

محور مقاله: بیولوژی خاک و کودهای زیستی

تأثیر بیوچار و باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد بر فعالیت آنزیم‌های فسفومونواسترازها و زیست‌فراهمی فسفر

رقیه واحدی^{۱*}، میرحسن رسولی صدقیانی^۲^۱ دانشجوی دکتری گروه علوم خاک دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه^۲ استاد گروه علوم خاک دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

چکیده

بیوچار و ریزجانداران حلالیت و تحرک فسفر را در ریزوسفر تحت تأثیر قرار داده و زیست‌فراهمی آن را در خاک بهبود می‌بخشند. برای ارزیابی تأثیر کاربرد بیوچار بقایای هرس درختان سیب و انگور و باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد (PGPR) بر فعالیت آنزیم‌های فسفومونواسترازها و زیست‌فراهمی فسفر در خاک آهکی آزمایشی به گونه فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در شرایط گلخانه‌ای در رایزوباکس انجام شد. فاکتورها شامل ماده آلی (بیوچار بقایای هرس و شاهد)، تلقیح میکروبی (باکتری‌های PGPR و بدون تلقیح) و خاک (خاک ریزوسفر و غیرریزوسفر) بودند. برخی ویژگی‌های خاک شامل فسفر قابل دسترس، فعالیت آنزیم‌های فسفومونواسترازهای اسیدی و قلیایی اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد کاربرد بیوچار و تلقیح باکتری‌های PGPR منجر به تغییرات معنی‌دار، در شاخص‌های اندازه‌گیری شده گردیدند. همچنین تیمار بیوچار فعالیت آنزیم‌های اسیدی و قلیایی را به ترتیب ۱/۳۷ و ۱/۵۵ برابر در خاک ریزوسفر نسبت به غیرریزوسفر افزایش داد. با این وجود مقدار فسفر قابل دسترس در خاک غیرریزوسفری تیمار بیوچار ۱/۳۴ برابر بیشتر از خاک ریزوسفر بود. به طور کلی استفاده از ماده آلی و تلقیح میکروبی به دلیل تحریک فعالیت فسفومونواسترازها تأثیر قابل توجهی در افزایش زیست‌فراهمی فسفر دارد.

کلمات کلیدی: بقایای هرس، ریزجانداران حل‌کننده فسفات، رایزوباکس

مقدمه

استان آذربایجان غربی بیشترین باغ‌های سیب و انگور را در کشور به خود اختصاص داده است. همچنین نیاز به هرس سالیانه این باغ‌ها بیش از هزاران تن بقایای هرس پدید می‌آورد. بنابراین یکی از راه‌های درست و کاربردی برای بهبود ماده آلی خاک، مدیریت استفاده از بقایای هرس درختان میوه است که متأسفانه بخش بزرگی از آن سوزانده و یا در طبیعت رها می‌شوند. ماده آلی نه تنها منبع بزرگ عنصرهای غذایی است بلکه با تشدید فعالیت زیستی در خاک، به چرخش بهتر مواد غذایی کمک می‌کند. خاک‌های مناطق خشک و نیمه خشک، با نبود پوشش گیاهی کافی و بازگشت مقدار اندک بقایای گیاهی به خاک، دارای ماده آلی کمی هستند. این خاک‌ها اغلب آهکی می‌باشند و در نتیجه بسیاری از گیاهان در این خاک‌ها با مشکل تغذیه عناصر غذایی به ویژه فسفر روبه‌رو می‌باشند. بقایای هرس درختان با تبدیل شدن به بیوچار با جایگزینی یا فراهم کردن عناصر غذایی در خاک، علاوه بر بهبود خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک نقش مهمی نیز در پویایی و زندگی ریزجانداران خاک و ایجاد نوعی تعادل دینامیکی در بین اجزای زنده و غیر زنده خاک ایفا می‌کنند (Chan و همکاران ۲۰۰۸). بیوچار ماده جامد غنی از کربن تولید شده توسط گرما کافت توده‌های زیستی با مقدار کمی اکسیژن یا بدون اکسیژن می‌باشد (Liu و همکاران ۲۰۱۱). همچنین آنزیم‌های خاک به عنوان یکی از شاخص‌های قابل استفاده برای حاصلخیزی و کیفیت خاک پیشنهاد شده‌اند. در این میان، فسفومونواسترازها گروه گسترده‌ای از آنزیم‌ها می‌باشند که از بین آن‌ها فسفومونواسترازهای اسیدی و قلیایی به علت اهمیتی که در معدنی شدن فسفر آلی خاک و تغذیه گیاهان دارند بیش از سایر گروه‌های فسفومونواسترازها مورد توجه قرار گرفته‌اند. فسفاتاز آنزیمی است که از طریق هیدرولیز کردن منواسترهای اسید فسفریک و تبدیل آن‌ها به یون فسفات و مولکولی با یک گروه هیدروکسیل آزاد، گروه فسفات را از پیش ماده خود جدا می‌سازد و فسفات آزاد شده در خاک می‌تواند توسط گیاهان یا ریزجانداران جذب شود (Quiquampoix و همکاران ۲۰۰۵). اگرچه ریشه‌های گیاه در تولید فسفومونواسترازها نقش دارند اما ترشح آنزیم فسفومونواستراز توسط باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه (PGPR) نیز گزارش شده است (Mishra, ۲۰۰۷).

