تحقیقات آب و خاک ایران، دوره ۵۰، شماره ۲، خرداد و تیر ۱۳۹۸ (ص ۲۷۲-۲۵۹) DOI: 10.22059/ijswr.2018.257511.667908

Evaluation of the Qualitative Characteristics of the Treated Calcareous Soils with Compost and Biochar in the Presence of Plant Growth Promoting Bacteria

ROGHAYEH VAHEDI[1*], MIR HASSAN RASOULI-SADAGHIANI [2], MOHSEN BARIN[3]

1. MSc. Student, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.
2. Professors, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.
3. Assistance Prof. of Soil Science, Dept. of Soil Science, Urmia University, Urmia, Iran.

(Received: May. 14, 2017- Revised: June. 21, 2018- Accepted: July. 17, 2018)

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of compost and biochar from trees pruning residues in the presence of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on some biological properties of calcareous soil. The experiment was carried out in a completely randomized design under greenhouse condition in rhizobox. The factors included organic matter (biochar, compost and control), microbial inoculation (PGPR bacteria and no microbial inoculation as a control) and soil (rhizospheric and non-rhizospheric soil). The organic carbon, microbial biomass carbon, microbial biomass phosphorus, microbial respiration, substrate-induced respiration and phosphatase enzymes in the rhizospheric and non-rhizospheric soils were determined at the end of growth period. The results showed that the simultaneous application of organic matter and microbial inoculation increased soil biological indices significantly as compared to control treatment. Furthermore, the compost treatment increased the microbial biomass carbon, microbial biomass phosphorus, alkaline and acid phosphatase enzyme activity in the rhizospheric soil by 1.02, 1.14, 1.16 and 1.10 times, as compared to the ones in non-rhizospheric soil, respectively. However, the lowest fraction of microbial biomass carbon to microbial biomass phosphorus was observed in rhizospheric soil of compost treatment. Microbial respiration and substrate-induced respiration in the compust rhizospheric soil were measured to be 1.04 and 1.21 times higher than the ones in the non-rhizospheric soil, respectively. In general, application of organic matter in the conditions of microbial inoculation compared with non-microbial inoculation lead to improve soil biological properties.

Keywords: Soil biological indices, Pruning waste, Rhizospher, Rhizobox

* Corresponding authors' E-mail: rvahedi93@yahoo.com

ارزیابی خصوصیات کیفی خاک آهکی تیمار شده با بیوچار و کمپوست در حضور باکتری‌های محرک رشد گیاه

رقیه واحدی[۱]*، میرحسن رسولی صدقیانی[۲]، محسن برین[۳]

۱. دانشجوی ارشد گروه علـــوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۲. استاد گروه علـــوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۳. استادیار گروه علـــوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

(تاریخ دریافت: ۲۴/ ۲/ ۱۳۹۷- تاریخ بازنگری: ۳۱/ ۳/ ۱۳۹۷- تاریخ تصویب: ۲۶/ ۴/ ۱۳۹۷)

چکیده

این تحقیق با هدف ارزیابی تأثیر کمپوست و بیوچار حاصل از بقایای هرس درختان میوه در حضور باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد (PGPR) بر برخی شاخص‌های بیولوژیکی خاک آهکی در قالب آزمایشی به‌صورت فاکتوریل با طرح کاملاً تصادفی در شرایط گلخانه‌ای در رایزوباکس اجرا شد. فاکتورها شامل منابع آلی (بیوچار، کمپوست و شاهد)، تلقیح میکروبی (باکتری‌های PGPR و عدم تلقیح) و خاک (خاک ریزوسفر و غیرریزوسفر) بودند. در پایان دوره رشد گیاه، کربن آلی، کربن زیست‌توده میکروبی، فسفر زیست‌توده میکروبی، تنفس پایه، تنفس برانگیخته با سوبسترا و آنزیم‌های فسفاتاز در خاک‌های ریزوسفری و غیرریزوسفری تعیین گردید. نتایج نشان داد که کاربرد هم‌زمان مواد آلی به همراه تلقیح باکتری‌های PGPR باعث افزایش معنی‌دار شاخص‌های بیولوژیک در خاک نسبت به تیمار بدون تلقیح و مواد آلی شد. همچنین تیمار کمپوست کربن زیست‌توده میکروبی، فسفر زیست‌توده میکروبی و فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیا و اسیدی را به ترتیب ۱/۰۲، ۱/۱۴، ۱/۱۶ و ۱/۱۰ برابر در خاک ریزوسفر نسبت به غیرریزوسفر افزایش داد. در حالی‌که کمترین نسبت کربن به فسفر زیست‌توده میکروبی را کمپوست در خاک ریزوسفری به خود اختصاص داد. تنفس پایه و تنفس برانگیخته با سوبسترا در خاک ریزوسفری کمپوست به ترتیب ۱/۰۴ و ۱/۲۱ برابر بیشتر از مقادیر آن‌ها در خاک غیرریزوسفر بود. به‌طور کلی کاربرد مواد آلی در شرایط تلقیح میکروبی نسبت به شرایط بدون تلقیح میکروبی منجر به بهبود خواص بیولوژیکی خاک می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: شاخص‌های بیولوژیک، بقایای هرس، ریزوسفر، رایزوباکس

مقدمه

کیفیت خاک علاوه بر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن، دارای ارتباط نزدیکی با خصوصیات بیولوژیکی آن نیز می‌باشد. شاخص‌های بیولوژیک خاک از جنبه‌های مهم کیفیت خاک هستند و به همین دلیل کیفیت خاک با استفاده از خواص مختلف بیولوژیک نیز اندازه‌گیری می‌شود. اصولاً خاکی که از تنوع و توزیع مناسب میکروبی برخوردار باشد و ریزجانداران آن به خوبی فعالیت کنند، از نظر کیفی در سطح بالایی است. لذا برای ارزیابی تغییرات عملکرد 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 ریزجانداران خاک هستند، مورد استفاده قرار گیرند (Gil- *et al.*, 2005 Sotres). تنفس میکروبی خاک اساساً فرآیندی سلولی بوده و واکنش‌های بیوشیمیایی بسیاری را در بر می‌گیرد. این فرآیند علاوه براینکه شاخصی از وضعیت و فعالیت میکروب‌های خاک است، بیان‌گر روند و چگونگی تجزیه مواد آلی، فعالیت آنزیمی و چرخه برخی از عناصر غذایی خاک می‌باشد (Luo and Zhou., 2006). فعالیت آنزیمی و زیست‌توده میکروبی از مهم‌ترین شاخص‌های زیستی خاک محسوب می‌شوند. به نظر می‌رسد که در میان پارامترهای زیست‌شیمیایی در درجه اول کربن زیست‌توده میکروبی (۴۱٪) و فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز (اسیدی یا قلیایی) (۲۸٪) بیشترین کاربرد را در ارزیابی شاخص‌های زیستی در بین سایر شاخص‌های زیستی داشته‌اند (Gil-Sotres *et al.*, 2005). فعالیت آنزیمی و زیست‌توده میکروبی ارتباط نزدیکی با یکدیگر دارند زیرا تبدیل عناصر آلی مهم از طریق میکروارگانیسم‌ها صورت می‌پذیرد. آنزیم‌های تولیدشده توسط میکروب‌ها در خاک، نقش کلیدی در عملکرد بیوشیمیایی، تجزیه مواد آلی و چرخه عناصر غذایی ایفا می‌کنند (Waldrop *et al.*, 2004). در محیط خاک مهم‌ترین عامل محدودکننده فعالیت میکروبی قابلیت دسترسی به سوبسترای کربنه‌ی قابل

