

The Effect of Earthworm, Cow Manure and Its Biochar on Some Soil Biological Properties

SAFOORA NAHIDAN^{1*}, ALI AKBAR SAFARI SINEGANI²

1. Assistant Professor of Soil Science, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

2. Professor of Soil Science, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

(Received: July. 30, 2018- Revised: Jan. 9, 2019- Accepted: Jan. 12, 2019)

ABSTRACT

Little is known about the effects of biochar on earthworms and their interactions on soil biological properties. The purpose of this study was to investigate the effects of earthworm and cow manure biochar (compared to cow manure) on some biological properties of soil. For this purpose, the soil was treated with cow manure or its biochar in 4 levels (0, 1, 2 and 5%) in the absence and presence of earthworm and incubated for 30 and 90 days. The results showed that the number of earthworm decreased in soil treated with cow manure biochar in 30 days of incubation. After 90 days of incubation, application of 1, 2 and 5% cow manure increased the number of earthworm by 26, 91 and 104%, respectively. Application of 1% biochar resulted no significant effect on the number of earthworm, but the 2 and 5% biochar decreased the number of earthworms by 43 and 48%, respectively. The results showed that the earthworm led to considerable increase on the basal respiration, substrate induced respiration and microbial biomass carbon in soils treated with cow manure compared to cow manure biochar. Also, application of both amendment improved the soil biological properties compared to the control. On the other hand, earthworm increased and decreased the metabolic quotient in 30 and 90 days incubation, respectively. The addition of cow manure and its biochar reduced the metabolic quotient in 90 days of incubation. In addition, the soil treated with 5% cow manure and earthworm (in 90 days) had the lowest metabolic quotient. Overall, cow manure improved soil biological quality better than cow manure biochar. However, application of 1% cow manure biochar in the soil which has no negative effect on earthworm, can be also beneficial to improve soil biological quality.

Keyword: Cow manure biochar, earthworm, soil biological parameter

پیامد کاربرد کرم خاکی، کود گاوی و زغال زیستی حاصل از آن بر برخی از ویژگی‌های زیستی خاک

صفورا ناهیدان^{۱*}، علی اکبر صفری سنجانی^۲

۱. استادیار گروه خاکشناسی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

۲. استاد گروه خاکشناسی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۵/۸ - تاریخ بازنگری: ۱۳۹۷/۱۰/۱۹ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۷/۱۰/۲۲)

چکیده

یافته‌های اندکی در ارتباط با پیامد زغال زیستی بر کرم خاکی و برهم‌کنش آن‌ها بر ویژگی‌های زیستی خاک در دست است. هدف از پژوهش کنونی، بررسی پیامد کرم خاکی، کود گاوی و زغال زیستی آن بر برخی از ویژگی‌های زیستی خاک می‌باشد. بدین منظور، خاک با مقادیر ۰، ۱، ۲ و ۵ درصد کود گاوی و زغال زیستی آن با حضور و بدون کرم خاکی و برای ۳۰ و ۹۰ روز انکوباسیون شدند. نتایج نشان داد که در ۳۰ روز انکوباسیون، زغال زیستی، فراوانی کرم خاکی را کاهش می‌دهد. در ۹۰ روز انکوباسیون، مقدار ۱، ۲ و ۵ درصد کود گاوی موجب افزایش فراوانی کرم خاکی به میزان ۲۶، ۹۱ و ۱۰۴ درصد نسبت به شاهد شد. مقدار ۱ درصد زغال زیستی پیامد معنی‌داری بر فراوانی کرم نداشت ولی مقادیر ۲ و ۵ درصد زغال زیستی، فراوانی کرم خاکی را به میزان ۴۳ و ۴۸ درصد نسبت به شاهد کاهش داد. نتایج نشان داد که کرم خاکی، افزایش بیشتری در تنفس میکروبی پایه و برانگیخته و زیست‌توده میکروبی در خاک‌های تیمار شده با کود گاوی در برابر زغال زیستی ایجاد می‌کند. همچنین ویژگی‌های زیستی خاک با کاربرد کود گاوی و زغال زیستی آن در برابر شاهد افزایش یافتند. از طرفی کرم خاکی موجب افزایش و کاهش کسر متابولیکی به ترتیب در ۳۰ و ۹۰ روز انکوباسیون شد. افزودن کود گاوی و زغال زیستی آن در ۹۰ روز انکوباسیون موجب کاهش کسر متابولیکی در برابر شاهد شد. تیمار ۵ درصد کود گاوی دارای کرم خاکی (در ۹۰ روز) کمترین مقدار کسر متابولیکی را دارا بود. در مجموع، کود گاوی کیفیت زیستی خاک را بیشتر از زغال زیستی حاصل از آن بهبود بخشید. با وجود این، مقدار ۱ درصد زغال زیستی کود گاوی با نداشتن پیامد منفی بر کرم خاکی، می‌تواند در بهبود کیفیت زیستی خاک نیز مفید باشد.

واژه‌های کلیدی: زغال زیستی کود گاوی، کرم خاکی، ویژگی‌های زیستی خاک

مقدمه

راهگشا باشد (Rezai, 2013). در سال‌های گذشته نشان داده شده است که با دگرگون کردن کودهای جانوری به زغال زیستی، نه تنها از انرژی نهفته در آن‌ها بهره‌گیری می‌شود؛ بلکه کاهش چشم‌گیر حجم و وزن این گونه مواد را در پی داشته است. همچنین از پیامدهای ناخواسته نفوذ شیرابه آن‌ها به آب‌های زیرزمینی و همچنین رها شدن گازهای گلخانه‌ای به اتمسفر کاسته شده است (Schouten et al., 2012). زغال زیستی، شکل پایدار شده از زغال مانده‌های آلی است که از گرما دادن مواد آلی طبیعی در دمای بالا و اکسیژن کم یا بدون اکسیژن (پیرولیز یا آتشکافت) پدید می‌آید و امروزه همانند یکی از بهسازهای خاک شناخته شده و بکار رفته است. افزودن زغال زیستی به خاک‌ها همانند روشی برای کربن اندوزی در خاک و کاهش رهاسدن دی‌اکسیدکربن به اتمسفر کارایی ویژه‌ای دارد (Liard, 2008). زغال زیستی با داشتن ساختمان متخلخل، سطح باردار و گروه‌های عاملی مانند کربوکسیل، هیدروکسیل، فنول هیدروکسیل و گروه‌های کربونیل، بر زیست فراهمی فلزهای

سالانه بیش از ۲۰ میلیون تن کود دامی در کشور پدید می‌آید (Rezai, 2013). یکی از چالش‌هایی که در بهره‌گیری از کودهای دامی پیش روی ماست، بخش گردآوری، جابجایی و تا اندازه‌ای فرآوری آن‌ها برای بهره‌گیری در خاک برای افزایش رشد گیاهان می‌باشد. کودهای دامی پر حجم بوده و فضای زیادی را اشغال می‌کنند و از سوی دیگر شیرابه پدید آمده از آن‌ها از راه رسیدن به آب‌های زیرزمینی موجب آلودگی زیستگاه‌ها می‌گردند. رها شدن گازهای گلخانه‌ای به اتمسفر از دیگر زیان‌های زیست محیطی این گونه کودها به شمار می‌روند. از سوی دیگر، کودهای دامی با داشتن گروه پرشماری از ریزجانداران بیماری‌زا می‌توانند پس از کاربرد در خاک پیامدهای زیانباری بر سلامت زیستگاه‌ها داشته باشند. این نشان می‌دهد که بررسی‌های کارشناسی پژوهش‌گران علوم خاک و علوم دامی برای شناسایی و گزینش بهترین شیوه‌های مدیریت کودهای دامی تا چه اندازه‌ای می‌تواند

توسط ریزجانداران خاک بوده است. تغییر ویژگی‌های میکروبی خاک در پی کاربرد زغال زیستی به تغییر ویژگی‌های شیمیایی و فیزیکی خاک نسبت داده شده است (Lehman and Josef, 2009). اگرچه ساز و کار پیامد زغال زیستی بر ویژگی‌های میکروبی خاک به خوبی شناخته شده نیست ولی چنین تفاوت‌هایی در پیامد زغال زیستی بر ویژگی‌های خاک می‌تواند به نوع خاک، زغال زیستی، دمای ساخت آن، مقدار، اندازه و زمان کاربرد زغال زیستی در خاک وابسته باشد (Gul et al., 2015).

زغال زیستی بر جانوران خاک نیز پیامد داشته است. یکی از مهمترین جانوران خاک کرم‌های خاکی می‌باشند. کرم‌ها با بهبود ساختمان خاک، افزایش فراوانی و کارکرد ریزجانداران خاکزی و همچنین افزایش فعالیت آنزیم‌های خاک می‌توانند بر تجزیه مواد آلی و پویایی عناصر غذایی خاک پیامد داشته باشند (Vafa et al., 2016). با توجه به اهمیت کرم‌های خاکی بویژه در خاک باغ‌ها، جنگل‌ها و چراگاه‌ها، نیاز است که پیامد کاربرد افزودنی‌هایی مانند زغال زیستی بر کارکرد کرم‌های خاکی نیز بررسی و شناخته شود. پیامد مثبت و منفی زغال زیستی بر کرم خاکی بسته به نوع و مقدار کاربرد زغال زیستی و نوع خاک متفاوت بوده است (Tammeorg et al., 2014). کاربرد زغال زیستی موجب افزایش pH خاک شده است (Lehman and Josef, 2009). از آنجایی که بسیاری از کرم‌های خاکی حساس به pH اسیدی هستند (Edward and Bohlen, 1996)، کاربرد زغال زیستی در خاک‌های اسیدی و به دنبال آن افزایش pH خاک سبب شده که پیامد مثبتی بر رفتار و کارکرد کرم خاکی داشته باشد (Topoliantz and Ponge, 2003). همچنین این فرضیه مطرح شده است هنگامی که کرم‌های خاکی دارای غده‌های تولیدکننده آهک زغال زیستی را می‌خورند، pH دستگاه گوارش آن‌ها افزایش یافته و با کمک به فعالیت بیشتر آنزیم‌های دستگاه گوارش آن‌ها، جذب عناصر غذایی توسط کرم خاکی افزایش می‌یابد (Weyers and Spokas, 2011). همچنین هضم ذرات زغال زیستی به همراه میکروب‌های درون منافذ آن توسط کرم خاکی موجب افزایش آنزیم‌های با منشأ میکروبی در دستگاه گوارش کرم خاکی می‌شود (Topoliantz and Ponge, 2003). به هر گونه، کاهش زنده‌مانی کرم خاکی نیز در پی افزودن زغال زیستی گزارش شده است. این پیامدها به کاهش فراهمی آب، افزایش شوری و سمیت آمونیوم و همچنین افزایش ناگهانی pH خاک نسبت داده شده است (Tammeorg et al., 2014).

