



## تأثیر پسماند جامد کشاورزی-صنعتی و باکتری‌های باسیلوس و سودوموناس بر شاخص‌های زیستی و اکوفیزیولوژیک در یک خاک لوم

نسرين قربانزاده<sup>۱</sup> و \*محمدباقر فرهنگي<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup>استاديار گروه علوم خاک، دانشگاه گيلان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۲/۱۵؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۹/۲۹

### چکیده

**سابقه و هدف:** پسماند جامد صنایع تصفیه روغن زیتون دارای مواد آلی و معدنی با ارزشی است که می‌تواند برای فعالیت جامعه میکروبی خاک و کیفیت آن سودمند باشد. اما این پسماندها دارای مواد سخت‌تجزیه شونده و اسیدهای چرب هستند که نیاز به ریزجانداران ویژه برای تجزیه کامل آن‌ها در محیط خاک را الزام می‌کند. هدف این پژوهش بررسی شاخص‌های زیستی و اکوفیزیولوژیک خاک (به‌عنوان سنج‌های کیفیت خاک) پس از افزودن پسماند جامد کارخانه تصفیه روغن و مایه‌زنی باکتری‌های باسیلوس و سودوموناس به خاک بود.

**مواد و روش‌ها:** آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل و در سه تکرار انجام شد. فاکتورها شامل سه سطح پسماند (صفر، ۲ و ۴٪) پنج سطح باکتری (مایه‌زنی نشده، مایه‌زنی شده با باسیلوس بومی، باسیلوس پرسیکوس، سودوموناس بومی، سودوموناس فلورسنس) و هفت زمان نمونه‌برداری (صفر، ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶ ماه) بودند. خاک بدون پسماند و مایه‌زنی نشده هم در آزمایش گنجانده شد. مخلوط‌های خاک-پسماند به مدت ۶ ماه در شرایط رطوبتی FC ۰/۷ و دمای آزمایشگاه (حدود ۲۵ °C) انکوباسیون شدند. در زمان‌های صفر و پایان هر ماه از مخلوط‌ها نمونه‌برداری شده و کربن آلی (OC)، تنفس پایه (BR)، تنفس برانگیخته شده با سوسترا (SIR) و کربن زیست‌توده میکروبی (MBC) در آن‌ها اندازه‌گیری گردید و شاخص‌های اکوفیزیولوژیک شامل سهم متابولیک (qCO<sub>2</sub>)، سهم کربن میکروبی (Cmic) و قابلیت دسترسی به کربن (CAI) محاسبه شد. آنالیز داده‌ها با نرم‌افزار SAS 9.4 و مقایسه میانگین آن‌ها با آزمون توکی (P<۰/۰۵) انجام گرفت.

**یافته‌ها:** نتایج آنالیز واریانس نشان داد که پیامد فاکتورها و برهم‌کنش آن‌ها بر بیش‌تر پارامترها به‌جز qCO<sub>2</sub> معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). بالاترین اندازه BR و SIR در تیمار پسماند چهار درصد مایه‌زنی شده با باکتری‌های سودوموناس به‌دست آمد. افزودن پسماند به خاک و مایه‌زنی آن با سودوموناس‌ها نقش مهمی در زیاد شدن این فراسنجه‌ها داشت. به هر روی، با وجود تأثیر مثبت، مایه‌زنی پسماند با باکتری‌ها سبب افزایش MBC نشد. به گونه‌ای که بالاترین اندازه آن در تیمار چهار درصد پسماند مایه‌زنی نشده با باکتری‌ها به‌دست آمد. کم‌ترین اندازه هر سه فراسنجه هم در تیمار بدون پسماند مایه‌زنی شده با باسیلوس پرسیکوس به‌دست آمد. افزودن پسماند به خاک سبب افزایش qCO<sub>2</sub> شد و

\* مسئول مکاتبه: m.farhangi@guilan.ac.ir

بیشترین اندازه آن در تیمارهای دارای سودوموناس بومی دیده شد. افزودن پسماند به خاک و مایه‌زنی آن با باکتری‌ها سبب کاهش Cmic شد. بالاترین اندازه Cmic در خاک بدون پسماند مایه‌زنی شده با باکتری سودوموناس فلورسنس و کمترین مقدار آن در خاک دارای چهار درصد پسماند مایه‌زنی شده با باسیلوس پرسیکوس به دست آمد. میانگین Cmic در سطوح پسماند صفر، ۲ و ۴ درصد به ترتیب ۱۰/۳، ۵/۰۶ و ۴/۷۶<sup>-1</sup> mg Cmic gCorg<sup>-1</sup> بود. روند تغییرات Cmic با زمان نیز نشان داد که این شاخص در خاک‌های مایه‌زنی شده با باسیلوس‌ها (بومی و پرسیکوس) و هم‌چنین خاک‌های مایه‌زنی نشده با باکتری‌ها روند افزایشی داشت. افزودن پسماند به خاک و مایه‌زنی با سودوموناس‌ها (بومی و فلورسنس) سبب افزایش CAI شد. بیشترین و کمترین مقدار CAI به ترتیب در تیمار ۴ درصد پسماند مایه‌زنی شده با سودوموناس فلورسنس و تیمار بدون پسماند مایه‌زنی شده با باسیلوس بومی دیده شد. روند تغییرات CAI با زمان نوسان زیادی داشت و تنها در خاک‌های مایه‌زنی شده با باسیلوس‌ها (بومی و پرسیکوس) روند آن با زمان مثبت بود.

**نتیجه‌گیری:** در کل، افزودن پسماند جامد کارخانه تصفیه روغن به خاک و مایه‌زنی آن با سودوموناس‌ها اگرچه سهم کربن میکروبی را کاهش داد اما سبب افزایش تنفس پایه میکروبی و کربن قابل‌دسترس در خاک شد. بنابراین به نظر می‌رسد در صورت اضافه کردن این پسماند به خاک مایه‌زنی آن با باکتری‌های سودوموناس بتواند تجزیه پسماند را در کوتاه مدت تسریع کرده و عناصر غذایی آن را آزاد کند.

**واژه‌های کلیدی:** تنفس پایه، ضریب متابولیک، کربن زیست‌توده میکروبی، ماده آلی

## مقدمه

تولید شده در کارخانه روغن‌کشی زیتون فصلی است ولی سهم آن‌ها در آلودگی محیط زیست قابل توجه است. برای نمونه ترکیب‌های فنلی، از مهم‌ترین عوامل ضد میکروبی و سمی در ضایعات کارخانه روغن‌کشی زیتون هستند (۱). هرچند غلظت بالای فنل، اسیدهای آلی و چربی، این گونه پسماندها را به مواد سمی تبدیل می‌کند، اما آن‌ها دارای منابع ارزشمندی مانند مواد آلی و عناصر غذایی نیز هستند که می‌توانند بازیافت شوند. بهبود ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک در پی افزودن پساب کارخانه روغن‌کشی زیتون به خاک‌های کشاورزی گزارش شده است (۹ و ۲). از آن‌جا که ماده آلی تشکیل دهنده پسماند جامد زیتون بیش‌تر از لیگنین و سلولز است (۳۱)، کاربرد آن در خاک سبب افزایش محتوای کربن آلی خاک و بهبود ساختمان خاک می‌شود (۳۲). اصلاح خاک با پسماندهای کارخانه روغن‌کشی در دوره‌های کوتاه و

رشد فزاینده جمعیت و الگوی زندگی مصرفی، تولید مقادیر بسیار زیادی از پسماندهای کشاورزی و صنعتی را به دنبال دارد (۸). در این میان پسماندهای کشاورزی- صنعتی مانند پسماند حاصل از استخراج روغن زیتون یا تفاله‌های چغندر قند منابع با ارزشی هستند که تجزیه آن‌ها توسط ریزجانداران خاک، ترکیب‌های مفیدی را به‌عنوان کود و بهبود دهنده خاک تولید می‌کنند (۳۷). به‌طور کلی، در کارخانه روغن‌کشی زیتون افزون بر روغن زیتون (۲۰٪) دو نوع ضایعات روغن‌کشی نیز شامل پسماند جامد<sup>۱</sup> (SOW) که به آن کیک زیتون خام یا پوسته زیتون<sup>۲</sup> گفته می‌شود (۳۰٪) و فاضلاب یا پساب مایع (۵۰٪) تولید می‌شود. ضمن این‌که در فرایند تصفیه روغن زیتون نیز پساب ایجاد می‌شود. اگرچه مقدار ضایعات

1- Solid olive waste

2- Olive husk

شاخص‌های اکوفیزیولوژیک خاک مانند تنفس پایه<sup>۱</sup> (BR) خاک، کربن زیست‌توده میکروبی<sup>۲</sup> (MBC)، ضریب متابولیک<sup>۳</sup> و سهم کربن میکروبی<sup>۴</sup> برای تعیین پیامد متغیرها و تنش‌های محیطی بر فعالیت و جمعیت میکروبی خاک در ارزیابی‌های مرتبط با کیفیت و سلامت خاک استفاده می‌شود (۲۲).

معمولاً کربن زیست‌توده میکروبی را به‌عنوان برآوردی از فعالیت و حیات توده میکروبی خاک در نظر می‌گیرند. نقش زیست‌توده میکروبی خاک در تغییر مواد آلی خاک روشن است (۴۴). تنفس پایه خاک بیش‌تر به‌عنوان معیاری برای ارزیابی حاصل‌خیزی آن استفاده می‌شود و قابلیت دسترسی ریزجانداران خاک به مواد آلی را منعکس می‌کند. ضریب متابولیک نیز که نسبت فعالیت تنفسی به زیست‌توده میکروبی می‌باشد به‌عنوان معیاری از پایداری خاک‌ها در برابر اختلال و تنش در جامعه میکروبی خاک در نظر گرفته می‌شود (۴۱). سهم کربن میکروبی (نسبت کربن زیست‌توده به کربن آلی خاک) نیز یک شاخص حساس به تغییرات ماده آلی است و به‌طور مؤثری برای دنبال کردن وضعیت مقدار ماده آلی خاک پس از افزودن بقایای تازه مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۰). نسبت تنفس پایه به تنفس برانگیخته شده با سوبسترا<sup>۵</sup> (SIR) نیز شاخص دسترسی به کربن<sup>۶</sup> (CAI) را نشان می‌دهد با این فرض که تنها عامل تفاوت بین تنفس پایه و برانگیخته شده با سوبسترا، کربن فراهم افزوده شده به محیط در آزمایش تنفس برانگیخته شده با سوبسترا باشد (۴۳).

با توجه به تولید مقادیر زیاد پسماند در صنایع جانبی کشاورزی و نیاز به تقویت کربن آلی در بیش‌تر

میان‌مدت سبب افزایش کربن آلی، نیتروژن کل، فسفر و پتاسیم قابل‌دسترس خاک و پایداری در خاک‌دانه‌های آن می‌شود (۳۸). به هر روی، برای تجزیه چربی و ترکیب‌های فنلی این گونه پسماندها نیاز است ریزجانداران توانمند و ویژه در محیط حضور داشته باشند.

ریزجانداران خاک وظیفه تجزیه و دگرگونی پسماندهای وارد شده به خاک را بر عهده دارند (۳۴). در این میان باکتری‌های باسیلوس نقش بسیار مهمی دارند و به‌دلیل توانایی تولید آنزیم‌هایی مانند پروتاز، آمیلاز و فسفاتاز، تولید مواد زیستی مانند هورمون‌های رشد و هم‌چنین وسعت انتشار، تنوع گونه‌ای و مقاوم بودن به تنش‌های محیطی در بیش‌تر فرآیندهای تجزیه مواد آلی شرکت می‌کنند (۳۹). باکتری‌های سودوموناس نیز به‌دلیل داشتن پلاسمیدهای حامل ژن‌های مؤثر در تجزیه ترکیب‌های آلی در خاک از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند. باکتری‌های سودوموناس با تولید بیوفیلم و بیوسورفکتانت‌های متفاوت و یا با کمک مکانیسم‌های چسبندگی/واجذبی سبب تجزیه ترکیب‌های آلی در خاک می‌شوند (۱۴).

