی‌متر در بخش بالایی فلوم‌ها قرار داده شد. سپس کوبیدگی لازم توسط غلطک تا رسیدن به جرم مخصوص ظاهری نمونه‌ی خاک دست‌نخورده‌ی منطقه مورد مطالعه (بین ۱/۱۲ تا ۱/۱۵ گرم بر سانتی‌متر مکعب) انجام گرفت. پس از این مرحله، به‌منظور تأمین شرایط رطوبت پیشین خاک و متناسب با شرایط طبیعی، حدود ۲۴ ساعت تحت شرایط اشباع قرار گرفته و سپس به‌مدّت ۲۴ ساعت دیگر رها شد تا به‌حالت شرایط رطوبتی مزرعه برسد. در نهایت نیم لیتر از مواد تلقیحی به‌ازای هر فلوم به‌صورت تلقیح جداگانه باکتری‌های گروه *Bacillus subtilis* و *Azotobacter* sp. (مجموعاً $۰/۵ \times ۱۰^{۱۲}$

1. Serial Dilution
2. Gram Stain

عدد باکتری) باهم‌دیگر، تزریق جداگانه ماده‌ی غذایی محرّک B4 و تلقیح ترکیبی باکتری‌ها با ماده‌ی غذایی محرّک B4 ($۱۰^{۱۲}$ × ۰/۲۵ عدد باکتری با ۲۵۰ میلی‌لیتر ماده B4) با روش اسپری رو خاک فلوم‌ها به‌صورت یک‌نواخت اضافه شد. حجم مواد تلقیحی به‌مقداری تعیین شد که ماده تلقیحی تا عمق حداقل یک سانتی‌متری از سطح خاک نفوذ کند. هم‌چنین برای یکسان‌سازی شرایط برای تمام تیمارها، به تیمار شاهد نیز نیم لیتر آب اسپری شد. پس از تلقیح تمیارها نیز به‌منظور حداکثر تشابه بین شرایط طبیعی و آزمایشگاهی، فلوم‌ها در محیط رو باز و طبیعی قرار گرفت.

آزمایش و شبیه‌سازی باران نیز بر اساس برنامه‌ی زمانی تعریف شده برای هر یک از تیمارها پس از ۶۰ روز تلقیح هم زمان، جداگانه و ترکیبی باکتری‌ها و تزریق ماده غذایی آلی محرّک B4 و هم‌چنین تیمار شاهد انجام شد. برای این منظور، شدّت بارندگی حدود ۵۰ میلی‌متر بر ساعت بر اساس منحنی های شدّت-مدّت-فراوانی ایستگاه باران‌نگاری کجور به‌عنوان نزدیک‌ترین ایستگاه هواشناسی به منطقه مورد مطالعه تعیین شد. مدّت زمان بارش نیز ۱۰۰ دقیقه مدّ نظر قرار گرفت. لذا در هر سری فرآیند شبیه‌سازی باران، فلوم‌ها روی سطوح شیب‌دار و متناسب با شیب طبیعی و متوسط منطقه (حدوداً ۲۵ درصد) و در محوطه آزمایشگاه شبیه‌ساز باران و فرسایش دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تربیت مدرّس قرار داده شدند. برای انجام فرآیند آزمایش از شبیه‌ساز باران با ارتفاع چهار متر و مجهز به دو نازل استاندارد استفاده شد. میزان قطر، سرعت برخورد و زاویه‌ی برخورد قطرات باران مورد نظر نیز به ازای هر بار آزمایش و به ترتیب حدود دو میلی‌متر، هفت متر بر ثانیه و ۹۰ درجه تنظیم شد (Sadeghi *et al*., 2013). در حین اجرای آزمایش، حجم و ضریب رواناب و میزان نفوذ آب در خاک فلوم‌ها پس از شروع شبیه‌سازی باران هر دو دقیقه یک بار و در انتهای آزمایش با استفاده از روش بیلان، اختلاف بارش ورودی و رواناب خروجی از فلوم‌ها اندازه‌گیری شد.