* نویسنده مسئول: rvahedi93@yahoo.com

مصرف است که با ورود سوبسترای کربنه به خاک جمعیت میکروبی در اطراف سوبسترا افزایش می‌یابد (Chen *et al.*, 2003). بقایای هرس درختان یکی از منابع مهم ماده آلی اولیه خاک است. با توجه به اینکه وجود ماده آلی در خاک بیانگر کیفیت و سلامت خاک است، لذا یکی از راه‌های صحیح و عملی برای بهبود ماده آلی خاک، مدیریت استفاده صحیح از بقایای هرس درختان میوه است که متأسفانه قسمت اعظم آن سوزانده و یا در جایی رها گردیده و آلودگی محیط‌زیست را فراهم می‌نماید (Cakmak *et al.*, 2001). بقایای هرس درختان با تبدیل‌شدن به بیوچار و کمپوست علاوه بر جایگزینی یا فراهم کردن عناصر غذایی در خاک و بهبود خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک نقش مهمی نیز بر پویایی و زندگی میکروارگانیسم‌های خاک و ایجاد نوعی تعادل دینامیکی در اجزای زنده و غیر زنده خاک ایفا می‌کنند (Singh *et al.*, 2003). با این حال، اطلاعات اندکی و همچنین نگرانی‌های زیادی درباره تبدیل ضایعات هرس درختان به بیوچار بر خلاف سایر ضایعات سبز وجود دارد. بیوچار ماده جامد غنی از کربن تولیدشده توسط تجزیه گرمایی (Pyrolysis) یا گرماکافت توده‌های زیستی با مقدار کمی اکسیژن یا بدون اکسیژن می‌باشد. مقادیر نسبی و ویژگی بیوچار توسط شرایط گرماکافت مانند دما، میزان حرارت یا سرعت دمایی، مدت زمان، فشار و نوع ماده‌ی اولیه کنترل می‌شود (Roberts *et al.*, 2010). همچنین کمپوست‌سازی به عنوان مؤثرترین روش برای کنترل و مدیریت بقایای مواد آلی گزارش شده است. زیرا کمپوست فرآورده حاصل از تجزیه مواد آلی توسط ریزجانداران در یک محیط گرم، مرطوب و هوازی است که حاوی مقادیر فراوانی عناصر معدنی می‌باشد که به‌تدریج و پیوسته در خاک آزاد می‌گردند (Das et al., 2010). پژوهش‌های انجام‌شده بر روی بیوچار نشان داده که افزودن بیوچار به خاک سبب افزایش جمعیت و فعالیت و نیز زیست‌توده میکروبی ریزجانداران خاک شده است. منافذ بیوچار با حفاظت از ریزجانداران، زیستگاه مناسبی برای موجودات زنده میکروسکوپی فراهم نموده و همچنین انواع مختلفی از مواد غذایی معدنی، انرژی و کربن هم تولید می‌نمایند. بنابراین بیوچار تأثیر مثبتی بر روی فعالیت‌های بیولوژیکی خاک و در نهایت حفظ کیفیت خاک دارد (Lehmann *et al.*, 2011). Brik *et al* (2009) مشاهده کردند که تنفس پایه، زیست‌توده میکروبی، رشد جمعیت و کارایی جذب میکروب‌ها به‌صورت خطی و به‌طور قابل‌توجهی با افزایش غلظت بیوچار چوب (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ گرم در کیلوگرم خاک) افزایش یافته است. کربن زیست‌توده میکروبی به عنوان مخزن قابل‌توجه عناصر غذایی و تغییر و تبدیلات مواد آلی خاک است، سرعت تجزیه فسفر زیست‌توده میکروبی از سرعت تجزیه کربن زیست‌توده میکروبی سریعتر است. بنابراین، فسفر زیست‌توده میکروبی می‌تواند منبع مهمی در تأمین فسفر موردنیاز گیاه باشد. Steiner *et al.* (2004) گزارش کردند که زیست‌توده میکروبی در خاک‌های اسیدی برزیل اصلاح‌شده با بیوچار به دلیل 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؛ که دلیل افزایش فعالیت‌های آنزیمی همانند فعالیت فسفاتازها پس از افزودن بیوچار می‌تواند افزایش دسترسی ریزجانداران به مواد غذایی به دنبال افزودن مواد آلی و افزایش ترشحات ریشه‌ای باشد (Tejada and Gonzalez, 2006). البته تأثیرات کاربرد بیوچار بر فعالیت‌های آنزیمی خاک متفاوت است (Wu *et al.*, 2013). فعالیت اکثر آنزیم‌ها در شرایط قلیایی افزایش می‌یابد که نشان‌دهنده افزایش فعالیت اصلاح‌کننده‌ی بیوچار است (Bailey *et al.*, 2011). از سویی، گزارش شده که در پایان فرآیند تولید کمپوست، این فرآورده‌ها حاوی جمعیت زیادی از میکروارگانیسم‌ها هستند و بنابراین با مصرف کمپوست، علاوه بر افزایش مواد آلی و عناصر غذایی در خاک، موجودات زنده نیز وارد خاک می‌شوند (Marinari *et al.*, 2000). از سوی دیگر یک سری ریزجاندارن همانند باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد (PGPR[1]) در خاک قادر به تحریک و افزایش فعالیت‌های میکروبی خاک بوده و فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز و زیست‌توده میکروبی را در خاک تشدید می‌کنند (Kaur and Reddy, 2014). در یک سیستم ریشه‌ای فعال، ترکیبات آلی به‌طور منظم به ریزوسفر آزاد می‌شوند که باعث رشد و افزایش فعالیت جامعه‌ی میکروبی خاک شده و سلامت سیستم را بهبود می‌بخشند. در حالت طبیعی معمولاً جمعیت PGPRها در ریزوسفر پایین بوده، چنان‌که نمی‌توانند به‌طور قابل‌توجهی باعث افزایش رشد و عملکرد گیاهان شوند. بنابراین تلقیح بذر گیاهان با جمعیت‌های بالای باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه می‌تواند تعداد این باکتری‌ها را در ریزوسفر به حد مطلوب رسانده و در نتیجه منجر به افزایش شاخص‌های بیولوژیک در خاک گردد (Cakmakci *et al.*, 2007). علاوه بر این قرار دادن ماده آلی (کمپوست و بیوچار) در اطراف ریزوسفر یا خارج از ریزوسفر می‌تواند تأثیر قابل‌توجهی در فعالیت میکروبی در خاک ریزوسفری و غیرریزوسفری داشته باشد (Liang *et al.*, 2005). مطالعه‌ی خاک ریزوسفری اغلب با مشکلاتی همراه است زیرا لایه‌ی خاکی که مستقیماً تحت تأثیر ریشه قرار می‌گیرد بسیار نازک بوده و از طرف دیگر توزیع ریشه

1- Plant growth promoting rhizobacteria

در خاک بسیار گسترده است (Moshiri, 2010). به منظور مطالعه دقیق‌تر فرایندهای ریزوسفری، محدود کردن رشد ریشه‌ها در حجم معینی از خاک سبب افزایش تراکم ریشه شده و نمونه‌برداری از خاک ریزوسفری را تسریع می‌نماید و یک صفحه با منافذ ریز از جنس نایلون یا دیگر مواد مصنوعی و یا استیل ضدزنگ نیز می‌تواند برای محدود کردن رشد ریشه گیاه استفاده گردد. این صفحات اجازه عبور آب، گاز و پخشیدگی مواد غذایی را می‌دهند به‌گونه‌ای که رشد گیاه تا حد زیادی تحت تأثیر قرار نگیرد (Hylander, 2002) و اجازه می‌دهد که خاک را در فاصله‌های معین تعریف‌شده از سطح ریشه با برش‌های مساوی جمع‌آوری کرد. این اطلاعات در ساخت ظروفی به نام رایزوباکس[2] مورد استفاده قرار گرفته است. رایزوباکس شرایطی همانند گلدان دارد با این تفاوت که خاک را از تماس مستقیم با ریشه جدا کرده بدون اینکه در حرکت محلول خاک خللی وارد شود. با توجه به اهمیت روزافزون ماده آلی و کودهای بیولوژیک در کشاورزی و نظر به اینکه ارتباط بین بیوچار و باکتری‌های PGPR و تاثیرات آن‌ها در فرآیندهای بیولوژیکی خاک هنوز به اندازه کافی توصیف نشده است و اکثر مطالعات بیوچار در خاک‌های اسیدی و در شرایط آب هوایی گرم و مرطوب انجام گرفته است. همچنین پژوهش‌های کمی در این ارتباط در رایزوباکس انجام گرفته است. لذا هدف از این تحقیق تأثیر کاربرد بیوچار و کمپوست بقایای هرس درختان میوه بر برخی خصوصیات بیولوژیکی خاک آهکی در حضور باکتری‌های PGPR در شرایط رایزوباکس می‌باشد.

2- Rhizobox

مواد و روش‌ها

انتخاب نمونه خاک و آماده‌سازی بستر کشت

این آزمایش بصورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار که فاکتورها شامل ماده آلی (بیوچار بقایای هرس، کمپوست بقایای هرس و شاهد بدون ماده آلی)، تلقیح میکروبی (باکتری‌هایPGPR و شاهد بدون تلقیح) و خاک (خاک ریزوسفری و غیرریزوسفری) بود، در گلخانه تحقیقاتی گروه علوم خاک دانشگاه ارومیه اجرا گردید. برای سهولت در نمونه‌برداری از خاک ریزوسفری، خاک غیر زراعی با بافت سبک از عمق ۰-۳۰ سانتی‌متری شهرستان سلماس واقع در استان آذربایجان غربی تهیه شد و بعد از هوا خشک‌کردن از غربال ۲ میلی‌متری عبور داده شد. سپس در دستگاه اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس و فشار ۱/۵ اتمسفر به مدت ۲ ساعت استریل شدند. قبل از استریل کردن خاک، برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی به روش‌های استاندارد اندازه‌گیری شدند (Sparks et al., 1996) (جدول ۱).