به‌طورکلی، هرچه کربن، انرژی و عناصر غذایی مورد نیاز ریزجانداران از راه پسماند بهتر فراهم شود، رشد جمعیت میکروبی نیز بیش‌تر خواهد شد (۳۵). فعالیت‌های میکروبی در خاک پس از افزودن پسماندهای آلی به مقدار و نوع پسماند افزوده شده، فراوانی و کارکرد ریزجانداران، ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی و درجه آلودگی پسماند بستگی دارد (۲۸). هنگامی‌که جامعه میکروبی در برابر تنش‌های محیطی قرار بگیرد، کربن بیش‌تری را از راه تنفس از دست می‌دهد و به‌ازای واحد سوبسترای مصرفی، کربن کم‌تری وارد فرایندهای بیوسنتزی و رشد میکروبی می‌شود (۲۲). بنابراین، از ویژگی‌های زیستی و

- 1- Basal Respiration
- 2- Microbial Biomass Carbon
- 3- Metabolic quotient
- 4- Microbial carbon ratio
- 5- Substrate Induced Respiration
- 6- Carbon Availability Index

خاک‌های کشور، هدف از انجام این پژوهش بررسی شاخص‌های زیستی و اکوفیزیولوژیک به‌عنوان شاخص‌های کیفیت و سلامت خاک پس از افزودن پسماند جامد کارخانه تصفیه روغن زیتون به خاک در حضور دو باکتری تجزیه‌کننده باسیلوس و سودوموناس بود تا میزان اثرگذاری پسماند بر فعالیت جامعه میکروبی خاک و همچنین تأثیر باکتری‌های مایه‌زنی شده در روند تجزیه پسماند مشخص شود.

### مواد و روش‌ها

**آماده‌سازی خاک و پسماند:** یک نمونه خاک مرتعی از لایه سطحی (۳۰-۰ سانتی‌متری) از منطقه لوشان واقع در استان گیلان نمونه‌برداری شد. پسماند جامد نیز از کارخانه تصفیه روغن گنجه واقع در رودبار استان گیلان تهیه گردید. در این کارخانه روغن‌های گیاهی خام (بیش‌تر زیتون) تصفیه می‌شود و پسماند از ته‌نشست پساب حوضچه تصفیه نمونه‌برداری شده است. خاک و پسماند به آزمایشگاه منتقل و پس از هوا خشک شدن از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شدند. برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک شامل بافت، pH و قابلیت هدایت الکتریکی<sup>۱</sup> (EC) در نسبت ۲ به ۱ آب به خاک، کربن آلی، کربنات‌های کلسیم معادل (۱۹) و برخی ویژگی‌های شیمیایی پسماند شامل کربن به روش سوختن در کوره (۳۰)، کربنات‌های کلسیم معادل، pH، EC (در سوسپانسیون ۱۰ به ۱ آب به پسماند) اندازه‌گیری شد (۱۹). نیتروژن، فسفر و چربی کل نیز در پسماند اندازه‌گیری شدند (۲۷).

**جداسازی و تهیه باکتری‌ها:** برای جداسازی باکتری‌های باسیلوس و سودوموناس در آزمایشگاه از همان خاک مرتعی پیش از هواخشک کردن، سوسپانسیون ۱ به ۱۰ در آب مقطر سترون تهیه شد.

برای جداسازی باسیلوس سوسپانسیون به مدت ۲۰ دقیقه در بن‌ماری با دمای ۸۰ درجه سلسیوس قرار گرفت. از این سوسپانسیون پس از خنک شدن در محیط کشت نوترینت آگار، کشت در سطح پتری و به‌صورت پخش در پلیت انجام شد. چند نمونه از باکتری‌های رشد کرده در سطح پتری با ویژگی تپیک کلنی باسیلوس (ظاهر خشن و چروکیده با حاشیه موج‌دار) به روش خطی جداسازی شدند و با آزمایش‌هایی مانند رنگ‌آمیزی گرم، اسپور و آزمون کاتالاز، باسیلوس بودن آن‌ها تأیید شد. جداسازی سودوموناس نیز در محیط کشت اختصاصی سودوموناس‌ها یعنی کینگ بی انجام شد. سپس باکتری‌ها در محیط کشت نوترینت برات تکثیر شدند (۲۴). باکتری‌های باسیلوس پرسیکوس و سودوموناس فلورسنس نیز از مجموعه میکروب‌های زیستی آزمایشگاه بیولوژی دانشگاه گیلان تهیه شدند.

**آزمایش انکوباسیون خاک:** آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل و در سه تکرار انجام شد. فاکتورها شامل پسماند جامد در سه سطح (صفر، ۲ و ۴٪) و باکتری مایه‌زنی شده در ۵ سطح (مایه‌زنی نشده، باکتری بومی باسیلوس، باکتری بومی سودوموناس، باکتری شاخص باسیلوس پرسیکوس و باکتری شاخص سودوموناس فلورسنس) و زمان نمونه‌برداری در ۷ سطح (روز صفر و ماه‌های ۱، ۲، ۳، ۴، ۵ و ۶) در نظر گرفته شدند. برای هر تیمار مقدار ۶۰۰ گرم خاک در یک سینی با سطوح مختلف پسماند (صفر، ۲ و ۴ درصد) به‌طور کامل مخلوط شد. پس از آماده شدن مخلوط خاک-پسماند، غلظت مشخصی (۱۰<sup>۸</sup> × ۶ سلول) از زادمایه باکتری‌ها (باسیلوس و سودوموناس بومی جدا شده از خاک و باسیلوس پرسیکوس و سودوموناس فلورسنس) به حدود ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر سترون افزوده شد و این سوسپانسیون دارای باکتری به مخلوط‌ها مایه‌زنی

1- Electrical Conductivity

### نتایج و بحث

**تجزیه خاک و پسماند:** خاک مورد مطالعه دارای به‌ترتیب ۵۰ و  $8 \times 100 \text{g}^{-1}$  شن و رس بوده و بافت آن لوم بود. pH خاک  $7/8$ ، EC آن  $0/2 \text{ dS.m}^{-1}$ ، کربنات‌های کلسیم معادل آن  $36 \text{g}^{-1} \times 100$  و کربن آلی آن  $0/6 \text{g}^{-1} \times 100$  بود. بنابراین خاک مورد آزمایش از نظر کربن آلی فقیر و اندکی قلیایی بود. pH پسماند به‌کار رفته در این پژوهش نیز  $7/7$ ، EC آن  $1/34 \text{ dS.m}^{-1}$ ، کربنات‌های کلسیم معادل یا مواد خنثی‌شونده با اسید پسماند  $23/3 \text{g}^{-1} \times 100$  و مقدار کربن آلی آن  $37 \text{g}^{-1} \times 100$  بود. محتوای چربی پسماند  $0/26$  درصد بود. از نظر عناصر غذایی نیز پسماند به‌کار رفته دارای به‌ترتیب ۸۰۰۰ و ۲۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نیتروژن کل و فسفات کل بود. این گونه پسماندها اگرچه دارای کربن آلی و عناصر غذایی هستند اما محدودیت‌هایی برای کاربرد در زمین‌های کشاورزی نیز دارا می‌باشند. غلظت املاح محلول، عناصر سنگین و محتوای چربی می‌تواند موارد محدودکننده کاربرد این پسماند باشد. از نظر غلظت املاح محلول (EC) و عناصر سنگین (جدول ۱- داده‌های تکمیلی) پسماند محدودیتی برای کاربرد کشاورزی مدیریت شده ندارد (۱۴) و تنها محتوای چربی آن بالا گزارش شده است و دلیل مایه‌زنی خاک با باکتری‌ها برای تجزیه چربی در خاک بوده است.

**تجزیه واریانس اثر تیمارها:** در جدول ۱ نتایج تجزیه واریانس پیامد سطوح پسماند، باکتری و زمان انکوباسیون بر ویژگی‌های زیستی شامل تنفس پایه، تنفس برانگیخته شده با سوبسترا، کربن زیست‌توده میکروبی و شاخص‌های اکوفیزیولوژیک خاک شامل سهم متابولیک ( $\text{qCO}_2$ )، سهم کربن میکروبی (Cmic) و قابلیت دسترسی به کربن (CAI) ارائه

گردید. به طوری که پس از مایه‌زنی، جمعیت باکتری‌ها در هر گرم مخلوط  $10^6 \times 1$  سلول باشد. پس از آن مخلوط‌ها در ظروف پلاستیکی ریخته شده و در دمای آزمایشگاه (حدود ۲۵ درجه سلسیوس) به مدت شش ماه انکوباسیون شدند. در طول دوره انکوباسیون تلاش شد تا رطوبت مخلوط‌ها با روش وزنی در حدود ۷۰ درصد گنجایش زراعی (۵) حفظ شود. در زمان‌های صفر و ماه‌های اول تا ششم انکوباسیون از مخلوط‌ها نمونه‌برداری شد. در نمونه‌ها کربن آلی<sup>۱</sup> (OC)، تنفس پایه (BR)، تنفس برانگیخته شده با سوبسترا (SIR) (۶) و کربن زیست‌توده میکروبی (MBC) اندازه‌گیری شد (۲۱). سپس شاخص‌های اکوفیزیولوژیک در خاک شامل سهم متابولیک ( $\text{qCO}_2$ )، قابلیت دسترسی به کربن (CAI) و سهم کربن میکروبی (Cmic) محاسبه گردید.

سهم متابولیکی ( $\text{qCO}_2$ )، از تقسیم تنفس پایه میکروبی بر مقدار کربن زیست‌توده میکروبی محاسبه شد و بر حسب ( $\text{mgCO}_2 \cdot \text{C} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{Cmic} \cdot \text{h}^{-1}$ ) بیان شد (۲۱). شاخص سهم کربن میکروبی (Cmic) نیز از تقسیم کربن زیست‌توده میکروبی به کربن آلی خاک به‌دست آمد و بر حسب ( $\text{mgCmic} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{Corg}$ ) بیان شد (۶). قابلیت دسترسی به کربن (CAI) از تقسیم تنفس پایه بر تنفس برانگیخته شده با سوبسترا (هر دو با واحد  $\text{mgCO}_2 \cdot \text{C} \cdot 100 \text{g}^{-1} \text{dry soil} \cdot \text{d}^{-1}$ ) محاسبه شد (۴۳).

**آنالیز آماری:** نتایج شاخص‌های زیستی و اکوفیزیولوژیک شامل تنفس پایه، تنفس برانگیخته شده با سوبسترا، کربن زیست‌توده میکروبی، سهم متابولیک، سهم کربن میکروبی و قابلیت دسترسی به کربن در این تیمارها با نرم‌افزار SAS 9.4 آنالیز شدند و مقایسه میانگین داده‌ها نیز با آزمون توکی در سطح ۵ درصد انجام شد. برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

شده است. پیامد همه فاکتورها و تیمارها بر BR، CAI و SIR معنی دار بود ( $P < 0/01$ ). پیامد پسماند، باکتری و برهم کنش آن‌ها (پسماند در باکتری) و هم‌چنین برهم کنش باکتری در زمان بر MBC و Cmic معنی دار بود ( $P < 0/01$ ). پیامد برهم کنش سه‌گانه پسماند در باکتری در زمان نیز بر Cmic معنی دار شد ( $P < 0/05$ ). اما از بین فاکتورها و تیمارها تنها پیامد باکتری بر  $qCO_2$  معنی دار بود ( $P < 0/01$ ).

جدول ۱- تجزیه واریانس پیامد سطوح پسماند، باکتری و زمان انکوباسیون بر ویژگی‌های زیستی و شاخص‌های اکوفیزیولوژیک خاک.