کود گاوی به عنوان یک بستر و منبع غذایی شناخته شده موجب افزایش رشد، وزن و زادآوری کرم خاکی شده است. با وجود این، دانسته‌ها در زمینه پاسخ کرم خاکی به زغال زیستی

سنگین و دیگر آلودگی‌های زیست محیطی کارایی داشته و با جذب این آلودگی‌ها از خاک و آب، توان جابجایی آن‌ها را در زیستگاه‌ها کاهش می‌دهد (Zhang et al., 2013). همچنین بر چرخه عناصر غذایی پیامد داشته و از هدر روی کربن، نیتروژن و فسفر در خاک جلوگیری می‌کند. زغال زیستی دارای دامنه گسترده‌ای از اشکال گوناگون عناصر غذایی بوده که با شدت‌های متفاوتی آزاد شده و پیامدهای خوبی را بر حاصلخیزی خاک و افزایش رشد گیاهان کشاورزی دارد (Novak et al., 2009).

زغال زیستی بر کیفیت زیستی خاک نیز پیامد چشم‌گیری داشته است. شناخت پیامدهای کاربرد زغال زیستی بر ویژگی‌های زیستی خاک مورد توجه بسیاری از پژوهشگران قرار گرفته است؛ زیرا ویژگی‌های زیستی خاک اغلب به عنوان شناسه‌ای مهم و حساس برای ارزیابی کیفیت و کارکرد خاک بشمار می‌آیند. به هر گونه، پیامدهای کوتاه و بلند مدت افزودن زغال زیستی بر ویژگی‌های زیستی خاک تا اندازه‌ای ناشناخته است و هنوز نمی‌تواند به گونه عمومی برای کاربردهای عملی در مقیاس‌های بزرگ و در انواع خاک‌ها بکار رود. تاکنون پیامدهای مثبت، منفی و حتی بی‌اثر زغال زیستی بر ویژگی‌های میکروبی خاک وابسته به نوع ویژگی خاک گزارش شده است. برای نمونه، Jiang et al. (2017) مشاهده کردند که زغال زیستی ساقه ذرت، رشد اکتینومیسیت‌ها و باکتری‌ها به ویژه ازتوباکترها و آمونیفیکاتورها را افزایش داده ولی بر رشد قارچ‌ها پیامدی ندارد. همچنین این پژوهشگران گزارش کردند که کربن زیست‌توده میکروبی خاک در پی کاربرد زغال زیستی افزایش می‌یابد. با وجود این، Dempster et al. (2012) گزارش کردند که افزودن زغال زیستی اکالیپتوس به یک خاک شنی، کربن زیست‌توده میکروبی را کاهش می‌دهد ولی نیتروژن زیست‌توده میکروبی بدون تغییر می‌ماند. همچنین کاربرد زغال زیستی، تنفس میکروبی خاک را در یک خاک التی‌سول افزایش داد ولی در یک خاک مالی‌سول پیامدی نداشت. Khadem and Raiesi (2017) مشاهده کردند که افزودن زغال زیستی ذرت ساخته‌شده در سه دمای ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ درجه سلسیوس به خاک موجب افزایش تنفس برانگیخته می‌شود که نشان‌دهنده آن است که جمعیت فعال خاک افزایش یافته است. همچنین این پژوهشگران دریافتند که افزودن زغال زیستی ذرت به خاک موجب کاهش کسر متابولیکی می‌شود. با وجود این، کسر متابولیکی خاک‌های تیمار شده به زغال زیستی ذرت بیشتر از خاک‌های تیمار شده به بقایای ذرت بود (Li et al., 2015) نیز گزارش کردند که کسر متابولیکی با افزودن زغال زیستی بقایای ذرت ساخته‌شده در دمای ۶۰۰ درجه سلسیوس بعد از ۲۱۰ روز کاهش می‌یابد که نشان‌دهنده افزایش کارایی استفاده از انرژی

شد (Song and Guo, 2012). سپس وزن خاکستر بر وزن نخست کود و زغال زیستی بخش گردید تا میزان درصد خاکستر بدست آید.

نمونه برداری و آماده سازی خاک

نمونه برداری خاک از عمق ۰-۱۵ سانتی متری یک خاک کشاورزی در روستای حیدره در استان همدان با موقعیت جغرافیایی $34^{\circ}48'09''$ شرقی و $48^{\circ}27'27''$ شمالی انجام گردید. بدین منظور، از ۲۰ نقطه مجزا با فاصله ۵ متری نمونه های خاک برداشت و با یکدیگر مخلوط شدند تا نمونه مرکب بدست آید. پس از هواخشک شدن، بخشی از خاک برای انجام آزمایش های عمومی از الک ۲ میلی متر گذرانده شد. برای کاربرد تیمارها از خاک گذرانده شده از الک ۴ میلی متری بهره گیری گردید.

ویژگی های عمومی خاک، کود و زغال زیستی به روش های استاندارد آزمایشگاهی اندازه گیری شدند. بافت خاک به روش هیدرومتر (Gee and Bauder, 1986)، کربنات کلسیم خاک به روش خنثی سازی با اسید کلریدریک و تیتراسیون برگشتی با هیدروکسید سدیم (Nelson, 1982)، pH (Rayment and Higginson, 1992) و هدایت الکتریکی در نسبت ۱:۵ آب به خاک، کود و زغال زیستی (He et al., 2012)، کربن آلی کود، زغال زیستی و خاک به روش سوزاندن تر (Nelson and Sommers, 1996)، گنجایش تبادل کاتیونی خاک، کود و زغال زیستی به روش استات آمونیوم (Chapman, 1965) اندازه گیری شدند. ویژگی های اندازه گیری شده در جدول (۱) نشان داده شده است.

جدول ۱- ویژگی های خاک، کود گاوی و زغال زیستی به کار رفته در آزمایش

ویژگی های اندازه گیری شده	واحد	خاک	کود گاوی	زغال زیستی کود گاوی
کربن آلی	%	۰/۶۸	۳۴/۵	۲۳/۳
pH	-	۷/۴۶	۷/۸۰	۹/۳۸
هدایت الکتریکی	dS/m	۰/۱	۳/۹۶	۴/۰۶
گنجایش تبادل کاتیونی	cmol+/kg	۱۱/۶۷	۲۴/۶۷	۲۰/۶۷
کربنات کلسیم معادل	%	۱۱/۳۴	-	-
بافت	-	لوم سیلتی	-	-
خاکستر	%	-	۴۱	۶۰

۹۰ روز انکوباسیون) به صورت مجزا انجام شد. لذا برای هر زمان تعداد ۴۸ واحد آزمایشی ایجاد گردید.

برای آماده سازی واحدهای آزمایشی، ۲/۵ کیلوگرم خاک گذرانده شده از الک ۴ میلی متر با مقادیر ۱، ۲ و ۵ درصد کود گاوی آون خشک شده در دمای ۵۰ درجه (M1، M2 و M5) یا زغال زیستی آن (B1، B2 و B5) تیمار گردید. تیمار شاهد (C)

ساخته شده از کود گاوی و کاربرد مقادیر گوناگون آن در دست نیست. همچنین پیامد کرم خاکی بر کارکرد ریزجانداران خاک در خاک های تیمار شده با زغال زیستی کود گاوی و مقایسه آن با کود گاوی به درستی شناخته شده نیست. فرضیه این پژوهش آن است که زغال زیستی کود گاوی در مقایسه با کود گاوی، بر کرم خاکی پیامد متفاوتی دارد و بدین گونه کارکرد ریزجانداران خاک را نیز دگرگون می سازد. بنابراین، در پژوهش کنونی ابتدا فراوانی کرم خاکی در خاک های تیمار شده با کود گاوی و زغال زیستی بررسی شد و سپس به بررسی پیامد کرم خاک، کود گاوی و زغال زیستی آن بر برخی از ویژگی های زیستی خاک پرداخته شد. چنین پژوهش هایی به منظور گزینش مدیریت بهینه کودهای دامی و بهبود کیفیت خاک مناطق خشک و نیمه خشک می تواند راهگشا باشد.

مواد و روش ها

ساخت زغال زیستی

برای تهیه زغال زیستی، در آغاز کود گاوی هوا خشک و از الک ۲ میلی متر گذرانده شد. سپس مقدار مشخصی کود گاوی به دور از اکسیژن در کوره الکتریکی در دمای ۴۵۰ درجه سلسیوس آتشکافت گردید (Lehman and Josef, 2009). برای محاسبه عملکرد ساخت زغال زیستی، وزن زغال زیستی بر وزن کود گاوی بخش گردید که برابر با ۳۰ درصد بود. برای محاسبه مقدار خاکستر کود و زغال زیستی، مقدار مشخصی از آن ها برای ۸ ساعت در کوره الکتریکی در دمای ۵۰۰ درجه سلسیوس گذاشته

تیمار خاک با بهسازها و کرم خاکی *Eisenia fetida*

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتور اول شامل حضور و نبود کرم خاکی (۲ سطح)، فاکتور دوم نوع بهساز شامل کود گاوی و زغال زیستی آن (۲ سطح) و فاکتور سوم مقدار کاربرد بهساز که شامل مقادیر ۰، ۱، ۲ و ۵ درصد (۴ سطح) بودند. این آزمایش در دو زمان (۳۰ و

برای هر زمان توسط نرم افزار SAS (V.9.2) انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد انجام گردید.