* ایمیل نویسنده مسئول: r.vahedi@urmia.ac.ir

¹ Plant growth promoting rhizobacteria

گزارش‌های متناقضی پیرامون زیست‌فراهمی فسفر توسط بیوچار وجود دارد. با توجه به حضور غلظت‌های بالایی از اکسیدهای عناصر قلیایی (Ca^{2+} و Mg^{2+}) و غلظت کم Al^{3+} محلول در خاک (Chintala و همکاران ۲۰۱۳)، با افزودن بیوچار به خاک قلیایی جذب فسفر افزایش یافته و فراهمی فسفر کاهش می‌یابد. در حالیکه Atkinson و همکاران (۲۰۱۰) مشاهده کردند که بیوچار فراهمی فسفر خاک و جذب فسفر توسط گیاهان را بطور غیر مستقیم با تغییر محیط ریزجانداران تحت تاثیر قرار می‌دهد. یکی از راهکارهای دیگر برای افزایش زیست‌فراهمی فسفر بهره‌گیری از پتانسیل ریزجانداران حل‌کننده فسفات می‌باشد. باکتری‌های PGPR از طریق مکانیسم‌های مختلفی مانند تولید متابولیت‌های موثر در رشد گیاه همانند هورمون‌های گیاهی (اکسین، سیتوکنین، جیبرلین)، تثبیت نیتروژن در ریزوسفر، افزایش حلالیت ترکیبات نامحلول و کم محلول عناصر غذایی همانند فسفر و افزایش فراهمی آن‌ها از طریق تولید اسیدهای آلی و معدنی، تولید فسفونواسترها، تولید سیدروفور و تنظیم تولید اتیلن در ریشه‌ها رشد گیاه را افزایش می‌دهند (Reis و همکاران ۲۰۰۱). Liang و همکاران (۲۰۰۵) مشاهده کردند که قرار دادن ماده آلی در اطراف ریزوسفر یا خارج از ریزوسفر تاثیر چشمگیری در فعالیت میکروبی در ریزوسفر و توده‌ی خاک در پی داشته است. در ریزوسفر تغییراتی مانند اسیدی شدن و افزایش مقدار ماده‌ی آلی در هر دو فاز جامد و محلول خاک، منجر به تغییر در فعالیت میکروبی می‌شود که باعث ایجاد تفاوت بین خاک ریزوسفری و غیرریزوسفری می‌گردد. به طور کلی، ریشه گیاه با جذب یا آزاد سازی عنصر غذایی از محیط احاطه‌کننده ریشه منجر به تخلیه و یا تجمع و در نتیجه ایجاد تغییر در غلظت عناصری همانند فسفر در اطراف خود می‌شود. مشاهده و اندازه‌گیری سیستم ریشه در گیاه بسیار وقت‌گیر است. مطالعه‌ی خاک ریزوسفری اغلب با مشکلاتی همراه است زیرا لایه‌ی خاکی که مستقیماً تحت تاثیر ریشه قرار می‌گیرد بسیار نازک بوده و از طرف دیگر توزیع ریشه در خاک بسیار گسترده است. برای 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. لذا بر این هدف از رایزوباکس استفاده می‌شود. 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 روز افزون ماده آلی و کودهای بیولوژیک در کشاورزی و نظر به اینکه ارتباط بین بیوچار و باکتری‌های PGPR و تاثیرات آن‌ها بر فعالیت آنزیم‌های خاک فسفونواسترها هنوز به اندازه کافی توصیف نشده است و اکثر مطالعات بیوچار در خاک‌های اسیدی و در شرایط آب‌وهوایی گرم و مرطوب انجام گرفته است. همچنین پژوهش‌های کمی در این ارتباط در رایزوباکس انجام گرفته است. لذا هدف از این تحقیق هدف از این تحقیق تاثیر کاربرد بیوچار و بقایای هرس درختان میوه بر فعالیت آنزیم‌های فسفونواسترها و فراهمی فسفر در یک خاک آهکی در حضور باکتری‌های PGPR در شرایط رایزوباکس می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار که فاکتورها شامل ماده آلی (بیوچار بقایای هرس و شاهد بدون ماده آلی)، تلقیح میکروبی (باکتری‌های PGPR و شاهد بدون تلقیح) و خاک (خاک ریزوسفری و غیرریزوسفری) بود، در گلخانه تحقیقاتی گروه علوم خاک دانشگاه ارومیه اجرا گردید. نمونه‌برداری خاک غیر زراعی با بافت سبک از عمق ۰-۳۰ سانتی‌متری شهرستان سلماس واقع در استان آذربایجان غربی تهیه شد و بعد از هوا خشک کردن از غربال ۲ میلی‌متری عبور داده شد. سپس در دستگاه اتوکلاو و 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 (جدول ۱). برای تهیه بیوچار، بقایای هرس درختان سیب و انگور در قطعات ۲۰ میلی‌متری ابتدا به راکتور (استوانه فلزی به قطر ۷ و ارتفاع ۳۱ سانتی‌متر) و سپس به کوره الکتریکی منتقل گردید. تولید در دمای ۳۵۰ درجه سلسیوس در شرایط عدم وجود اکسیژن انجام گردید. در نهایت بیوچار تولید شده آسیاب و از الک ۰/۵ میلی‌متری عبور داده شد. pH و EC بیوچار در عصاره صاف شده سوسپانسیون ۱ به ۱۰ بیوچار به آب، فسفر کل بیوچار به روش هضم با اسید (Rajkovich و همکاران ۲۰۱۱)، نیتروژن و کربن بیوچار نیز به روش سوزاندن خشک با دستگاه ESC 4010 CHNSO Analyzer اندازه‌گیری گردید (جدول ۱). جهت انجام آزمون گلخانه‌ای و برای کشت گیاه از رایزوباکس استفاده شد. باکس‌های ریزوسفر در ابعاد ۲۰×۱۵×۲۰ سانتی‌متر (طول، عرض، ارتفاع) استفاده شد. فضای هر باکس با بهره‌گیری 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 بقایای هرس سیب و انگور برحسب ۱/۵ درصد کربن آلی خالص به خاک (هر باکس شامل ۵/۸۰ کیلوگرم خاک) اضافه و مخلوط شدند و سپس به باکس‌ها منتقل گردیدند. در تیمارهای شاهد بدون ماده آلی خاک استریل دارای تلقیح میکروبی استفاده گردید. در