**Table 1. Analysis of variance for soil biological characteristics and ecophysiological indices affected by waste, bacteria and incubation time.**

میانگین مربع‌ها Mean squares						درجه آزادی Degree of freedom	منابع تغییرات Sources of variations
قابلیت دسترسی به کربن CAI	سهم کربن میکروبی Cmic	سهم متابولیک $qCO_2$	کربن زیست‌توده میکروبی MBC	تنفس برانگیخته شده با سوبسترا SIR	تنفس پایه BR		
0.012**	1027**	39.0 <sup>ns</sup>	0.055**	148**	3.05**	2	پسماند Waste
0.011**	257**	474**	0.048**	138**	2.44**	4	باکتری Bacteria
0.006**	4.35 <sup>ns</sup>	54.8 <sup>ns</sup>	0.004 <sup>ns</sup>	269**	0.413**	6	زمان Time
0.003**	69.2**	95.4 <sup>ns</sup>	0.012**	24.7**	0.066**	8	پسماند × باکتری Waste × Bacteria
0.001**	13.5 <sup>ns</sup>	47.1 <sup>ns</sup>	0.002 <sup>ns</sup>	15.8**	0.138**	12	پسماند × زمان Waste × Time
0.004**	28.2**	67.7 <sup>ns</sup>	0.005**	86.3**	0.100**	24	باکتری × زمان Bacteria × Time
0.002**	19.1*	51.8 <sup>ns</sup>	0.002 <sup>ns</sup>	15.5**	0.064**	48	پسماند × باکتری × زمان Waste × Bacteria × Time
0.0004	12.6	50.1	0.002	4.89	0.007	210	خطا Error

اعداد نشان‌دار شده با \* و \*\* به ترتیب در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد معنی دار هستند و <sup>ns</sup> بیانگر معنی دار نبودن در سطح احتمال ۵ درصد است. Values marked by \* and \*\* are significant at 5% and 1% probability levels, respectively, and values marked by <sup>ns</sup>, are not significant at 5% probability level.

سودوموناس فلورسنس به دست آمد که با دیگر تیمارها تفاوت آماری معنی دار داشت ( $P < 0/05$ ). کم‌ترین اندازه BR هم در تیمار بدون پسماند مایه‌زنی شده با باسیلوس پرسیکوس به دست آمد که تفاوت آماری معنی دار با همین خاک (صفر درصد پسماند)

مقایسه میانگین‌های ویژگی‌های زیستی: در جدول ۲ نتایج مقایسه میانگین‌های ویژگی‌های زیستی تحت تأثیر برهم کنش پسماند در باکتری مایه‌زنی شده به خاک آورده شده است. بالاترین اندازه BR در تیمار پسماند چهار درصد مایه‌زنی شده با باکتری

این ویژگی بیش‌تر تحت‌تأثیر جامعه زیستی دارای کربن زیست‌توده بالا یعنی قارچ‌ها خواهد بود. البته روشن است که بودن سویسترای آلی (مانند پسماند) در بالارفتن آن تأثیر زیادی دارد که در پژوهش دیگر هم اشاره شده است (۱۷). بر این اساس، بالاترین اندازه MBC در تیمار ۴ درصد پسماند مایه‌زنی نشده با باکتری‌ها به‌دست آمد که تفاوت آماری معنی‌دار با تیمار دو درصد پسماند مایه‌زنی نشده نداشت ( $P > 0/05$ ) (جدول ۲). گارسیا و همکاران (۲۰۰۰) نیز بیش‌ترین اندازه MBC را در تیمار برهم‌کنش پسماند آلی فاضلاب شهری و قارچ مایکوریزا مشاهده کردند (۱۸). کم‌ترین اندازه MBC هم در تیمار بدون پسماند مایه‌زنی شده با باسیلوس پرسیکوس به‌دست آمد که با بسیاری از تیمارها تفاوت آماری معنی‌دار نداشت ( $P > 0/05$ ). بنابراین دوباره سرعت رشد کم یا توانمند نبودن این سویه از باسیلوس (بی‌پرسیکوس) در کاربرد سویسترای آلی در مقایسه با سایر باکتری‌های مایه‌زنی شده تأیید می‌شود. اما این‌که چرا در خاک‌ها پس از مایه‌زنی با باکتری‌ها، MBC (در مقایسه با خاک‌های مایه‌زنی نشده) بالاتر نرفته یا در واقع از فعالیت جامعه زیستی بومی خاک پس از ورود باکتری‌ها کم شده است، شاید به دلیل اثر بازدارندگی ناشی از رقابت باکتری‌های مایه‌زنی شده باشد (۲۳). این امر به‌ویژه در غلظت‌های بالاتر سویسترا (پسماند ۴ درصد در مقایسه با ۲ درصد) و خاک‌های مایه‌زنی شده با باسیلوس‌ها بیش‌تر نمایان است (جدول ۲).

مایه‌زنی نشده با باکتری باسیلوس بومی نداشت ( $P > 0/05$ ). عمده دلیل بالارفتن BR افزودن پسماند به خاک است و به‌نظر می‌رسد باکتری‌های سودوموناس در تجزیه پسماند از باسیلوس‌ها کارآمدتر بوده‌اند چراکه در هر سطح پسماند، BR به‌دست آمده در خاک‌های مایه‌زنی شده با باسیلوس‌ها کم‌تر از خاک‌های مایه‌زنی شده با سودوموناس‌هاست.

ویژگی تنفس برانگیخته شده با سویسترا در واقع پتانسیل تجزیه و استفاده از سویسترا توسط جامعه زیستی یا باکتری‌های مایه‌زنی شده به خاک را نشان می‌دهد. بنابراین سطوح پسماند از نظر تامین ماده آلی در این ویژگی تأثیر کم‌تری داشته است اگرچه می‌توانسته عناصر تغذیه‌ای را برای ریزجانداران فراهم کند. با این حال، بالاترین اندازه SIR در تیمار دارای پسماند ۴ درصد مایه‌زنی شده با سودوموناس بومی به‌دست آمد که البته تفاوت آماری معنی‌دار با تیمار ۴ درصد پسماند مایه‌زنی نشده با باکتری‌ها نداشت ( $P > 0/05$ ) (جدول ۲). کم‌ترین اندازه SIR هم در تیمار بدون پسماند مایه‌زنی شده با باسیلوس پرسیکوس به‌دست آمد که البته تفاوت آماری معنی‌دار با همین خاک (صفر درصد پسماند) مایه‌زنی شده با باسیلوس بومی نداشت ( $P > 0/05$ ).

ویژگی بعدی یعنی MBC بیش‌تر نمایانگر توان ساخت کربن زیستی از مواد آلی خاک توسط جامعه زیستی و باکتری‌های مایه‌زنی شده به خاک است و چون آزمایش در شرایط ناسترون انجام شده است،

جدول ۲- مقایسه میانگین‌های SIR، BR، و MBC تحت تأثیر برهم‌کنش پسماند در باکتری مایه‌زنی شده به خاک.

Table 2. Mean comparisons for the effect of waste and bacteria interactions on the BR, SIR and MBC.

کربن زیست‌توده MBC میکروبی	تنفس برانگیخته شده با سوبسترا SIR	تنفس پایه BR	باکتری Bacteria	پسماند Waste
mg Cmic. g <sup>-1</sup> dry soil	mg CO <sub>2</sub> .100g <sup>-1</sup> dry soil . d <sup>-1</sup>			
0.072 <sup>de</sup> (±0.033)	10.6 <sup>de</sup> (±3.41)	0.550 <sup>def</sup> (±0.091)	مایه‌زنی نشده (Uninoculated)	
0.075 <sup>cde</sup> (±0.042)	12.9 <sup>bc</sup> (±5.16)	0.591 <sup>de</sup> (±0.126)	سودوموناس بومی (Native <i>Pseudomonas</i> )	
0.083 <sup>cde</sup> (±0.049)	12.3 <sup>bcd</sup> (±4.56)	0.562 <sup>def</sup> (±0.120)	سودوموناس فلورسنس ( <i>Pseudomonas fluorescens</i> )	صفر درصد (0%)
0.088 <sup>cde</sup> (±0.038)	9.67 <sup>ef</sup> (±3.82)	0.258 <sup>h</sup> (±0.128)	باسیلوس بومی (Native <i>Bacillus</i> )	
0.053 <sup>e</sup> (±0.027)	7.52 <sup>f</sup> (±4.84)	0.226 <sup>h</sup> (±0.095)	باسیلوس پرسیکوس ( <i>Bacillus persicus</i> )	
0.164 <sup>ab</sup> (±0.061)	12.7 <sup>bcd</sup> (±4.06)	0.595 <sup>de</sup> (±0.170)	مایه‌زنی نشده (Uninoculated)	
0.080 <sup>cde</sup> (±0.038)	11.7 <sup>bc</sup> (±3.44)	0.628 <sup>d</sup> (±0.216)	سودوموناس بومی (Native <i>Pseudomonas</i> )	
0.097 <sup>cde</sup> (±0.047)	12.9 <sup>bc</sup> (±2.94)	0.718 <sup>c</sup> (±0.168)	سودوموناس فلورسنس ( <i>Pseudomonas fluorescens</i> )	۲ درصد (2%)
0.084 <sup>cde</sup> (±0.050)	10.5 <sup>de</sup> (±6.22)	0.348 <sup>e</sup> (±0.113)	باسیلوس بومی (Native <i>Bacillus</i> )	
0.067 <sup>de</sup> (±0.036)	10.8 <sup>cde</sup> (±5.01)	0.364 <sup>e</sup> (±0.156)	باسیلوس پرسیکوس ( <i>Bacillus persicus</i> )	
0.188 <sup>a</sup> (±0.063)	13.7 <sup>ab</sup> (±4.03)	0.858 <sup>b</sup> (±0.271)	مایه‌زنی نشده (Uninoculated)	
0.124 <sup>bc</sup> (±0.079)	15.6 <sup>a</sup> (±3.44)	0.938 <sup>b</sup> (±0.269)	سودوموناس بومی (Native <i>Pseudomonas</i> )	
0.116 <sup>bcd</sup> (±0.065)	12.6 <sup>bcd</sup> (±4.61)	1.04 <sup>a</sup> (±0.289)	سودوموناس فلورسنس ( <i>Pseudomonas fluorescens</i> )	۴ درصد (4%)
0.094 <sup>cde</sup> (±0.045)	12.0 <sup>bcd</sup> (±3.70)	0.531 <sup>ef</sup> (±0.252)	باسیلوس بومی (Native <i>Bacillus</i> )	
0.077 <sup>cde</sup> (±0.044)	10.9 <sup>cde</sup> (±4.64)	0.474 <sup>f</sup> (±0.237)	باسیلوس پرسیکوس ( <i>Bacillus persicus</i> )	

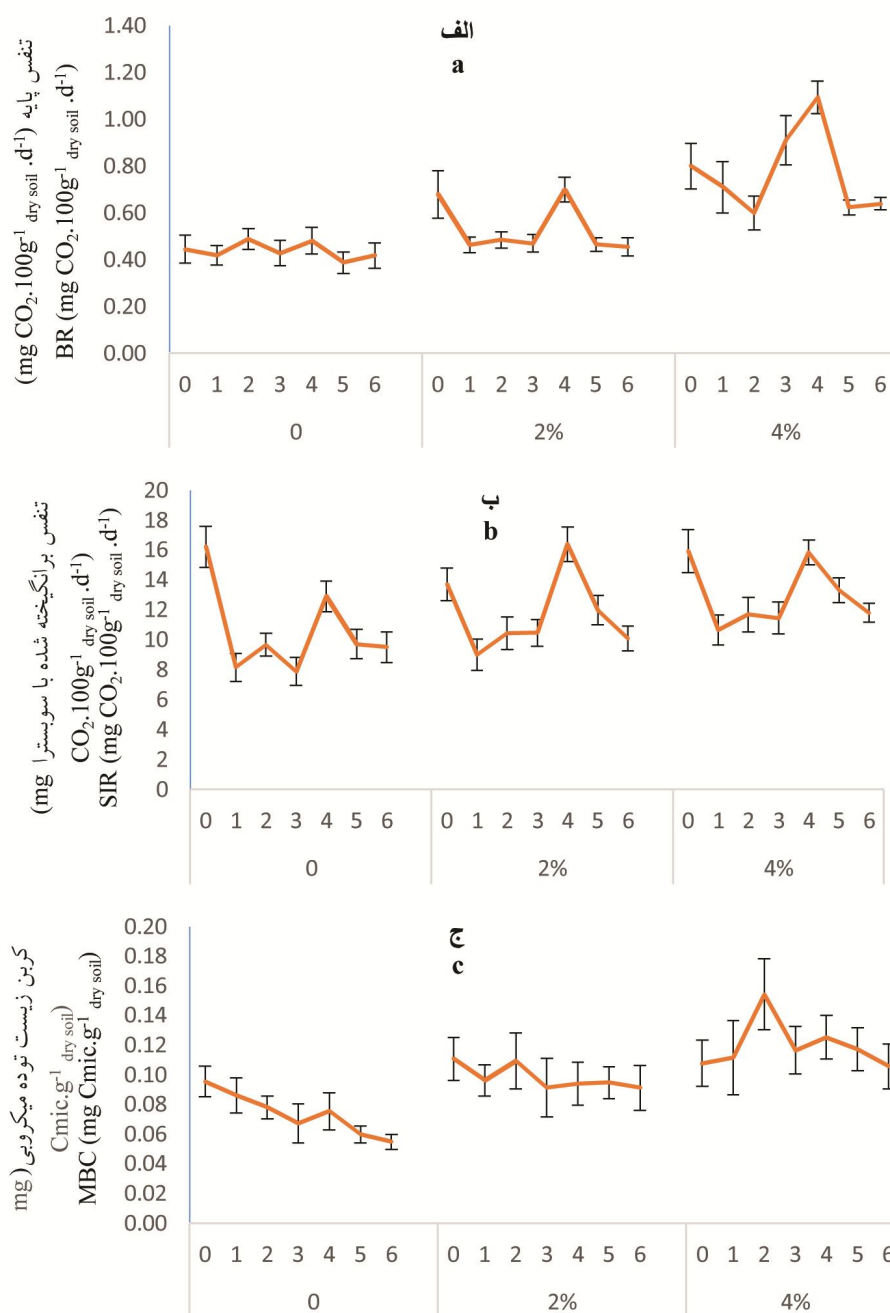
حروف متفاوت در روی اعداد برای هر پارامتر، نشان‌دهنده بودن تفاوت آماری معنی‌دار در سطح ۰.۰۵٪ است. اعداد درون پرانتز انحراف معیار می‌باشند (n=3).