نتایج و بحث

پیامد کاربرد کود گاوی و زغال زیستی بر فراوانی کرم خاکی (*Eisenia fetida*)

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که پیامد نوع بهساز و مقدار آن و همچنین برهم‌کنش آن‌ها بر فراوانی کرم خاکی معنی‌دار است (جدول ۲). آزمون میانگین‌ها نشان داد که در زمان ۳۰ روز انکوباسیون، تفاوت معنی‌داری از نظر فراوانی کرم خاکی بین تیمار شاهد و تیمارهای کود گاوی وجود نداشت (شکل ۱). افزودن زغال زیستی در مقادیر ۱، ۲ و ۵ درصد موجب کاهش فراوانی کرم خاکی به میزان ۲۰، ۴۰ و ۷۳/۳ درصد نسبت به شاهد شد. در ۹۰ روز انکوباسیون، کود گاوی در مقادیر ۱، ۲ و ۵ درصد موجب افزایش معنی‌داری در فراوانی کرم خاکی به ترتیب به میزان ۲۶، ۹۱ و ۱۰۴ درصد نسبت به شاهد شد. نتایج همچنین نشان داد که در ۹۰ روز انکوباسیون، افزودن زغال زیستی به میزان ۱ درصد موجب افزایش فراوانی کرم خاکی نسبت به شاهد شد؛ اگرچه این افزایش معنی‌دار نبود. با افزایش مقدار زغال زیستی به ۲ و ۵ درصد، فراوانی کرم خاکی به میزان ۴۳ و ۴۸ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت. بین تیمار ۱ درصد کود گاوی و ۱ درصد زغال زیستی تفاوت معنی‌داری از نظر فراوانی کرم خاکی مشاهده نشد (شکل ۱). از نتایج چنین برداشت می‌شود که در تیمار شاهد و کود گاوی نه تنها زنده‌مانی کرم خاکی وجود داشته است بلکه با گذشت زمان به فراوانی کرم نیز افزوده شده است. با وجود این، هنگامی که زغال زیستی کود گاوی به خاک افزوده می‌شود، زنده‌مانی کرم خاکی به ویژه در مقادیر ۲ و ۵ درصد آن کاهش می‌یابد. بنابراین چنین به نظر می‌رسد که زغال زیستی کود گاوی در برابر کود گاوی بستر و غذای مناسبی برای کرم خاکی نمی‌باشد. با وجود این، نبود تفاوت معنی‌دار بین تیمار ۱ درصد کود گاوی و زغال زیستی آن (در ۹۰ روز انکوباسیون) از نظر فراوانی کرم خاکی نشان از آن دارد که مقادیر کمتر زغال زیستی کود گاوی پیامد منفی بر کرم خاکی در دراز مدت ندارد. نتایج کنونی با گزارش‌های *Li et al.* (2011) و *Liesch et al.* (2010) مبنی بر کاهش زنده‌مانی کرم خاکی در خاک تیمار شده به زغال زیستی هم‌خوانی دارد. این پژوهشگران گزارش کردند که افزایش ناگهانی pH و شوری خاک، خشک شدن سطح کرم در اثر جذب آب توسط زغال زیستی و افزایش ترکیبات سمی در پی کاربرد زغال زیستی می‌تواند موجب کاهش فراوانی کرم خاکی شده باشد. با

نیز بدون هیچگونه افزودنی در نظر گرفته شد. خاک‌های تیمار- شده به رطوبت ۷۰ درصد گنجایش زارعی رسانده شد. سپس به نیمی از خاک‌های تیمار شده با مقادیر مختلف کود گاوی و یا زغال زیستی آن، ۵ عدد کرم خاکی بالغ از گونه *Eisenia fetida* با وزنی یکسان افزوده (+E) و به نیمی از آن‌ها کرم خاکی افزوده نشد (-E). کرم خاکی از مرکز تولید ورمی‌کمپوست در استان همدان تهیه گردید. در نهایت تیمارها در دمای آزمایشگاه و رطوبت ثابت برای ۳۰ و ۹۰ روز انکوباسیون شدند. در مدت انکوباسیون، هر دو روز یکبار واحدهای آزمایشی وزن شد و کاهش وزن حاصل از تبخیر آب با افزودن آب مقطر جبران گردید. پس از پایان هر دوره انکوباسیون نمونه‌های خاک هر تیمار با دقت مورد بررسی قرار گرفتند و کرم‌های خاکی جدا و شمارش شدند. نمونه‌های خاک برای اندازه‌گیری ویژگی‌های زیستی در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند.

ویژگی‌های زیستی خاک

برای اندازه‌گیری تنفس پایه، ۵۰ گرم خاک مرطوب (۷۰ درصد ظرفیت زراعی) در حضور هیدروکسید سدیم ۱ نرمال در دمای ۲۵ درجه سلسیوس برای ۱۰ روز انکوباسیون گردید. در پایان، هیدروکسید سدیم باقی‌مانده با اسید سولفوریک ۰/۵ نرمال با افزودن کلریدباریم ۱۰ درصد و شناساگر فنل فتالئین تیتراسیون گردید. برای اندازه‌گیری تنفس برانگیخته ۵۰ گرم خاک با گلوکز به میزان ۶ میلی‌گرم بر گرم خاک آمیخته شد. سپس برای ۶ ساعت در حضور هیدروکسید سدیم ۰/۲۵ نرمال در دمای ۲۵ درجه سلسیوس انکوباسیون گردید. سپس هیدروکسید سدیم باقی‌مانده با اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال با افزودن کلرید باریم ۱۰ درصد و شناساگر فنل فتالئین تیتراسیون گردید. با در نظر گرفتن وزن آن خشک نمونه‌های خاک، تنفس میکروبی پایه و برانگیخته به صورت $\text{mg CO}_2\text{-C kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ گزارش گردیدند (Alef, 1995b). کربن زیست‌توده میکروبی نیز از طریق تنفس برانگیخته و فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\text{MBC}=40.04\text{SIR}+0.37$$

که در آن MBC کربن زیست‌توده میکروبی ($\text{mg C } 100\text{g}^{-1}$)

SIR، تنفس برانگیخته ($\text{mL CO}_2 100 \text{ g}^{-1} \text{ soil h}^{-1}$) می‌باشد (Alef, 1995a). همچنین به منظور محاسبه کسر متابولیکی، تنفس پایه میکروبی بر کربن زیست‌توده میکروبی بخش و به صورت $\text{mg CO}_2\text{-C mg C}_{\text{mic}}^{-1} \text{d}^{-1}$ گزارش گردید (Anderson, 2003).

آنالیز آماری

تجزیه واریانس اثر فاکتورها بر ویژگی‌های خاک به صورت جداگانه

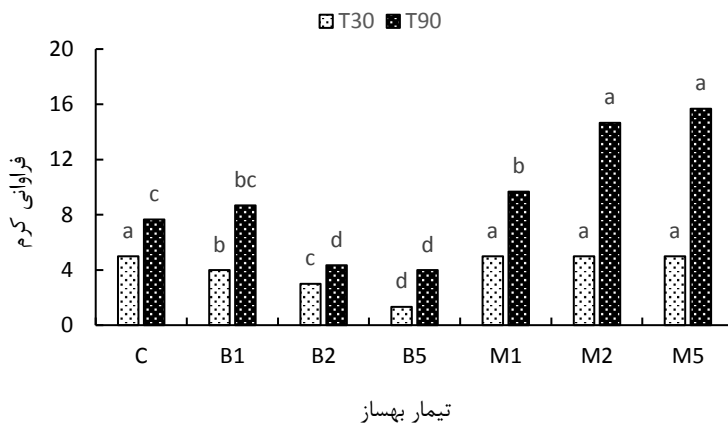
پیامد مثبت زغال زیستی بر کرم خاکی در تیمارهای بلند مدت مزرعه‌ای نیز مشاهده شده است (Weyers and Spokas, 2011).

وجود این، Cox et al. (2001) تفاوت معنی‌داری در فراوانی کرم خاکی در خاک‌های تیمار شده به زغال زیستی نیافتند. از سوی دیگر،

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس پیامد کاربرد نوع و مقدار بهساز بر فراوانی کرم خاکی در دو زمان انکوباسیون ۳۰ و ۹۰ روز

میانگین مربعات		درجه آزادی	منابع تغییرات
روز ۹۰	روز ۳۰		
۱۹۸/۳۷۵***	۱۶/۶۶۶۷***	۱	نوع بهساز (M)
۵/۴۸۵***	۳/۶۶۶۷***	۳	مقدار بهساز (R)
۵۵/۸۱۹***	۳/۶۶۶۷***	۳	M*R
۰/۹۱۷	۰/۱۶۶۷	۱۶	خطا
۱۰/۵۹	۹/۸		CV

*** نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۱ درصد می باشد.



شکل ۱- پیامد نوع و مقدار بهساز بر فراوانی کرم خاکی در دو زمان ۳۰ (T30) و ۹۰ (T90) روز انکوباسیون (C، شاهد؛ B1، زغال زیستی ۱ درصد؛ B2، زغال زیستی ۲ درصد؛ B5، زغال زیستی ۵ درصد؛ M1، کود گاوی ۱ درصد؛ M2، کود گاوی ۲ درصد؛ M5، کود گاوی ۵ درصد). حروف مشابه در هر زمان نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون LSD می باشد.

میکروبی را افزایش داد و بیشترین پیامد افزایشی کرم خاکی در تیمار ۵ درصد کود گاوی دیده شد؛ به طوری که در تیمار ۵ درصد کود گاوی دارای کرم خاکی، تنفس میکروبی به میزان ۳۰ درصد بیشتر از تیمار بدون کرم آن بود. در تیمارهای دارای زغال زیستی نیز افزودن کرم خاکی منجر به افزایش تنفس پایه شد که از میان آن‌ها بیشترین پیامد افزایشی کرم خاکی بر تنفس پایه خاک در تیمار ۱ درصد زغال زیستی دیده شد؛ سپس با افزایش مقدار زغال زیستی از شدت اثر افزایشی کرم خاکی بر تنفس میکروبی کاسته شد (شکل ۳). افزایش بیشتر تنفس پایه در تیمار ۵ درصد کود گاوی در اثر کرم خاکی می‌تواند به فراوانی بیشتر کرم خاکی در آن تیمار در مقایسه با شاهد وابسته باشد (شکل ۱). همچنین کاهش اثر کرم خاکی بر تنفس میکروبی در تیمار ۵ درصد زغال زیستی نیز می‌تواند به کاهش تعداد و کارکرد کرم خاکی در این تیمار مرتبط باشد. از نتایج چنین برداشت می‌شود که تیمار ۵ درصد کود گاوی بر خلاف زغال زیستی آن با ایجاد بستر و غذای

تنفس پایه میکروبی

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که پیامد کرم خاکی، نوع و مقدار بهساز و بر هم کنش نوع و مقدار بهساز در هر دو زمان انکوباسیون بر تنفس پایه خاک معنی‌دار هستند. در زمان ۳۰ روز انکوباسیون، افزون بر آنچه یاد شد، بر هم کنش کرم خاکی با نوع بهساز، بر هم کنش کرم خاکی با مقدار بهساز و بر هم کنش سه‌گانه کرم خاکی، نوع و مقدار بهساز بر تنفس پایه میکروبی معنی‌دار شدند (جدول ۳).