تیمارهای شاهد بدون تلقیح میکروبی نیز خاک استریل دارای ماده آلی استفاده گردید. همچنین مقدار ۸۰ میلی گرم فسفر از منبع خاک فسفات به عنوان منابع نامحلول فسفر در هر کیلوگرم خاک به فاصله ۵ سانتی متری زیر بذر 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. fluorescens*، *P. aeruginosa* و *P. putida*) بودند، استفاده گردید. برای تلقیح بذر از روش افزودن محلول باکتری‌ها (یک میلی لیتر از سوسپانسیون برای هر بذر) به خاک اطراف بذر 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 بخش ریزوسفری رایزوباکس‌ها کشت گردیدند. پس از جوانه زدن بذر، چهار بوته (بوته‌های سالم‌تر و قوی‌تر) نگه‌داشته شدند. در طول دوره کشت از آب مقطر برای آبیاری و جهت تامین مواد غذایی مورد نیاز 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. فسفر قابل استفاده به روش اولسن و آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی (Tabatabai و Bremner، ۱۹۶۹) اندازه‌گیری شدند. تجزیه و تحلیل آماری شامل تجزیه واریانس و مقایسات میانگین داده‌ها با بهره‌گیری از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد با نرم افزار MSTATC و رسم شکل‌ها با نرم افزار Excel انجام گرفت.