جدول ۱- نتایج برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک شنی

بافت خاک	pH	EC	کربن آلی	کربنات کلسیم معادل	نیتروژن کل	فسفر قابل‌استفاده	پتاسیم قابل‌استفاده
		$dS\ m^{-1}$	%	%	%	$mg\ kg^{-1}$	$mg\ kg^{-1}$
شن لومی	۷/۵۳	۰/۴۷	۰/۲۵	۱۴/۲۵	۰/۰۸	۷/۶۴	۹۸

تهیه بیوچار و کمپوست از ضایعات هرس درختان سیب و انگور و خصوصیات شیمیایی آنها

برای تهیه بیوچار، بقایای هرس درختان میوه از باغ‌های استان آذربایجان غربی شهرستان ارومیه جمع‌آوری شد. سپس در آون در دمای ۶۵ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند. نمونه‌های خشک‌شده ابتدا به راکتور (استوانه فلزی به قطر ۷ و ارتفاع ۳۱ سانتی‌متر) و سپس به کوره الکتریکی برای تولید بیوچار منتقل گردید. تولید در دمای ۳۵۰ درجه سانتی‌گراد انجام گردید. همچنین کمپوست بقایای هرس از گلخانه تحقیقاتی گروه علوم خاک دانشگاه ارومیه تهیه گردید. در نهایت بیوچار و کمپوست بقایای هرس آسیاب و از الک ۰/۵ میلی‌متری عبور داده شد. در روی بیوچار تولیدشده خاکستری مشاهده نشد که نشان‌دهنده‌ی حذف اکسیژن و صحت روش صحیح تولید بیوچار بود. pH و EC بیوچار در عصاره صاف‌شده سوسپانسیون ۱ به ۱۰ بیوچار به آب (ASTM, 2009)، فسفر کل بیوچار به روش هضم با اسید (Rajkovich *et al*., 2011)، نیتروژن و کربن بیوچار نیز به روش سوزاندن خشک با دستگاه (Rajkovich *et al*., 2011) ESC 4010 CHNSO Analyzer اندازه‌گیری گردید. pH و EC کمپوست در عصاره صاف‌شده سوسپانسیون ۱ به ۵ کمپوست به آب، نیتروژن کل کمپوست به روش کجلدال (Emami, 1997)، فسفر کمپوست بعد از هضم خشک به روش آمونیم وانادات (Emami, 1997) و کربن آن به روش والکی و بلاک (Nelson and Sommers, 1982) اندازه‌گیری شد (جدول ۲).

جدول ۲- برخی از ویژگی‌های بیوچار بقایای هرس و کمپوست حاصل از بقایای هرس درختان سیب و انگور

ویژگی‌ها	واحد	بیوچار بقایای هرس سیب و انگور	کمپوست بقایای هرس سیب و انگور
pH		۷/۲۹	۷/۰۵
EC	ds m^{-1}	۰/۰۸	۱۷/۸۷
نیتروژن	%	۰/۵۴	۳/۷۲
کربن	%	۶۷/۵۳	۳۰/۰۲
C/N		۱۲۵/۰۵	۷/۹۲
فسفر کل	%	۰/۶۶	۷/۵۴

- بیانگر عدم اندازه‌گیری پارامتر موردنظر

آزمون گلخانه‌ای و آنالیز خاک

برای انجام آزمون گلخانه‌ای و به‌منظور کشت گیاه از رایزوباکس استفاده شد. باکس‌های ریزوسفر در ابعاد ۲۰×۱۵×۲۰ سانتی‌متر (طول، عرض، ارتفاع) استفاده شد. فضای هر باکس با استفاده از صفحات مشبک نایلونی ۳۲۵ مش به دو قسمت: ۱) ناحیه ریزوسفری به ضخامت دو سانتی‌متر، ۲) ناحیه غیرریزوسفری به ضخامت ۵/۸ سانتی‌متر (این ناحیه در طرف دیگر ناحیه ریزوسفری نیز با همان ضخامت تکرار شد) تقسیم شد. برای انجام آزمایش گلخانه‌ای، بیوچار و کمپوست بقایای هرس سیب و انگور هرکدام برحسب ۱/۵ درصد کربن آلی خالص به خاک (هر باکس شامل ۵/۸۰ کیلوگرم خاک، ۴۱/۱۹ گرم کمپوست در هر کیلوگرم خاک و ۲۲/۲۱ گرم بیوچار در هر کیلوگرم خاک) اضافه و مخلوط شدند و سپس به باکس‌ها منتقل گردیدند. در تیمارهای شاهد بدون ماده آلی نیز به خاک استریل تلقیح میکروبی و بدون تلقیح میکروبی اعمال گردید. همچنین مقدار ۸۰ میلی‌گرم فسفر از منبع خاک فسفات به عنوان منابع نامحلول فسفر در هر کیلوگرم خاک به فاصله‌ی ۵ سانتی‌متری زیر بذرها قرار داده شد. برای تلقیح میکروبی از سویه‌های میکروبی موجود در بانک میکروبی گروه علوم خاک دانشگاه ارومیه که شامل سودوموناس‌های گروه فلورسنت (ترکیبی از گونه‌های *P aeruginosa*، *P.fluorescens* و *P. putida*) بودند، استفاده گردید. برای تلقیح بذرها از روش اضافه کردن محلول باکتری‌ها (یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون برای هر بذر) به خاک اطراف بذرها هم‌زمان با کاشت استفاده شد. پس از افزودن مایه‌های تلقیح، برای کشت گیاه، بذرهای گندم (*Triticum aestivum L*) رقم پیشتاز پس از ضدعفونی با هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به تعداد شش بذر در قسمت ریزوسفری رایزوباکس‌ها کشت گردیدند. پس از جوانه زدن بذرها، چهار بوته (بوته‌های سالم‌تر و قوی‌تر) نگه‌داشته شدند. در طول دوره کشت از آب مقطر به منظور آبیاری و تأمین مواد غذایی موردنیاز برای تغذیه گیاهان از محلول غذایی Rorison عاری از فسفر استفاده گردید. در پایان پس از ۶۵ روز رایزوباکس‌ها باز شدند. از هر رایزوباکس دو نمونه خاک، یکی از بخش ریزوسفر و دیگری از بخش غیرریزوسفری برداشت شد. کربن آلی (Sparks et al., 1996)، کربن زیست‌توده میکروبی (Jenkinson and Ladd, 1981)، فسفر زیست‌توده میکروبی (Brookes *et al*., 1982)، تنفس پایه (Anderson, 1982) و تنفس برانگیخته با سوبسترا (Alef and Nannipieri, 1995)، آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی (Tabatabai and Bremner, 1969) اندازه‌گیری شدند. تجزیه و تحلیل آماری شامل تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد با نرم‌افزار MSTATC و رسم شکل‌ها با نرم‌افزار Execl انجام گرفت.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان‌دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار تلقیح میکروبی، منابع آلی و خاک و همچنین اثرات متقابل آن‌ها بر کربن آلی و خصوصیات بیولوژیکی اندازه‌گیری شده است ($P\leq ۰/۰۰۱$).

کربن آلی، کربن زیست‌توده میکروبی، فسفر زیست‌توده میکروبی و نسبت کربن زیست‌توده میکروبی به فسفر زیست‌توده میکروبی

مقایسه میانگین اثرات متقابل منابع آلی و تلقیح میکروبی حاکی از آن است که توانایی باکتری‌ها در افزایش کربن آلی و شاخص‌های بیولوژیک اندازه‌گیری شده به‌استثنای نسبت کربن زیست‌توده میکروبی به فسفر زیست‌توده میکروبی در تیمارهای ماده آلی به‌صورت چشمگیری بیشتر از تیمارهای بدون تلقیح ماده آلی بود. حتی در تیمار شاهد به همراه تلقیح میکروبی نیز شاخص‌های بیولوژیک بیشتر از شاهد بدون تلقیح بود. البته

نسبت کربن به فسفر زیست‌توده میکروبی در تیمار شاهد بدون تلقیح نسبت به تیمار شاهد به همراه تلقیح میکروبی و حتی سایر تیمارها بیشتر بود (جدول ۳). در بین تیمارها افزایش شاخص‌های بیولوژیک به‌استثنای نسبت کربن زیست‌توده میکروبی به فسفر زیست‌توده میکروبی در تیمار کمپوست بیشتر از سایر تیمارها بود. به‌طوری که بیشترین مقدار کربن آلی در تیمار کمپوست همراه با تلقیح باکتریایی (۲/۱۴ درصد) بود. همچنین در تیمارهای بیوچار تفاوت معنی‌داری بین سطوح تلقیح میکروبی در مقدار کربن آلی مشاهده شد. هر چند نسبت به تیمار شاهد بیوچار چه در شرایط تلقیح و چه در شرایط عدم تلقیح، مقدار کربن آلی را نسبت به تیمار شاهد افزایش داد ولی این افزایش در مقایسه با کمپوست کمتر بود. دلیل این امر را می‌توان به اسکلت کربنی پایدار بیوچار نسبت داد که نسبت به تجزیه مقاوم بود هرچند که باعث افزایش کربن آلی در خاک گردیده است. گزارش شده زمانیکه کمپوست به عنوان ماده آلی به خاک اضافه شود، ریزجانداران قسمتی از کربن آلی را صرف افزایش قابلیت دسترسی مواد غذایی و بخش دیگر را همراه با ریزجانداران صرف بهبود ساختمان خاک می‌کنند (Jordan *et al*., 2000).

مقایسه میانگین اثر متقابل منابع آلی و تلقیح میکروبی بر کربن و فسفر زیست‌توده‌ی میکروبی نشان داد که افزودن مواد آلی همراه با تلقیح میکروبی تأثیر معنی‌داری نسبت به شرایط بدون تلقیح و نیز شرایط بدون ماده آلی و بدون تلقیح داشت. هرچند نسبت بین این دو شاخص بیولوژیک عکس مطلب ذکر شده بود (جدول ۳). به‌طوری که در تیمار کمپوست، حضور باکتری‌های PGPR منجر به افزایش ۱/۴۹ و ۲/۳۵ برابری کربن و فسفر زیست‌توده میکروبی نسبت به شرایط بدون تلقیح داشت. همچنین تلقیح باکتری‌های PGPR در تیمار بیوچار نیز سبب افزایش ۱/۳۷ و ۲/۱۸ برابری کربن و فسفر زیست‌توده میکروبی در مقایسه با شرایط بدون تلقیح گردید. نسبت کربن زیست‌توده میکروبی به فسفر زیست‌توده میکروبی در تیمار شاهد در هر دو سطح تلقیح نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود. این نسبت در تیمار شاهد بدون تلقیح ۲/۰۶ برابر بیشتر از تیمار شاهد همراه با تلقیح باکتریایی بود.