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که کرم خاکی پیامد افزایشنده‌ای بر تنفس پایه خاک در زمان ۳۰ روز (۱۳/۵ درصد) و ۹۰ روز (۶/۴ درصد) انکوباسیون دارد (شکل ۲) که در زمان ۳۰ روز انکوباسیون به نوع و مقدار بهساز نیز بستگی داشته است (شکل ۳). بدین‌گونه که شدت افزایش تنفس پایه در اثر فعالیت کرم خاکی در خاک‌های تیمار شده با کود گاوی و زغال زیستی متفاوت بود. در خاک‌های تیمار شده با کود گاوی، کرم خاکی تنفس پایه

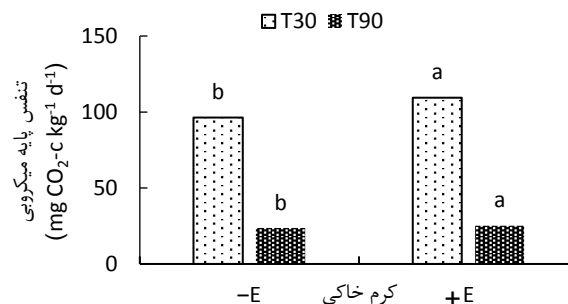
کربن، نیتروژن و فسفر برای متابولیسم میکروبی است، می‌توانند سوپسترای لازم برای ریزجانداران خاک را فراهم کنند و بدین ترتیب تنفس میکروبی خاک را افزایش دهند (Vafa et al., 2016). نتایج پژوهش کنونی با نتایج سایر پژوهشگران همخوانی دارد (Li et al., 2002; Vafa et al., 2016).

مناسب‌تر برای کرم خاکی، زادآوری و کارکرد کرم خاکی را افزایش داده و بدین ترتیب بر جمعیت میکروبی خاک نیز پیامد مثبتی داشته است. افزایش تنفس میکروبی خاک در پی کارکرد کرم خاکی می‌تواند به این دلیل باشد که این جانداران خاکزی با تولید موکوس^۱ که دارای کربن فراهم برای ریزجانداران خاک می‌باشد و همچنین تولید کست^۲ که دارای اندوخته بالایی از

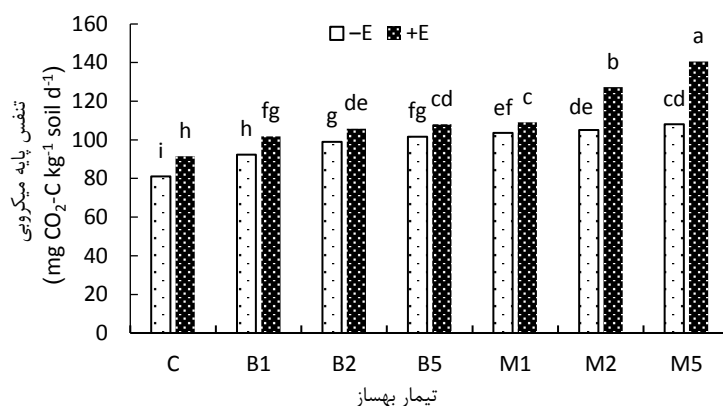
جدول ۳- جدول تجزیه واریانس پیامد کاربرد کرم خاکی، نوع و مقدار بهساز بر ویژگی های اندازه‌گیری شده

میانگین مربعات					
زمان ۳۰ روز انکوباسیون					
منابع تغییرات	درجه آزادی	تنفس پایه	تنفس برانگیخته	کربن زیست توده میکروبی	کسر متابولیکی
کرم خاکی (E)	۱	۲۰۲۶/۵۷***	۰/۱۲۸۴ns	۰/۰۰۶ns	۰/۰۱۱۴۵***
نوع بهساز (M)	۱	۱۳۵۷/۲۲***	۱۴/۴۹۴۹***	۷۰۹/۵۴۶***	۰/۰۰۱۸۱***
مقدار بهساز (R)	۳	۱۸۱۳/۴۸***	۱۰/۷۷۵۷***	۶۴۶/۰۰۳***	۰/۰۰۱۳۶***
E*M	۱	۲۶۵/۱۴***	۱/۱۶۴۴**	۳۷/۵۹۱*	۰/۰۰۰۰۱ns
E*R	۳	۸۱/۴۵***	۰/۹۹۷۱**	۶۲/۸۰۵**	۰/۰۰۲۱۵***
M*R	۳	۲۰۳/۵۸***	۲/۵۵۴۹**	۱۱۵/۸۵***	۰/۰۰۰۵۱*
E*M*R	۳	۱۴۴/۳۵***	۰/۲۳۰۳ns	۲۱/۸۸۹*	۰/۰۰۱۲۲***
خطا	۳۲	۳/۳۷	۰/۱۳۱۱	۶/۴۹۲	۰/۰۰۰۱۳
CV		۱/۷۸	۲/۷۰	۵/۴۰	۵/۱۳
زمان ۹۰ روز انکوباسیون					
منابع تغییرات	درجه آزادی	تنفس پایه	تنفس برانگیخته	کربن زیست توده میکروبی	کسر متابولیکی
کرم خاکی (E)	۱	۲۸/۲۴۶***	۱۵/۱۷۷۷***	۲۱۶۳/۴۲***	۰/۰۱۴۱۳***
نوع بهساز (M)	۱	۵۰۶/۱۲۵***	۳۲/۲۲۹۶***	۱۹۴۵/۷۹***	۰/۰۰۱۱۱***
مقدار بهساز (R)	۳	۲۷۳/۸۹۱***	۲۲/۸۶۱۵***	۱۴۳۳/۵۷***	۰/۰۰۴۴۵***
E*M	۱	۱/۷۶۱ns	۲/۰۵۰۹***	۹۷/۴۰***	۰/۰۰۰۱۴ns
E*R	۳	۰/۷۱۰ns	۱/۶۳۶۸***	۶۷/۶۱***	۰/۰۰۰۱۹*
M*R	۳	۷۰/۶۱۰***	۴/۱۵۶۳***	۲۴۸/۳۱***	۰/۰۰۰۲۱*
E*M*R	۳	۱/۰۱۵ns	۱/۰۷۹۹***	۵۸/۳۶***	۰/۰۰۰۲۴*
خطا	۳۲	۰/۴۵۲	۰/۰۵۶۵	۳/۳۳	۰/۰۰۰۰۶
CV		۲/۷۵	۳/۹۴	۵/۹۴	۸/۴۷

ns, ***, **, * و * به ترتیب نشان دهنده غیر معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۱، ۰/۰۱ و ۵ درصد می‌باشد.



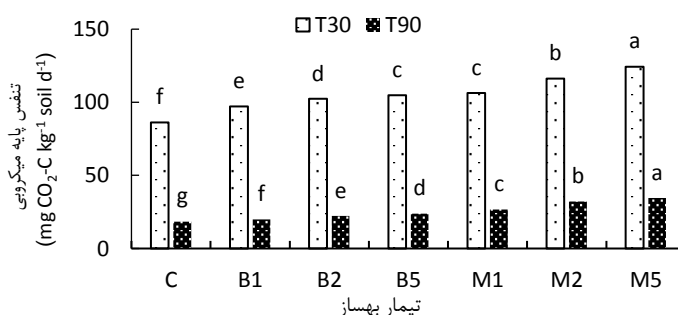
شکل ۲- پیامد کرم خاکی بر تنفس میکروبی خاک در دو زمان ۳۰ (T30) و ۹۰ (T90) روز انکوباسیون. (-E، بدون کرم خاکی، +E، با کرم خاکی) حروف مشابه در هر زمان نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون LSD می‌باشد



شکل ۳- بر هم کنش کرم خاکی، نوع و مقدار بهساز بر تنفس پایه خاک در زمان ۳۰ روز انکوباسیون (-E، بدون کرم خاکی، +E، با کرم خاکی، C، شاهد؛ B1، زغال زیستی ۱ درصد؛ B2، زغال زیستی ۲ درصد؛ B5، زغال زیستی ۵ درصد؛ M1، کود گاوی ۱ درصد؛ M2، کود گاوی ۲ درصد؛ M5، کود گاوی ۵ درصد). حروف مشابه در هر زمان نشان دهنده عدم تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون LSD می باشد

Beheshti *et al.* (2018) گزارش کردند که تنفس میکروبی در پی تیمار خاک با زغال زیستی کود گاوی و کاه و کلش گندم در برابر تیمار شاهد افزایش می یابد. بیشترین میزان تنفس میکروبی خاک در تیمار ۱۰ تن در هکتار زغال زیستی کاه گندم ساخته شده در ۳۰۰ درجه سلسیوس پس از ۶۰ روز انکوباسیون دیده شد. Smit *et al.* (2010) نیز بیان کردند که ۱۰-۲۰ درصد از ترکیبات محلول زغال زیستی به صورت CO₂ معدنی رها می شوند و در نهایت ترکیبات آروماتیک، آلیفاتیک، ماکرو مولکول ها و ترکیبات پیچیده باقی می ماندند. این ترکیبات به صورت تجزیه زیستی پایدار هستند و در بلندمدت به عنوان منابع کربن آلی خاک توسط ریزجانداران کند رشد استفاده شده و تنفس میکروبی خاک را کاهش می دهد. نتایج همچنین نشان داد که با افزایش زمان از ۳۰ به ۹۰ روز، تنفس پایه میکروبی کاهش یافت که کمترین میزان کاهش در تیمار ۵ درصد کود گاوی رخ داد. این یافته نشان دهنده آن است که مواد آلی فراهم در کود گاوی پس از گذشت ۹۰ روز انکوباسیون همچنان بیشتر از زغال زیستی آن می باشد و موجب افزایش کارکرد میکروبی خاک می گردد.