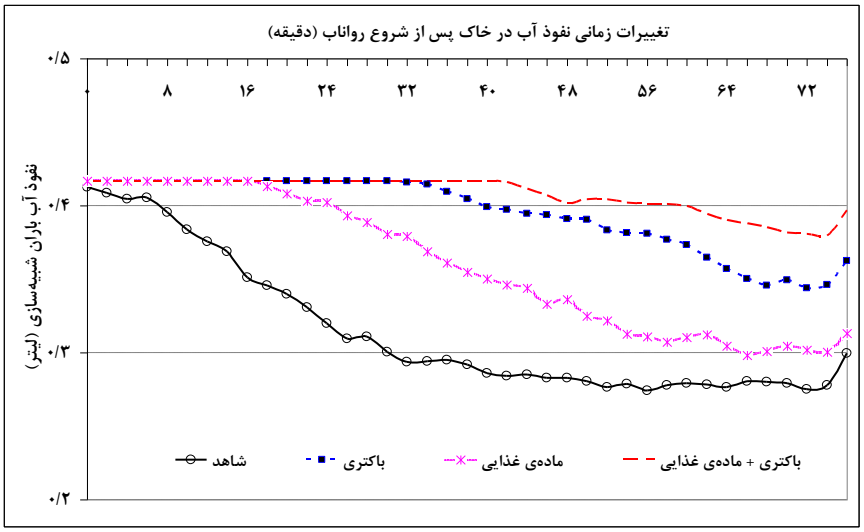
تجزیه و تحلیل‌های آماری

در نهایت پس از اجرای تمام آزمایش‌ها، بانک اطلاعاتی در محیط نرم‌افزار Excel 2010 برای تجزیه و تحلیل تشکیل شد. به‌منظور انجام مقایسه‌های آماری، ابتدا نرمال بودن داده‌ها و همگنی واریانس‌ها به‌ترتیب با استفاده از آزمون Shapiro-Wilk و Levene بررسی شد (Ghasemi and Zahediasl, 2012). پس از برقراری شرط‌های مطروحه، مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون Tukey بررسی شد. تجزیه واریانس یک طرفه (One Way ANOVA) نیز برای بررسی اثرات یک‌جانبه و انتخاب بهترین تیمار یا تیمارها (Bihamta and Zare Chahouki, 2015) استفاده شد. آزمون‌های آماری فوق برای تجزیه و تحلیل داده‌ها در محیط نرم‌افزار SPSS 19 انجام شد.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج به‌دست آمده، جمعیت باکتری‌های خاک منطقه مورد مطالعه تقریباً $۷/۶×۱۰^{۴}$ عدد در یک گرم خاک شمارش شد. هر چند منطقه برداشت خاک (جاده مرزن‌آباد-کندلوس) در شمال کشور قرار دارد، ولی شایان ذکر است که منطقه مذکور دارای خاکی بسیار حساس، مارنی، با پوشش گیاهی کم تراکم، پوشش گیاهی از نوع درختان زربین بوده و به‌ندرت پوشش علفی (در دشت‌ها) قابل مشاهده است. منطقه مذکور دارای خاکی کاملاً متفاوت از خاک سایر مناطق شمال بوده و به‌گونه‌ای که میزان کربن آلی و نیتروژن خاک منطقه مذکور بسیار کم و به‌ترتیب ۰/۱۸ و ۰/۱۱ درصد بوده و باعث شده است که خاک منطقه در گروه خاک فقیر تقسیم‌بندی شود. به‌همین سبب جمعیت ریزموجودات خاک‌زی آن نیز بسیار کم‌تر بود. از طرفی برای شمارش باکتری‌های خاک منطقه علاوه بر روش سری رقت (پلیت) از روش جذب نوری (اسپکتوفتومتر) نیز استفاده شد که تقریباً مشابه (کمی بیش‌تر) شمارش شد. با این حال، با تلقیح تقریباً $۱۰^{۱۱}$ × ۵ و $۱۰^{۱۱}$ عدد باکتری به فلوم‌ها به‌ترتیب به‌صورت جداگانه و ترکیبی با ماده محرّک غذایی، افزایش جمعیت باکتریایی در یک گرم خاک در روز اول تلقیح به‌ترتیب به تعداد $۱۰^{۸}$ × ۲ و $۱۰^{۸}$ عدد رسید. در این راستا Vieira and Nahas (2005) جمعیت باکتریایی خاک‌های غنی را $۱۰^{۷}$ تا $۱۰^{۹}$ عدد در یک گرم خاک گزارش کرده است. بر این اساس، جمعیت باکتریایی خاک مورد مطالعه پس از فرآیند تلقیح، شرایط خاک‌های غنی را داشت.از طرفی در حین و پس از انجام فرآیند شبیه‌سازی باران روی فلوم‌ها، تغییرات نفوذ رواناب در بازه‌های زمانی دو دقیقه‌ای و مقادیر اندازه‌گیری در کل مدّت شبیه‌سازی در شکل (۱) و جدول‌های (۱) و (۲) ارائه شده است. بر اساس شدّت بارندگی ۵۰ میلی‌متر بر ساعت، مساحت ۰/۲۵ مترمربعی فلوم‌ها و هم‌چنین بازه‌های زمانی دو دقیقه‌ای، میزان نفوذ آب در خاک تا قبل از آغاز رواناب در هر یکی از فلوم‌ها ۰/۴۱۶ لیتر در دو دقیقه بود. نتایج نشان داد که با کاهش ظرفیت فضای متخلخل سطوح بالایی خاک تیمارها با گذشت زمان، رواناب شروع شده و روند افزایشی پیدا کرد. با این حال، کاهش نفوذ آب در خاک در فلوم‌های شاهد، تلقیح باکتری، تزریق ماده محرّک غذایی و ترکیبی از تلقیح باکتری با