جدول ۱- نتایج برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک شنی و بیوچار

پتاسیم قابل استفاده	فسفر کل	فسفر قابل استفاده	نیترژن کل	کربنات کلسیم معادل	کربن آلی	EC	pH	بافت خاک
	mg.kg ⁻¹			%		ds m ⁻¹		
۹۸	-	۷/۶۴	۰/۰۸	۱۴/۲۵	۰/۲۵	۰/۴۷	۷/۵۳	خاک شن لومی
۲۷۴۸/۰۷	-	۰/۵۴	-	۶۷/۵۳	۰/۰۸	۷/۲۹	-	بیوچار بقایای هرس سیب و انگور

نتایج و بحث

زیست فراهمی فسفر

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات اصلی و برهمکنش (منابع آلی × تلقیح میکروبی، منابع آلی × خاک و تلقیح میکروبی × خاک) بر میزان فسفر قابل دسترس خاک ($p < 0/01$) معنی‌دار گردید. مقایسه میانگین اثر منابع آلی و تلقیح میکروبی بر فسفر قابل دسترس نشان داد که افزودن مواد آلی همراه با تلقیح میکروبی تاثیر معنی‌داری نسبت به شرایط بدون تلقیح و نیز شرایط بدون ماده آلی و بدون تلقیح بر زیست فراهمی فسفر داشت (جدول ۲). به طوری که در تیمار بیوچار، حضور باکتری‌های PGPR منجر به افزایش ۸۶/۸۸ درصدی زیست فراهمی نسبت به شرایط بدون تلقیح شد. Siddiqui و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که بیوچار با فراهم کردن زیستگاه و تامین کربن برای باکتری‌های حل‌کننده فسفات می‌تواند ترکیبات کم محلول فسفر را حل کرده و به بهبود فراهمی فسفر در خاک کمک کند. بطور کلی مقدار فسفر در خاک غیرریزوسفری تیمارها در مقایسه با خاک ریزوسفری بالاتر بود (جدول ۳). حضور بیوچار در خاک ریزوسفری و غیرریزوسفری منجر به افزایش معنی‌دار زیست فراهمی فسفر نسبت به تیمار شاهد در هر دو سطح خاک شد. Moritsuka و همکاران (۲۰۰۰) تغییرات فسفر را در ریزوسفر گیاه ذرت با بهره‌گیری از رایزوباکس مطالعه کردند. آن‌ها مشاهده کردند که غلظت فسفر در بخش مرکزی رایزوباکس (ریزوسفر) کاهش یافت. همچنین آنان دریافتند که میزان عناصر محلول در نزدیک ریشه کاهش یافت که میزان این کاهش به مقدار پخشیدگی عنصر در ریزوسفر بستگی داشت. بیوچار بقایای هرس مقدار فسفر را در خاک غیرریزوسفری نسبت به خاک ریزوسفر ۳۴/۵۷ درصد افزایش داد (جدول ۳). تلقیح میکروبی بیشترین تاثیر را در افزایش فراهمی زیست فراهمی فسفر در خاک ریزوسفری و غیرریزوسفری داشت (جدول ۴). باکتری‌های PGPR، ۲۶/۷۴ درصد زیست فراهمی فسفر را در خاک غیرریزوسفری نسبت به ریزوسفر افزایش دادند. به نظر می‌رسد جذب فسفر توسط ریشه گیاه و ریزجانداران منجر به تخلیه مخازن فسفر قابل دسترس در خاک‌های ریزوسفری شده و در نتیجه مقدار فسفر استخراج شده به روش اولسن سرعت آزادسازی فسفر در خاک‌های ریزوسفر پایین‌تر از خاک‌های غیرریزوسفری است.

جدول ۲- مقایسه میانگین برهمکنش منابع آلی و تلقیح میکروبی بر میزان فسفر قابل دسترس خاک

مقدار فسفر قابل استفاده خاک (mg kg ⁻¹)		
بیوچار	شاهد	تلقیح میکروبی
۲۹/۷۷a	۱۰/۱۳c	تلقیح
۱۵/۹۳b	۷/۶۲d	بدون تلقیح
۴/۶۰		ضریب تغییرات
۱/۲۶۲		LSD _{0.05}

میانگین‌های دارای حروف مشترک بر پایه آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمالی ۵ درصد اختلاف آماری معنی‌داری ندارند.