افزایش کربن زیست‌توده میکروبی در نتیجه کاربرد کودهای آلی بدلیل تأمین بستر مناسب برای باکتری‌ها است که فعالیت آن‌ها را تحریک می‌کند و باعث افزایش فعالیت بیولوژیکی خاک می‌شود (Fierer *et al*., 2003). همچنین علاوه بر کمپوست، بیوچار تهیه‌شده از چوب نیز می‌تواند فعالیت‌های میکروبی در خاک را با فراهمی کردن زیستگاه، رطوبت، کربن، منابع به راحتی قابل تجزیه و قابل دسترس و عناصر مغذی برای میکروارگانیسم‌ها افزایش دهد. همچنین قطر منافذ ۲-۸۰ میکرومتر در بسیاری از بیوچارهای مشتق شده از چوب مشاهده شده است، این محدوده اندازه منافذ می‌تواند فعالیت‌های باکتری‌ها را پشتیبانی کند (Hammer *et al*., 2014). بنابراین ایجاد چنین خلل و فرج در بیوچار قابل‌دسترس برای باکتری‌ها باعث افزایش فعالیت‌های بیولوژیکی آن‌ها در تعامل با بیوچار می‌شود (Swift *et al*., 1979). Babalola et al (2012) گزارش کردند که در نتیجه افزودن کمپوست بقایای گیاهی به خاک جمعیت میکروارگانیسم‌ها افزایش یافته و باعث افزایش فسفر زیست‌توده میکروبی در خاک شده است. در ارتباط با نسبت کربن زیست‌توده میکروبی به فسفر زیست‌توده میکروبی می‌توان چنین بیان کرد که این نسبت می‌تواند شاخصی از طبیعت جامعه میکروبی و نیاز فسفره جامعه میکروبی باشد و یا می‌تواند نشان‌دهنده کنترل فسفر قابل‌دسترس گیاه در این خاک‌ها از طریق چرخه میکروبی باشد. بنابراین تیمار شاهد احتمالاً در مقایسه با کمپوست مصرفی (میزان بالای فسفر) سبب افزایش فسفر قابل‌دسترس خاک نشده است. لذا این نسبت در تیمار شاهد افزایش یافته است.

با افزودن ماده آلی بالاخص کمپوست به خاک تفاوت معنی‌داری در ماده آلی در خاک ریزوسفری و غیرریزوسفری مشاهده شد ($p<۰/۰۰۱$) (جدول ۴). به‌طوری که افزایش کربن آلی در خاک ریزوسفری کمپوست ۴/۳۲ درصد بیشتر از خاک غیرریزوسفری بود. به نظر می‌رسد که بخش کربن فعال موجود در کمپوست پس از افزوده شدن به خاک تجزیه گردیده و هم چنین بخشی از کربن موجود در این کود به ذخایر کربن در خاک پیوسته و باعث افزایش سطح کربن آلی خاک شده است. در تیمار بیوچار نیز مقدار ماده آلی افزایش یافت ولی در مقایسه با کمپوست کمتر بود. هرچند به دلیل کربن بالای بیوچار مصرفی (جدول ۱) عکس این مطلب قابل‌انتظار بود. دلیل این امر را می‌توان به اسکلت کربنی پایدار بیوچار نسبت داد که نسبت به تجزیه مقاوم بود هرچند که باعث افزایش سطح کربن آلی خاک گردیده است. همچنین می‌توان به این موضوع اشاره کرد که احتمالاً بخشی از کربن موجود در بیوچار به دلیل ساختار پایدار بیوچار به روش مرسوم (والکی- بلک) قابل‌اندازه‌گیری نبوده است.

حضور ماده آلی در خاک ریزوسفری و غیرریزوسفری منجر به افزایش معنی‌دار کربن و فسفر زیست‌توده میکروبی به‌استثنای نسبت این دو شاخص در مقایسه با تیمار شاهد در هر دو سطح خاک گردید (جدول ۴). بالاترین میزان کربن

زیست‌توده میکروبی در خاک ریزوسفری تیمار کمپوست بود که ۲/۲۱ درصد نسبت به خاک غیرریزوسفری افزایش نشان داد. کمترین میزان کربن زیست‌توده میکروبی نیز در خاک ریزوسفری تیمار شاهد بدون ماده آلی مشاهده شد که افزایش ۵/۷ درصد نسبت به خاک غیرریزوسفری داشت. بالاترین میزان فسفر زیست‌توده میکروبی نیز در خاک ریزوسفری تیمار کمپوست مشاهده شد که ۱۴/۷۴ درصد نسبت به خاک غیرریزوسفری افزایش نشان داد. بیوچار نیز سبب افزایش شاخص‌های بیولوژیک شد هر چند در مقایسه با کمپوست کمتر بود. نسبت این دو شاخص نیز در خاک غیرریزوسفری تمامی تیمارها بیشتر از ریزوسفر بود و بالاترین نسبت در خاک غیرریزوسفری تیمار شاهد بود که ۸۴/۲۵ درصد بیشتر از خاک ریزوسفری شد.

Zaman *et al* (2004) گزارش کردند که مصرف کمپوست زباله شهری به دلیل افزایش نیتروژن، کربن و کربن آلی محلول در خاک نقش مثبتی در افزایش کربن زیست‌توده میکروبی خاک دارد؛ که با نتایج حاصل‌شده از تحقیق حاضر مطابقت دارد، چرا که نتایج نشان داد مقدار کربن آلی (جدول ۴) و نیتروژن کل مصرفی (جدول ۲) در تیمار کمپوست نسبت به سایر تیمارهای آلی بیشتر بود. همچنین مشاهده شد که افزودن کمپوست به خاک ۲/۶۷ برابر بیشتر از شاهد، کربن زیست‌توده میکروبی را در خاک ریزوسفری گیاه ریحان افزایش داد (Dehghan-Menshadi *et al*., 2012). علاوه بر این، Liu *et al* (2012) با استفاده از سیستم رایزوباکس مشاهده کردند که کربن زیست‌توده میکروبی در خاک 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 موردنیاز گیاه باشد. بنابراین فسفر زیست‌توده میکروبی می‌تواند یک مکانیسم حفاظتی فسفر لیبایل در خاک‌های با دسترسی پایین فسفر باشد. Redel *et al* (2011) گزارش کردند که با افزودن کمپوست به خاک ارتباط مثبتی در خاک بین فسفر زیست‌توده میکروبی و فسفر اولسن (عصاره‌گیری با بی‌کربنات سدیم) ایجاد می‌شود که با نتایج حاصل‌شده از این تحقیق مطابقت دارد. چرا که نتایج نشان داد تیمار کمپوست مصرفی بیشترین فسفر قابل‌استفاده را نسبت به سایر تیمارها در خاک داشت (جدول ۲)؛ بنابراین به احتمال زیاد سبب افزایش فسفر خاک شده است. در ارتباط با بیوچار نیز گزارش کردند که با افزودن بیوچار به خاک فسفر زیست‌توده میکروبی خاک افزایش یافت. این افزایش در فسفر زیست‌توده میکروبی را می‌توان به‌طور مستقیم به کربن بالا و قابل‌دسترس بودن عناصر غذایی بیوچار یا به‌طور غیرمستقیم به افزایش فعالیت ریشه گیاه توسط بیوچار نسبت داد (Biederman and Harpole, 2012). Chauhan *et al* (1981) گزارش کردند دامنه نسبت کربن زیست‌توده میکروبی به فسفر زیست‌توده میکروبی در خاک‌های با قابلیت دسترسی پایین فسفر ۱-۴۵ و در خاک‌های با دسترسی بالای فسفر ۱-۱۲ می‌باشد. همچنین هرچه این نسبت کوچکتر باشد در کوتاه مدت منجر به افزایش فسفر قابل‌استفاده در خاک می‌گردد. نتایج گزارش در این تحقیق نیز به وضوح این مطب را نشان داد که افزایش این نسبت در تیمار شاهد به علت محتوی کم فسفر خاک می‌باشد (جدول ۱).