ماده محرّک غذایی ۲۶، ۵۵، ۴۴ و ۶۷ دقیقه بعد از شروع بارندگی شروع شد. بالا بودن زمان شروع کاهش نفوذ آب در خاک در تیمارهای تلقیحی حاکی از آن است که باکتری‌های تلقیح شده احتمالاً از طریق ترشحات پلی‌ساکاریدی و تولید فیلم‌های زیستی (Huang *et al.*, 2002) لایه‌ای در سطح خاک و اطراف ذرات خاک تشکیل داده که توانایی بالایی در جذب آب باران و انتقال آن به سطوح پایین‌تر داشته و از این طریق باعث افزایش ظرفیت نفوذ آب در خاک شدند.



شکل ۱. تغییرات متوسط نفوذ رواناب در فلوم‌ها با تلقیح باکتری‌ها و ماده‌ی غذایی B4

جدول ۱. حجم و میزان نفوذ رواناب* و ** در فلوم‌های تیمار شده با باکتری‌ها و ماده‌ی غذایی B4

تیمارها	شماره‌ی فلوم و معیارهای آماری	مؤلفه‌های مورد بررسی	
		حجم رواناب (لیتر)	نفوذ خاک (لیتر)
شاهد	۱	۳/۹۷۵	۱۶/۸۶
	۲	۴/۰۰۱	۱۶/۸۳
	۳	۳/۹۵۸	۱۶/۸۷
	میانگین (لیتر)	۳/۹۷۸	۱۶/۸۵
	انحراف معیار (لیتر)	۰/۰۲۱	۰/۰۲۱
	ضریب تغییرات (درصد)	۰/۰۵۴	۰/۱۲
باکتری	۱	۰/۸۷۱	۱۹/۹۶
	۲	۰/۹۲۴	۱۹/۹۱
	۳	۰/۷۷۸	۲۰/۰۵
	میانگین (لیتر)	۰/۸۵	۱۹/۹۷
	انحراف معیار (لیتر)	۰/۰۷	۰/۰۷
	ضریب تغییرات (درصد)	۸/۶۱	۰/۳۷
ماده‌ی غذایی B4	۱	۲/۳۹	۱۸/۴۴
	۲	۱/۹۱	۱۸/۹۱
	۳	۲/۳۳	۱۸/۴۹
	میانگین (لیتر)	۲/۲۱	۱۸/۶۱
	انحراف معیار (لیتر)	۰/۲۶	۰/۲۶
	ضریب تغییرات (درصد)	۱۱/۸۰	۱/۴۰
باکتری+ماده‌ی غذایی B4	۱	۰/۳۲۱	۲۰/۵۱
	۲	۰/۳۸۹	۲۰/۴۴
	۳	۰/۳۶۴	۲۰/۴۷
	میانگین (لیتر)	۰/۳۵	۲۰/۴۷
	انحراف معیار (لیتر)	۰/۰۳	۰/۰۳
	ضریب تغییرات (درصد)	۹/۶۰	۰/۱۶