جدول ۳- مقایسه میانگین برهمکنش منابع آلی و خاک بر میزان فسفر قابل دسترس خاک

مقدار فسفر قابل دسترس خاک (mg kg ⁻¹)		
بیوچار	شاهد	خاک
۱۹/۰۶a	۷/۸۲d	ریزوسفر
۲۵/۶۵b	۹/۹۲c	غیرریزوسفر
۴/۶۰		ضریب تغییرات
۱/۲۶۲		LSD _{0.05}

میانگین‌های دارای حروف مشترک بر پایه آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمالی ۵ درصد اختلاف آماری معنی‌داری ندارند.

جدول ۴- مقایسه میانگین برهمکنش تلقیح میکروبی و خاک بر میزان فسفر قابل دسترس خاک

مقدار فسفر قابل دسترس خاک (mg kg ⁻¹)		
بدون تلقیح	تلقیح	خاک
۱۶/۸۷b	۱۰/۰۱d	ریزوسفر
۲۳/۰۳a	۱۳/۵۴c	غیرریزوسفر
۴/۶۰		ضریب تغییرات
۱/۲۶۲		LSD _{0.05}

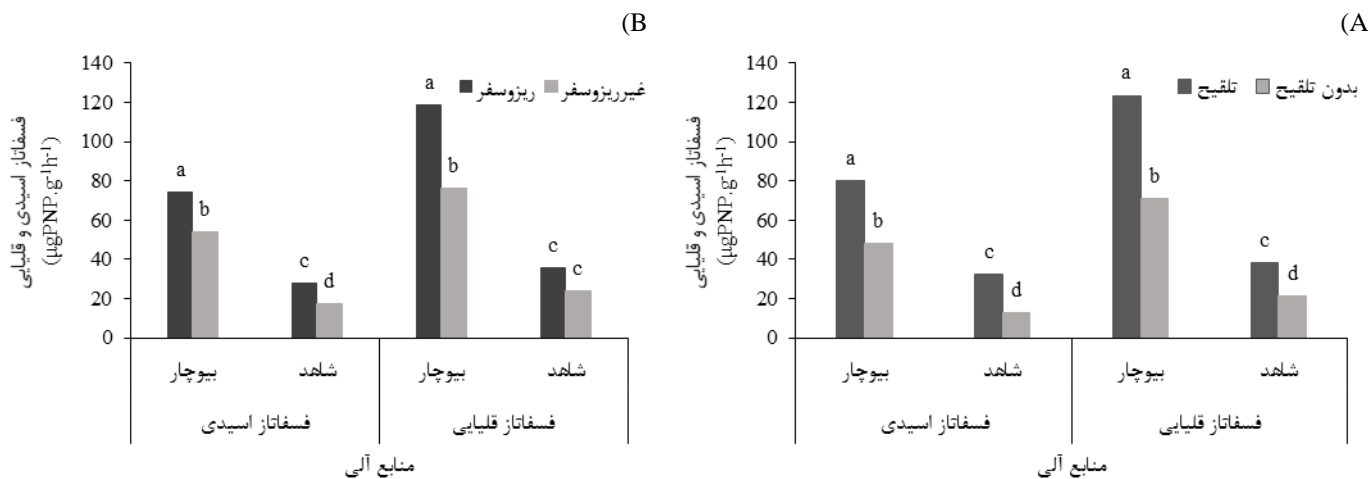
میانگین‌های دارای حروف مشترک بر پایه آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمالی ۵ درصد اختلاف آماری معنی‌داری ندارند.

فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی

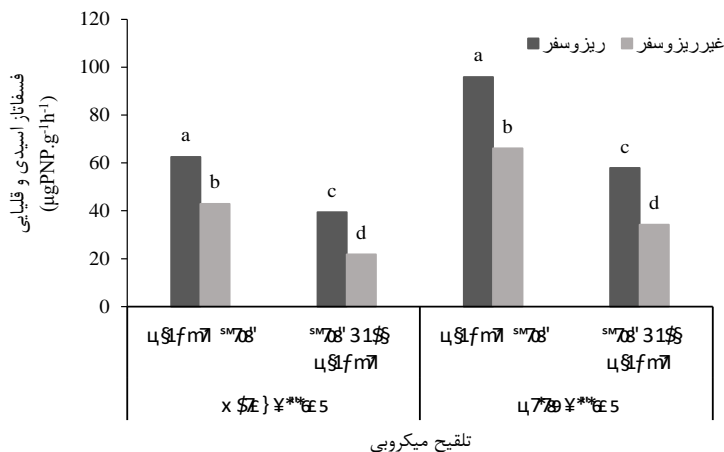
نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات اصلی ماده آلی، خاک و تلقیح میکروبی بر فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی ($p < 0.001$) معنی‌دار بود. همچنین اثرات متقابل (ماده آلی × تلقیح میکروبی و ماده آلی × خاک) نیز بر میزان فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی ($p < 0.001$) و قلیایی ($p < 0.01$ و $p < 0.001$) معنی‌دار بود. در ارتباط با میزان فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی قلیایی ($p < 0.001$) نتایج نشانگر معنی‌دار بودن اثر متقابل تلقیح میکروبی و خاک بر مقدار این شاخص‌ها بود. نتایج شکل ۱ نشان داد که میزان فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی بیشتر از فسفاتاز اسیدی بود. تیمار مشترک بیوچار و تلقیح میکروبی بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی را به خود اختصاص داد. بطوریکه در تیمار بیوچار تلقیح باکتریایی منجر به افزایش که ۱/۶۶ و ۱/۷۴ برابری بترتیب میزان آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی را به خود اختصاص داد. مطالعه با افزایش pH (A-۱). کاهش فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی در مقایسه با فسفاتاز قلیایی با افزودن بیوچار به خاک دور از انتظار نبود چرا که خاک مورد مطالعه با pH قلیایی و شرایط آهکی (جدول ۱) برای فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی مناسب‌تر است. بر پایه بررسی‌های انجام شده خاکستر بیوچار دارای کاتیون‌های بازی بوده و منجر به افزایش pH خاک می‌شود که این افزایش pH خاک بدلیل افزودن بیوچار به خاک باعث افزایش فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در خاک می‌شود (Chen و همکاران ۲۰۰۰). اثر خاک ریزوسفری بر میزان فعالیت آنزیم‌ها در مقایسه با خاک غیرریزوسفری معنی‌دار بود (شکل ۱-B). Balík و همکاران (۲۰۰۷) با بررسی پیامد کاربرد کود آلی بر فعالیت‌های آنزیم‌های فسفاتاز در ریزوسفر گیاهان با بهره‌گیری از ریزوباکس گزارش کردند که فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی به طور معنی‌دار نسبت به توده خاک افزایش یافت. بر پایه نتایج، در شرایط بهره‌گیری از بیوچار، فعالیت آنزیم

فسفاتاز اسیدی و قلیایی در ریزوسفر به ترتیب ۱/۳۷ و ۱/۵۵ برابر بیشتر از خاک غیرریزوسفر بود. همچنین، فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی قلیایی در شرایط تلقیح باکتریایی، در خاک ریزوسفر ۱/۴۵ برابر بیشتر از فعالیت این آنزیم‌ها در خاک غیرریزوسفری بود (شکل ۲-C). بالا بودن فعالیت فسفاتاز قلیایی در تیمار تلقیح PGPR ممکن است بدلیل شرایط محیط رشد میکروبی باشد به‌عنوان مثال 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 $pH > 7$ فعالیت بالاتری دارد (Eivazi و Tabatabai، ۱۹۷۷). افزایش فعالیت فسفاتاز قلیایی در خاک ریزوسفری نسبت به خاک غیرریزوسفری را می‌توان ناشی از فعالیت میکروبی و ریشه‌ای گیاه دانست.