تنفس پایه میکروبی خاک در تیمارهای کود گاوی در هر دو زمان ۳۰ و ۹۰ روز انکوباسیون بیشتر از تیمارهای زغال زیستی بود. با افزودن مقدار هر دو بهساز در مقادیر ۱، ۲ و ۵ درصد، تنفس پایه خاک در برابر تیمار شاهد افزایش یافت که این افزایش در تیمارهای کود گاوی در برابر شاهد به میزان ۲۳/۱ تا ۴۴ درصد در زمان ۳۰ روز انکوباسیون و به میزان ۴۵/۳ تا ۸۷/۹ درصد در زمان ۹۰ روز انکوباسیون بود. این در حالی است که کاربرد زغال زیستی در خاک، تنفس پایه میکروبی را به میزان ۱۲/۴ تا ۲۱/۴ درصد در زمان ۳۰ روز و به میزان ۸/۳ تا ۲۹/۶ درصد در زمان ۹۰ روز انکوباسیون در برابر شاهد افزایش داد (شکل ۴). میکروارگانیسم های هتروتروف برای فعالیت خود نیاز به منابع کربن دارند. افزایش مواد آلی در خاک بسته به کیفیت آن ها و قابلیت دسترسی سوسترا می تواند با تحریک و رشد زیست توده میکروبا، تنفس میکروبی خاک را افزایش دهد. تنفس پایه میکروبی بیشتر در تیمارهای کود گاوی در برابر زغال زیستی می تواند به مقدار بیشتر و همچنین فراهمی بیشتر کربن آلی کود گاوی در برابر زغال زیستی که دارای کربن آروماتیک و نیمه پایدار بیشتری است وابسته باشد (Lehman and Josef, 2009).



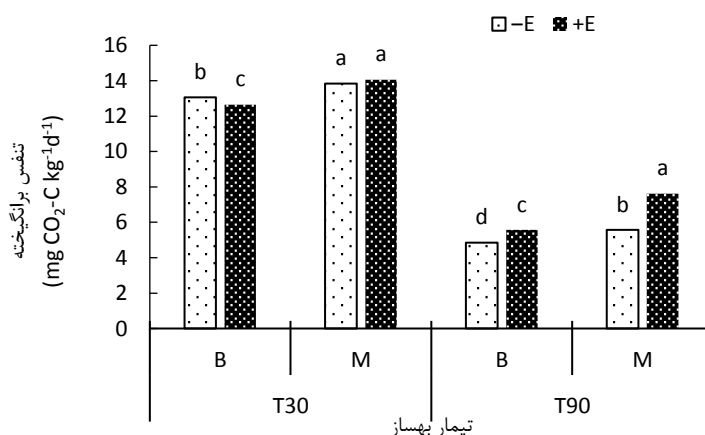
شکل ۴- بر هم کنش نوع و مقدار بهساز بر تنفس پایه خاک در ۳۰ (T30) و ۹۰ (T90) روز انکوباسیون (C، شاهد؛ B1، زغال زیستی ۱ درصد؛ B2، زغال زیستی ۲ درصد؛ B5، زغال زیستی ۵ درصد؛ M1، کود گاوی ۱ درصد؛ M2، کود گاوی ۲ درصد؛ M5، کود گاوی ۵ درصد). حروف مشابه در هر زمان نشان دهنده عدم تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون LSD می باشد

تنفس برانگیخته

تجزیه و آرایانس داده‌های تنفس برانگیخته نشان داد که پیامد نوع و مقدار بهساز، بر هم‌کنش کرم خاکی و نوع بهساز، بر هم‌کنش کرم خاکی و مقدار بهساز و نیز بر هم‌کنش نوع و مقدار بهساز در هر دو زمان انکوباسیون، بر تنفس برانگیخته خاک معنی‌دار شدند. پیامد کرم خاکی و همچنین بر هم‌کنش سه گانه کرم خاکی، نوع و مقدار بهساز نیز در زمان ۹۰ روز انکوباسیون بر تنفس برانگیخته خاک معنی‌دار گردیدند (جدول ۳).

آزمون میانگین بر هم‌کنش کرم خاکی و نوع بهساز نشان داد که در زمان ۳۰ روز انکوباسیون، کرم خاکی موجب کاهش تنفس برانگیخته در خاک‌های تیمار شده با زغال زیستی شد ولی پیامد کاربرد کرم خاکی در خاک‌های تیمار شده با کود گاوی معنی‌دار نبود. با وجود این، در زمان ۹۰ روز انکوباسیون، کرم خاکی در هر دو تیمار کود گاوی و زغال زیستی موجب افزایش تنفس برانگیخته به ترتیب به میزان ۲۵/۳ و ۱۴/۶ درصد در برابر خاک بدون کرم گردید (شکل ۵). از نتایج چنین برداشت می‌شود که کرم خاکی پیامد معنی‌داری بر بخش فعال میکروبی خاک‌های تیمار شده به کود گاوی پس از ۳۰ روز انکوباسیون ندارد ولی موجب کاهش چنین جمعیت‌هایی در خاک‌های تیمار شده به زغال زیستی شده است. چنین به نظر می‌رسد که کرم خاکی در کوتاه مدت در تیمارهای دارای زغال زیستی با تنش ماده غذایی روبرو شده است و برای رفع نیاز خود از جمعیت میکروبی خاک استفاده کرده است و بدین ترتیب تنفس جمعیت فعال خاک کاهش یافته است. با وجود این، پس از گذشت ۹۰ روز انکوباسیون، کرم خاکی با فعالیت بیشتر خود در خاک، موجب

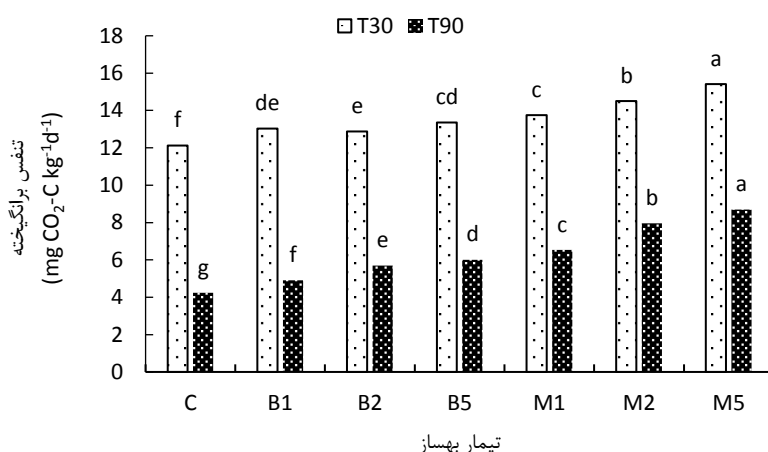
افزایش بخش فعال میکروبی خاک‌های تیمار شده به هر دو بهساز شد که همچنان شدت چنین افزایشی در تیمارهای کود گاوی بیشتر بوده است. چنین پیامدی می‌تواند به فراهمی بیشتر کربن و کارکرد بهتر کرم خاکی در تیمارهای دارای کود گاوی در برابر زغال زیستی وابسته باشد. از آنجایی که دستگاه گوارش کرم خاکی غنی از مواد غذایی محلول هستند بنابراین محیط مناسبی برای میکروبهای فعال و یا خفته بوده و بدین ترتیب جمعیت میکروبی گذر کرده از دستگاه گوارش کرم خاکی می‌تواند فعال یا فعال‌تر شود. همچنین کست و موکوس کرم خاکی برای جمعیت فعال خاک یک منبع غذایی مناسب محسوب می‌شود. دیگر پژوهشگران نیز افزایش تنفس برانگیخته خاک در پی کاربرد کرم خاکی را گزارش کرده‌اند. Li et al. (2002) افزایش ۶/۷ برابری تنفس برانگیخته را در حضور کرم خاکی در برابر نبودن آن گزارش کردند. Vafa et al. (2016) نیز مشاهده کردند که کرم‌های اپی-ژئیک^۱ و اندوژئیک^۲ موجب افزایش تنفس برانگیخته خاک به میزان ۵۳۷-۱۱۷۱ درصد در خاک‌های تیمار نشده به لجن فاضلاب می‌شوند. چنین پیامد افزایشی کرم خاکی بر تنفس برانگیخته در خاک‌های تیمار شده به لجن فاضلاب که دارای فلزات سنگین بود کمتر بود. با وجود این، Zhang et al. (2000) گزارش کردند که کرم *Eisenia fetida* پیامد معنی‌داری بر تنفس برانگیخته خاک ندارد. چنین تفاوت‌هایی در پاسخدهی تنفس برانگیخته از کرم خاکی در پژوهش‌های گوناگون می‌تواند به گونه کرم خاکی، ترکیب جامعه میکروبی و همچنین فراوانی متفاوت جمعیت‌های میکروبی فعال، خفته و غیرفعال در خاک وابسته باشد.



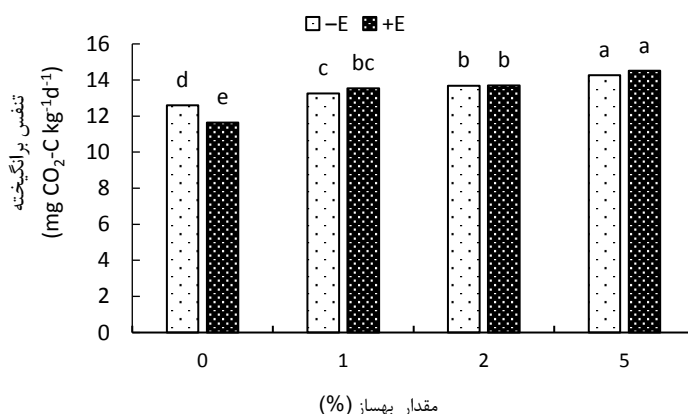
شکل ۵- بر هم‌کنش کرم خاکی و نوع بهساز بر تنفس برانگیخته خاک در دو زمان ۳۰ (T30) و ۹۰ (T90) روز انکوباسیون (-E، بدون کرم خاکی، +E با کرم خاکی؛ B، زغال زیستی، M، کود گاوی). حروف مشابه در هر زمان نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون LSD می‌باشد

آلی در کود گاوی در مقایسه با زغال زیستی و تیمار شاهد می- باشد؛ چرا که با گذشت زمان مقدار کاهش تنفس برانگیخته در تیمارهای کود گاوی (۴۳/۵ تا ۵۲/۵ درصد) کمتر از تیمارهای زغال زیستی (۵۵ تا ۶۲ درصد) و شاهد (۶۵ درصد) می‌باشد. بر هم کنش کرم خاکی و مقدار بهساز بر تنفس برانگیخته در زمان ۳۰ روز انکوباسیون نشان داد که کرم خاکی تنفس برانگیخته را در تیمار شاهد کاهش داد ولی پیامد معنی‌داری بر تنفس برانگیخته در مقادیر ۱، ۲ و ۵ درصد بهساز نداشت (شکل ۷). چنین به نظر می‌رسد که در تیمار شاهد که کود یا زغال زیستی دریافت نکرده است کرم خاکی به منظور تغذیه خود، از جمعیت میکروبی خاک استفاده کرده و در نتیجه تنفس برانگیخته خاک که ناشی از فعالیت و تنفس جمعیت فعال خاک می‌باشد را کاهش داده است.

