

## تأثیر بیوچار غنی شده با باکتری‌های حل کننده فسفات بر توزیع شکل‌های فسفر در یک خاک شور و غیر شور حوضه دریاچه ارومیه

رقیه موسوی<sup>۱</sup>، میر حسن رسولی صدقیانی<sup>۲\*</sup>، ابراهیم سپهر<sup>۳</sup>، محسن برین<sup>۴</sup>

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۹/۰۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۲۴)

### چکیده

به منظور مطالعه تأثیر بیوچار غنی شده و باکتری‌های حل کننده فسفات بر جزءبندی فسفر خاک، یک آزمایش انکوباسیون فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار شامل (باکتری‌های حل کننده فسفات (PSB)، بیوچار معمولی سیب-انگور (BC)، مخلوط بیوچار معمولی سیب - انگور و باکتری‌های حل کننده فسفات (BC-PSB)، بیوچارغنی شده با خاک فسفات و باکتری‌های حل کننده فسفات (BC-RP-PSB)، سوپرفسفات تریپل (TSP) و شاهد (Cont)) و ۲ نوع خاک با ECهای مختلف (۲ و ۱۵  $\text{dS m}^{-1}$ )، در خاک‌های حوضه دریاچه ارومیه اجرا گردید. فسفر اولسن، pH و اجزاء فسفر معدنی در زمان‌های ۷، ۳۰ و ۶۰ روز انکوباسیون اندازه‌گیری و از لحاظ آماری آنالیز گردید. بر اساس نتایج، تیمارهای BC-PSB و BC-PSB-RP به‌طور متوسط pH نمونه خاک‌های S1 و S2 را به ترتیب ۰/۱ و ۰/۴ واحد کاهش دادند. در اثر اعمال بیوچار غنی شده با باکتری‌های حل کننده فسفات (BC-RP-PSB) مقدار فسفر اولسن خاک S1 و S2 به ترتیب از ۶ و ۷ میلی‌گرم در کیلوگرم به ۳۵/۳ و ۴۱/۷ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک ( $P < 0.01$ ) افزایش یافت. تیمارهای میکروبی (PSB، BC-PSB و BC-RP-PSB) توزیع و مقدار اشکال فسفر معدنی خاک‌ها را بطور معنی‌دار تحت تأثیر قرار دادند. بطوریکه تیمار BC-PSB-RP مقدار دی‌کلسیم فسفات خاک S1 را ۱۰ برابر و خاک S2 را ۵/۲ برابر افزایش داد. در مقابل مقادیر اکتاکلسیم‌فسفات، فسفات‌های آلومینیوم و آپاتیت را بطور معنی‌دار کاهش دادند. با توجه به نتایج همبستگی، فسفر اولسن با دی‌کلسیم فسفات، آپاتیت و فسفر پیوندشده با آهن همبستگی معنی‌دار داشت احتمالاً در عصاره‌گیری فسفر اولسن، فسفر از این اجزاء معدنی آزاد می‌شود. نتایج این تحقیق نشان داد استفاده از بیوچار غنی‌شده با باکتری‌های حل کننده فسفات باعث ابقاء فسفر در طول دوره انکوباسیون در فاز لبایل و قابل جذب برای گیاه گردید و تأثیر بهتری در افزایش فراهمی فسفر در شرایط شور داشت.

**واژه‌های کلیدی:** اجزاء فسفر معدنی، فراهمی فسفر، خاک‌های شور، بیوچار غنی شده

موسوی ر.، رسولی صدقیانی م. ح.، سپهر ا.، برین م. ۱۴۰۱. تأثیر بیوچار غنی شده با باکتری‌های حل کننده فسفات بر توزیع شکل‌های فسفر در یک خاک شور و غیر شور حوضه دریاچه ارومیه. تحقیقات کاربردی خاک، جلد ۱۰، شماره ۳. صفحه: ۱۵-۲۹.

۱- دانش آموخته دکتری گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

۲- استاد گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

۳- استاد گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

۴- استادیار گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

\* پست الکترونیک: [m.rsadaghiani@urmia.ac.ir](mailto:m.rsadaghiani@urmia.ac.ir)

## مقدمه

یافته است. یکی از این روش‌ها جزء بندی شیمیایی متوالی است که در دهه‌های اخیر به طور گسترده برای مطالعه اجزاء و دینامیک فسفر خاک مورد استفاده قرار گرفته است (Chimdi *et al.*, 2014).

مدیریت مواد مغذی از جمله فسفر (به دلیل فرایندهای جذب و تثبیت فسفر به شکل‌های غیرقابل دسترس) در خاک‌های متأثر از نمک از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است از طرف دیگر به دلیل منابع تجدید ناپذیر سنگ فسفات، هیچ جایگزینی برای فسفر در گیاهان وجود ندارد. از اینرو شناسایی و کشف جایگزین فسفر از منابع داخلی و محلی امری الزامی است. مطابق گزارش‌های اخیر. کاربرد سنگ فسفات همراه با باکتری‌های PGP<sup>2</sup>، با افزایش فسفر قابل جذب کارایی سنگ فسفات و استفاده از آنها در کاهش اثرات شوری و به عنوان جایگزین کودهای شیمیایی قوت می‌بخشد. علاوه بر آن، افزودن بیوچار به خاک‌های متأثر از نمک نیز به عنوان یک استراتژی جایگزین برای کاهش تنش شوری در گیاهان مطرح شده است (Lashari *et al.*, 2013; Thomas *et al.*, 2013). بیوچار بعنوان یک فناوری سازگار محیط زیست با بهبود خواص فیزیکوشیمیایی خاک می‌تواند زیستگاه و منبع تغذیه مطلوبی برای میکروبیوم‌های خاک باشد (Lehmann *et al.*, 2011). براساس نتایج مطالعات پیشین کاربرد بیوچار در خاک‌های شور با افزایش جذب و تجمع مواد مغذی معدنی در گیاهان، تحمل گیاه به تنش شوری را افزایش می‌دهد (Hammer *et al.*, 2015). در مطالعه دیگر توانایی بیوچار در افزایش تحمل گیاه به تنش شوری، به افزایش غلظت فسفر در گیاه ذرت (Kim *et al.*, 2016) نسبت داده شد. در اغلب مطالعات، تأثیر باکتری‌های حل کننده فسفات و بیوچار بر قابلیت فراهمی فسفر بررسی شده است اما هنوز درک و اطلاعات کافی از چگونگی تغییر شکل فسفر در نتیجه کاربرد باکتری‌های بومی حل کننده فسفات در دسترس نیست. از طرفی علاوه بر هزینه بر بودن تولید و مصرف بیوچار در خاک، افزایش pH و EC خاک‌های آهکی و متأثر از نمک از جمله مسائل کاربرد بیوچار در این خاک‌هاست. از اینرو در این پژوهش سعی شده با غنی سازی بیوچار بوسیله باکتری‌های حل کننده فسفات و سنگ فسفات به بررسی تأثیر آن بر قابلیت