بطور کلی می‌توان بیان کرد که معدنی‌شدن فسفر یک فرآیند آنزیمی است و آنزیم‌های فسفاتاز با کاتالیز واکنش‌ها، ترکیبات فسفر آلی به صورت فسفات‌ها در محلول خاک رها می‌کنند. وقتی ماده آلی همانند بیوجار به خاک اضافه می‌شود ریزجانداران آنزیم‌های فسفاتاز به محلول خاک ترشح می‌کنند تا واکنش‌های معدنی شدن هیدرولیزی را کاتالیز کنند. در صورتی که فسفر معدنی شود، یا توسط گیاه جذب و یا در ساختمان سلول‌های میکروبی غیر متحرک و یا اینکه کمپلکس معدنی غیر محلول را تشکیل می‌دهند. نتایجی که از فسفر قابل دسترس در خاک مشخص شد اثر متقابل تلقیح میکروبی و منابع آلی و اثر متقابل منابع آلی و خاک نشان داد که تیمار بیوجار بقایای هرس بیشترین مقدار فسفر قابل استفاده را نسبت به تیمار شاهد داشت. لذا از بالا بودن میزان آنزیم فسفاتاز در این تیمار در تلقیح با باکتری‌های حل‌کننده فسفات می‌توان نتیجه گرفت که فسفر معدنی شده احتمالاً توسط گیاه جذب شده است. هر چند در مورد رابطه بین فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی و اسیدی با فسفر قابل دسترس خاک اختلاف وجود دارد (Garg و Bahl، ۲۰۰۸؛ Yu و همکاران، ۲۰۰۶). برخی محققین گزارش کردند رابطه مستقیم بین مقدار فسفر قابل دسترس خاک و فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی وجود دارد (Colvan و همکاران، ۲۰۰۱؛ Garg و Bahl، ۲۰۰۸). همچنین، شواهدی هم مبنی بر وجود رابطه منفی بین فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی و فسفر قابل استفاده خاک گزارش شده است (Yu و همکاران، ۲۰۰۶). نتیجه‌ای که در مطالعه‌ی حاضر مشاهده شد نشان داد که ارتباط مستقیمی در میزان آنزیم فسفاتاز اسیدی و قلیایی در تیمار بیوجار مشاهده شد. تیمار بیوجار در اثر متقابل منابع آلی و خاک، منابع آلی و تلقیح میکروبی بیشترین مقدار فسفر قابل دسترس خاک را داشت. همچنین در اثر متقابل تلقیح میکروبی و خاک نیز تلقیح باکتریایی بیشترین مقدار فسفر قابل استفاده را داشت که نشان دهنده ارتباط مستقیم با آنزیم‌های فسفاتاز می‌باشد.



(C)



شکل ۱- مقایسه میانگین منابع آلی و تلقیح میکروبی، منابع آلی و خاک بر فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی ضریب تغییرات آنزیم‌های فسفومونواسترازهای اسیدی و قلیایی به ترتیب ۱۲/۸۹ و ۱۰/۵۶ بود.

نتیجه‌گیری

این پژوهش نشان داد که افزودن بیوجار به خاک در تلقیح با باکتری‌های PGPR در محیط ریشه منجر به افزایش فراهمی فسفر در خاک گردید. به دنبال کاربرد مواد آلی، ریزجانداران به سرعت رشد کرده و افزایش فعالیت‌های بیولوژیکی همانند افزایش فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز در ریزوسفر خاک شد. باکتری‌های حل‌کننده فسفات با استقرار در منطقه ریزوسفر از ترشحات ریشه استفاده نموده و با ترشح آنزیم‌ها، شرایط را برای تبدیل فسفر نامحلول به شکل قابل استفاده فراهم کرد. بنابراین بقایای هرس درختان سیب و انگور به بیوجار و بهره‌گیری از پتانسیل ریزجانداران حل‌کننده فسفات بیولوژیکی به عنوان مکمل برای کودهای شیمیایی گردیده و اثرات آن‌ها به صورت بهبود زیست فراهمی فسفر و کاهش کودهای شیمیایی نمایان می‌شود.

منابع

- Atkinson, C.J., Fitzgerald, J.D. and Hips, N.A. 2010. Potential mechanisms for achieving agricultural benefits from biochar application to temperate soils: A review. *Plant and Soil*, 337, 1–18.
- 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.
- Chan, K.Y., Van Zwieten, L., Meszaros, I., Downie, A. and Joseph, S. 2008. Using poultry litter biochars as soil amendments. *Australian Journal of Soil Research*, 46, 437.
- Chen, J., Liu, X., Zheng, J., Zhang, B., Lu, H., Chi, Z., Pan, G., Li, L., Zheng, J. and Zhang, X. 2013. Biochar soil amendment increased bacterial but decreased fungal gene abundance with shifts in community structure in a slightly acid rice paddy from Southwest China. *Applied Agriculture and Soil Ecology*, 71, 33–44.
- Chintala, R., Mollinedo, J., Schumacher, T.E., Malo, D.D and Julson, J.L. 2013. Effect of biochars on chemical properties of acidic soil. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 60, 393–404.
- Colvan, S.R., Syers, J.K., and O'Donnel, A.G. 2001. Effect of long-term fertiliser use on acid and alkaline phosphomonoesterase and phosphodiesterase activities in managed grassland. *Biology and Fertility of Soils*, 34, 258–263.
- Eivazi, F., and M.A. Tabatabai. 1977. Phosphatase in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 9, 167–172.
- Garg, S., and Bahl, G.G. 2008. Phosphorus availability to maize as influenced by organic manures and fertilizer phosphorus associated with phosphatase activity in soils. *Bioresource Technology*, 5773–5777.
- 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 Biochemistry*, 37, 1185–1195.
- Liu, Y., Yang, M., Wu, Y., Wang, H., Chen, Y. and Wu, W. 2011. Reducing CH₄ and CO₂ emission from waterlogged paddy soil with biochar. *Journal of Soils and Sediments*, 11, 930–939.