برهمکنش نوع و مقدار بهساز نشان داد که افزایش مقدار بهساز بکار رفته در خاک به ۱، ۲ و ۵ درصد، تنفس برانگیخته خاک را در مقایسه با تیمار شاهد افزایش داد که شدت چنین افزایشی در تیمارهای کود گاوی (۱۳/۴ تا ۲۷/۲ درصد در زمان ۳۰ روز انکوباسیون و ۵۴/۲ تا ۱۰۵ درصد در زمان ۹۰ روز انکوباسیون) بیشتر از زغال زیستی (۶/۲ تا ۱۰/۲ درصد در زمان ۳۰ روز انکوباسیون و ۱۶ تا ۴۲ درصد در زمان ۹۰ روز انکوباسیون) بود (شکل ۶). این یافته می‌تواند به کمیت و کیفیت متفاوت کربن آلی موجود در کود گاوی و زغال زیستی آن نسبت داده شود. کاهش منابع غذایی و کربن فراهم در زغال زیستی سبب شده که سوبسترای کمتری برای جمعیت میکروبی فعال فراهم باشد و در نتیجه تنفس برانگیخته کاهش یابد. مقایسه دو زمان انکوباسیون نیز نشان از وجود مقادیر بیشتر فراهمی منابع



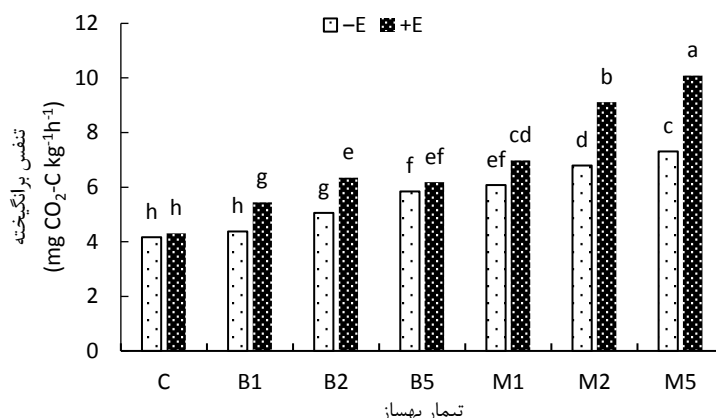
شکل ۶- بر هم کنش نوع و مقدار بهساز بر تنفس برانگیخته خاک در ۳۰ (T30) و ۹۰ (T90) روز انکوباسیون (C، شاهد؛ B1، زغال زیستی ۱ درصد؛ B2، زغال زیستی ۲ درصد؛ B5، زغال زیستی ۵ درصد؛ M1، کود گاوی ۱ درصد؛ M2، کود گاوی ۲ درصد؛ M5، کود گاوی ۵ درصد). حروف مشابه در هر زمان نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون LSD می‌باشد.



شکل ۷- بر هم کنش کرم خاکی و مقدار بهساز بر تنفس برانگیخته خاک در زمان ۳۰ روز انکوباسیون (-E، بدون کرم خاکی، +E، با کرم خاکی) حروف مشابه نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون LSD می‌باشد

۱، ۲ و ۵ درصد کود گاوی، تنفس برانگیخته خاک در حضور کرم خاکی در برابر نبود آن به ترتیب به میزان ۱۴/۸، ۳۴/۳ و ۳۸ درصد افزایش نشان داد (شکل ۸). با این حال، پاسخ‌دهی تنفس برانگیخته از کرم خاکی می‌تواند وابسته به بستر آن‌ها باشد به طوری که کمترین افزایش تنفس برانگیخته از کرم خاکی در پی کاربرد ۵ درصد زغال زیستی دور از انتظار نخواهد بود؛ چرا که کمترین فراوانی کرم خاکی در تیمار ۵ درصد زغال زیستی مشاهده گردید (شکل ۱).

برهم‌کنش سه گانه کرم خاکی، نوع و مقدار بهساز در ۹۰ روز انکوباسیون نشان داد که اگرچه کرم خاکی پیامد معنی‌داری بر تنفس برانگیخته تیمار شاهد ندارد ولی تنفس برانگیخته را در خاک‌های تیمار شده با هر دو بهساز (به‌غیر از تیمار ۵ درصد زغال زیستی) به طور معنی‌داری افزایش می‌دهد (شکل ۸). به گونه‌ای که تنفس برانگیخته در خاک‌های تیمار شده با مقدار ۱، ۲ و ۵ درصد زغال زیستی، به ترتیب افزایش ۲۴/۴، ۲۵/۶ و ۵/۷ درصدی را به بودن کرم خاکی نشان داد. این درحالی است که با کاربرد



شکل ۸- بر هم‌کنش سه گانه کاربرد کرم خاکی، نوع و مقدار بهساز بر تنفس برانگیخته خاک در زمان ۹۰ روز انکوباسیون (-E، بدون کرم خاکی، +E، با کرم خاکی، C، شاهد؛ B1، زغال زیستی ۱ درصد؛ B2، زغال زیستی ۲ درصد؛ B5، زغال زیستی ۵ درصد؛ M1، کود گاوی ۱ درصد؛ M2، کود گاوی ۲ درصد؛ M5، کود گاوی ۵ درصد). حروف مشابه در هر زمان نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون LSD می‌باشد

fetida از گروه کرم‌های ایپی‌ژئیک خاک می‌باشد که اغلب مانده-های گیاهی و مواد آلی تازه را می‌خورد. کرم‌های خاکی همچنین ریزجانداران خاک را به عنوان غذا می‌بلعد (Zhang et al., 2000). از نتایج این بخش از پژوهش چنین برداشت می‌شود که در زمان ۳۰ روز پس از انکوباسیون، کرم خاکی در تیمار شاهد، احتمالاً به منظور تغذیه خود از ریزجانداران خاک استفاده کرده و بدین ترتیب زیست‌توده میکروبی را کاهش داده است (Caravaca and Roldán, 2003). با گذشت زمان (پس از ۹۰ روز انکوباسیون) و افزایش کارکرد کرم خاکی و تولید کست بیشتر، زیستگاه خاک نیز برای ریزجانداران خاکری بهتر شده و زیست‌توده آن‌ها افزایش یافته است. در بررسی‌های گذشته نیز کاهش (Zhang et al., 2000; Vafa et al., 2016) و افزایش (Groffman et al., 2004; Li et al., 2002) زیست‌توده میکروبی خاک در پی کارکرد کرم خاکی گزارش شده است. همچنین گزارش شده است که برخی از باکتری‌ها پس از گذر از روده کرم خاکی افزایش، گروهی تغییر نیافته و برخی دیگر از آن‌ها کاهش می‌یابند (Lemtiri et al., 2014). پیامد گزینشی روده کرم خاکی بر ریزجانداران خورده

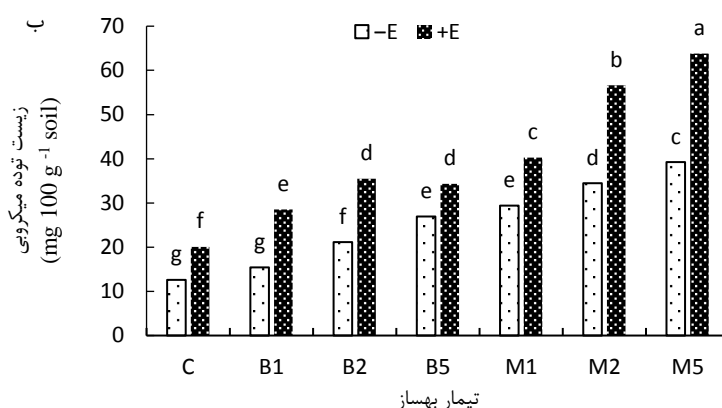
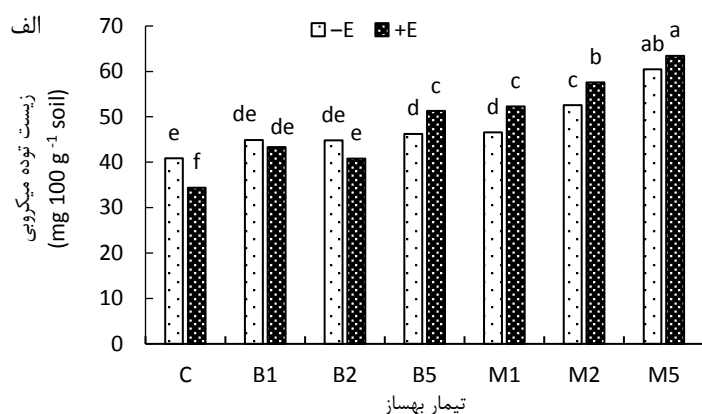
کربن زیست‌توده میکروبی

تجزیه و آریانس داده‌های کربن زیست‌توده میکروبی نشان داد که پیامد نوع و مقدار بهساز و بر هم‌کنش آن‌ها، بر هم‌کنش کرم خاکی و نوع بهساز و بر هم‌کنش کرم خاکی و مقدار بهساز در هر دو زمان انکوباسیون بر زیست‌توده میکروبی خاک معنی‌دار شدند. پیامد بر هم‌کنش سه گانه کرم خاکی، نوع و مقدار بهساز نیز در هر دو زمان انکوباسیون معنی‌دار گردید (جدول ۳).