شوری به عنوان مشکل اساسی در کشاورزی مناطق خشک و نیمه خشک، هر ساله باعث اتلاف قابل توجه محصولات زراعی می‌گردد (Francois *et al.*, 1994). با توجه به مطالعات پیشین، شوری مقیاس وسیعی از اراضی قابل کشت را تحت پوشش قرار داده و بتدریج در حال گسترش می‌باشد که کشاورزی پایدار و امنیت غذایی جمعیت در حال افزایش را تهدید می‌کند (Keren, 2000; Liang *et al.*, 2005). تخمین زده شده حداقل ۲۰ درصد اراضی تحت کشت آبی در سرتاسر جهان تحت تأثیر شوری قرار دارند (Pitman *et al.*, 2002). از اینرو شناسایی و ایجاد راهکار برای رشد و گسترش گیاهان در مناطق شور برای کشاورزی پایدار و حفظ امنیت غذایی بسیار حیاتی است. برای مقابله با تنش شوری روش‌های مختلفی توسط متخصصین ارائه شده است در این میان راهکارهای بیولوژیکی به دلیل مسائل زیست محیطی و مشکلات اقتصادی ناشی از افزایش رو به رشد بهای کودهای شیمیایی بیشتر مورد توجه قرار گرفته‌اند. در اغلب مطالعات استفاده از پتانسیل باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه (PGPR<sup>1</sup>) به یک رویکرد محبوب و پایدار برای مقابله با اثرات مضر شوری و افزایش بهره‌وری محصول در خاک‌های متأثر از نمک تبدیل شده است (Akhtar *et al.*, 2015; Komal *et al.*, 2016; Rasouli-*et al.*, 2014; Sadaghiani *et al.*, 2019; Ali *et al.*, 2014). اقلیم گرم و خشک و ماهیت آهکی و شور و قلیایی درصد بالایی از اراضی زراعی کشور، اهمیت و ضرورت استفاده از راهکارهای بیولوژیکی را بیش از پیش نمایان می‌سازد. فسفر خاک در اشکال شیمیایی مختلف شامل فسفر محلول، تبادل، فسفات‌های آلی، فسفات‌های کلسیمی، فسفات‌های آهن و آلومینیوم و فسفر باقیمانده یافت می‌شود. این شکل‌ها اختلاف قابل توجهی در زیست فراهمی، تحرک و رفتارهای شیمیایی دارند. بنابراین نقش‌های متفاوتی در حاصلخیزی خاک ایفا می‌کنند. اطلاع در مورد اشکال فسفر می‌تواند در درک منابع و مخازن فسفر خاک که در مدیریت کارآمد فسفر در اراضی کشاورزی ضروری است، موثر واقع گردد. روش‌های مختلفی برای مطالعه شکل‌ها، مقدار و دینامیک چرخه فسفر گسترش

1. Plant growth promoting rhizobacteria  
2. Plant Growth Promoting Bacteria

کاتیونی به روش جایگزینی با استات آمونیوم (Chapman, 1965)، درصد کربن آلی (Nelson & Sommers, 1982)، کربنات کلسیم معادل به روش کلسیمتری (Nelson, 1982)، و فسفر قابل جذب (Olsen & Sammers, 1982) اندازه‌گیری گردید (جدول ۱). محاسبه نسبت جذب سدیم (SAR) و درصد سدیم تبادلی (ESP) از روابط زیر انجام گرفت.

$$SAR = \frac{Na}{\sqrt{\frac{(Ca+Mg)}{2}}}$$

که در آن غلظت یون‌های Na، Ca و Mg بر حسب میلی‌اکی‌والان بر لیتر می‌باشد (دهقانی و سعادت، ۱۳۹۷).

$$ESP = \frac{100 * (-0.0126 + 0.01475 * SAR)}{1 + (-0.0126 + 0.01475 * SAR)}$$

فراهمی، تثبیت و تغییر اشکال شیمیایی فسفر در خاک-های شور حوضه دریاچه ارومیه پرداخته شود.