جدول ۳- اثرات متقابل منابع آلی و تلقیح میکروبی بر کربن آلی، کربن زیست‌توده میکروبی، فسفر زیست‌توده میکروبی و نسبت کربن زیست‌توده میکروبی به فسفر زیست‌توده میکروبی

تیمار تلقیح میکروبی	تیمار منابع آلی	کربن آلی ٪	کربن زیست‌توده میکروبی MBC (mg kg^{-1} soil)	فسفر زیست‌توده میکروبی MBP (mg kg^{-1} soil)	MBC/MBP
تلقیح	بیوچار	۰/۹۸ c	۶۶۰/۶c	۵۴/۶۱c	۱۲/۱۵e
	کمپوست	۲/۱۴a	۸۲۰/۷a	۸۵/۴۸a	۹/۶۱۸f
	شاهد	۰/۴۶e	۳۲۰/۶e	۱۴/۹۲e	۲۲/۸۷b
بدون تلقیح	بیوچار	۰/۸۱d	۴۷۹/۲d	۲۵/۰۰d	۱۹/۶۸c
	کمپوست	۱/۶۴b	۵۴۷/۶b	۳۶/۲۶b	۱۵/۲۹d
	شاهد	۰/۳۲f	۲۵۶/۶f	۶/۱۶f	۴۷/۱۷a

* میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک می‌باشند، بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

جدول ۴- اثرات متقابل منابع آلی و خاک بر کربن آلی، کربن زیست‌توده میکروبی، فسفر زیست‌توده میکروبی و نسبت کربن زیست‌توده میکروبی به فسفر

خاک	تیمار منابع آلی	کربن آلی	کربن زیست‌توده میکروبی MBC	فسفر زیست‌توده میکروبی MBP	MBC/MBP
		٪	(mg kg^{-1} soil)	(mg kg^{-1} soil)	
ریزوسفر	بیوچار	۰/۹۳c	۵۷۸/۲c	۴۴/۰۵c	۱۴/۰۲d
	کمپوست	۱/۹۳a	۶۹۱/۷a	۶۵/۰۵a	۱۱/۴۷f
	شاهد	۰/۴۳e	۲۹۶/۶e	۱۳/۵۵e	۲۴/۶۴b
غیرریزوسفر	بیوچار	۰/۸۵d	۵۵۷/۹d	۳۵/۵۶d	۱۷/۸۲c
	کمپوست	۱/۸۵b	۶۷۶/۷b	۵۶/۶۹b	۱۳/۴۴e
	شاهد	۰/۳۵f	۲۸۰/۶f	۷/۵۲f	۴۵/۴a

* میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک می‌باشند، بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

تلقیح باکتریایی منجر به افزایش کربن آلی در خاک ریزوسفری و غیرریزوسفری نسبت به تیمار شاهد شد (جدول ۵). به‌طوری که افزایش کربن آلی در خاک ریزوسفر تلقیح باکتریایی، ۶/۹۵ درصد بیشتر از غیرریزوسفر بود. سرعت ورود مواد آلی در ریزوسفر بیشتر از غیرریزوسفر است و دلیل آن سلول‌های ریزان ریشه می‌باشد، علاوه بر این ترشحات ریشه‌ای مانند ترکیبات فنولی در ریزوسفر به عنوان محرک رشد میکروبی در خاک ریزوسفری بوده و زمانی که تجزیه می‌شوند سبب افزایش کربن آلی و عناصر غذایی در خاک می‌شوند. باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد به عنوان ذرات آلی بسیار فعال در خاک به شمار می‌روند که دارای سطحی فعال و باردار و نیز توانایی تولید و ترشح بسیاری از ترکیبات آلی، کربوهیدرات-ها و آنزیم‌ها را دارا هستند (Huang *et al.*, 2002). همچنین حضور باکتری‌های PGPR منجر به افزایش ۱/۴ و ۲/۲۹ برابری کربن و فسفر زیست‌توده میکروبی در مقایسه با شرایط بدون تلقیح شد (جدول ۵). همچنین ریزوسفر نیز تأثیر بسزایی در افزایش این شاخص‌ها نسبت به غیر ریزوسفر داشت. معمولاً کربن زیست‌توده میکروبی را به عنوان برآوردی از فعالیت و حیات توده میکروبی خاک محسوب می‌کنند؛ بنابراین احتمالاً باکتری‌های PGPR بعد از پایان چرخه زندگی خود از بین رفته‌اند و به کل زیست‌توده میکروبی خاک افزوده شده‌اند و با این دیدگاه می‌توان بیان کرد اجساد سلولی اضافه‌شده به خاک ریزوسفری می‌تواند دلیل افزایش زیست‌توده میکروبی در اثر تلقیح باکتریایی در ریزوسفر باشد (Aghababaei *et al.*, 2014). این نتیجه در توافق با نتیجه گزارش شده توسط Li *et al.*(2012) در خاک ریزوسفری ذرت بود. باکتری‌های PGPR برخلاف سایر خصوصیات بیولوژیکی ذکر شده، نسبت کربن به فسفر زیست‌توده را در هر دو سطح خاک ریزوسفر و غیرریزوسفر نسبت به تیمار شاهد کاهش دادند، هرچند این کاهش در خاک ریزوسفری نسبت به غیرریزوسفر کمتر بود (جدول ۵). Raiesi and Hosseinpoor(2015) با تحقیق بر روی اثرات ریزوسفری لوبیا بر برخی از ویژگی‌های میکروبیولوژیکی و شیمیایی در خاک‌های تیمار شده با لجن فاضلاب شهری با استفاده از سیستم رایزوباکس نشان دادند که نسبت کربن به فسفر زیست‌توده در خاک ریزوسفری در مقایسه با غیرریزوسفر کم بود.

جدول ۵- اثرات متقابل تلقیح میکروبی و خاک بر کربن آلی، کربن زیست‌توده میکروبی، فسفر زیست‌توده میکروبی و نسبت کربن زیست‌توده میکروبی به فسفر زیست‌توده میکروبی

تیمار تلقیح میکروبی	خاک	کربن آلی	کربن زیست‌توده میکروبی MBC	فسفر زیست‌توده میکروبی MBP	MBC/MBP
		٪	(mg kg^{-1} soil)	(mg kg^{-1} soil)	
تلقیح	ریزوسفر	۱/۲۳a	۶۰۸/۸a	۵۵/۷۴a	۱۲/۷۱d
	غیرریزوسفر	۱/۱۵b	۵۹۲/۵b	۴۷/۶۱b	۱۷/۰۵c
بدون تلقیح	ریزوسفر	۰/۹۶c	۴۳۵/۵c	۲۶/۰۳c	۲۰/۷۰b
	غیرریزوسفر	۰/۸۸d	۴۲۰/۱d	۱۸/۹۱d	۳۴/۰۶a

* میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک می‌باشند، بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

تنفس پایه و برانگیخته با سوبسترا

مقایسه میانگین تیمارهای اعمال‌شده بر میزان تنفس پایه و تنفس برانگیخته با سوبسترا در جدول (۶) قابل‌مشاهده است. تیمار کمپوست به همراه تلقیح باکتریایی سبب افزایش تنفس پایه و تنفس برانگیخته با سوبسترا گردید که این افزایش در حضور باکتری‌های PGPR، به ترتیب ۱/۴۸ و ۱/۵۸ برابر بیشتر از شرایط بدون تلقیح بود. در تیمار بیوچار نیز این شاخص‌ها نسبت به تیمار شاهد افزایش یافتند. بنابراین افزودن کمپوست به خاک و افزایش اندوخته کربن آلی خاک سبب افزایش رشد گیاهان و ریشه آن‌ها شده و میزان جمعیت میکروبی و فعالیت آن‌ها را افزایش داده که به تبع آن میزان تنفس (پایه و برانگیخته باسوبسترا) افزایش می‌یابد. احتمالاً به دلیل مواد سهل التجزیه در کمپوست نسبت به بیوچار، تنفس در تیمار کمپوست بیشتر بود. چرا که وجود مواد غذایی کافی یکی از عوامل مؤثر در افزایش جمعیت ریزجاندارن و فعالیت میکروبی آن‌هاست. بر خلاف کمپوست، گزارش‌های متناقض از تأثیر بیوچار به علت ساختار و نیمه‌عمر طولانی آن بر تنفس خاک وجود دارد. Liu *et al*(2016) نشان دادند که بیوچار تأثیر معنی‌داری بر تنفس خاک نداشت. افزایش کوتاه مدت در فعالیت و جمعیت میکروبی همچنین تنفس خاک بلافاصله پس از کاربرد بیوچار به اجزای لبایل مرتبط با بیوچار به تازگی تهیه شده می‌باشد (Smith *et al*., 2010). 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 تأثیرشان بر رشد میکروبی با گلوکز یکسان است (Steiner *et al*., 2004).

جدول ۶-اثر متقابل منابع آلی و تلقیح میکروبی بر تنفس پایه و تنفس برانگیخته با سوبسترا

		تنفس پایه	تنفس برانگیخته با سوبسترا
تیمار تلقیح میکروبی	تیمار منابع آلی	(mg CO_2-C day^{-1}/kg soil)	(mg CO_2-C day^{-1}/kg soil)
تلقیح	بیوچار	۷۷/۰۴b	۹۶/۷۹b
	کمپوست	۸۷/۴۹a	۱۱۲/۱a
	شاهد	۲۳/۴۹e	۳۲/۱۵e
بدون تلقیح	بیوچار	۴۹/۴۵d	۴۹/۷۹d
	کمپوست	۵۹/۰۰c	۷۰/۶۰c
	شاهد	۱۱/۵۲f	۱۸/۶۰f

* میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک می‌باشند، بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

با افزودن ماده آلی به خاک تفاوت معنی‌داری در تنفس پایه و برانگیخته با سوبسترا در خاک ریزوسفری و غیرریزوسفری مشاهده شد (جدول ۷). با این وجود، میزان تنفس پایه و برانگیخته با سوبسترا در خاک ریزوسفری و غیریزوسفری در تیمارهای آلی بیشتر از شاهد بود، به‌طوری‌که بیشترین میزان تنفس پایه (۷۴/۸۴ میلی‌گرم دی‌اکسید کربن در هر کیلوگرم خاک) و برانگیخته با سوبسترا (۱۰۰/۱ میلی‌گرم دی‌اکسید کربن در هر کیلوگرم خاک) در خاک ریزوسفری مربوط به تیمار کمپوست بود. در تیمار بیوچار نیز روند افزایشی نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد، هرچند در مقایسه با کمپوست این روند کمتر بود. فراوانی ترکیبات آلی بالاخص کمپوست در ریزوسفر، منجر به افزایش تنفس می‌شود چرا که نوع کربن موجود در کمپوست می‌تواند بر سرعت تجزیه آن تأثیر بگذارد. به عبارتی کربن متصل به اکسیژن در کمپوست بیشتر شامل هیدرات‌های کربن است که سریعتر از کربن حلقوی (آروماتیک) و کربن موجود در زنجیرهای پلی‌اتیلن (کربن آلکیل) بیوچار تجزیه می‌گردد (Brewer *et al*., 2009). با این حال، Urbankova *et al* (2014) با مطالعه‌ی تأثیر بیوچار بر تنفس میکروبی در خاک ریزوسفری و غیرریزوسفری در شرایط رایزوباکس گزارش کردند که بیوچار تأثیر مثبتی بر تنفس میکروبی داشت به‌طوری‌که افزایش قابل‌توجهی در مقدار تنفس میکروبی خاک ریزوسفری نسبت به خاک غیر ریزوسفری مشاهده شد.