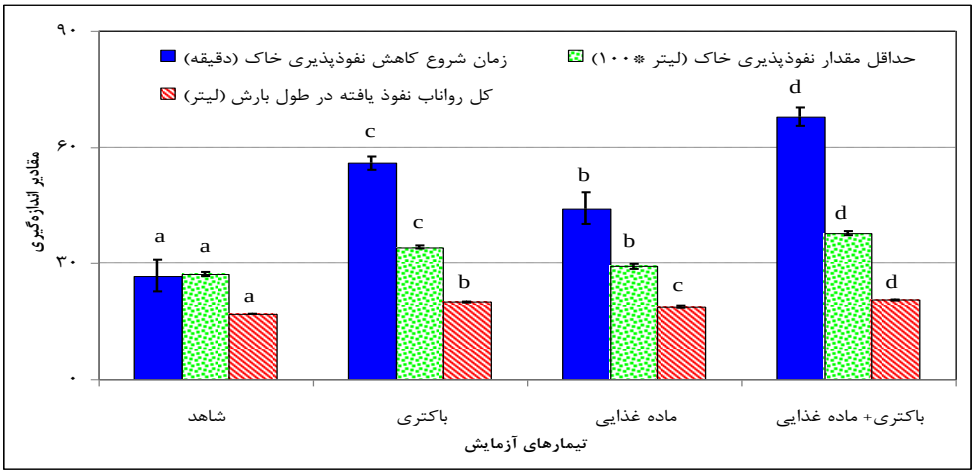
* حجم باران در کل بازه زمانی شبیه‌سازی، ۲۰/۸۳ لیتر بود. ** به‌سبب شدّت یکسان بارش در کل دوره، حجم باران شبیه‌سازی در هر بازه زمانی دو دقیقه‌ای، ۰/۴۱۶ لیتر بود.

هم‌چنین ماده محرّک غذایی B4 احتمالاً ضمن این‌که به عنوان یک منبع غذایی، ریزموجودات خاک را تحریک و شرایط ترشح پلی‌ساکارید را مهیا کرده است، به‌صورت لایه‌ای ژله‌ای (Valencia *et al*., 2014) سطح خاک فلوم‌ها را پوشانده و آب باران شبیه‌سازی شده را جذب و به لایه‌های پایین خاک منتقل کرده است. از طرفی در تیمار تلقیح باکتری به‌همراه ماده غذایی، احتمالاً افزایش جمعیت باکتری‌ها از طریق تلقیح و تحریک توسط ماده غذایی B4 و در نتیجه ایجاد لایه‌ای از ترشحات پلی‌ساکاریدی و فیلم‌های زیستی از یک سو و تشکیل لایه‌ای ژله‌ای از ماده مذکور از سوی دیگر به‌صورت هم‌افزایی، ظرفیت نفوذ آب در خاک را افزایش داده که به‌تبع آن زمان کاهش نفوذ آب در خاک به تأخیر افتاد. در مجموع بر اثر فرآیندهای مطروحه تأخیر در زمان شروع کاهش مقدار نفوذ آب در خاک در تیمارهای تلقیح جداگانه باکتری و ماده غذایی و ترکیبی از آن‌ها نسبت به تیمار شاهد افزایش ۱۱۱، ۶۹ و ۱۶۷ درصدی و معنی‌دار (p<۰/۰۱) داشت.

بررسی نتایج شکل‌های (۱) و (۲) و جدول‌های (۱) و (۲) نشان داد که کاهش ظرفیت نفوذ در تیمار شاهد، باکتری، ماده غذایی و ترکیبی به‌ترتیب تقریباً ۴۸، ۸۲، ۷۶ و ۸۴ دقیقه بعد از شروع بارندگی و ۳۶، ۷۰، ۶۴ و ۷۲ دقیقه بعد از شروع رواناب به‌میزان ثابت رسیده و در انتهای آزمایش نیز حجم رواناب در تیمارهای تلقیح باکتری، ماده غذایی و ترکیبی به‌ترتیب ۷۴، ۴۴ و ۹۱ درصد نسبت به تیمار شاهد به‌صورت معنی‌دار (p<۰/۰۱) کاهش یافت. هم‌چنین حداقل مقدار ظرفیت نفوذ آب در خاک در طول مدّت بارندگی نیز به‌ترتیب در تیمارهای شاهد، ماده غذایی، باکتری و ترکیب باکتری و ماده غذایی با مقادیر ۰/۲۷، ۰/۲۹، ۰/۳۴ و ۰/۳۷ لیتر مشاهده شد. در انتهای زمان شبیه سازی نیز میزان نفوذ آب در خاک تیمارهای باکتری، ماده غذایی و ترکیبی نسبت به تیمار شاهد افزایش ۱۸، ۱۰ و ۲۱ درصدی و معنی‌دار (p<۰/۰۱) را نشان داد. لذا بر اساس نتایج به‌دست آمده، تمام تیمارها در سطح اطمینان ۹۹ درصد باعث افزایش نفوذ آب در خاک و تأخیر در شروع کاهش نفوذ آب در خاک شدند.