### مواد و روش‌ها

#### نمونه‌های بیوجار و خاک

از بین ۲۵ نمونه خاک نمونه‌برداری شده از افق سطحی (۰-۳۰ cm) اراضی اطراف دریاچه ارومیه (از نظر جغرافیایی در مختصات ۵۱° ۱۲' ۱۲" تا ۵۱° ۳۴' ۱۵" طول شرقی و ۳۷° ۳۹' ۶" تا ۳۷° ۵۱' ۴۰" عرض شمالی)، دو نمونه خاک با EC متفاوت و مقدار فسفر اولسن کمتر از ۷ mg kg<sup>-1</sup> انتخاب گردید. پس از هوا خشک کردن و عبور از الک دو میلی متری، برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک‌ها از جمله بافت خاک به روش هیدرومتری (Kult, 1986)، قابلیت هدایت الکتریکی و pH در عصاره گل اشباع خاک، ظرفیت تبادل

جدول ۱- برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مورد مطالعه

Table 1. Some physical and chemical characterizes of the studied soil

Soils	EC	pH	P-ava	Clay	Silt	Sand	CCE	SAR	ESP	OC	CEC
	(dS m <sup>-1</sup> )		(mg kg <sup>-1</sup> )		%			(meq l <sup>-1</sup> ) <sup>0.5</sup>	%		(cmol+ kg <sup>-1</sup> )
S1	2	8.1	5	35	30	35	9.5	2.1	3	0.16	19
S2	15	7.6	7	30	33	37	5.5	6.7	9	0.09	15

pH: واکنش خاک، EC: قابلیت هدایت الکتریکی (دسی زمینس بر متر)، CEC: ظرفیت تبادل کاتیونی بر حسب سانتی مول بار مثبت بر کیلوگرم خاک، OC: کربن آلی بر حسب درصد، ESP: درصد سدیم تبادلی بر حسب، SAR: نسبت جذب سدیم، CCE: درصد کربنات کلسیم معادل، Sand: درصد شن، Silt: درصد سیلت، Clay: درصد رس، P-ava: فسفر قابل جذب گیاه بر حسب میلی گرم در کیلوگرم خاک، S1: خاک با EC=2 dS.m<sup>-1</sup>، S2: خاک با EC=15 dS.m<sup>-1</sup>. pH: soil reaction, EC: electrical conductivity (dS/m), P-ava: Olsen-P (mg/kg), CEC; cation-exchange capacity (cmol+/kg), OC: organic carbon (%), ESP: Exchangeable Na percentage (%), SAR: Sodium adsorption ratio (%), CCE: Calcium carbonate equivalent (%).

الک یک میلی متری، برای اندازه‌گیری pH و EC بیوجار از نسبت ۱:۵ (بیوجار/ آب مقطر دیونیزه) بعد از ۳۰ دقیقه تکان دادن، استفاده شد (Ziang et al., 2017). برای اندازه‌گیری ظرفیت تبادل کاتیونی از روش جایگزینی آمونیوم استفاده شد (Ziang et al., 2017). فسفر کل بیوجارها پس از هضم نمونه بیوجارها با اسید نیتریک، به روش رنگ‌سنجی زرد اندازه‌گیری گردید (Rajkovich et al., 2012). مقادیر کربن، هیدروژن و نیتروژن کل در بیوجار با آنالیز عنصری (ECS 4010 CHNSO Analyzer) اندازه‌گیری شد (جدول ۲).

در این پژوهش از بقایای هرس سیب و انگور برای تهیه بیوجار استفاده شد. بقایای اولیه هرس سیب و انگور بعد از خرد شدن، شسته شد و بمدت ۲۴ ساعت در دمای محیط خشک شد. سپس بمدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۵ درجه سانتیگراد داخل آون خشک شد. فرایند پیرولیز در دمای ۳۵۰ درجه سانتیگراد در کوره الکتریکی با نرخ افزایش دمایی ۹ درجه سانتیگراد در هر دقیقه انجام گرفت. نمونه‌ها بمدت ۲ ساعت در دمای ۳۵۰ درجه سانتیگراد نگه داشته شدند و سپس کوره به آرامی با تبادل گرمایی با محیط برای رسیدن به دمای ۱۰۰ درجه یا کمتر خنک گردید (Kim et al., 2012). بعد از عبور از

جدول ۲- برخی ویژگی‌های شیمیایی بیوچارهای مورد استفاده

Table 2. Some chemical characterizes of the studied biochars

	pH	EC (dSm <sup>-1</sup> )	H	N (%)	C	P (g kg <sup>-1</sup> )	CEC (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> )
Apple biochar	7.6	1.2	3.9	0.7	66	7.2	64.5
Grape biochar	8.2	1.6	3.6	0.85	76	12	59

در این پژوهش از باکتری‌های *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens* و *Stenotrophomonas maltophilia* که در پژوهش پیشین از خاک‌های شور اطراف دریاچه ارومیه جداسازی و براساس خواص PGP و توانایی انحلال فسفات غربال شده بودند، استفاده شد (جدول ۳). در محیط کشت نوترینت براث باکتری‌ها کشت شده در دمای ۲۸ درجه سلسیوس درون انکوباتور به مدت ۴۸ ساعت نگهداری شد. قبل از تلقیح، واحد تشکیل دهنده کلونی در هر میلی لیتر با روش کدورت سنجی در طول موج ۶۰۰ نانومتر به ۱۰<sup>۸</sup> رسید. در طی آزمایشات انکوباسیون یک میلی لیتر از مایه تلقیح در آب مقطر لازم برای رساندن به ۷۰ درصد ظرفیت مزرعه اضافه شده (۱۲۸ ml) برای خاک S1 و ۲۱ ml برای خاک S2) و کاملاً با نمونه‌ها مخلوط گردید.

به منظور تهیه بیوچار غنی شده، از خاک فسفات و باکتری‌های حل کننده فسفات استفاده شد. در غنی سازی بیوچار از نسبت ۱:۱ مخلوط بیوچار بقایای هرس سیب و انگور استفاده شد. برای تهیه بیوچار غنی شده با خاک فسفات و باکتری‌های حل کننده فسفات (BC-RP-PSB) مخلوط بیوچار سیب-انگور با نسبت ۴:۱ (۱ گرم خاک فسفات رسوبی یاسوج با درصد ۷/۵ P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>، ۴ گرم بیوچار) مخلوط شده سپس آب جوش خنک شده با نسبت ۲۰:۶ (۲۰ واحد بیوچار- خاک فسفات، ۶ واحد آب جوش) اضافه شد و بمدت ۲ ساعت بهم زده شد. مخلوط حاصل بعد از خشک شدن به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۵ درجه سانتیگراد در داخل آون، داخل راکتور قرار داده شد و در کوره با نرخ افزایش دمایی ۹ درجه در دقیقه تا دمای ۲۲۰ درجه سانتیگراد گرم شد (Chia et al., 2014).