Different letters above means in each column indicate significant differences at P<0.05 for each parameter. Figures in parenthesis denote standard deviation (n=3).

به‌تدریج در تیمار دارای پسماند دو درصد در طول ماه اول و در تیمار دارای پسماند ۴ درصد در طول دو ماه رخ داده است. و سوم؛ دوره مرگ و میر جمعیت میکروبی که احتمالاً در پاسخ به مواد ساده تجزیه‌شونده تعداد آن‌ها افزایش یافته بود خود به‌عنوان سوبسترا عمل نموده و BR را بالا برده است. این دوره در هر دو تیمار دارای پسماند در ماه چهارم انکوباسیون به اوج رسیده است. پس از آن هم احتمالاً روند تغییرات BR تحت تأثیر مواد سخت تجزیه‌شونده پسماند بوده است (شکل ۱- الف).

بررسی روند تغییرات ویژگی‌های زیستی: در شکل ۱ روند تغییرات ویژگی‌های زیستی در طول زمان در تیمارهای دارای پسماند (برهم‌کنش پسماند در زمان) نشان داده شده است. پس از افزودن پسماند به خاک دیده می‌شود که BR روند کاهشی داشته، سپس افزایش یافته (تا ماه چهارم انکوباسیون) و دوباره کاهش یافته است (شکل ۱- الف). بنابراین، سه دوره در نوسان BR را می‌شود شناسایی کرد: نخست؛ بهینه شدن شرایط انکوباسیون (بهبود دما و رطوبت) که در روز آغازین سبب بالا رفتن BR شده است. دوم؛ مصرف شدن مواد ساده تجزیه‌شونده پسماند که





شکل ۱- روند تغییرات ویژگی‌های زیستی خاک شامل تنفس پایه (BR) (الف)، برانگیخته شده با سوبستر (SIR) (ب) و کربن زیست‌توده میکروبی (MBC) (ج) در طول زمان در تیمارهای دارای پسماند (برهم‌کنش پسماند × زمان انکوباسیون). نوارها، خطای استاندارد می‌باشند (n=3).

Figure 1. Soil biological characteristics including basal respiration (BR) (a), substrate induced respiration (SIR) (b), and microbial biomass carbon (MBC) (c) trends over time as influenced by waste (waste × incubation time interactions). Bars are standard error (n=3).

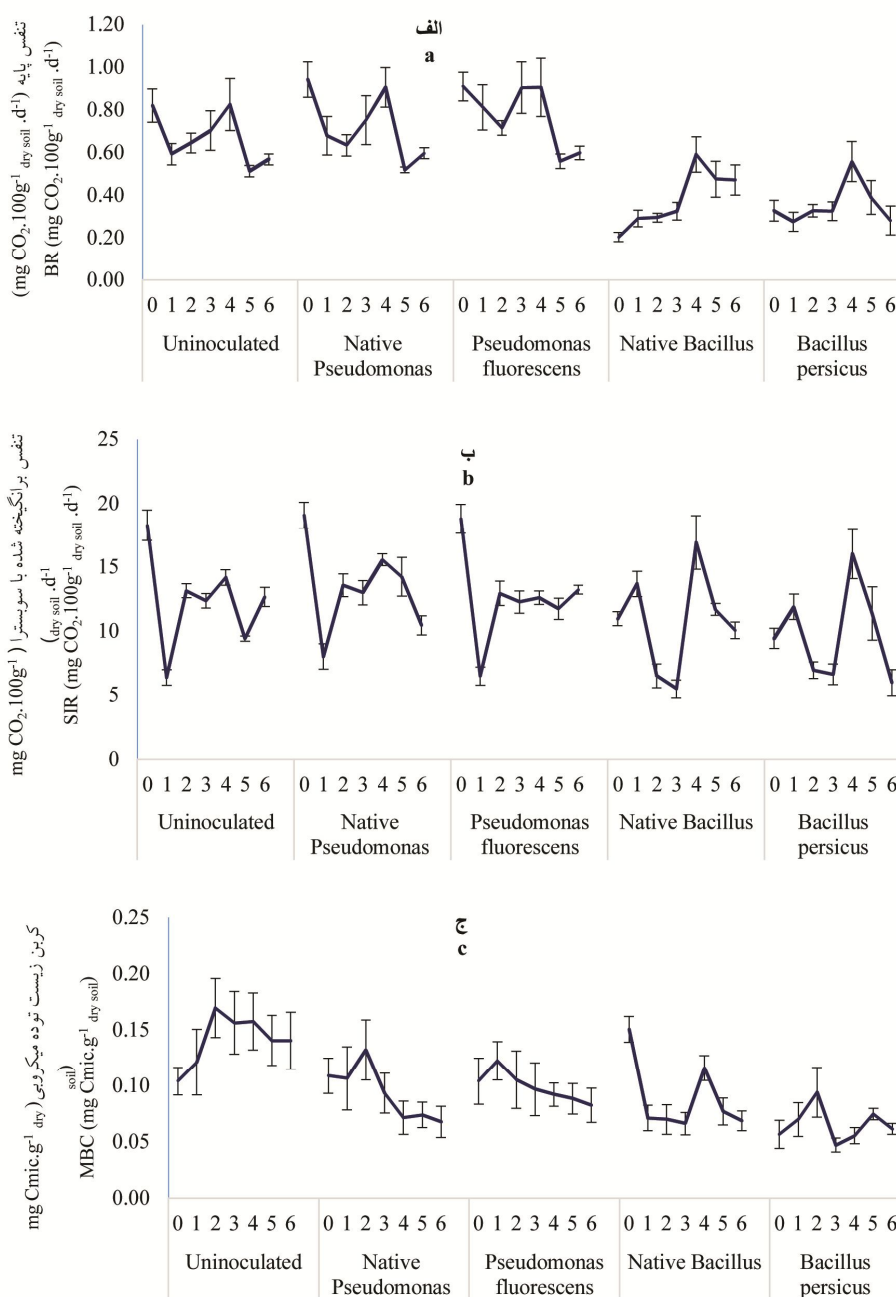
۲-الف) که نشان می‌دهد سودوموناس‌ها در تجزیه بقایای آلی کارآمدتر از باسیلوس‌ها هستند. اما به‌طور کلی روند تغییرات BR با زمان در تیمار مایه‌زنی شده با باسیلوس پرسیکوس افزایشی بوده است و به‌نظر می‌رسد این باکتری با گذشت زمان توانسته در محیط (خاک دارای پسماند) سازگار شود.

زمانی که به همین تیمارها سویسترای ساده تجزیه شونده اضافه شده است (آزمایش SIR)، همه تیمارها دامنه تغییرات SIR نزدیک به هم نشان دادند (شکل ۲-ب). روند تغییرات MBC با زمان تنها در خاک مایه‌زنی نشده افزایشی بوده است و در تیمارهای مایه‌زنی شده با باکتری‌ها، کرین زیست‌توده در طول زمان کاهش یافته و در پایان ماه ششم کم‌تر از روز نخست بوده است (شکل ۲-ج). این پژوهش در شرایط ناسترون انجام شده و پیش‌بینی می‌شد که مایه‌زنی باکتری‌ها از راه هم‌افزایی با ریزجانداران خاک ضمن بالا بردن نرخ تجزیه پسماند، سبب افزایش MBC هم بشود. اما به‌نظر می‌رسد این باکتری‌ها با مستقر شدن در خاک به‌نحوی از فعالیت سایر ریزجانداران (به‌ویژه قارچ‌ها که سهم زیادی در MBC دارند) جلوگیری نموده‌اند و اگرچه توانسته‌اند پسماند را تجزیه کنند اما MBC در تیمارهای دارای آن‌ها در مقایسه با تیمار مایه‌زنی نشده افزایش پیدا نکرده است.

تغییرات SIR با زمان در هر سه خاک تقریباً از روند یکسانی پیروی کرده است و با افزایش درصد پسماند در هر روز نمونه‌برداری مانند، افزایش جزئی داشته است (شکل ۱-ب). بالا بودن این پارامتر در روز صفر نیز به بهینه شدن شرایط در آزمایشگاه در مقایسه با زیستگاه اصلی خاک نسبت داده می‌شود.

تغییرات MBC با زمان به خوبی پیامد افزوده شدن سویسترا به خاک را نشان می‌دهد به طوری که در خاک بدون پسماند با گذشت زمان انکوباسیون کرین زیست‌توده میکروبی به‌صورت خطی کاهش یافته است (شکل ۱-ج). در خاک دارای ۲ درصد پسماند تا ماه سوم نوسان در MBC دیده می‌شود اما پس از آن روند تقریباً ثابت است و البته روند کلی نیز کاهشی است. اما در خاک دارای ۴ درصد پسماند MBC تا ماه دوم افزایش چشم‌گیر پیدا کرده است و پس از آن نیز کاهش یافته است اما در کل روند MBC با زمان در این تیمار افزایشی است (شکل ۱-ج).

روند تغییرات ویژگی‌های زیستی در طول زمان در تیمارهای مایه‌زنی شده با باکتری‌ها (برهم‌کنش باکتری در زمان) در شکل ۲ نشان داده شده است. مایه‌زنی خاک با سودوموناس‌ها سبب افزایش BR و مایه‌زنی با باسیلوس‌ها سبب کاهش آن شده است (شکل



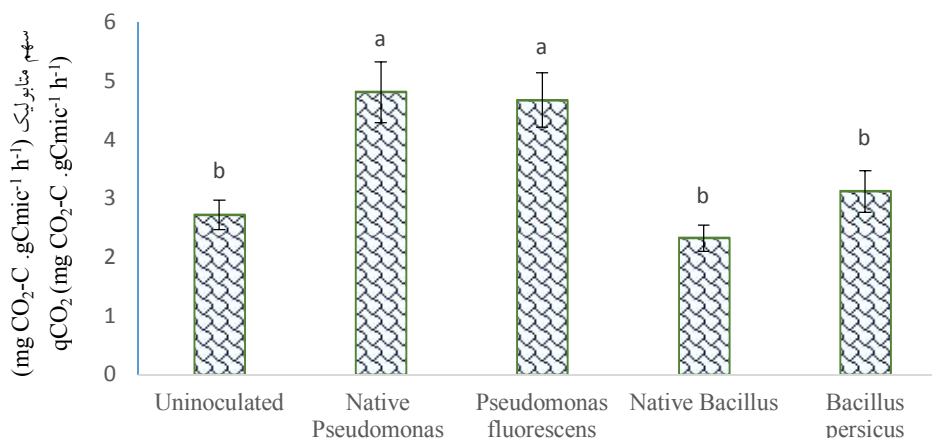
شکل ۲- روند تغییرات ویژگی‌های زیستی خاک شامل تنفس پایه (BR) (الف)، برانگیخته شده با سوبستر (SIR) (ب) و کربن زیست‌توده میکروبی (MBC) (ج) در طول زمان در تیمارهای مایه‌زنی شده با باکتری‌ها (برهم‌کنش باکتری × زمان انکوباسیون). نوارها، خطای استاندارد می‌باشند (n=3).