آزمون میانگین‌ها نشان داد که در زمان ۳۰ روز انکوباسیون، کرم خاکی در تیمار شاهد موجب کاهش کربن زیست‌توده میکروبی به میزان ۱۵/۸ درصد گردید ولی پیامد معنی‌داری بر زیست‌توده میکروبی در تیمارهای ۱ و ۲ درصد زغال زیستی نداشت. در برابر آن‌ها، کرم خاکی موجب افزایش زیست‌توده میکروبی خاک در تیمار ۵ درصد زغال زیستی و تیمارهای ۱، ۲ و ۵ درصد کود گاوی شد (شکل ۹الف)؛ هرچند این افزایش در تیمار ۵ درصد کود گاوی معنی‌دار نشد. به هر گونه در زمان ۹۰ روز انکوباسیون، کرم خاکی بر زیست‌توده میکروبی خاک در همه تیمارها پیامد افزایشی نشان داد (شکل ۹ب). کرم خاکی *Eisenia*

صفر به ۵ درصد، زیست توده میکروبی افزایش یافت که شدت چنین افزایشی در تیمار کود گاوی و در حضور کرم خاکی بیشترین بود. این پدیده می تواند به مقدار فراهمی بیشتر کربن کود گاوی در برابر زغال زیستی آن وابسته باشد.

شده می تواند وابسته به رقابت میان میکروارگانیسم های خورده شده و ریزجانداران همزیست درونی روده کرم خاکی باشد (Brown and Mitchell, 1981). از سوی دیگر، زیست توده میکروبی خاک در هر دو زمان انکوباسیون، در تیمارهای کود گاوی بیشتر از زغال زیستی می باشد. با افزایش مقدار بهساز از



شکل ۹- برهم کنش کرم خاکی، نوع و مقدار بهساز بر زیست توده میکروبی خاک در زمان ۳۰ (الف) و ۹۰ (ب) روز انکوباسیون (-E، بدون کرم خاکی، +E، با کرم خاکی، C، شاهد؛ B1، زغال زیستی ۱ درصد؛ B2، زغال زیستی ۲ درصد؛ B5، زغال زیستی ۵ درصد؛ M1، کود گاوی ۱ درصد؛ M2، کود گاوی ۲ درصد؛ M5، کود گاوی ۵ درصد). حروف مشابه نشان دهنده عدم تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون LSD می باشد.

است که با گذشت زمان انکوباسیون و فعالیت کرم خاکی، جمعیت میکروبی خاک به سمت جمعیت های کارآمد در استفاده از کربن و انرژی تغییر کرده اند. جمعیت های کارآمد در واقع جمعیت هایی هستند که بتوانند کربن را بیشتر به صورت کربن زیست توده میکروبی تبدیل کنند. به عنوان مثال، قارچ ها نسبت به باکتری ها دارای کارایی بالاتری در استفاده از کربن و انرژی می باشند (Moscatelli et al. 2007). بنابراین این امکان وجود دارد که ساختار جامعه میکروبی خاک در حضور کرم خاکی با گذشت زمان تغییر کرده باشد. با این حال، این فرضیه لازم است در پژوهش های آینده مورد بررسی قرار گیرد. از کسر متابولیکی به عنوان شاخصی مناسب برای تعیین وضعیت تنش در اکوسیستم

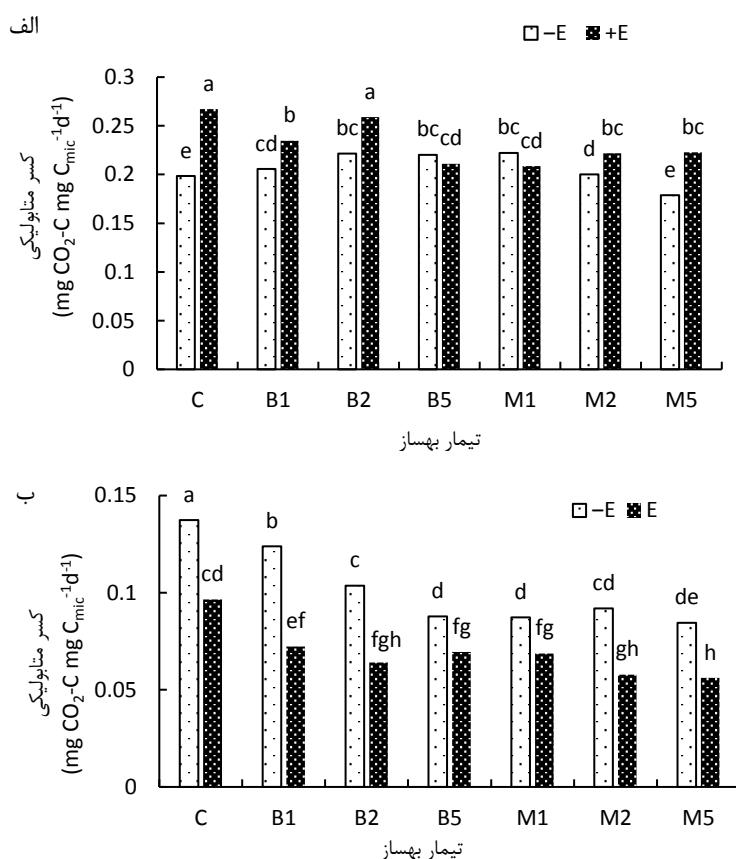
کسر متابولیکی

تجزیه واریانس داده ها نشان داد که پیامد کرم خاکی، نوع و مقدار بهساز، برهم کنش کرم خاکی و نوع بهساز، برهم کنش کرم خاکی و مقدار بهساز و برهم کنش کرم خاکی، نوع و مقدار بهساز بر کسر متابولیکی خاک در هر دو زمان انکوباسیون معنی دار گردیدند (جدول ۳).

آزمون میانگین ها نشان داد که در زمان ۳۰ روز انکوباسیون، کرم خاکی به جز در تیمارهای ۵ درصد زغال زیستی و ۱ درصد کود گاوی موجب افزایش کسر متابولیکی گردید (شکل ۱۰-الف). با وجود این، در زمان ۹۰ روز انکوباسیون، کرم خاکی موجب کاهش کسر متابولیکی شد (شکل ۱۰-ب). یافته ها حاکی از آن

متابولیکی افزایش یابد. با گذشت زمان و فعالیت بیشتر کرم خاکی و تولید کست که حاوی سوبسترای قابل دسترس بیشتر برای جمعیت میکروبی می‌باشد، از شدت تنش‌های ایجاد شده در اثر رقابت کاسته شده و کسر متابولیکی کاهش یافته است. در مطالعات گذشته، افزایش (Ernst *et al.* 2008) و کاهش (MacLean and Parkinson, 1997) کسر متابولیکی در اثر فعالیت کرم خاکی گزارش شده است.

خاک استفاده می‌شود. در شرایط تنش، مشاهده شده است که ریزجانداران برای نگهداری زیست توده خود به صرف انرژی بیشتری نیازمندند (Anderson, 2003). چنین به نظر می‌رسد که در دوره کوتاه مدت انکوباسیون (۳۰ روز)، بین کرم خاکی وارد شده به خاک و جمعیت میکروبی در استفاده از سوبسترای قابل دسترس رقابت پیش آمده و در نتیجه میکروب‌های خاک تحت شرایط تنش سوبسترا قرار گرفته‌اند و موجب شده که کسر



شکل ۱۰- پیامد کرم خاکی، نوع و مقدار بهساز بر کسر متابولیکی خاک در زمان ۳۰ (الف) و ۹۰ (ب) روز انکوباسیون (-E، بدون کرم خاکی، +E، با کرم خاکی، C، شاهد؛ B1، زغال زیستی ۱ درصد؛ B2، زغال زیستی ۲ درصد؛ B5، زغال زیستی ۵ درصد؛ M1، کود گاوی ۱ درصد؛ M2، کود گاوی ۲ درصد؛ M5، کود گاوی ۵ درصد). حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD می‌باشد.

هستند. همچنین از آنجایی که زغال زیستی دارای کربن قابل تجزیه کمتر (کربن پایدار بیشتر) در مقایسه با کود گاوی می‌باشد بنابراین چنین به نظر می‌رسد که ریزجانداران در تیمار زغال زیستی از نظر نیاز غذایی دچار تنش بیشتری می‌باشند.

نتایج همچنین نشان داد که در ۳۰ روز انکوباسیون، در تیمار بدون کرم خاکی، افزودن زغال زیستی، موجب افزایش معنی‌داری در کسر متابولیکی نسبت به تیمار شاهد شده است. با وجود این، تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای ۱، ۲ و ۵ درصد زغال زیستی مشاهده نشد. کاربرد ۱ و ۲ درصد کود گاوی موجب

به طور میانگین، کسر متابولیکی تیمار زغال زیستی بیشتر از کود گاوی می‌باشد که نشان‌دهنده آن است که جمعیت میکروبی خاک‌های تیمار شده به زغال زیستی دارای کارایی متابولیکی کمتری در برابر جمعیت میکروبی خاک‌های تیمار شده به کود گاوی است (شکل ۱۰). کسر متابولیکی یک شاخص اکوفیزیولوژیک خاک بوده که به منظور بررسی کیفیت خاک نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد (Moscatelli *et al.* 2007). چنین به نظر می‌رسد که خاک‌های تیمار شده به کود گاوی از کیفیت بیولوژیک مناسب‌تری در مقایسه با زغال زیستی آن برخوردار

مقایسه با خاک‌های تیمار شده با بقایای ذرت بوده است.

نتیجه گیری

با افزایش آلودگی هوا به گازهای گلخانه‌ای در دهه گذشته بسیاری از پژوهشگران نگاه ویژه‌ای به ساخت و کاربرد زغال زیستی در خاک داشته‌اند. اگرچه پیامدهای مثبت زغال زیستی ساخته شده از مواد آلی گوناگون بر بسیاری از ویژگی‌های خاک گزارش شده است ولی بررسی وجود پیامدهای منفی آن بر ویژگی‌های زیستی و حساس خاک و از سوی دیگر مقایسه پیامد کاربرد زغال زیستی با ماده خام اولیه آن در خاک کمتر آزمون شده است. به طور کلی نتایج این پژوهش گویای آن است که کود گاوی بستر مناسب‌تری برای زندگی کرم خاکی در برابر زغال زیستی آن در دوره‌های زمانی آزمون شده در این پژوهش است. اگرچه کاربرد هر دو بهساز کود گاوی و زغال زیستی آن موجب بهبود ویژگی‌های میکروبی خاک شد ولی خاک‌های تیمار شده به کود گاوی در برابر زغال زیستی آن به ویژه در حضور کرم خاکی دارای کیفیت زیستی بهتری بودند. با وجود این، نتایج این پژوهش نشان داد که کاربرد ۱ درصد زغال زیستی کود گاوی با نداشتن پیامد منفی بر کرم خاکی در بلند مدت می‌تواند در بهبود کیفیت زیستی خاک مناطق خشک و نیمه‌خشک کارایی داشته باشد. لذا توصیه می‌گردد که در دوره زمانی بیشتر و در مقیاس مزرعه‌ای نیز چنین آزمون‌هایی مجدداً مورد بررسی قرار گیرد.