جدول ۳- برخی خصوصیات محرک رشد گیاه (PGP) باکتری‌های استفاده شده

Table 3. Some plant growth promoting properties of used bacteria

Isolates .Code	Zn	P	ESP (g L <sup>-1</sup> )	HCN	Siderophore (mm)	IAA (μ g ml <sup>-1</sup> )
	solubilie	solubilize				
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+	2.3	+	+	-
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	+	+	2.3	+	+	+
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	+	+	2.2	-	-	+

شده با خاک فسفات و باکتری‌های حل کننده فسفات (BC-RP-PSB)، سوپرفسفات تریپل (TSP) و شاهد (Cont) در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. برای اعمال تیمارها براساس نیاز استاندارد فسفر (SPR)، با استفاده از هم دمای لانگمویر مقدار فسفر لازم برای رسیدن به غلظت تعادلی ۰/۳ میلی گرم فسفر بر لیتر به عنوان نیاز استاندارد فسفر تعیین شد (Halford, 1979). SPR برای خاک S1 معادل ۴۵ و برای خاک S2 معادل ۳۶ میلی گرم فسفر در کیلوگرم خاک اندازه گیری شد. بر این اساس مقدار تیمارها برای هر دو خاک در جدول ۳ آورده شده است.

#### آزمایشات انکوباسیون

۱۰۰ گرم خاک هوا-خشک درون ظروف پلاستیکی درپوش دار ریخته سپس تیمارها مطابق جدول ۳ اعمال و به مدت دو ماه در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد خوابانیده شد. آزمایش بصورت فاکتوریل (فاکتور اول نوع خاک براساس EC (S1 با قابلیت هدایت الکتریکی ۲ دسی زیمنس بر متر، S2 با قابلیت هدایت الکتریکی ۱۵ دسی زیمنس بر متر) و فاکتور دوم شامل انواع تیمارها (باکتری‌های حل کننده فسفات (PSB)، بیوچار معمولی سیب-انگور (BC)، مخلوط بیوچار معمولی سیب - انگور و باکتری‌های حل کننده فسفات (BC-PSB)، بیوچارغنی

جدول ۳- مقادیر کود فسفات مه مصرفی بر حسب گرم فسفر در ۱۰۰ گرم خاک

Table 3. The values of used phosphate fertilizer forms (g P/100 soil)

Soils	PSB	BC	BC-RP-PSB	BC-PSB	TSP
S1	-	0.41	0.19	0.41	0.007
S2	-	0.33	0.15	0.33	0.006

PSB: باکتری‌های حل‌کننده فسفات، BC: بیوجار معمولی سیب-انگور، BC-PSB: مخلوط بیوجارها و باکتری‌های حل‌کننده فسفات، BC-RP-PSB: بیوجار-غنی شده با خاک فسفات و باکتری‌های حل‌کننده فسفات، TSP: سوپرفسفات تریپل

BC-PSB-RP: Biochar-Phosphate solubilizing bacteria- rock phosphate, BC-PSB: Biochar-Phosphate solubilizing Bacteria, PSB: Phosphate solubilizing bacteria, BC: Apple-Grap Biochar, TSP: Super phosphate triple, Count: Control.

### جزء بندی شیمیایی فسفر معدنی خاک

بعد از ۷، ۳۰ و ۶۰ روز، از هر ظرف یک گرم خاک با سه تکرار به منظور عصاره‌گیری متوالی برداشته شد. در این پژوهش به دلیل آهکی بودن خاک‌ها، روش Giang و Gou (۱۹۸۹) برای جزء بندی اشکال معدنی فسفر استفاده شد. بطور خلاصه، نمونه‌های خاک بصورت متوالی توسط عصاره‌گیرهای زیر مورد استخراج قرار گرفتند: ۵۰ میلی لیتر بیکربنات سدیم (NaHCO<sub>3</sub>) ۰/۲۵ مولار برای استخراج دی کلسیم فسفات (Ca<sub>2</sub>-P)، ۵۰ میلی لیتر استات آمونیوم ۰/۵ مولار (NH<sub>4</sub>AC) برای استخراج اکتا کلسیم فسفات (Ca<sub>8</sub>-P)، ۵۰ میلی لیتر فلورید آمونیوم ۰/۵ (NH<sub>4</sub>F) مولار برای استخراج فسفات‌های جذب سطحی شده بر اکسیدهای آلومینیوم (Al-P)، ۵۰ میلی لیتر سود و کربنات سدیم ۰/۱ مولار (NaOH- Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) برای استخراج فسفات‌های جذب سطحی شده توسط اکسیدهای آهن (Fe-P)، ۵۰ میلی لیتر اسید سولفوریک ۰/۵ مولار (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) برای استخراج فسفات بصورت آپاتیت (Ca<sub>10</sub>-P) استفاده شد پس از هر مرحله استخراج متوالی، خاک‌ها سانتیفریوژ شدند و دو بار با الکل و یا محلول اشباع NaCl شسته شدند. غلظت فسفر در عصاره‌ها بلافاصله با روش رنگ سنجی تعیین گردید (Murphy & Riley, 1962).

برای استخراج فسفر قابل دسترس از عصاره‌گیر اولسن (محلول بیکربنات سدیم ۰/۵ مولار (pH= 8.5)) و فسفر کل از روش هضم دو اسید استفاده شد (Olsen & Sommers, 1982). به دلیل کم بودن مقدار ماده آلی نمونه خاک‌ها از فسفر آلی چشم‌پوشی گردید. بدین ترتیب فسفر باقیمانده (Residual-P) از اختلاف بین اجزاء معدنی فسفر از فسفر کل محاسبه گردید.

$$\text{اجزاء فسفر معدنی} = \text{فسفر کل} - \text{فسفر باقیمانده}$$

### تجزیه داده ها

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS، تجزیه واریانس (ANOVA) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد ( $P < 0.05$ ) انجام و برای رسم نمودارها از برنامه اکسل استفاده شد.