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس یک طرفه برای تشخیص اثرات یک‌جانبه‌ی تیمارهای باکتری و ماده‌ی غذایی B4 بر مؤلفه‌های حجم، ضریب و نفوذ رواناب تیمارهای مطالعاتی

مؤلفه‌ی مورد بررسی	منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	آماره F	سطح معنی‌داری
تأخیر در زمان کاهش نفوذ آب در خاک (دقیقه)	بین گروهی	۳	۹۱۸/۵۸	۸۸/۶۱	۰/۰۰
	درون گروهی	۸	۱۰/۳۶		
	کل	۱۱			
حداقل مقدار رواناب نفوذیافته (لیتر)	بین گروهی	۳	۰/۰۰۷	۲۴۷/۴۳	۰/۰۰
	درون گروهی	۸	۰/۰۰۰		
	کل	۱۱			
مقدار رواناب نفوذیافته (لیتر)	بین گروهی	۳	۷/۸۷	۴۱۷/۶۰	۰/۰۰
	درون گروهی	۸	۰/۰۱۹		
	کل	۱۱			



شکل ۲. نمودار مقایسه‌ای زمان شروع کاهش نفوذ آب در خاک، حداقل مقدار ظرفیت نفوذ و میزان نفوذ رواناب در کل مدّت بارش و انحراف معیار متوسط در فلوم‌ها برای تیمارهای مطالعاتی

هر چند باکتری‌ها در خاک مورد مطالعه وجود داشت، ولی به‌سبب جمعیت کم‌تر باکتری‌ها و تعداد کم در واحد سطح، میزان اثرگذاری آن‌ها در اتصال ذرّات و تشکیل کانال‌های متخلخل بسیار کم بود. در این راستا، نتایج پژوهش Huang *et al*. (2015) نشان دادند که باکتری‌های *Bacillus subtilis* با تولید فیلم‌های زیستی در فاصله‌ی زمانی دو روزه باعث اتصال ذرّات رس ریزتر به‌هم و افزایش خلل و فرج خاک شدند. هم‌چنین Deng *et al*. (2015) جذب و ذخیره‌ی آب توسط پلی ساکاریدهای ترشح شده‌ی باکتری‌ها در منافذ خاک را تأیید کرده‌اند. تأثیر محرّک‌های رشد ریزموجودات خاک‌زی و هم افزایی آن در بهبود ویژگی‌های شیمیایی خاک توسط Benslama and Boulahrouf (2013) نیز مورد تأیید قرار گرفته است.