- Mishra, R.R. 2007. Soil microbiology. Translated by: A. Fallah, H. Besharati, & H. Khosravi, Aeeizh publisher, 179.
- Moritsuka, N., Yanai, J. and Kosaki, T. 2000. Effect of plant growth on the distribution and forms of soil nutrients in the rhizosphere, *Soil Science and Plant Nutrition*, 46, 439-447.
- Quiquampoix, H. and Mousain, D. 2005. Enzymatic hydrolysis of organic phosphorus. In: Turner BL, Frossard E, Baldwin DS (eds) *Organic phosphorous in the environment*. CABI, Wallingford, UK, 89–112.
- 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.
- Reis, V.J., Reis, F.B.J., Quesada, D.M., de Oliveira, O.C.A., Alves, B.J.R., Urquiaga, S. and Boddey, R.M. 2001. Biological nitrogen fixation associated with tropical pasture grasses. *Australian Journal of Plant Physiology*, 28, 837–844.
- Siddiqui, A.R., Nazeer, S., Piracha, M.A., Saleem, M.M., Siddiq, I., Shahzad, S.M. and Sarwar, G. 2016. The production of biochar and its possible effects on soil properties and phosphate solubilizing bacteria, *Journal of Applied Agriculture and Biotechnology*, 1(1), 27–40.
- Tabatabai, M.A. and Bremner, J.M. (1969). Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biology and Biochemistry*, 1, 301-307.
- Yuan, L., Fang, D.H., Wnag, Z.H., Shun, H. and Huang, J.G. 2000. Bio-mobilization of potassium from clay minerals: I. By ectomycorrhizas. *Pedosphere*, 10, 339- 346.
- Yu, S., Hea, Z.L., Stoffellaa, P.J., and Calverta, D.V., Yanga X.E., Banksa D.J., and Baligar V.C. 2006. Surface runoff phosphorus (P) loss in relation to phosphatase activity and soil P fractions in Florida sandy soils under citrus production. *Soil Biology and Biochemistry*, 38, 619–628.



16th Iranian Soil Science Congress

University of Zanjan, Iran, August 27-29, 2019



Topic for submission: Soil Biology and Biofertilizers

The effect of biochar and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on phosphatase enzymes activity and bioavailability of phosphorus

R.Vahedi^{*1}, MH. Rasouli-sadaghiani²

¹ PhD Student, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

² Professor, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

Abstract

Biochar and microorganisms affect the solubility and mobility of soil phosphorus in the rhizosphere and thus would improve its bioavailability. In order to evaluate the effect of pruning waste biochar of apple and grape trees and plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on phosphatase activity and phosphorus bioavailability in calcareous soil, an experiment was carried out using a completely randomized design under greenhouse conditions in Rhizobox. The factors included the organic matter (pruning waste biochar and control), microbial inoculation (PGPR and Control (without microbial inoculation)) and soil (rhizosphere and non-rhizosphere soil). Some soil properties including available phosphorus of soil, activity of acid and alkaline phosphomonoesterases enzymes were measured. The results showed that application of biochar and microbial inoculation led to significant changes in the studied parameters. Furthermore, biochar increased the acidic and alkaline phosphatase enzymes activities in the rhizosphere soil by 1.37 and 1.55 times compared with non-rhizosphere, respectively. However, the content of phosphorus availability in the non-rhizosphere soil of the biochar treatment was 1.34 times higher than rhizosphere soil. In general, the use of organic matter and microbial inoculation has a significant effect on bioavailability of phosphorus.

Keywords: pruning waste, Phosphate-solubilizing microorganisms, Rhizobox

* Corresponding author, Email: r.vahedi@urmia.ac.ir