### نتایج و بحث

#### تأثیر تیمارها بر pH، فسفر قابل دسترس (Olsen-P) و فسفر کل خاک‌ها

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، (جدول ۴) اثرات اصلی و متقابل فاکتورهای آزمایش بر pH خاک‌ها معنی‌دار ( $P < 0.01$ ) معنی‌دار بود. اعمال تیمارهای آزمایش کاهش نسبتاً زیاد و ثابت (۰/۴ - ۰/۱ واحد) pH خاک‌ها را نشان داد (جدول ۵). در دوره اول انکوباسیون، تنها تیمار BC-RP-PSB pH خاک‌ها را بطور معنی‌دار کاهش داد (جدول ۵). با افزایش طول دوره انکوباسیون به‌طور متوسط بیشترین (۸/۳ واحد) و کمترین (۷/۷۵ واحد) pH خاک S1 بترتیب در تیمارهای TSP و BC-RP-PSB و در خاک S2 بترتیب در تیمارهای BC (۷/۶۷ واحد) و BC-RP-PSB (۷/۱ واحد) بدست آمد. در توافق با نتایج پژوهش، Namli و همکاران (۲۰۱۷) در بررسی تأثیر باکتری‌های حل‌کننده فسفات بر برخی خصوصیات خاک و عملکرد گندم، کاهش ۰/۱۸ واحدی pH خاک ریزوسفر و ۰/۲۴ واحدی pH خاک غیرریزوسفری را گزارش کردند. در اغلب مطالعات، دلیل کاهش pH خاک در اثر تلقیح حل‌کننده‌های فسفات به تولید اسیدهای آلی جهت انحلال فسفات‌های نامحلول (Chen et al., 2006) و سایر متابولیت‌های میکروبی (Abd-Alla, 1994) نسبت داده شده است.

جدول ۴- تجزیه واریانس مقادیر فسفر قابل استفاده و شکل‌های مختلف فسفر در خاک‌ها  
Table 4. Analysis of variance for P-Olsen and fractions phosphorus in soils

Source of variation	Df	Mean Square								
		pH	P-olsen	P-total	Ca <sub>2</sub> -P	Ca <sub>8</sub> -P	Al-P	Fe-P	Ca <sub>10</sub> -P	Rs-P
Soil (S)	1	346**	317**	5867**	922**	1486**	329**	387**	1273 <sup>ns</sup>	67**
Treat (T)	5	327**	2562**	54 <sup>ns</sup>	2077**	4834**	10**	886**	27**	204*
Incubation time (I)	2	3924*	2092**	23 <sup>ns</sup>	479**	1554**	7.7**	57**	823 <sup>ns</sup>	700 <sup>ns</sup>
S×T	5	419**	625**	341 <sup>ns</sup>	45**	153**	4.4**	309**	134 <sup>ns</sup>	284**
S×I	2	957**	25**	213 <sup>ns</sup>	23*	28.4**	1.2**	10**	128 <sup>ns</sup>	349 <sup>ns</sup>
T×I	10	495**	452**	16.3 <sup>ns</sup>	561**	34.9**	11.5**	73.2**	45.6*	321*
S×T×I	20	33**	440**	1234 <sup>ns</sup>	83**	523**	8.2**	110**	412 <sup>ns</sup>	288 <sup>ns</sup>
Error	70	2.1	0.7	0.64	4.7	2.7	0.2	0.8	0.12	5.5
CV (%)		9.4	11.7	10.4	9.6	1.2	4.3	4.5	13.7	16.7

ns, \* and \*\* respectively non-significant, significant at 1% and 5%

جدول ۵- اثر تیمارهای آزمایش بر pH خاک‌های مورد آزمایش در طول دوره انکوباسیون  
Table 5. The effect of treatments on the pH of soils during the incubation

Treatments	Incubation time (day)					
	7		30		60	
	S1	S2	S1	S2	S1	S2
Cont	8.1±0.02	7.54±0.04	8.0±0.01	7.6±0.06	8.2 ± 0.02	7.5±0.02
BC	8.1±0.02	7.6±0.03	8.12±0.012	7.6±0.03	8.3± 0.03	7.67 ± 0.02
PSB	8.0±0.01	7.47±0.06	7.9±0.016	7.43±0.02	7.87±0.01	7.39 ± 0.02
BC-PSB	8.1±0.01	7.5±0.01	7.8±0.05	7.4±0.01	7.8±0.02	7.35 ± 0.01
BC-PSB-RP	7.97±0.01	7.4±0.01	7.76±0.06	7.3±0.02	7.87±0.03	7.1±0.05
TSP	8.2±0.02	7.7±0.05	8.14±0.02	7.7±0.02	8.2±0.02	7.5±0.02
LSD	0.12	0.13	0.2	0.17	0.19	0.15
CV (%)	2.2	3.2	2.2	3.2	2.2	2.2

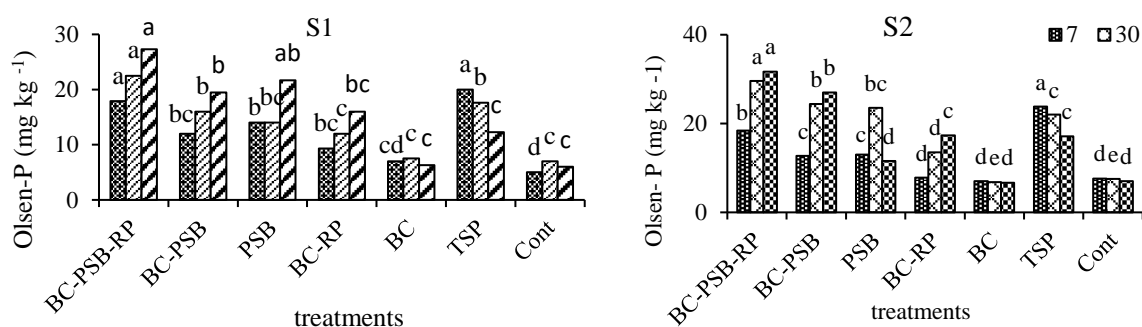
BC: بیوچار معمولی سبب-انگور، PSB: حل کننده‌های فسفات، BC-PSB: کمپلکس بیوچار-حل کننده‌های فسفات، BC-PSB-RP: کمپلکس بیوچار-خاک فسفات، BC-PSB-RP: کمپلکس بیوچار-خاک فسفات- حل کننده‌های فسفات، TSP: سوپرفسفات تریپل، Count، شاهد