**Figure 2. Soil biological characteristics including basal respiration (BR) (a), substrate induced respiration (SIR) (b), and microbial biomass carbon (MBC) (c) trends over time as influenced by inoculated bacteria (bacteria × incubation time interactions). Bars are standard error (n=3).**

مقایسه میانگین‌های شاخص‌های فیزیولوژیک

سهم متابولیک: مقایسه میانگین‌های شاخص سهم متابولیک خاک تحت تأثیر باکتری‌های مایه‌زنی شده در شکل ۳ نشان داده شده است. بالاترین اندازه سهم متابولیک در تیمار مایه‌زنی شده با باکتری سودوموناس بومی به‌دست آمد که تفاوت آن با تیمار مایه‌زنی شده

با سودوموناس فلورسنس معنی‌دار نبود ( $P > 0.05$ ). کم‌ترین اندازه این شاخص نیز در تیمار مایه‌زنی شده با باسیلوس بومی به‌دست آمد که تفاوت آن با تیمارهای مایه‌زنی شده با باسیلوس پرسیکوس و تیمار مایه‌زنی نشده معنی‌دار نبود ( $P > 0.05$ ).



شکل ۳- مقایسه میانگین‌های شاخص سهم متابولیک ( $qCO_2$ ) خاک تحت تأثیر باکتری‌های مایه‌زنی شده. حروف متفاوت در روی ستون‌ها نشان‌دهنده بودن تفاوت آماری معنی‌دار در سطح ۵٪ است. نوارها، خطای استاندارد می‌باشند ( $n=3$ ).

**Figure 3.** Mean comparisons of soil metabolic quotient index ( $qCO_2$ ) as affected by inoculated bacteria. Different letters on columns indicate significant differences at  $P < 0.05$ , and bars are standard error ( $n=3$ ).

فلزهای سنگین در خاک دارد. ضمن این‌که بالا رفتن شدید  $qCO_2$  می‌تواند نشان از ناپایداری اکوسیستم و تغییر ترکیب جامعه میکروبی یا همان نسبت زیست‌توده قارچ‌ها به باکتری‌ها در خاک باشد (۷ و ۲۵). این پژوهش در شرایط آزمایشگاهی انجام شده و فاکتورهایی مانند دما و رطوبت بهینه بوده است. هم‌چنین پسماند از نظر غلظت عناصر سنگین محدودیتی برای کاربرد نداشت. بنابراین  $qCO_2$  تحت تأثیر پسماند یا سوبسترای ماده آلی و همین‌طور باکتری‌های مایه‌زنی شده برای تجزیه پسماند به خاک بوده است و به‌عنوان شاخصی از ناپایداری در اکوسیستم (خاک مورد آزمایش) مقدار آن افزایش یافته است. یافته‌های این پژوهش با نتایج فرناندز و همکاران (۲۰۰۵) که لجن فاضلاب را به‌عنوان سوبسترای آلی به خاک افزوده

شاخص سهم متابولیک ( $qCO_2$ ) نسبت تنفس پایه میکروبی به کربن زیست‌توده میکروبی خاک است و یکی از مهم‌ترین شاخص‌های کیفیت خاک می‌باشد (۲۱). تغییرات این شاخص به تغییرات ترکیب جمعیتی یا به تغییرات سوبسترا (بخش غیرقابل تجزیه‌شونده آن) و یا هر دو بستگی دارد (۴۰). چاندینی و دنیس (۲۰۰۲) گزارش کردند که کاربرد زیاد کودهای شیمیایی در خاک، با کم کردن فعالیت میکروبی سبب کاهش قابل‌توجه در تنفس میکروبی و بنابراین شاخص سهم متابولیک ( $qCO_2$ ) می‌شود (۱۲). گزارش شده است که در خاک‌های با pH خنثی میزان سهم متابولیک بین ۰/۵-۲  $mgCO_2-C \cdot g^{-1}C_{mic} \cdot h^{-1}$  است و مقادیر بیش‌تر از دو نشان از تنش‌های محیطی مانند pH و دمای نامناسب و زیاد بودن غلظت

تیمار خاک‌های دارای صفر و ۲ درصد پسماند مایه‌زنی شده با همین باکتری و هم‌چنین تیمار خاک دارای ۲ درصد پسماند مایه‌زنی شده با سودوموناس‌ها و خاک دارای پسماند ۴ درصد مایه‌زنی شده با *باسیلوس بومی* و سودوموناس فلورسنس تفاوت آماری معنی‌دار نداشت ( $P > 0/05$ ). بنابراین به‌نظر می‌رسد کم بودن سهم کربن میکروبی نخست به سطح پسماند و سپس به خود باکتری *باسیلوس پرسیکوس* بستگی داشته باشد. به‌طورکلی، میانگین کربن میکروبی با افزودن ۲ درصد پسماند به خاک حدود ۵۰ درصد کاهش پیدا کرده است در حالی‌که با زیاد شدن پسماند از ۲ به ۴ درصد، تنها ۶ درصد افت کرده است. پیش‌بینی می‌شود که با زیاد شدن سطح پسماند (بقایا) در خاک، کربن آلی خاک نیز افزایش پیدا کند. اما این امر به نوع بقایا (سوبسترا)، شرایط تغذیه‌ای خاک و توان ریزجانداران هتروتروف خاک (باکتری‌های مایه‌زنی شده) در تبدیل بقایا به کربن آلی خاک هم وابسته است. درباره توانایی بهره‌گیری از سوبسترا توسط باکتری‌های مایه‌زنی شده پیش‌تر بحث شد اما به‌نظر می‌رسد باکتری *باسیلوس پرسیکوس* به‌عنوان باکتری آب‌زی نتوانسته در محیط جدید به خوبی رشد کند و سهم کربن میکروبی کم‌تری حتی در خاک بدون پسماند نیز داشته است. این سویه یک باکتری هوازی، میانه‌دوست از نظر دمایی و نمک‌دوست است که از خاک پیرامون دریاچه نمک جداسازی شده است (۱۵) و با این فرض که پسماند ممکن است محتوای نمک بالایی داشته باشد، به خاک مایه‌زنی شد.

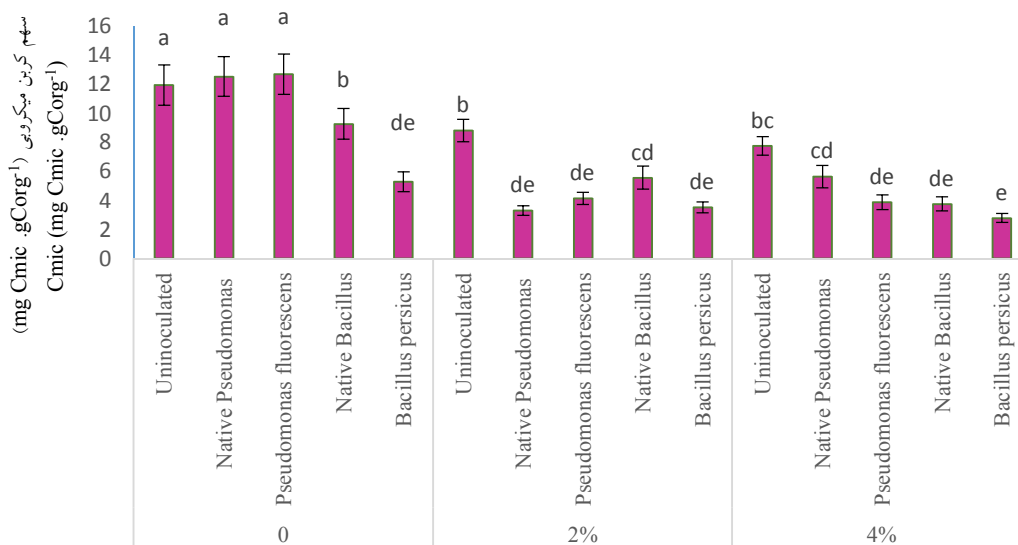
از آن‌جا که آزمایش در شرایط ناسترون انجام شده، روشن نیست چرا در خاک‌های دارای پسماند مایه‌زنی شده با باکتری‌ها، کربن میکروبی بیش‌تر از خاک‌های مانند مایه‌زنی نشده با باکتری‌ها نشده است چرا که انتظار می‌رفت باکتری‌های مایه‌زنی شده با جامعه زیستی ساکن در خاک در تجزیه پسماند هم‌افزایی داشته باشند و کربن میکروبی خود را افزایش دهند. دلیل این امر هم می‌تواند کم‌توانی

بودند، مطابقت دارد (۱۷). گارسیا و همکاران (۲۰۰۰) پس از افزودن پسماند جامد فاضلاب شهری و مایه‌زنی قارچ‌های میکوریزی به یک خاک منطقه خشک و نیمه خشک دریافتند که با گذشت زمان ماده آلی پایدارتر شد، اکوسیستم به بلوغ رسید و  $qCO_2$  کاهش یافت. به‌طوری‌که اندازه آن از خاک شاهد (بدون پسماند) هم کم‌تر شد (۱۸). اگرچه  $qCO_2$  به‌عنوان شاخص تنش محیطی مؤثر بر فعالیت زیستی ارزیابی می‌شود اما به عنوان شاخصی از کارآمدی میکروبی<sup>۱</sup> هم تفسیر می‌شود چراکه سنجه‌ای از انرژی مورد نیاز برای حفظ فعالیت متابولیک در برابر انرژی لازم برای ساخت زیست‌توده نیز می‌باشد (۱۰). بنابراین بالاتر بودن  $qCO_2$  نشان‌دهنده بالا بودن فعالیت میکروبی است. با توجه به سرعت رشد بالاتر، باکتری‌های سودوموناس در مقایسه با *باسیلوس*‌ها در تجزیه پسماند و رهاسازی کربن آن به شکل  $CO_2$  توانمندتر بوده و  $qCO_2$  بالاتری داشته‌اند. الگوی رشد و استفاده از سوبسترا به‌ویژه سوبستراهای هیدروکربنی که آب‌گریز هستند (همانند پسماند دارای چربی در این پژوهش)، توسط باکتری‌های *باسیلوس* و سودوموناس در پژوهش‌های زیادی (۴۲ و ۱۳) مورد مقایسه قرار گرفته است و دیده شده که سودوموناس‌ها با راه‌کارهایی مانند تولید بیوفیلم و بیوسورفکتانت در مقایسه با *باسیلوس*‌ها کارآمدتر هستند.

**سهم کربن میکروبی:** در شکل ۴ مقایسه میانگین‌های شاخص کربن میکروبی خاک تحت تأثیر برهم‌کنش سطوح مختلف پسماند جامد در باکتری مایه‌زنی شده آورده شده است. بالاترین اندازه کربن میکروبی در خاک بدون پسماند مایه‌زنی شده با باکتری سودوموناس فلورسنس به‌دست آمد و تفاوت آن با خاک بدون پسماند مایه‌زنی نشده و مایه‌زنی شده با سودوموناس بومی معنی‌دار نبود ( $P > 0/05$ ). کم‌ترین مقدار این پارامتر نیز در خاک دارای ۴ درصد پسماند مایه‌زنی شده با *باسیلوس پرسیکوس* به‌دست آمد که با

تحت تأثیر قرار می‌دهند. تراش مواد ضد میکروبی توسط باکتری‌های مفید افزایش رشد گیاهان مانند باسیلوس‌ها و سودوموناس‌ها گزارش شده است (۲۳ و ۱۳). ضمن این‌که، باکتری‌ها با تولید سیدروفور هم سبب جلوگیری از رشد قارچ‌ها می‌شوند که گفته شده این سازوکار در بازداری رشد قارچ از تولید آنتی‌بیوتیک هم نیرومندتر است (۱۱). از سوی دیگر، با توجه به این‌که با دو برابر شدن سطح پسماند (از ۲ به ۴ درصد)، کربن زیست‌توده در تیمارهای مایه‌زنی نشده به اندازه تیمارهای مایه‌زنی نشده افزایش پیدا نکرده است (جدول ۲)، احتمالاً کم‌توانی ریزجانداران بومی خاک در تجزیه پسماند (به‌ویژه در سطوح بالاتر) نیز در تحلیل این چرایی نقش داشته باشد. به هر روی، در این زمینه به بررسی‌های بیشتر نیاز است.