نتیجه‌گیری

پژوهش حاضر با هدف بررسی امکان افزایش نفوذ آب در خاک برای کاهش حجم رواناب سطحی از طریق تلقیح جداگانه و ترکیبی باکتری و ماده غذایی محرّک در شرایط شبیه‌سازی آزمایشگاهی باران و در مقیاس فلوم‌های کوچک برنامه‌ریزی شد. در این پژوهش نقش تلقیح باکتری‌ها و تزریق ماده غذایی محرّک B4 به‌صورت جداگانه و ترکیبی در افزایش نفوذ آب در خاک و در نتیجه کاهش رواناب سطحی در سطح اطمینان ۹۹ درصد تأیید شد. به‌نظر می‌رسد باکتری‌ها از طریق ترشح پلی ساکارید و تولید فیلم‌های زیستی ضمن اتصال ذرات خاک به‌هم و تشکیل کانال‌های متخلخل در خاک سطحی و ماده محرّک غذایی B4 با ایجاد یک لایه ژله‌ای در سطح خاک و تأمین منابع غذایی باکتری‌های خاک، شرایط افزایش جذب و نفوذ آب باران را فراهم آوردند. چنین فرآیندهایی به‌صورت معنی‌دار ($p<۰/۰۱$) ظرفیت نفوذ خاک برای آب را تا ۲۱ درصد افزایش داد. هم‌چنین زمان شروع کاهش نفوذ آب در خاک نیز در تیمارهای تلقیحی به‌صورت معنی‌دار ($p<۰/۰۱$) از ۲۶ دقیقه در تیمار شاهد به ۶۷ دقیقه در تیمار تلقیحی باکتری و ماده غذایی افزایش یافت. از طرفی، تیمار تلقیحی باکتری با ماده غذایی بهترین عملکرد در بهبود مؤلفه‌های نفوذ آب در خاک را داشت. در مجموع، تلقیح و یا تحریک ریزموجودات سطح خاک‌های حساس به تخریب به‌عنوان یک افزودنی و اصلاح‌کننده اقتصادی، قابل دسترس و دوست‌دار محیط زیست می‌تواند راه‌کاری پایدار و کاملاً زیستی در بهبود ویژگی‌های فیزیکی خاک و در نتیجه افزایش قابلیت نفوذ آب در آن باشد. در نهایت، تلقیح گسترده باکتری‌های مورد استفاده در پژوهش حاضر برای افزایش نفوذپذیری اراضی تخریب‌یافته به روش آب-تلقیحی (Hydro-seeding) و هم‌چنین انجام پژوهش‌های جدید با کاربرد سایر ریزموجودات خاک‌زی و برای بهبود مؤلفه‌های خاکی و هیدرولوژیکی دیگر در شرایط آزمایشگاهی پیشنهاد می‌شود.

REFERENCES

Abrusci, C., Martín-González, A., Del Amo, A., Catalina, F., Collado, J. and Platas, G. (2005). Isolation and identification of bacteria and fungi from cinematographic films. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 56(1), 58-68.

Atlas, R. M. (2010). *Handbook of microbiological media*, (4th ed.). Taylor and Francis Group publication, LLC, 2036 p.

Awad, N. M., Abd El-Kader, A. A., Attia, M. and Alva, A. K. (2011). Effects of nitrogen fertilization and soil inoculation of sulfur-oxidizing or nitrogen-fixing bacteria on onion plant growth and yield. *International Journal of Agronomy*, 2011: 316856, 6. http://dx.doi.org/10.1155/2011/316856.

Awad, Y. M., Blagodatskaya, E., Ok, Y. S. and Kuzyakov, Y. (2012). Effects of polyacrylamide, biopolymer, and biochar on decomposition of soil organic matter and plant residues as determined by 14^C and enzyme activities. *European Journal of Soil Biology*, 48, 1-10.

Belnap, J., Wilcox, B. P., Van Scoyoc, M. W. and Phillips, S. L. (2013). Successional stage of biological soil crusts: an accurate indicator of ecohydrological condition. *Ecohydrology*, 6(3), 474-482.

Benslama, O., Boulahrouf, A. 2013. Impact of glyphosate application on the microbial activity of two Algerian soils. International *Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 2, 628-35.

Bihamta, M. R. and Zare Chahouki, M. A. (2015). *Principles of statistics for the natural resources science*, (4th ed.). University of Tehran Press, 300p (In Farsi)

Blanco, H. and Lal, R. (2008). *Principles of soil conservation and management*. Springer Science and Business Media, 638 p.

Borges, M. T., Nascimento, A. G., Rocha, U. N. and Tótola, M. R. (2008). Nitrogen starvation affects bacterial adhesion to soil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 39(3), 457-463.

Cappuccino, J. G. and Sherman, N. (2007). *Microbiology: a laboratory manual*. Dorling Kindersley Pvt. Ltd, License of Pearson Education, New Delhi, India, 143-193.

Chamizo, S., Cantón, Y., Domingo, F. and Belnap, J. (2011). Evaporative losses from soils covered by physical and different types of biological soil

crusts. *Hydrological Processes*, 27(3), 324-332.

Chamizo, S., Cantón, Y., Miralles, I. and Domingo, F. (2012). Biological soil crust development affects physicochemical characteristics of soil surface in semiarid ecosystems. *Soil Biology and Biochemistry*, 49, 96-105.

Deng, J., Orner, E. P., Chau, J. F., Anderson, E. M., Kadilak, A. L., Rubinstein, R. L., Bouchillon, G. M., Goodwin, R. A., Gage, D. J. and Shor, L. M. (2015). Synergistic effects of soil microstructure and bacterial EPS on drying rate in emulated soil micromodels. *Soil Biology and Biochemistry*, 83, 116-124.