BC-PSB-RP: Biochar-Phosphate solubilizing bacteria- rock phosphate, BC-PSB: Biochar-Phosphate solubilizing Bacteria, PSB: Phosphate solubilizing bacteria, BC: Apple-Grap Biochar, TSP: Super phosphate triple, Count: Control.

افزایش فعالیت فسفات‌تازی و معدنی کردن فسفات‌های آلی و برخی با تولید انواع اسیدهای آلی و انحلال سنگ فسفات با کلات کردن کاتیون کلسیم، مقدار فسفر محلول خاک را افزایش می‌دهند (Namli *et al.*, 2017). در این پژوهش مصرف بیوچار (BC) تأثیری در مقدار فسفر قابل جذب خاک‌ها نداشت شاید دلیل این امر کم بودن مقدار بیوچار مصرفی و یا کوتاه بودن طول دوره انکوباسیون باشد.

کاهش فسفر قابل جذب با گذشت زمان به دلیل فرایندهای جذب و رسوب به شکل کانی‌های فسفات کلسیم (Ca-P) در مطالعات متعدد گزارش شده است (Huck *et al.*, 2012; Sharpley, 1983; Opala *et al.*, 2012). در حالی که نتایج ما بطور متوسط افزایش

بر اساس نتایج شکل ۱، بعد از ۶۰ روز انکوباسیون، در اثر اعمال تیمار BC-RP-PSB مقدار فسفر اولسن خاک S1 و S2 به ترتیب از ۶ و ۷ میلی‌گرم در کیلوگرم به ۳/۳۵ و ۴۱/۷ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک افزایش یافت. در تحقیق حاضر در اثر کاربرد تیمار BC-RP-PSB فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در مقایسه با سایر تیمارها بطور قابل ملاحظه‌ای افزایش داشت (داده‌ها ارائه شده در مقاله نشر شده در مجله پژوهش‌های خاک). بالا بودن فعالیت این آنزیم در تیمار BC-RP-PSB برای هر دو خاک را می‌توان احتمالاً به افزایش فعالیت باکتری‌های مقاوم به شوری مورد استفاده در این مطالعه و زیست توده میکروبی خاک در پاسخ به ماده آلی افزوده شده نسبت داد. برخی از باکتری‌های حل کننده فسفات با



شکل ۱- مقایسه میانگین تأثیر تیمار آزمایش بر فسفر قابل استفاده خاک

Figure 1. Mean comparisons of treatments on the content of Olsen-P soil

BC-PSB-RP: کمپلکس بیوچار - باکتری‌های حل کننده فسفات- خاک فسفات، BC-PSB: کمپلکس بیوچار - حل کننده‌های فسفات، PSB، حل کننده‌های فسفات، بیوچار سیب-انگور، TSP: سوپرفسفات تریپل، Count، شاهد. حروف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار به روش آزمون LSD در سطح احتمال ۱٪. BC-PSB-RP: Biochar-Phosphate solubilizing bacteria- rock phosphate, BC-PSB: Biochar-Phosphate solubilizing Bacteria, PSB: Phosphate solubilizing bacteria, BC: Apple-Grap Biochar, TSP: Super phosphate triple, Count: Control. Means with similar letters are not significantly different at 1% probability level according to LSD tests

و یا مصرف تیمارها بر اساس نیاز استاندارد فسفر خاک‌ها و کم بودن مقدار بیوچار مصرفی باشد. بر خلاف نتایج ما، افزایش فسفر کل دو خاک اسیدی عمدتاً به شکل فسفر آلی توسط Lu و Hong (۲۰۱۸) در بررسی تأثیر انواع بیوچار (بیوچار پوسته برنج، بیوچار خیزران، بیوچار نی، بیوچار کاه و کلش برنج و بیوچار برگ درخت برگریز) در مقادیر ۱ و ۲ درصد بعد از ۹۰ روز انکوباسیون فقط در اثر کاربرد بیوچار کاه و کلش برنج با مقدار فسفر کل (۱۸/۸ گرم در کیلوگرم بیوچار) گزارش شده است.

#### تأثیر تیمارهای آزمایش بر اشکال معدنی فسفر

##### فسفات‌های کلسیم (Ca-P)

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثرات اصلی و متقابل فاکتورهای آزمایش بر مقدار دی کلسیم فسفات معنی-دار ( $P < 0.01$ ) بود (جدول ۴). بر اساس نتایج مقایسه میانگین در زمان اول انکوباسیون (۷ روز) به استثناء تیمار بیوچار غنی شده (BC-PSB-RP) سایر تیمارها تأثیری بر مقدار دی کلسیم فسفات خاک‌ها نداشتند اما با افزایش طول دوره انکوباسیون تأثیر افزایشی تیمارهای میکروبی بر مقدار دی کلسیم فسفات ( $Ca_2-P$ ) خاک‌ها مشاهده (جدول ۶ و ۷). در اثر اعمال تیمار BC-PSB-RP مقدار  $Ca_2-P$  خاک S1 و S2 بعد از ۳۰ روز انکوباسیون، نسبت به شاهد بترتیب ۹۷ و ۷۴ درصد افزایش یافت. تیمار BC-RP در دوره اول انکوباسیون مقدار دی کلسیم فسفات