ریزجانداران بومی خاک (عمدتاً قارچ‌ها) در استفاده از سویسترای افزوده شده به خاک (پسماند) باشد و هم آریب‌شدن جمعیت میکروبی خاک به سمت باکتری‌های مایه‌زنی شده پس از ورود آن‌ها به خاک. از آن‌جا که کربن زیست‌توده در این تیمارها (۲ و ۴ درصد پسماند مایه‌زنی نشده) در مقایسه با خاک‌های دارای پسماند مایه‌زنی شده با باکتری‌ها بیش‌تر است (جدول ۲)، احتمالاً ریزجانداران بومی خاک می‌توانسته‌اند از پسماند استفاده کنند. بنابراین با وارد شدن باکتری‌ها به محیط خاک از فعالیت آن‌ها کاسته شده است و احتمالاً باکتری‌های مایه‌زنی شده در این زمینه نقش داشته‌اند. برخی باکتری‌ها با تراش مواد ضد میکروبی در زیستگاه خود دامنه فعالیت دیگر موجودات به‌ویژه قارچ‌ها که تجزیه‌کنندگان کارآمدی هستند را



شکل ۴- مقایسه میانگین‌های شاخص سهم کربن میکروبی (Cmic) خاک تحت تأثیر برهم‌کنش سطوح مختلف پسماند جامد در باکتری مایه‌زنی شده. حروف متفاوت در روی ستون‌ها نشان‌دهنده بودن تفاوت آماری معنی‌دار در سطح ۵٪ است. نوارها، خطای استاندارد می‌باشند (n=3).

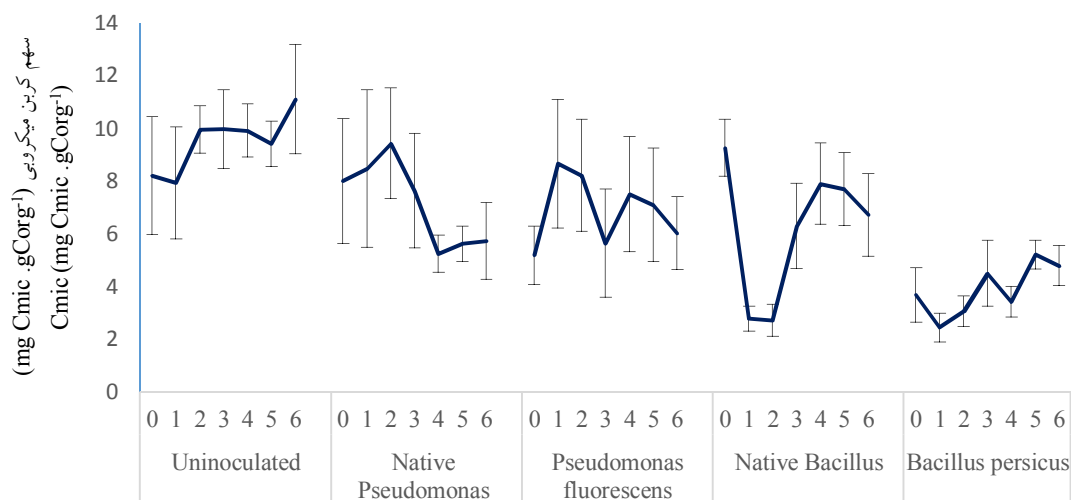
Figure 4. Mean comparisons of soil microbial carbon index (Cmic) as affected by solid waste and inoculated bacteria interactions. Different letters on columns indicate significant differences at  $P < 0.05$ , and bars are standard error (n=3).

در خاک‌های مایه‌زنی شده با باسیلوس‌ها و هم‌چنین خاک‌های مایه‌زنی نشده با باکتری‌ها روند افزایشی داشت. به‌طوری‌که بالاترین شیب این روند افزایشی

در شکل ۵ روند تغییرات سهم کربن میکروبی با زمان در تیمارهای مایه‌زنی شده با باکتری‌ها آمده است. در طول ۶ ماه انکوباسیون اندازه کربن میکروبی

(۵). با افزایش درصد پسماند و گذشت زمان، اندازه آن در خاکها کم می‌شود (۵) و روند کاهش به نوع پسماند و جامعه زیستی تجزیه‌کننده آن بستگی دارد. احتمالاً باسیلوسها با گذشت زمان توانسته‌اند در خاک چیره شده و از ترکیب‌های سخت تجزیه‌شونده پسماند استفاده نمایند و به همین دلیل شیب شاخص سهم کربن میکروبی با زمان در تیمارهای دارای آنها افزایشی بوده است.

در خاک‌های مایه‌زنی نشده با باکتری‌ها (+۰/۴۲) و کم‌ترین آن در خاک‌های مایه‌زنی شده با باسیلوس بومی (+۰/۲۶) به دست آمد. روند تغییرات سهم کربن میکروبی در خاک‌های مایه‌زنی شده با سودوموناس‌ها روند کاهشی داشت و بیش‌ترین شیب روند کاهشی در خاک‌های مایه‌زنی شده با سودوموناس بومی (-۰/۶۰) به دست آمد (جدول ۳). دامنه کربن میکروبی در خاک‌ها ۱ تا ۴ درصد کربن آلی گزارش شده است



شکل ۵- روند تغییرات شاخص سهم کربن میکروبی (Cmic) خاک در طول زمان در تیمارهای مایه‌زنی شده با باکتری‌ها (برهم‌کنش باکتری × زمان انکوباسیون). نوارها، خطای استاندارد می‌باشند (n=3).

Figure 5. Soil microbial carbon index (Cmic) trends over time as influenced by inoculated bacteria (bacteria × incubation time interactions). Bars are standard error (n=3).

جدول ۳- ضریب تابعیت (شیب) و تبیین ( $R^2$ ) معادله خط برازش داده شده بر روند سهم کربن میکروبی خاک با زمان در تیمارهای مختلف.

Table 3. Dependency (Slope) and determination coefficient ( $R^2$ ) of the fitted linear equation on soil microbial carbon trends over time in different treatments.

$R^2$	شیب (Slope)	تیمار (Treatment)
0.66**	0.42**	مایه‌زنی نشده (Uninoculated)
0.63**	-0.60**	سودوموناس بومی (Native Pseudomonas)
0.01 <sup>ns</sup>	-0.05 <sup>ns</sup>	سودوموناس فلورسینس ( <i>Pseudomonas fluorescens</i> )
0.05 <sup>ns</sup>	0.26*	باسیلوس بومی (Native Bacillus)
0.51**	0.33*	باسیلوس پرسیکوس ( <i>Bacillus persicus</i> )

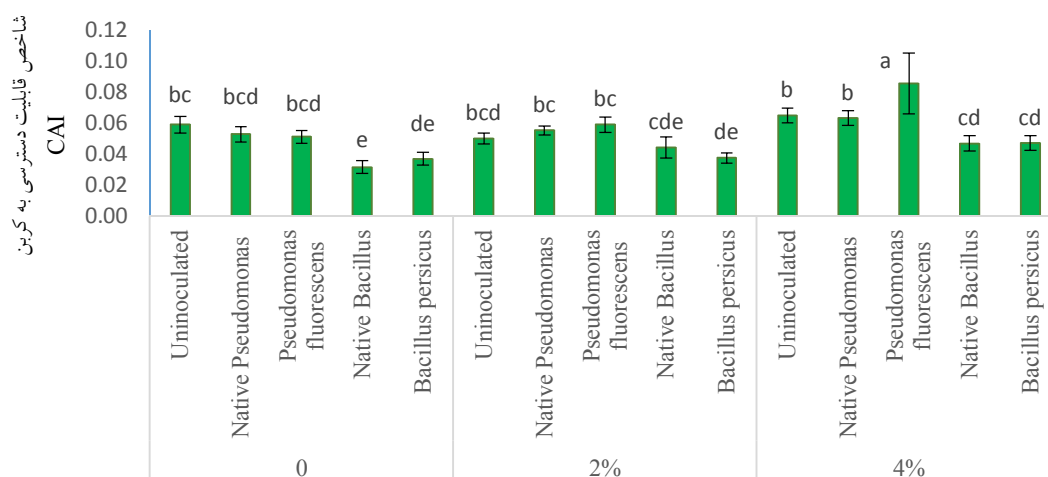
# اعداد نشان‌دار شده با \* و \*\* به ترتیب در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد معنی‌دار هستند و <sup>ns</sup> بیانگر معنی‌دار نبودن در سطح احتمال ۵ درصد است.  
 Values marked by \* and \*\* are significant at 5% and 1% probability levels, respectively, and values marked by <sup>ns</sup>, are not significant at 5% probability level.

نسبت کربن زیست توده میکروبی به کربن آلی خاک (Cmic) شاخص مناسبی از وضعیت توزیع کربن فعال خاک بین بخش زنده و غیرزنده است و کیفیت کربن خاک را بیان می کند. از روی نسبت کربن میکروبی می توان دینامیک کربن در خاک را بررسی کرد (۵). موسکاتلی و همکاران (۲۰۰۷) بیان کردند که تغییرات سهم کربن میکروبی تابعی از زمان بوده و تحت تأثیر کربن زیست توده خاک می باشد (۲۷). نسبت های بالاتر این شاخص نشانگر انباشت بیش تر کربن در زیست توده میکروبی خاک است و نسبت های پایین بیانگر بیش تر بودن انباشت کربن آلی در خاک است. بنابراین به نظر می رسد در دو ماه نخست نمونه برداری، در مجموع در همه خاک هایی که پسماند دریافت کرده و نکرده اند، سودوموناس بومی مایه زنی شده توانسته به خوبی در زیستگاه مستقر و رشد نماید و یا این که تأثیر کمتری بر جامعه میکروبی خاک داشته باشد. برخی پژوهشگران گزارش کردند که افزایش نسبت کربن میکروبی خاک به کربن آلی آن رابطه مستقیمی با کیفیت مواد افزوده شده به خاک دارد و نشان دادند که این نسبت در مناطقی که مواد آلی تازه به مقدار کم افزوده شده باشد، کاهش می یابد و با بزرگ شدن نسبت کربن زیست توده میکروبی به کربن آلی، فراوانی مواد آلی سخت تجزیه شونده در خاک کاهش می یابد (۷ و ۴). بنابراین به نظر می رسد کاهش این نسبت در زمان های پایانی در خاک های مایه زنی شده با سودوموناس بومی به منزله تجزیه نسبتاً کامل مواد آسان تجزیه شونده در پسماند و باقی ماندن مواد سخت تجزیه شونده در آن است.

کاهش کربن میکروبی در تیمار کنترل در روز اول که بیانگر کاهش در کربن زیست توده میکروبی است می تواند به تخریب اکوسیستم خاک در زمان انجام پژوهش در آزمایشگاه نسبت داده شود که امری اجتناب ناپذیر است (۳۳). پاسکوال و همکاران (۱۹۹۷) بیان کردند که این نسبت (حداقل در شرایط آزمایشگاه با شرایط رطوبت و دمای مشخص) بازتابی از توانایی معدنی شدن مواد آلی است و نه پایداری مواد آلی (۳۳). هر چه این نسبت پایین تر باشد تمایل کمتری برای معدنی شدن مواد آلی وجود دارد. این مسئله می تواند بیانگر این باشد که چرا در خاک های اصلاح شده با پسماند تفاوت چشم گیری در آغاز و پایان زمان انکوباسیون دیده می شود.

**قابلیت دسترسی به کربن:** در شکل ۶ مقایسه میانگین های شاخص قابلیت دسترسی به کربن خاک تحت تأثیر برهم کنش سطوح مختلف پسماند جامد در باکتری مایه زنی شده ارائه شده است. بالاترین اندازه CAI در خاک دارای ۴ درصد پسماند مایه زنی شده با باکتری سودوموناس فلورسنس به دست آمد و تفاوت آن با دیگر تیمارها معنی دار بود ( $P < 0.05$ ). کمترین مقدار این شاخص نیز در خاک کنترل مایه زنی شده با باسیلوس بومی به دست آمد که با همین خاک مایه زنی شده با باسیلوس پرسیکوس و تیمار خاک های دارای ۲ درصد پسماند مایه زنی شده با باسیلوس ها تفاوت آماری معنی دار نداشت ( $P > 0.05$ ).