باکتری‌های PGPR تاثیر معنی‌داری بر میزان تنفس پایه و برانگیخته با سوبسترا در خاک ریزوسفری و خاک غیرریزوسفری نسبت به تیمار شاهد در هر دو سطح خاک داشتند (جدول ۸). این باکتری‌ها منجر به افزایش ۴/۳۵ و ۲۱/۶۴ درصدی تنفس پایه و برانگیخته با سوبسترا در خاک ریزوسفر در مقایسه با غیرریزوسفر شدند. با توجه به اینکه ریزوسفر به‌عنوان نقطه داغ فعالیت میکروبی می‌باشد که در مقایسه با خاک غیریزوسفری، جایی که منابع آلی در حد پایینی

است، با سطوح بالاتری از عناصر، منبع تامین کننده عناصر غذایی گیاه طی فرآیند فتوسنتز شده و نیز باعث می‌شود محیط مناسبی برای میکروارگانیسم‌ها ایجاد شود و در نهایت منجر به بهبود فعالیت‌های بیولوژیک در خاک شود (Duineveld *et al*., 2001).

جدول ۷-اثر متقابل منابع آلی و خاک بر تنفس پایه و تنفس برانگیخته با سوبسترا

خاک	تیمار منابع آلی	تنفس پایه ($mg\ CO_2\text{-}C\ day^{-1}/kg\ soil$)	تنفس برانگیخته با سوبسترا ($mg\ CO_2\text{-}C\ day^{-1}/kg\ soil$)
ریزوسفر	بیوچار	۶۴/۸۱c	۸۱/۹۷c
	کمپوست	۷۴/۸۴a	۱۰۰/۱a
	شاهد	۱۹/۰۲e	۳۰/۴۰e
غیرریزوسفر	بیوچار	۶۱/۶۸d	۶۴/۵۹d
	کمپوست	۷۱/۶۶b	۸۲/۶۰b
	شاهد	۱۵/۹۹f	۲۰/۳۵f

*** میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک می‌باشند، بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.**

جدول ۸- اثر متقابل تلقیح میکروبی و خاک بر تنفس پایه، تنفس برانگیخته با سوبسترا

تلقیح		تنفس پایه ($mg\ CO_2\text{-}C\ day^{-1}/kg\ soil$)	تنفس برانگیخته با سوبسترا ($mg\ CO_2\text{-}C\ day^{-1}/kg\ soil$)
تلقیح	ریزوسفر	۶۴/۲۱a	۸۸/۱۹a
	غیرریزوسفر	۶۱/۳۴b	۷۲/۵۰b
بدون تلقیح	ریزوسفر	۴۱/۵۷c	۵۳/۴۷c
	غیرریزوسفر	۳۸/۴۱d	۳۹/۱۹d

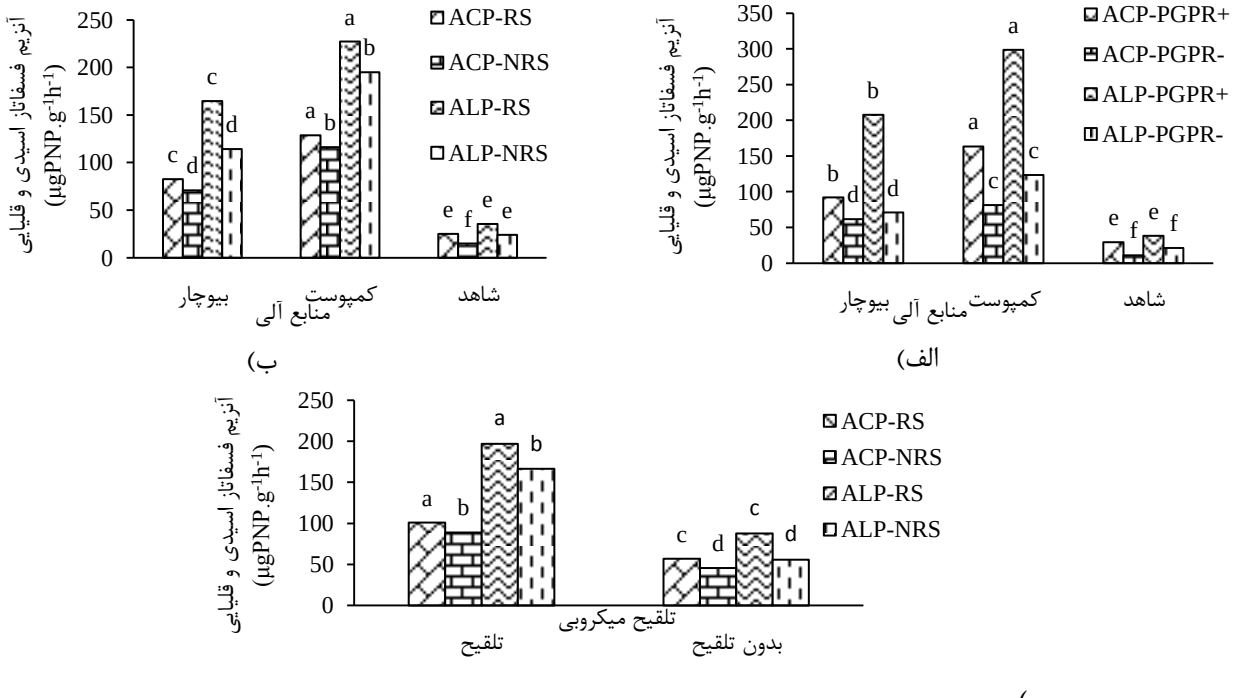
* میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک می‌باشند، براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی

بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز در تیمار کمپوست به همراه تلقیح میکروبی اندازه‌گیری شد. به طوری که تلقیح باکتریایی این تیمار منجر به افزایش ۵/۵۴ و ۷/۷۸ برابری به ترتیب آنزیم فسفاتاز اسیدی و قلیایی در مقایسه با تیمار تلفیقی شاهد و تلقیح باکتریایی شد. کمترین میزان فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز مربوط به تیمار شاهد بدون تلقیح میکروبی و بدون ماده آلی بود (شکل ۲-الف). در بین تیمارهای آلی بدون تلقیح نیز تیمار کمپوست نسبت به بیوچار سبب افزایش فعالیت این آنزیم‌ها شد، هرچند تیمار بیوچار نیز فعالیت این آنزیم‌ها را نسبت به شاهد افزایش داد. افزودن ماده آلی به خاک می‌تواند به سه روش در افزایش فعالیت باکتری‌ها در بهبود فعالیت آنزیم‌ها نقش داشته باشد: ۱) افزوده شدن ماده آلی به خاک، فعالیت میکروبی خاک را از طریق مسیر انرژی باکتری محور افزایش می‌دهد که موجب سنتز آنزیم خواهد شد ۲) آنزیم‌های همراه مواد آلی به روش کاهش انرژی برای فعالیت باکتری‌های خاک به منظور سنتز این آنزیم‌ها؛ منجر به افزایش فعالیت آن‌ها و سرعت تجزیه مواد آلی در خاک می‌شوند ۳) مواد آلی با تجزیه نسبی در خاک با جذب سطحی و حبس فیزیکی آنزیم‌ها سبب حفاظت آنزیم‌ها در برابر هیدرولیز آنزیمی می‌شوند (Kourtev *et al*., 2002). تیمارهای آلی به‌طور معنی‌داری میزان فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز را در هر دو خاک ریزوسفری و غیرریزوسفری نسبت به تیمار شاهد افزایش دادند (شکل ۲-ب). بر اساس نتایج، در شرایط استفاده از کمپوست بقایای هرس، فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی و قلیایی در ریزوسفر به ترتیب ۱/۱۰ و ۱/۱۶ برابر خاک غیرریزوسفر بود و هر دو خاک در شرایط استفاده از کمپوست تفاوت معنی‌داری را با تیمارهای بیوچار و شاهد در هر دو خاک ریزوسفری و غیرریزوسفری نشان دادند (شکل ۲-ب). با توجه به شکل (۲- ب) مشاهده می‌شود که در همه تیمارها فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی بیشتر از اسیدی است، همچنین در تیمارهای شاهد نیز کمپوست نسبت به بیوچار در افزایش فعالیت آنزیم‌ها نقش مؤثرتری داشته است. افزایش فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز خاک در تیمارهای کمپوست و بیوچار نسبت به شاهد را احتمالاً می‌توان به افزایش زیست‌توده