افزایش معنی‌دار کسر متابولیسی نسبت به شاهد شد. با افزایش مقدار کود گاوی از ۱ به ۲ و ۵ درصد از کسر متابولیسی کاسته شد (شکل ۱۰-الف). شایان ذکر است که در حضور کرم خاکی، افزودن زغال زیستی (به جز مقدار ۲ درصد آن) و کود گاوی به خاک موجب کاهش کسر متابولیسی در برابر شاهد شدند. پس از ۹۰ روز انکوباسیون، افزودن هر دو بهساز کود گاوی و زغال زیستی آن موجب کاهش کسر متابولیسی نسبت به تیمار شاهد شدند که کم‌ترین مقدار کسر متابولیسی به تیمار ۵ درصد کود گاوی دارای کرم خاکی اختصاص یافت (شکل ۱۰-ب). همان‌طور که قبلاً ذکر شد تغییر کسر متابولیسی می‌تواند نشان‌دهنده تغییر جامعه میکروبی خاک باشد. بنابراین این احتمال وجود دارد که تغییرات مشاهده شده در کسر متابولیسی در اثر افزودن بهساز در کوتاه و بلند مدت به تغییر جامعه میکروبی خاک وابسته باشد. از طرفی کاهش کسر متابولیسی در اثر افزودن هر دو بهساز کود و زغال زیستی در بلند مدت نشان از آن دارد که افزودن هر دو بهساز موجب کاهش تنش در خاک و بهبود کیفیت خاک شده است که از بین تیمارها، تیمار ۵ درصد کود گاوی دارای کرم خاکی شرایط مناسب‌تری را برای ریزجانداران خاک ایجاد کرده است. کاهش کسر متابولیسی با افزودن بقایای ذرت و زغال زیستی آن در مقایسه با خاک شاهد توسط (Khadem and Raiesi (2017 گزارش شده است. همچنین این پژوهشگران مشاهده کردند که خاک‌های تیمار شده با زغال زیستی ذرت ساخته شده در دمای ۲۰۰ و ۴۰۰ درجه سلسیوس دارای کسر متابولیسی بیشتری در

REFERENCES

- Alef, K. (1995a). Microbial biomass. In K. Alef and P. Nannipieri (Eds.), *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry*. (pp. 375-417.). London, Harcourt Brace and Company Pub.
- Alef, K. (1995b). Soil respiration. In K. Alef and P. Nannipieri (Eds.), *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry*. (pp. 214-216). London, Harcourt Brace and Company Pub.
- Anderson, T.H. (2003). Microbial eco-physiological indicators to assess soil quality. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 98(1-3), 285-293.
- Beheshti, M., Etesami, H. and Alikhani, H. A. (2018). Effect of different biochars amendment on soil biological indicators in a calcareous soil. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(15), 14752-14761.
- Brown B.A. and Mitchell, M. J. (1981). Role of the earthworm, *Eisenia foetida* in affecting survival of *Salmonella enteritidis* typhimurium. *Pedobiologia*, 21(6), 434-438.
- Caravaca, F. and Roldán, A. (2003). Effect of *Eisenia foetida* earthworms on mineralization kinetics, microbial biomass, enzyme activities, respiration and labile C fractions of three soils treated with a composted organic residue. *Biology and Fertility of Soils*, 38(1), 45-51.
- Chapman, H.D. (1965). Cation exchange capacity. In C.A. Black, D.D. Evans, L.J. White, L.E. Ensminger and F.E. Clark (Eds.), *Methods of Soil Analysis*. (pp. 891-901) American Society of Agronomy, Madison, WI.
- Cox, D., Bezdicek, D. and Fauci, M. (2001). Effects of compost, coal ash, and straw amendments on restoring the quality of eroded Palouse soil. *Biology and Fertility of Soils*, 33(5), 365-372.
- Dempster, D.N., Gleeson, D.B., Solaiman, Z.M., Jones, D. L. and Murphy, D.V. (2012). Decreased soil microbial biomass and nitrogen mineralisation with eucalyptus biochar addition to a coarse textured soil. *Plant and Soil*. 354, 311-324.
- Ernst, G., Müller, A., Göhler, H. and Emmerling, C. (2008). C and N turnover of fermented residues from biogas plants in soil in the presence of three different earthworm species (*Lumbricus terrestris*, *Aporrectodea longa*, *Aporrectodea caliginosa*). *Soil Biology and Biochemistry*, 40(6), 1413-1420.
- Gee, G.W., and Bauder, J.W. (1986). Particle- size

- analysis. In A. Klute (Ed.), *Methods of Soil Analysis. Part 1. Physical and Mineralogical Methods*. (pp. 383-411). Soil Science Society of America and American Society of Agronomy, Madison, WI, USA,
- Groffman, P. M., Bohlen, P.J., Fisk, M. C. and Fahey, T. J. (2004). Exotic earthworm invasion and microbial biomass in temperate forest soils. *Ecosystems*, 74, 50-54.
- Gul, S., Whalen, J. K., Thomas, B. W., Sachdeva, V. and Deng, H. (2015). Physico-chemical properties and microbial responses in biochar-amended soils: mechanisms and future directions. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 206, 46-59.
- He, Y., DeSutter, T., Prunty, L., Hopkins, D., Jia, X. and Wysocki, D.A. (2012). Evaluation of 1: 5 soil to water extract electrical conductivity methods. *Geoderma*, 185, 12-17.
- Jiang, L.L., Han, G.M., Yu, L.A.N., Liu, S.N., Gao, J.P., Xu, Y.A.N.G., Jun, M.E.N.G. and Chen, W.F. (2017). Corn cob biochar increases soil culturable bacterial abundance without enhancing their capacities in utilizing carbon sources in Biolog Eco-plates. *Journal of integrative agriculture*, 16(3), 713-724.
- Khadem, A. and Raiesi, F. (2017). Responses of microbial performance and community to corn biochar in calcareous sandy and clayey soils. *Applied Soil Ecology*, 114, 16-27.
- Lehmann J. and Joseph, S. (2009). Biochar for environmental management- an introduction. In J. Lehmann and S. Joseph (Eds.), *Biochar for environmental management: Science and Technology*. (pp. 1-11). London. Earth scan.
- Lemtiri, A., Colinet, G., Alabi, T., Cluzeau, D., Zirbes, L., Haubruge, É. and Francis, F. (2014). Impacts of earthworms on soil components and dynamics. A review. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*, 18(1), 1-13.
- Li, X., Fisk, M.C., Fahey, T.J., and Bohlen, P.J. (2002). Influence of earthworm invasion on soil microbial biomass and activity in a northern hardwood forest. *Soil Biology and Biochemistry*, 34, 1929-1937.
- Li, H., Yutong, W., Tianpei, W. and Hongrui, M. (2015). Effect of biochar on organic matter conservation and metabolic quotient of soil. *Environmental Progress and Sustainable Energy*, 34(5), 1467-1472.
- Liesch, A.M., Weyers, S.L., Gaskin, J.W., and Das, K. C. (2010). Impact of two different biochars on earthworm growth and survival. *Annals Environmental Science*, 4, 1-9.
- Nelson, R.E. (1982). Carbonate and gypsum. In A.L. Page, R.H. Miller and D.R. Keeney (Eds.), *Methods of Soil Analysis*. (pp. 181-197). American Society of Agronomy, Madison, WI, USA.
- Nelson, D.W., and Sommers, L.P. (1996). Total carbon, organic carbon and organic matter. In D. L. Sparks (Ed.). *Methods of Soil Analysis, Part 2: Chemical methods* (pp. 961-1010). Soil Science Society of America, Madison, WI, USA.
- Novak, J.M., Lima, I., Xing, B., Gaskin, J.W., Steiner, C., Das, K., Ahmedna, M., Rehrh, D., Watts, D. W. and Busscher, W.J. (2009). Characterization of designer biochar produced at different temperatures and their effects on a loamy sand. *Annals of Environmental Science*, 31, 95-206.
- Rayment, G.E and Higginson, F.R. (1992), *Australian laboratory handbook of soil and water chemical methods*. Melbourne: Kata Press.
- Rezai, H. (2013). A review of research on application of livestock manure in agricultural land of Iran. *Journal of Land Management*. 1, 55-68. (in Farsi)
- Schouten, S., Van Groenigen, J. W., Oenema, O. and Cayuela, M.L. (2012). Bioenergy from cattle manure Implications of anaerobic digestion and subsequent pyrolysis for carbon and nitrogen dynamics in soil. *GCB Bioenergy*. 4, 751-760.
- Song, W. and Guo, M., (2012). Quality variations of poultry litter biochar generated at different pyrolysis temperatures. *Journal of analytical and applied pyrolysis*, 94: 138-145.
- Tammeorg, P., Parviainen, T., Nuutinen, V., Simojoki, A., Vaara, E. and Helenius, J. (2014). Effects of biochar on earthworms in arable soil: avoidance test and field trial in boreal loamy sand. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 191, 150-157.
- Topoliantz, S. and Ponge, J.F. (2003). Burrowing activity of the geophagous earthworm *Pontoscolex corethrurus* (Oligochaeta: Glossoscolecidae) in the presence of charcoal. *Applied Soil Ecology*. 23, 267-271.
- Vafa, H. J., Raiesi, F. and Hosseinpour, A. (2016). Sewage sludge application strongly modifies earthworm impact on microbial and biochemical attributes in a semi-arid calcareous soil from Iran. *Applied Soil Ecology*, 100, 45-56.
- Weyers, S. L. and Spokas, K. A. (2011). Impact of biochar on earthworm populations: a review. *Applied and Environmental Soil Science*, 2011, 1-13.
- Zhang, B.G., Li, G.T., Shen, T.S., Wang, J.K., and Sun, Z. (2000). Changes in microbial biomass C, N, and P and enzyme activities in soil incubated with the earthworms *Metaphire guillelmi* or *Eisenia fetida*. *Soil Biology and Biochemistry*, 32, 2055-2062.
- Zhang, X., Wang, H., He, L., Lu, K., Sarmah, A., Li, J., Bolan, N.S., Pei, J., Huang, H. (2013). Using biochar for remediation of soils contaminated with heavy metals and organic pollutants. *Environmental Science and Pollution Research*. 20, 8472-8483.