شکل ۶- مقایسه میانگین‌های شاخص قابلیت دسترسی به کربن (CAI) خاک تحت تأثیر برهم‌کنش سطوح مختلف پسماند جامد در باکتری مایه‌زنی شده. حروف متفاوت در روی ستون‌ها نشان‌دهنده بودن تفاوت آماری معنی‌دار در سطح ۵٪ است. نوارها، خطای استاندارد می‌باشند (n=3).

Figure 6. Mean comparisons of soil carbon availability index (CAI) as affected by solid waste and inoculated bacteria interactions. Different letters on columns indicate significant differences at  $P<0.05$ , and bars are standard error (n=3).

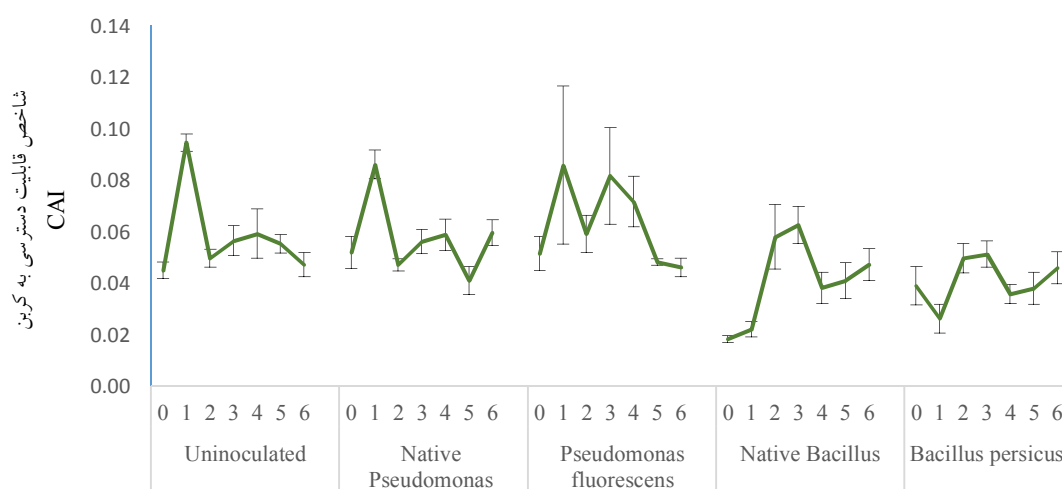
کم‌تر بودن اندازه CAI نشان می‌دهد که مقدار تنفس پایه در مقایسه با تنفس برانگیخته کم‌تر بوده است و برعکس اندازه تنفس پایه نیز کاملاً وابسته به سوبسترای کربن‌دار در خاک و شرایط محیطی زیستگاه (محدودیت‌ها) است. بنابراین در خاک‌های بدون پسماند اندازه CAI در مقایسه با خاک‌هایی که پسماند دریافت داشته‌اند کم بوده است. میانگین اندازه CAI در خاک‌های بدون پسماند و دارای ۲ و ۴ درصد پسماند به ترتیب ۰/۰۴۶، ۰/۰۴۹ و ۰/۰۶۶ بود.

در شکل ۷ روند تغییرات کربن قابل‌دسترس با زمان در تیمارهای مایه‌زنی شده با باکتری‌ها نشان داده شده است. در طول ۶ ماه انکوباسیون اندازه کربن قابل‌دسترس در خاک‌ها نوسان زیادی داشت و تنها در خاک‌های مایه‌زنی شده با باسیلوس‌ها روند آن با زمان مثبت بود. در خاک‌های مایه‌زنی نشده و مایه‌زنی شده با سودوموناس‌ها در ماه اول انکوباسیون کربن

قابلیت دسترسی به کربن یکی از شاخص‌های حساس برای تعیین پیامد متغیرهای محیطی بر فعالیت میکروبی خاک است و از این پارامتر برای آنالیز پیامد عوامل محیطی و تنش‌های وارده بر جمعیت میکروبی خاک در ارزیابی‌های مرتبط با کیفیت و سلامت خاک استفاده می‌شود (۲۲). به‌طورکلی زمانی که فراهمی کربن برای تنفس میکروبی عامل محدودکننده نباشد این شاخص حدود یک به‌دست می‌آید. اما در شرایطی که محدودیت کربن یا دیگر شرایط وجود داشته باشد این شاخص کم‌تر از یک است (۴۳). با وارد شدن تنش‌های محیطی به زیست‌بوم خاک، باوجود این‌که تغییرات چشم‌گیری در مواد آلی خاک دیده نمی‌شود، اما ریزجانداران به‌شدت تحت تأثیر قرار می‌گیرند. بنابراین شناسه‌های اکوفیزیولوژیک مانند قابلیت دسترسی به کربن جهت بررسی این تغییرات مطرح شده و دارای اهمیت می‌باشند.

است. اگرچه هر دو گروه باکتری‌های مایه‌زنی شده یعنی باسیلوس‌ها و سودوموناس‌ها تند رشدند و به عبارتی T- استراتژیست<sup>۱</sup> یا فرصت‌طلب به شمار می‌روند (۲۶ و ۳۶)، اما به نظر می‌رسد سودوموناس‌ها سرعت رشد بالاتری داشته و بنابراین در ماه‌های اول انکوباسیون کارآمدتر بوده‌اند.

قابل‌دسترس افزایش چشم‌گیر یافته و سپس اُفت کرده است. این فرایند احتمالاً به دلیل کارآمد بودن سودوموناس‌ها در مقایسه با باسیلوس‌ها در تجزیه بقایای آلی در کوتاه‌مدت است. به طوری که پس از افزوده شدن پسماند به خاک سودوموناس‌ها به تندی بقایای ساده تجزیه‌شونده آن را تجزیه کرده و کربن فراهم یا قابل‌دسترس در خاک افزایش چشم‌گیر یافته

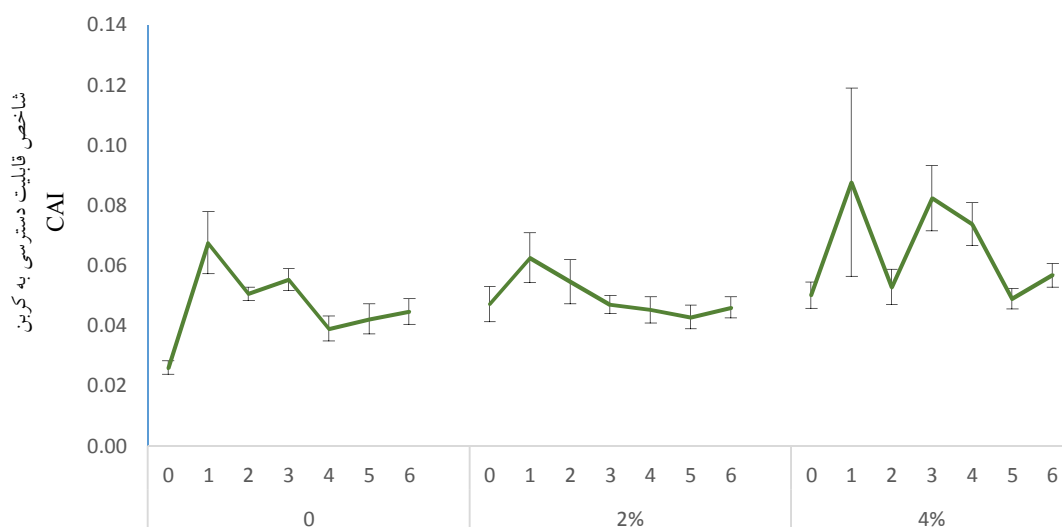


شکل ۷- روند تغییرات شاخص قابلیت دسترسی به کربن (CAI) خاک در طول زمان در تیمارهای مایه‌زنی شده با باکتری‌ها (برهم‌کنش باکتری × زمان انکوباسیون). نوارها، خطای استاندارد می‌باشند (n=3).

Figure 7. Soil carbon availability index (CAI) trends over time as influenced by inoculated bacteria (bacteria × incubation time interactions). Bars are standard error (n=3).

بود و روند کاهشی هم در خاک دارای پسماند ۲ درصد شیب ملایم‌تری داشت. کم‌ترین اندازه آن نیز در خاک بدون پسماند و در روز صفر به دست آمد. میانگین کربن قابل‌دسترس در خاک‌های دارای صفر، ۲ و ۴ درصد پسماند به ترتیب ۰/۰۴۹، ۰/۰۴۶ و ۰/۰۶۶ بود.

روند تغییرات شاخص قابلیت دسترسی به کربن خاک در طول زمان در تیمارهای دارای پسماند (برهم‌کنش پسماند در زمان انکوباسیون) در شکل ۸ ارائه شده است. با گذشت یک ماه از زمان انکوباسیون کربن قابل‌دسترس در خاک‌ها افزایش یافت. به طوری که در هر سه خاک بیش‌ترین اندازه کربن قابل‌دسترس در ماه نخست به دست آمد که البته در خاک دارای پسماند ۴ درصد بیش‌تر از بقیه بود. پس از ماه نخست کربن قابل‌دسترس روند کاهشی نشان داد. تغییرات در خاک دارای پسماند ۴ درصد شدید



شکل ۸- روند تغییرات شاخص قابلیت دسترسی به کربن (CAI) خاک در طول زمان در در تیمارهای دارای پسماند (برهم‌کنش پسماند × زمان انکوباسیون). نوارها، خطای استاندارد می‌باشند (n=3).

Figure 8. Soil carbon availability index (CAI) trends over time as influenced by waste (waste × incubation time interactions). Bars are standard error (n=3).

باسیلوس‌ها آن را کاهش داد. ضمن این‌که باسیلوس‌ها سبب کاهش سایر شاخص‌ها نیز شدند. بنابراین به نظر می‌رسد در صورت اضافه کردن این پسماند به خاک مایه‌زنی آن با سودوموناس‌ها بتواند تجزیه پسماند در کوتاه‌مدت را تسریع نموده و عناصر غذایی آن را آزاد سازد. برای بررسی تأثیر باسیلوس‌ها به زمان بیش‌تر نیاز است و باید برهم‌کنش آن‌ها با ریزجانداران بومی خاک نیز بررسی شود.

### نتیجه‌گیری

در این پژوهش پیامد افزودن پسماند کارخانه تصفیه روغن بر یک خاک لوم در یک دوره کوتاه مدت و در حضور باکتری‌های باسیلوس و سودوموناس بررسی شد. اضافه کردن پسماند به خاک و مایه‌زنی آن با سودوموناس‌ها سبب افزایش تنفس میکروبی و قابلیت دسترسی به کربن در خاک شد اما سهم کربن میکروبی را کاهش داد. پسماند سبب افزایش کربن زیست‌توده میکروبی شد اما حضور باکتری‌ها به ویژه

### منابع

1. Abu-Rumman, G. 2016. Effect of olive mill solid waste on soil physical properties. *International Journal of Soil Science*. 11: 3. 94-101.
2. Ajami, M., Khormali, F., Ayoubi, S., and Amoozadeh Omrani, R. 2006. Changes in soil quality attributes by conversion of land use on a loess hillslope in Golestan Province, Iran. In 18<sup>th</sup> International Soil Meeting (ISM) on Soil Sustaining Life on Earth, Maintaining Soil and Technology Proceedings, Soil Science Society of Turkey. 5: 2. 501-504.
3. Allouche, N., Fki, I., and Sayadi, S. 2004. Toward a high yield recovery of antioxidants and purified hydroxytyrosol from olive mill wastewaters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52: 2. 267-273.
4. Anderson, T.H. 2003. Microbial eco-physiological indicators to assess soil quality. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 98: 1-3. 285-293.