میکروبی در پاسخ به ماده آلی افزوده شده، عناصر غذایی خاک و بهبود خصوصیات خاک (فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی) نظیر ظرفیت نگهداشت مواد غذایی و آب نسبت داد. همچنین عملکرد بهتر کمپوست در افزایش فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز در مقایسه با بیوچار احتمالاً نشان‌دهنده تجزیه بالای کمپوست بقایای هرس و نیتروژن سهل‌الوصول در ترکیب آن و در نتیجه تحریک بیشتر فعالیت میکروبی بود. کاهش فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی در مقایسه با فسفاتاز قلیایی با افزودن ماده آلی بالاخص بیوچار به خاک دور از انتظار نبود چرا که خاک مورد مطالعه با pH قلیایی و شرایط آهکی (جدول ۱) و بیوچار مصرفی با pH قلیایی (جدول ۲) برای فعالیت این آنزیم مناسب نبود. Jin et al. (2016) گزارش کردند که فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی پس از افزودن بیوچار کود دامی کاهش یافت، در حالی که فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی افزایش نشان داد. تأثیر مثبت ریزوسفر بر ویژگی‌های بیولوژیک خاک توسط محققین گزارش شده است (Zhao et al., 2010). افزایش فعالیت فسفاتاز در خاک ریزوسفری نسبت به خاک غیر ریزوسفری را می‌توان ناشی از فعالیت میکروبی و ریشه‌ای گیاه دانست. در این راستا، Balik *et al.* (2007) با مطالعه تأثیر کود آلی بر فعالیت‌های آنزیم‌های فسفاتاز در ریزوسفر گیاهان با استفاده از رایزوباکس گزارش کردند که فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی بطور معنی‌داری نسبت به توده خاک افزایش یافت.

همچنین، تلقیح باکتریایی در افزایش فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز موثر بود و فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی در شرایط تلقیح باکتریایی، در خاک ریزوسفری ۱/۳۲ و ۱/۱۸ برابر بیشتر از فعالیت این آنزیم‌ها در خاک غیرریزوسفری بود (شکل ۲- ج). سرعت میکروارگانیسم‌ها در سنتز و آزادسازی فسفاتازها به pH خاک مرتبط است. پایداری و فعالیت فسفاتاز قلیایی با افزایش pH افزایش می‌یابد، به طوری که در pH = ۱۱ حداکثر فعالیت را نشان می‌دهد. علاوه بر این، فسفاتاز اسیدی بیشتر توسط قارچ‌ها ترشح شده و pH مطلوب برای این آنزیم شرایط اسیدی تا خنثی بوده و فسفاتاز قلیایی بیشتر توسط باکتری‌ها ترشح شده و در pH > ۷ فعالیت بالاتری دارد (Eivazi and Tabatabai, 1977). همچنین فسفاتاز اسیدی بیشتر توسط ریشه گیاهان و ریزجانداران ولی فسفاتاز قلیایی فقط توسط ریزجانداران تولید می‌شود. بنابراین علاوه بر نقش مواد آلی و تلقیح میکروبی بر میزان شاخص‌های بیولوژیکی خاک، گیاهان نیز ترکیباتی مانند قند و اسیدهای آمینه و ویتامین‌ها را به ریزوسفر ترشح کرده و باعث اختلاف خاک ریزوسفری و غیر ریزوسفری شده، همچنین به واسطه‌ی ترشحات ریشه‌ای سبب افزایش زیست‌توده میکروبی می‌شوند، چرا که ترشحات ریشه‌ای محیط ریزوسفر را به محیطی برای فعالیت میکروبی تبدیل کرده و رشد گیاه و تولید متابولیت‌های میکروبی آن را افزایش می‌دهد.



* **ACP**، **ALP**، **+PGPR**، **-PGPR**، **RS** و **NRS** به ترتیب آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی، تلقیح باکتری‌های محرک رشد، بدون تلقیح، خاک ریزوسفری و غیرریزوسفری.

شکل ۲- اثرات متقابل منابع آلی و تلقیح میکروبی، منابع آلی و خاک و تلقیح میکروبی و خاک بر فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق بر تأثیر مثبت و معنی‌دار کاربرد مواد آلی در خاک به همراه تلقیح میکروبی بر شاخص‌های کیفی خاک دلالت دارد. همچنین استفاده از روش رایزوباکس از تکنیک‌های نوین در ارزیابی خاک ریزوسفری بوده و به همراه تلقیح میکروبی در این شرایط بهتر توانست فرایندهای میکروبی-ریزوسفری مرتبط با شاخص‌های کیفی خاک را توجیه نماید. به دنبال کاربرد مواد آلی ریزجانداران به سرعت رشد کرده و منجر به افزایش فعالیت‌های بیولوژیکی همانند تنفس، افزایش فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز، کربن و فسفر زیست‌توده میکروبی در ریزوسفر خاک گردید. البته در افزایش این شاخص‌های بیولوژیک، کمپوست نقش کاراتری در مقایسه با بیوچار داشت که احتمالاً به دلیل تفاوت در ساختار و پایداری کربن موجود در بیوچار باشد. طبیعی است که پاسخ شاخص‌های کیفی خاک به تلقیح میکروبی، ماده آلی، خاک و همچنین اثرات متقابل آن‌ها یکسان نبوده و علاوه بر این‌ها، شرایط آزمایش مانند نوع گیاه، رقم گیاه، نوع آزمایش گلدانی یا مزرعه‌ای، کاربرد ماده آلی و نسبت عناصر غذایی آن‌ها در کارایی پاسخ گیاه به تلقیح میکروبی و افزودن مواد آلی اصلاحی می‌تواند مؤثر باشد. البته لازم است نتایج این تحقیق با انجام آزمایش‌های گلخانه‌ای و مزرعه‌ای با کشت گیاهان مختلف تائید گردد و ارزیابی اقتصادی کاربرد ماده آلی در خاک به ویژه بیوچار انجام بگیرد. لذا استفاده از مواد آلی اصلاحی و استفاده از پتانسیل بیولوژیکی میکروارگانیسم‌ها یکی از مهمترین راهکارهای کمک به تشدید فعالیت‌های بیولوژیکی و تنوع زیستی در خاک و جایگزین بسیار مناسبی برای کودهای شیمیایی و هزینه‌های هنگفت این کودها می‌باشد.

سپاسگزاری

بخشی از نتایج این تحقیق در قالب طرح پژوهشی شماره ۶۰/۸۵۱۲۵ با استفاده از اعتبارات "صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور" انجام گردیده که بدینوسیله تقدیر و تشکر می-گردد

REFERENCES

Aghababaei, F. Raiesi, F. and Hosseinpur, A. (2014) .The Influence of Earthworm and Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Microbial Biomass Carbon and Enzyme Activity in a Soil Contaminated with Cadmium in Sunflower (*Helianthus annuus L.*) Cultivation. *Journal of Water and Soil*, 27, 949-962. (In Farsi)

Alef, K. and Nannipieri, P. (1995). Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry. Academic Press, London.

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.

ASTM standard. (2009). Standard test method for chemical analysis of wood charcoal. *American Society for Testing and Materials* (ASTM) International: Conshohocken, PA.

Babalola, O.A. Adesodun, J.K. Olasantan, F.O. and Adekunle. A.F. (2012). Responses of Some Soil Biological, Chemical and Physical Properties to Short-term Compost Amendment. *Journal of Plant Nutrient Soil Science*, 7, 28-38.

Bailey, V.L. Fansler, S.J. Smith, J.L. and Bolton, H.Jr. (2011). Reconciling apparent variability in effects of biochar amendment on soil enzyme activities by assay optimization. *Soil Biology and Biochemistry*, 43, 296–301.

Balík, J. Pavlíková, D. and Vaněk, V. (2007). The influence of long-term sewage sludge application on the activity of phosphatases in the rhizosphere of plants. Plant and Soil Environmental, 53, 375–381.

Brewer, C.E. Schmidt-Rohr, K. Satrio, J.A. and Brown, R.C. (2009). Characterization of biochar from fast pyrolysis and gasification systems. *Environmental Progress and Sustainable Energy*, 28, 386–396.

Birk, J.J, Steiner, C, Teixeira, W.C, Zech, W. and Glaser, B. (2009). Microbial response to charcoal amendments and fertilization of a highly weathered tropical soil. In: Woods, W.I, Teixeira, W.G, Lehmann, J, Steiner, C, WinklerPrins, A.M.G.A, Rebellato, L. (Eds.), Amazonian Dark Earths: Wim Sombroek's Vision, Springer, Berlin, pp. 309-324

Brookes, P.C. Powlson, D.S. and Jenkinson, D.S. (1982). Measurement of microbial biomass phosphorus in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 14,319-329.

Cakmak, O. Oztur, L. Karanlik, S. Ozkan, H. Kaya, Z. and Cakmak, I. (2001). Tolerance of 65 Durum wheat genotypes to zinc deficiency in calcareous soil. *Journal of Plant Nutrition*, 24, 1381-1847.

Cakmakci, R. Donmez , M.F. and Erdogan, U. (2007) .The effect of plant growth promoting rhizobacteria on barley seedling growth, nutrient uptake, some soil properties, and bacterial counts. *Turkish Journal of Agriculter and Forest*, 31, 189-199.