۱/۵ برابری در میزان فسفر اولسن در اثر اعمال تیمارهای میکروبی بعد از ۶۰ روز انکوباسیون نشان داد که بیانگر تأثیر مثبت تیمارهای میکروبی اعمالی بر قابلیت فراهمی فسفر در طول دوره انکوباسیون می‌باشد. نتایج ما در تطبیق با نتایج Abd-Elrahman, 2016 بود که افزایش ۴۶ درصدی فسفر قابل جذب در اثر تلقیح باکتری‌های حل کننده فسفات بعد از ۷۵ روز انکوباسیون را گزارش کردند. نتایج پژوهش حاضر نشان داد افزایش غلظت فسفر قابل جذب با کاهش pH خاک‌ها منطبق شد و همبستگی منفی و معنی‌دار ( $r = -0.67$ ) بین مقدار فسفر اولسن و pH خاک برقرار بود که این همبستگی منفی توسط مطالعات پیشین نیز گزارش شده است، بیانگر اهمیت اسیدی شدن محیط در تسهیل انحلال فسفات-های کلسیم Ca-P می‌باشد (Illmer & Schinner, 1995; Hwangbo et al., 2003; Yu et al., 2011).

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۴) نشان داد تیمارهای آزمایش مقدار فسفر کل خاک‌ها را تحت تأثیر قرار ندادند. بین خاک‌ها از نظر مقدار فسفر کل اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. میزان فسفر کل خاک‌ها در دامنه ۲۷۸-۳۱۴ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک قرار داشت. پایین بودن میزان فسفر کل خاک‌ها دال بر عدم کوددهی خاک‌ها دارد. تیمارهای آزمایش فسفر کل خاک‌ها را تحت تأثیر قرار ندادند. دلیل این امر شاید کم بودن طول دوره انکوباسیون

(جدول ۴). براساس نتایج مقایسه میانگین (جدول ۶ و ۷) در اوایل دوره انکوباسیون، در اثر اعمال تیمارهای آزمایش تغییر معنی‌دار در جزء آپاتیت مشاهده نشد. آپاتیت پایدارترین شکل و مخزن فسفر در خاک‌های آهکی هست که تبدیل فسفات‌های محلول و کم محلول به شکل پایدار آپاتیت فرآیند کندی است و انتظار نمی‌رود که در طول دوره کوتاه مدت انکوباسیون پژوهش حاضر، تغییرات قابل ملاحظه‌ای در این شکل فسفات کلسیم صورت گیرد. اما بعد از ۶۰ روز انکوباسیون، در اثر اعمال تیمار BC-RP-PSB مقدار آپاتیت در خاک S1 و S2 بترتیب ۱۸ و ۲۵ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت (جدول ۶ و ۷). در توافق با نتایج ما، Abd-Elrahman (۲۰۱۶) کاهش معنی‌دار در مقدار آپاتیت یک خاک آهکی در نتیجه تلقیح جداگانه و توأم باکتری حل کننده فسفات (*Bacillus megaterium* var. *phosphaticum*) با کود فسفاته و انواع مواد آلی را گزارش کرد.

فسفات آلومینیوم (Al-P) و فسفات آهن (Fe-P) بعد از آپاتیت و اکتاکلسیم فسفات، فسفات‌های آلومینیوم فراوان ترین شکل فسفر در خاک‌های آهکی هستند که در پیوند با اکسیدهای آهن و آلومینیوم بخشی کریستالی و یا آمورف با قابلیت دسترسی پایین برای گیاهان می‌باشند (Cui et al., 2011). نتایج تجزیه واریانس (جدول ۴) نشان داد اثر اصلی و متقابل فاکتورهای آزمایش بر جزء Al-P معنی‌دار ( $P < 0.01$ ) بود. براساس نتایج مقایسه میانگین تیمارهای میکروبی (BC-RP و BC-PSB-RP) مقدار فسفات آلومینیوم خاک‌ها را بطور معنی‌دار تحت تاثیر قرار داند (بغیر از زمان اول). بعد از ۶۰ روز انکوباسیون، در اثر اعمال تیمار BC-RP-PSB مقدار فسفات آلومینیوم خاک S1 و S2 بترتیب ۴۵ درصد و ۶۴ درصد افزایش یافت. نتایج ما در توافق با نتایج پژوهش صورت گرفته توسط Liang (۲۰۰۸) بود که افزایش غلظت  $Ca_2-P$ ، Al-P و Fe-P و کاهش غلظت  $Ca_8-P$  و  $Ca_{10}-P$  در اثر کاربرد باکتری‌های حل کننده فسفات در یک خاک آهکی را گزارش کردند.

براساس نتایج مقایسه میانگین، تیمارهای آزمایش مقدار فسفات آهن (Fe-P) خاک‌ها را تحت تاثیر قرار نداد. این شاید بدین دلیل باشد که کوددهی آلی و شیمیایی خاک نقش موثری در تغییر مقدار این جزء نداشته است. بین

خاک‌ها را تحت تاثیر قرار نداد اما بعد از ۳۰ روز انکوباسیون، مقدار دی کلسیم فسفات هر دو خاک بطور معنی‌دار افزایش یافت و در سطح آماری یکسان با تیمار TSP قرار گرفت. در مقابل در تیمار TSP با گذشت زمان مقدار  $(Ca_2-P)$  خاک‌ها کاهش یافت دلیل احتمالی این امر می‌تواند حلالیت زیاد TSP نسبت به سنگ فسفات و افزایش تثبیت فسفر با گذشت زمان و در نتیجه افزایش تبدیل دی کلسیم فسفات به اکتاکلسیم فسفات باشد.