5. Anderson, T.H., and Domsch, K.H. 1993. The metabolic quotient from CO<sub>2</sub> (qCO<sub>2</sub>) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. *Soil Biology and Biochemistry*. 25: 393-395.
6. Anderson, T.H., and Domsch, K.H. 1990. Application of eco-physiological quotients (qCO<sub>2</sub> and qD) on microbial biomasses from soils of different cropping histories. *Soil Biology and Biochemistry*. 22: 2. 251-255.
7. Anderson, T.H., and Domsch, K.H. 1989. Ratios of microbial biomass carbon to total organic carbon in arable soils. *Soil Biology and Biochemistry*. 21: 471-479.
8. Annabi, M., Houot, S., Francou, C., Poitrenaud, M., and Bissonnais, Y.L. 2007. Soil aggregate stability improvement with urban composts of different maturities. *Soil Science Society of America Journal*. 71: 2. 413-423.
9. Ayoub, S., Al-Absi, K., Al-Shdiefat, S., Al-Majali, D., and Hijazeen, D. 2014. Effect of olive mill wastewater land-spreading on soil properties, olive tree performance and oil quality. *Scientia Horticulturae*. 175: 160-6.
10. Bardgett, G.D., and Sagar, S. 1994. Effect of heavy metal contamination on the short-term decomposition of labelled (<sup>14</sup>C) in a pasture soil. *Soil Biology and Biochemistry*. 26: 727-733.
11. Chakraborty, U., Chakraborty, B.N., and Basnet, M. 2006. Plant growth promotion and induction of resistance in *Camellia chninesis* by *Bacillus megatarium*. *Journal of Basic Microbiology*. 46: 3. 186-195.
12. Chandini, T.M., and Dennis, P. 2002. Microbial activity, nutrient dynamics and litter decomposition in a Canadian Rocky Mountain pine forest as affected by N and P fertilizer. *Forest Ecology and Management*. 159: 3. 187-201.
13. Choudhary, D.K., and Johri, B.N. 2009. Interactions of *Bacillus* spp. and plants-with special reference to induced systemic resistance (ISR). *Microbiological Research*. 164: 5. 493-513.
14. Das, K., and Mukherjee, A.K. 2007. Crude petroleum-oil biodegradation efficiency of *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from a petroleum-oil contaminated soil from North-East India. *Bioresource Technology*. 98: 7. 1339-1345.
15. Didari, M., Amoozegar, M.A., Bagheri, M., Mehrshad, M., Schumann, P., Spröer, C., Sanchez-Porro, C., and Ventosa, A. 2013. *Bacillus persicus* sp. nov., a halophilic bacterium from a hypersaline lake. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 63: 4. 1229-1234.
16. Environmental Regulations for Reuse and Recycling of Waste Water. 2010. Bulten No 535, Deputy Director of Strategic Control, Ministry of Energy, Iran. (In Persian)
17. Fernandes, S.A.P., Bettiol, W., and Cerri, C.C. 2005. Effect of sewage sludge on microbial biomass, basal respiration, metabolic quotient and soil enzymatic activity. *Applied Soil Ecology*. 30: 1. 65-77.
18. Garcia, C., Hernández, T., Roldan, A., Albaladejo, J., and Castillo, V. 2000. Organic amendment and mycorrhizal inoculation as a practice in afforestation of soils with *Pinus halepensis* Miller: effect on their microbial activity. *Soil Biology and Biochemistry*. 32: 8-9. 1173-1181.
19. Carter, M.R. (Ed.), Gregorich, E.G. 2007. *Soil Sampling and Methods of Analysis*. Boca Raton: CRC Press. 1264p.
20. Hart, P.B.S., August, J.A., and West, A.W. 1989. Long-term consequences of topsoil mining on select biological and physical characteristics of two New Zealand loessial soils under grazed pasture. *Land Degradation and Development*. 1: 77-88.
21. Jenkinson, D.S., and Ladd, J.N. 1981. Microbial biomass in soil: measurement and turnover. *Soil Biology and Biochemistry*. 5: 1. 415-471.
22. Killham, K. 1994. *Soil Ecology*. Cambridge University Press, UK. 242p.

23. Kloepper, J.W., Ryu, C.M., and Zhang, S. 2004. Induce systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. *Phytopathology*. 94: 1259-1266.
24. Leboffe, M.J., and Pierce, B.E. 2015. *Microbiology: Laboratory Theory and Application*. Morton Publishing Company. 912p.
25. Leita, L., De Nobili, M., Mondini, C., Muhlbachova, G., Marchiol, L., Bragato G., and Contin, M. 1999. Influence of inorganic and organic fertilization on soil microbial biomass, metabolic quotient and heavy metal bioavailability. *Biology and Fertility of Soils*. 28: 371-376.
26. Luo, Y., Vilain, S., Voigt, B., Albrecht, D., Hecker, M., and Brözel, V.S. 2007. Proteomic analysis of *Bacillus cereus* growing in liquid soil organic matter. *FEMS Microbiology Letters*. 271: 1. 40-47.
27. Maiti, S.K. 2001. *Handbook of Methods in Environmental Studies (Vol. 1)*. Jaipur: ABD publishers. 321p.
28. Mirahmadi, H., and Safari, A.A. 2003. The effect of lead contamination on basal and substrate induced respiration soil. *Proceedings of Congress on Soil and stable environment in Karaj, Iran*. (In Persian)
29. Moscatelli, M., Di Tizio, A., Marinari, S., and Grego, S. 2007. Microbial indicators related to soil carbon in Mediterranean land use systems. *Soil and Tillage Research*. 97: 1. 51-59.
30. Navaro, A.F., Cegarra, J., Roig, A., and Garcia, D. 1993. Relationship between organic matter and carbon contents of organic wastes. *Bioresource Technology*. 44: 33. 203-207.
31. Nefzaoui, A. 1999. Olive tree by-products. In: ICARDA (Ed.), Aleppo (Syria). *Institute National de la Recherche Agronomique de Tunisie (INRAT), Ariana, Tunis, Tunisia*. 124p.
32. Nektarios, P.A., Ntoulas, N., McElroy, S., Volterrani, M., and Arbis, G. 2011. Effect of olive mill compost on native soil characteristics and tall fescue turf grass development. *Agronomy Journal*. 103: 5. 1524-1531.
33. Pascual, J.A., Garcia, C., Hernandez, T., and Ayuso, M. 1997. Changes in the microbial activity of an arid soil amended with urban organic wastes. *Biology and Fertility of Soils*. 24: 429-434.
34. Raiesi, F. 2006. Carbon and N mineralization as affected by soil cultivation and crop residue in a calcareous wetland ecosystem in Central Iran. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 112: 3-20.
35. Rastogi, M., Nandal, M., and Khosla, B. 2020. Microbes as vital additives for solid waste composting. *Heliyon*. 6: 2. e03343.
36. Reznick, D., Bryant, M.J., and Bashey, F. 2002. R-and K-selection revisited: the role of population regulation in life-history evolution. *Ecology*. 83: 6. 1509-1520.
37. Rincón, B., Feroso, F.G., and Borja, R. 2012. Olive oil mill waste treatment: improving the sustainability of the olive oil industry with anaerobic digestion technology. In "Olive Oil-Constituents, Quality, Health Properties and Bioconversions". Pp: 275-292.
38. Roldan, A., Salinas, G.J.R., Alguacil, M.M., Diaz, E., and Caravaca, F. 2005. Soil enzyme activities suggest advantages of conservation tillage practices in sorghum cultivation under subtropical conditions. *Geoderma*. 129: 178-185.
39. Shahab, S., and Ahmed, N. 2008. Effect of various parameters on the efficiency of zinc phosphate solubilization by indigenous bacterial isolates. *African Journal of Biotechnology*. 7: 10. 1543-1549.
40. Shirzadeh, N., Aliasgharzad, N., and Najafi, N.A. 2014. Trend of biomass carbon, ecophysiological indicators, basal and substrate induced respiration changes in soil incubated with different lead levels. *Soil and Water Science Journal*. 22: 111-124. (In Persian)
41. Spohna, M., and Chodak, M. 2015. Microbial respiration per unit biomass increases with carbon-to-nutrient ratios in forest soils. *Soil Biology and Biochemistry*. 81: 128-133.

42. Thavasi, R., Jayalakshmi, S., and Banat, I.M. 2011. Effect of biosurfactant and fertilizer on biodegradation of crude oil by marine isolates of *Bacillus megaterium*, *Corynebacterium kutscheri* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Bioresource Technology*. 102: 2. 772-778.
43. Weixin, C., Coleman, D.C., Carroll, C.R., and Hoffman, C.A. 1993. In situ measurement of root respiration and soluble C concentrations in the rhizosphere. *Soil Biology and Biochemistry*. 25: 9. 1189-1196.
44. Wright, A.L., Hons, F.M., and Jr-Matocha, J.E. 2005. Tillage impacts on microbial biomass and soil carbon and nitrogen dynamics of corn and cotton rotations. *Applied Soil Ecology*. 29: 85-92.
45. Xue, D., and Huang, X. 2013. The impact of sewage sludge compost on tree peony growth and soil microbiological, and biochemical properties. *Chemosphere*. 93: 4. 583-589.



## Effect of agro-industrial solid waste and *Bacillus* and *Pseudomonas* bacteria on biological and ecophysiological indicators in a loam soil

N. Ghorbanzadeh<sup>1</sup> and \*M.B. Farhangi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Assistant Prof., Dept. of Soil Science, University of Guilan

Received: 03.05.2020; Accepted: 12.19.2020

### Abstract

**Background and Objectives:** Solid waste (SW) of olive oil industries contain valuable organic and inorganic materials which can be useful for soil quality and its microbial activity. However, these wastes contain fatty acids and recalcitrant materials which require special microorganisms for complete decomposition in soil environment. The aim of this study was to investigate soil biological and ecophysiological indicators (as soil quality indices) after addition of oil refinery plant solid waste and inoculation of *Bacillus* and *Pseudomonas* bacteria to soil.

**Materials and Methods:** The experiment was conducted in a completely randomized design with factorial arrangement and three replications. Factors included SW (0, 2 and 4%), inoculated bacteria (no bacteria, native *Bacillus* sp. native *Pseudomonas* sp., *Bacillus persicus* and *Pseudomonas fluorescens*), and sampling time (0, 1, 2, 3, 4, 5 and 6 months). Soil without SW and uninoculated with bacteria was regarded as control. Soil-SW mixtures incubated at laboratory condition (~25 °C) for 6 months. During incubation period moisture content of mixtures was kept constant around 0.7 FC. Sampling was carried out before incubation start and then monthly throughout incubation period. Organic carbon (OC), basal respiration (BR), substrate induced respiration (SIR), and microbial biomass carbon (MBC) were measured in the samples and ecophysiological parameters including metabolic quotient ( $qCO_2$ ), microbial carbon ratio (Cmic), and available carbon index (CAI) were calculated. Data analysis and mean comparisons were done by Tukey method ( $P < 0.05$ ) using SAS software package.

**Results:** The effect of all factors and their interactions were significant ( $P < 0.05$ ) on the studied parameters except  $qCO_2$ . The highest values of BR and SIR were obtained in the 4% SW treatment inoculated with Pseudomonads. Adding SW to the soil and inoculating it with Pseudomonads had an important role in the increase of these two parameters value. However, despite the positive role of SW, bacterial inoculation did not increase MBC, while the highest amount of MBC was observed in the 4% SW treatment uninoculated with bacteria. The lowest amount of all three parameters was observed in the 0% SW treatment inoculated with *Bacillus persicus*. SW addition to soil increased  $qCO_2$ , and its higher values were observed in the mixtures inoculated with native *Pseudomonas* sp. SW application and bacteria inoculation to soil decreased Cmic. The highest and lowest Cmic values were observed in soil without SW inoculated with *Pseudomonas fluorescens* and soil contained 4% SW inoculated with *Bacillus persicus*, respectively. The mean Cmic values in 0, 2, and 4% SW-mixtures were 10.32, 5.06, and 4.76 mg Cmic  $gC_{org}^{-1}$ , respectively. The trend of Cmic changes over time showed that this parameter had ascending trend in uninoculated soil and soil inoculated with *Bacillus* bacteria. SW addition to soil and soil inoculation with Pseudomonads increased CAI. The highest and lowest CAI values were observed in 4% SW-mixtures inoculated with *Pseudomonas fluorescens* and soil inoculated with native *Bacillus* sp., respectively. The trend of CAI changes was greatly fluctuated over time and its slope was only positive in *Bacillus* inoculated soils.

\* Corresponding Author; Email: m.farhangi@guilan.ac.ir

**Conclusion:** Overall, the addition of oil refinery plant solid waste to the soil and its inoculation with Pseudomonads, although reduced microbial carbon ratio, increased microbial basal respiration and available carbon index. Therefore, it seems that in the application of this waste in soil, inoculation with *Pseudomonas* bacteria can accelerate its decomposition in the short term and release its mineral nutrients.

**Keywords:** Basal respiration, Metabolic quotient, Microbial biomass carbon, Organic matter