Epelde, L., Burges, A., Mijangos, I. and Garbisu, C. (2013). Microbial properties and attributes of ecological relevance for soilquality monitoring during a chemical stabilization field study. *Applied Soil Ecology*, 75, 1-12.

Fonon Ab Hasti Consulting Engineer. (2011). Watershed studies (detailed)-pedology and land capability of K1-1sub-Basin in Chalusrood River-Nowshahr. 89 p.

Ghasemi, A. and Zahediasl, S. (2012). Normality tests for statistical analysis: A guide for non-statisticians. *International Journal of Endocrinology and Metabolism*, 10(2), 486-489.

Hillel, D. (2003). *Introduction to environmental soil physics*. Academic press, 494 p.

Höper, D., Völker, U. and Hecker, M. (2005). Comprehensive characterization of the contribution of individual SigB-dependent general stress genes to stress resistance of *Bacillus subtilis*. *Journal of Bacteriology*, 187, 2810–2826.

Huang, P. M., Bollag, J. M. and Senesi, N. (2002). *Interactions between soil particles and microorganisms: impact on the terrestrial ecosystem*. John Wiley & Sons, 566 p.

Huang, Q., Wu, H., Cai, P., Fein, J. B. and Chen, W. (2015). Atomic force microscopy measurements of bacterial adhesion and biofilm formation onto clay-sized particles. *Scientific Reports*, 5, 16857.

Kakeh, J., Gorji, M., Tavili, A., Sohrabi, M. and Pourbabaei, A. A. (2014). Effect of biological soil crusts on soil hydrological in the Ghareghir rangelands of Golestan Province. *Iranian Journal of Soil and Water Research*, 44(4), 397-403. (In Farsi)

Kavian, A., Asgariyan, R., Jafarian Jeloudar, Z. and Bahmanyar, M. A. (2014). Effect of Soil Properties on Runoff and Sediment Yield in Farm Scale (Case study: a part of Sari Town neighboring Croplands). *Water and Soil Science*. 23(4), 45-57. (In Farsi)

Kheirfam, H., Sadeghi, S. H. R., Homaee, M. and Zarei Darki, B. (2014). Role of soil microorganisms in soil and water loss control. *Extension and Development of Watershed Management*, 2(5), 19-27. (In Farsi)

Kheirfam, H. and Vafakhah, M. (2015). Evaluation of gamma test, cluster analysis, discriminant function analysis and Andrews Curves methods to separate homogeneous watersheds for regional analysis of suspended sediment. *Journal of Water and Soil Resources Conservation*. 4(2), 65-85. (In Farsi)

Kidron, G. J., Monger, H. C., Vonshak, A. and Conrod, W. (2012). Contrasting effects of microbiotic crusts on runoff in desert surfaces. *Geomorphology*, 139, 484-494.

Lee, S. S., Gantzer, C. J., Thompson, A. L. and Anderson, S. H. (2010). Polyacrylamide and gypsum amendments for erosion and runoff control on two soil series. *Journal of Soil and Water Conservation*, 65(4), 233-242.

Lutton, E., Schellevisa, R. and Shanmuganathan, A. (2013). Culture-dependent methods increase observed soil bacterial diversity from Marcellus shale temperate forest in Pennsylvania, *Journal of Student Research*, 2(1), 9-16.

Maqubela, M. P., Muchaonyerwa, P. and Mnkeni, P. N. S. (2012). Inoculation effects of two South African cyanobacteria strains on aggregate stability of a silt loam soil. *African Journal of Biotechnology*, 11(47), 10726-10735.

Miralles, I., Cantón, Y. and Solé-Benet, A. (2011). Two-dimensional porosity of crusted silty soils: indicators of soil quality in semiarid rangelands? *Soil Science Society of America Journal*, 75, 1289-1301.

Powell, J. T., Chatziefthimiou, A. D., Banack, S. A., Cox, P. A. and Metcalf, J. S. (2015). Desert crust microorganisms, their environment, and human health. *Journal of Arid Environments*, 112, 127-133.

Rashid, M. I., Mujawar, L. H., Shahzad, T., Almeelbi, T., Ismail, I. M. and Oves, M. (2016). Bacteria and fungi can contribute to nutrients bioavailability and aggregate formation in degraded soils. *Microbiological Research*, 183, 26-41.