Chauhan, B.S. Stewart, J.W.B. and Paul, E.A. (1981). Effect of labile inorganic phosphate status and organic carbon additions on the microbial uptake

of phosphorus in soil. Canadian. *Journal of Soil Science*, 61, 373–385.

Chen, C.R. Condron, L.M. Davis, M.R. and Sherlick, R.R. (2003). Seasonal changes in soil phosphorus and associated microbial properties under adjacent grassland and forest in New Zealand. *Forest Ecology and Management*, 177, 35-43.

Das, A. Patel, D.P. Munda, G.C. and Ghosh, P.K. (2010). Effect of organic and inorganic sources of nutrients on yield, nutrient uptake and soil fertility of maize (*Zea mays*)-mustard (*Brassica campestris*) cropping system. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 80 (1), 85-8.

Dehghan Manshadi, H. Bahmanyar, M.A. Salek Gilani, S. and Lakzian A. (2012). Effect of Application of Compost and Vermicompost Enriched with Chemical Fertilizer and Manure on Some Bilogical (*Ocimum basilicum*) Rhizospher. *Journal of Water and Soil*, 16(60), 157-197. (In Farsi).

Duineveld, B.M. Kowalchuk, G.A. Keijzer, A. van Elsas, J.D. and van Veen, J.A. (2001). Analysis of bacterial communities in the rhizosphere of chrysanthemum via denaturating gradient gel electrophoresis of PCR-amplified 16S rRNA as well as DNA fragments coding for 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology*, 67,172–178.

Emami, A. (1997). Plant analysis methods. Agricultural research. *Soil and Water Research Institute*. (Volume I). (In Farsi).

Eivazi, F. and Tabatabai, M.A. (1977). Phosphatase in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 9, 167-172.

Fierer, N. Schimel, J.P. and Holden, P.A. (2003). Variations in microbial community composition through two soil depth profiles. *Soil Biology and Biochemestry*, 35, 167–176.

Gil-Sotres, F. Trasar-Cepeda, C. Leiros, M.C. and Seoane, S. (2005). Different approaches to evaluating soil quality using biochemical properties. *Soil Biology and Biochemistry*, 37, 877–887.

Hammer, E.C. Balogh-Brunstad, Z. Jakobsen, I. Olsson, P.A. Stipp, S.L.S. and Rillig, M.C. (2014). A mycorrhizal fungus grows on biochar and captures phosphorus from its surfaces. *Soil Biology and Biochemistry*, 77, 252–260.

Huang, Q.Y. Chen, W.L. and Guo, X.J. (2002). Sequential fractionation of Cu, Zn and Cd in soils in the absence and presence of rhizobia. In: proceedings of WCSS, August, 14-21، Thailand, p.1453.

Hylander, L.D. (2002). Improvements of rhizoboxes used for studies of soil-root interactions. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 33, 155-161.

Jenkinson, D.S. and Ladd, J.N. (1981). Microbial biomass in soil: measurement and turnover. In: Powl EA, Ladd JN (eds) Soil biochemistry.Dekker, New York, pp. 415–417.

Jin, Y., Liang, X., He, M., Liu, Y., Tian, G., Shi, J., 2016. Manure biochar influence upon soil properties, phosphorus distribution and phosphatase activities: a microcosm incubation study. *Chemosphere*, 142, 128–135.

Jordan, N.R. Zhang, J. and Huerd, S. (2000). Arbuscular-mycorrhizal fungi: potential roles in weed management. *Weed Research*, 40, 397-410.

Kaur, G. and Reddy, M.S.H. (2014). Influence of P-solubilizing bacteria on crop yield and soil fertility at multilocational sites. *European Journal of Soil Biology*, 158, 163-168.

Kourtev, P.S. Ehrenfeld, J.G. and Huang, W.Z. (2002). Enzyme activities during litter decomposition of two exotic and two native plant species in hardwood forests of New Jersey. *Soil Biology and Biochemistry*, 34, 1207-1218.

Lehmann, J. Rillig, M.C. Thies, J. Masiello, C.A. Hockaday, W.C. and Crowley, D. 2011. Biochar effects on soil biota e a review. *Soil Biolology and Biochemistry*, 43, 1812-1836.

Li, H. Shao, H. Li, W. Bi, R. and Bai, Z. (2012). Improving soil enzyme activities and related quality properties of reclaimed soil by applying weathered coal in opencast-mining areas of the Chinese Loess Plateau. *Clean Soil Air Water*, 40, 233–238.

Liang, Y. Nikolic, M. Peng, Y. Chen, W. and Jiang, Y. (2005). Organic manure stimulates biological activity and barley growth in soil subject to secondary salinization. *Soil Biology and Biochemestry*, 37, 1185–1195.

Liu, D. Fang, Sh. Tian, Y. and. Dun, X. (2012). Variation in rhizosphere soil microbial index of tree species on seasonal floodingland: An in situ rhizobox approach.Appl. *Applied Soil Ecology*, 59, 1– 11.

Liu, X. Zheng, J. Zhang, D. Cheng, K. Zhou, H. Zhang, A. Li, L. Joseph, S. Smith, P. Crowley, D. Kuzyakov, Y. and Pan, G. (2016). Biochar has no effect on soil respiration across Chinese agricultural soils. *Science of the Total Environment*, 554, 259–265.

Luo, Y. and Zhou, X. (2006). Soil respiration and the Environment. Academic press, 328 pp.

Marinari, S. Masciandaro, G. Ceccanti, B. and Grego, S. (2000). Influence of organic and mineral fertilisers on soil biological and physical properties. *Bioresource Technology*, 72, 9-17.

Moshiri, F. (2010). Chemical behavior of zinc in rhizosphere of two Zn-efficient and Zn-in efficient wheat cultivar. Ph.D. Thesis. Soil Science Department. University of Tehran, Iran.

Nelson, D.W. and Sommers, L.E. (1982). Total carbon, organic carbonand organic matter. p. 539–579.

Raiesi, T. Hosseinpur, A. and Raiesi, F. (2015). The Influence of Bean Rhizosphere on Some Chemical and Biological Propertie in Soils Amended with Municipal Sewage Sludge. *Journal of Water and Soil*, 29 (4): 1033-1045 (In Farsi)

Rajkovich, S. Enders, A. Hanley, K. Hyland, C. Zimmerman, A.R. and Lehmann, J. (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.

Redel, Y. Escudey, M. Alvear, M. Conrad, J. and Borie, F. (2011). Effects of tillage and crop rotation on chemical phosphorus forms and some related biological activities in a Chilean Ultisol. *Soil Use and Management*, 27, 221–228.

Roberts, G.K. Gloy, B.A. Joseph, S. Scott, N.R. and Lehmann, J. (2010). Life cycle assessment of biochar system: estimating the enegetic, economic, and climate change potential. *Environmental Science and Technology*, 44,827-833.

Singh, H.P. Batish, D.R. and Kohli, R.K. (2003). Allelopathic interactions and allelochemicals: new possibilities or sustainable weed management. *Critical Review of Plant Science*, 22, 239-311.

Smith, J.L. Collins, H.P. and Bailey, V.L. (2010). Th e effect of young biochar on soil respiration. *Soil Biology and Biochemestry*, 42, 2345–2347.

Sparks, D.L. Page, A.L. Helmke, P.A. Loeppert, R.H. Soltanpour, P.N. Tabatabai, M.A. Johnston, C.T. and Sumner, M.E. (1996). Methods of soil analysis Part 3- Chemical methods. Soil Science Society of America Book Ser. 5, Madison, Wiscons in, USA, p. 1390.

Steiner, C. Teixeira, W.G. Lehmann, J. and Zech, W. (2004). Microbial Response to Charcoal Amendments of Highly Weathered Soils and Amazonian Dark Earths in Central Amazonia Preliminary Results. pp 195- 212.

Swift, M. J.Heal, O.W. and Anderson, J.M. (1979). Decomposition in Terrestrial Ecosystems. (Vol. 5). University of California Press, Berkeley.

Tabatabai, M.A. and Bremner, J.M. (1969). Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biology and Biochemestry*, 1, 301-307.

Tejada, M. and Gonzalez, J.L. (2006). Crushed cotton gin compost on soil biological properties and rice yield. *European Journal of Agronomy*, 25, 22–29.

Urbankova, O. Elbl, J. and Zahora, J. (2014). The effects of biochar on soil respiration in rhizosphere and non-rhizosphere soil, *Mendel Net*. P, 326-329.

Waldrop, M.P. Zak, D.R. Sinsabaugh, R.L. Gallo, M. and Lauber, C. (2004). Nitrogen deposition modifies soil carbon storage through changes in microbial enzymatic activity. *Ecological Applications*, 14(4), 1172-1177.

Wu, F. Jia, Z. Wang, S. Chang, S.X. and Startsev, A. (2013).Contrasting effects of wheat straw and its biochar on greenhouse gas emissions and enzyme activities in a Chernozemic soil. *Biology and Fertility of Soils*, 49, 555–565.

Zaman, M. Matsushima, M. Chang, S. Inubushi, K. Nguyen, L. Goto, S. Kanek, O.F. and Yoneyama, T. (2004). Nitrogen mineralization, N_2O production and soil microbiological prosperities as affected by long-term application of sewage sludge composts. *Biology and Fertility of Soils*, 40, 101 – 109.