Rodríguez-Caballero, E., Cantón, Y., Chamizo, S., Lázaro, R. and Escudero, A. (2013). Soil loss and runoff in semiarid ecosystems: A complex interaction between biological soil crusts, micro-topography, and hydrological drivers. *Ecosystems*, 16(4), 529-546.

Rossi, F., Olguın, E. J., Diels, L., De Philippis, R. 2015. Microbial fixation of CO_2 in water bodies and in drylands to combat climate change, soil loss and desertification. *New Biotechnology*, 32(1), 109-120.

Sadeghi, S. H. R., Abdollahi, Z., Darvishan, A. K. 2013. Experimental comparison of some techniques for estimating natural raindrop size distribution on the south coast of the Caspian Sea, Iran. *Hydrological Sciences Journal*, 58(6), 1374-1382.

Sadeghi, S. H. R., Gholami, L., Homaee, M. and Khaledi Darvishan, A. V. (2015a). Reducing sediment concentration and soil loss using organic and inorganic amendments at plot scale, *Solid Earth*, 6, 445-455.

Sadeghi, S. H. R., Gholami, L., Sharifi, E., Khaledi

Darvishan, A. and Homaee, M. (2015b). Scale effect on runoff and soil loss control using rice straw mulch under laboratory conditions. *Solid Earth*, 6, 1-8.

Sadeghi, S. H. R., Hazbavi, Z. and Kiani Harchegani, M. (2016). Controllability of runoff and soil loss from small plots treated by vinasse-produced biochar. *Science of The Total Environment*, 541, 483-490.

Sears, J. T. and Prithiviraj, B. (2012). Seeding of large areas with biological soil crust starter culture formulations: using an aircraft disbursable granulate to increase stability, fertility and CO2 sequestration on a landscape scale. *IEEE Green Technologies Conference*, 19-20 April 2012, Tulsa, OK, pp. 1-3.

Sojka, R. E., Bjorneberg, D. L., Entry, J. A., Lentz, R. D. and Orts, W. J. (2007). Polyacrylamide in agriculture and environmental land management. *Advances in Agronomy*, 92, 75-162.

Strauss, S. L., Day, T. A. and Garcia-Pichel, F. (2012). Nitrogen cycling in desert biological soil crusts across biogeographic regions in the Southwestern United States. *Biogeochemistry*, 108, 171-182.

Tripathi, P., Beaussart, A., Andre, G., Rolain, T., Lebeer, S., Vanderleyden, J., Hols, P. and Dufrêne, Y. F. (2012). Towards a nanoscale view of lactic acid bacteria. *Micron*, 43(12), 1323-1330.

Umer, M. I. and Rajab, Sh. M. (2012). Correlation between aggregate stability and microbiological activity in two Russian soil types. *Eurasian Journal of Soil Science*, 1, 45-50.

Valencia, Y., Camapum, J. and Torres, F. A. (2014). Influence of biomineralization on the physico-mechanical profile of a tropical soil affected by erosive processes, *Soil Biology and Biochemistry*, 74, 98-99.

Veum, K. S., Goyne, K. W., Kremer, R. J., Miles, R. J. and Sudduth, K. A. (2014). Biological indicators of soil quality and soil organic matter characteristics in an agricultural management continuum. *Biogeochemistry*, 117(1), 81-99.

Vieira, F. C. S. and Nahas, E., (2005). Comparison of microbial numbers in soils by using various culture media and temperatures. *Microbiological Research*, 160, 197-202.

Wang, W. B., Liu, Y. D., Li, D. H., Hua, C. X. and Rao, B. Q. (2009). Feasibility of cyanobacterial inoculation for biological soil crusts formation in desert area. *Soil Biology and Biochemistry*, 41, 926-929.

Zhao, Y., Qin, N., Weber, B. and Xu, M. (2014). Response of biological soil crusts to raindrop erosivity and underlying influences in the hilly Loess Plateau region, China. *Biodiversity and Conservation*, 23(7), 1669-1686.

Zhao, Y. and Xu, M. (2013). Runoff and soil loss from revegetated grasslands in the hilly Loess Plateau region, China: Influence of biocrust patches and plant canopies. *Journal of Hydrologic Engineering*, 18, 387-393.