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۴)، اثر اصلی و متقابل فاکتورهای آزمایش بر مقدار اکتاکلسیم فسفات  $(Ca_8-P)$  خاک‌ها معنی‌دار بود. بر اساس نتایج مقایسه میانگین، در بین تیمارهای میکروبی (BC-PSB، PSB و BC-PSB-RP)، بیشترین کاهش در مقدار  $Ca_8-P$  در اثر تیمار بیوچار غنی شده با باکتری‌های حل کننده‌های فسفات (BC-RP-PSB) بعد از ۳۰ و ۶۰ روز انکوباسیون مشاهده شد در اثر این تیمار مقدار اکتاکلسیم فسفات در خاک S1 از ۲۵/۸ به ۱۶/۸ میلی‌گرم در کیلوگرم و در خاک S2 از ۴۶ به ۲۸ میلی‌گرم در کیلوگرم کاهش یافت. بعد از ۶۰ روز انکوباسیون، در نتیجه کاربرد تیمار BC-PSB مقدار  $Ca_8-P$  خاک S1 ۳۳ درصد و خاک S2 ۴۸ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت (جدول ۶ و ۷). مقدار  $Ca_8-P$  در تیمار BC-PSB بطور معنی‌دار کمتر از مقدار آن در کاربرد منفرد BC و PSB بود که می‌تواند حاکی از اهمیت بیوچار در افزایش فعالیت و تنوع میکروبی خاک و در نتیجه افزایش قابلیت فراهمی فسفر خاک باشد (Hammer et al., 2014, Zhai et al., 2015).

در توافق با نتایج این پژوهش، Yousefi و همکاران (۲۰۱۱) در بررسی تاثیر باکتری‌های حل کننده فسفات (*Pseudomonas 187*، *Azotobacter chroococcum*) و *fluorescens* و *fluorescens 36* (*Pseudomonas fluorescens*) و قارچ‌های آربوسکولار میکوریزا (*Glomus mossea*) و *Glomus intraradices*) بر اجزاء معدنی فسفر و رشد گندم، کاهش معنی‌دار مقدار اکتاکلسیم فسفات خاک‌های مورد مطالعه در نتیجه تلقیح توأم و جداگانه باکتری‌های حل کننده فسفات و قارچ‌های میکوریزا را گزارش کردند.

براساس نتایج تجزیه واریانس، تنها اثر اصلی تیمارهای آزمایش بر مقدار جزء آپاتیت معنی‌دار ( $P < 0.01$ ) بود



Karabatak (۲۰۱۷) در بررسی تاثیر انواع اصلاح کننده-های آلی بر جزءبندی فسفر در خاک‌های آهکی، افزایش معنی‌دار در مقدار Fe-P بعد از ۱۵ روز انکوباسیون را گزارش کردند. اما بعد از ۳۰-۴۵ روز انکوباسیون بسته به نوع خاک، مقدار و نوع بقایای آلی مقدار Fe-P کاهش یافته و قابل چشم‌پوشی بود. آنها بیان کردند فسفر محلول اضافه شده به خاک‌های آهکی بلافاصله به Ca-P پایدار تبدیل می‌گردد.

خاک‌ها نیز تفاوت اندکی در مقدار Fe-P خاک‌ها مشاهده شد. Song و همکاران (۲۰۱۷) افزایش متناسب مقدار Fe-P در نتیجه کاهش ثابت pH خاک آهکی را عنوان کردند. در این پژوهش، علیرغم کاهش ثابت pH هر دو خاک در طول انکوباسیون در اثر کاربرد تیمارها، مقدار فسفات آهن خاک‌ها تنها در دوره اول انکوباسیون (روز ۷) افزایش یافت. در توافق با نتایج ما Uygur و

جدول ۶- مقایسه میانگین اثر تیمارهای آزمایش بر اشکال معدنی فسفر در خاک S1 در طول دوره انکوباسیون

Table 6. Mean comparison of the effect of treatments on P mineral forms in S1 soil during incubation period

Treatments	After 7 days					
	Ca <sub>2</sub> -P	Ca <sub>8</sub> -P	Al-P	Fe-P	Ca <sub>10</sub> -P	Residual-P
Cont	4.5b	28.8a	9.4a	11.6b	167.7a	57b
BC	3.6b	28.5a	10.4a	11.1b	166.6a	55.7b
BC-RP	3.5b	30.3a	10.3a	12.2b	165.3a	56b
PSB	4.5 b	23.3 b	10.3a	12b	166.3a	61b
BC-PSB	5.4ab	24.9b	10.1a	11.8b	165a	63a
BC-PSB-RP	6.5a	25.4b	9.3a	12b	155b	64a
TSP	4.6b	29.5a	9.2a	11.9b	168a	57b
After 30 days						
Cont	4.8c	28.3b	9.4a	11.3a	168.2a	57b
BC	4.8c	29.6ab	9.4a	11.7a	170.3a	54b
BC-RP	9.3b	31.3a	10.3a	11.7a	166.3a	56b
PSB	11.3b	23.3a	6.5b	11.6a	152a	66b
BC-PSB	29.2a	19.7c	5.4c	11.5a	140b	70a
BC-PSB-RP	27a	21c	4.8c	11.5a	140b	71a
TSP	11.3b	30ab	7.8b	12.9a	164a	54b
After 60 days						
Cont	3.6c	28.8b	9.4ab	11.3a	165b	60b
BC	4.5c	30.1b	10.4a	11.7a	167b	56b
BC-RP	12.2b	33.9a	10.3a	11.7a	179a	56b
PSB	16.2b	23.9a	5.1c	10.2a	179a	67a
BC-PSB	30.4a	20.3c	4.7c	11.6a	137.3c	78a
BC-PSB-RP	37.9a	19.8c	4.8c	12a	134c	81a
TSP	2.6c	30b	7.8b	9.9a	173a	58b

BC: بیوجار معمولی سبب-انگور، PSB: حل کننده‌های فسفات، BC-PSB: کمپلکس بیوجار-حل کننده‌های فسفات، BC-PSB-RP: کمپلکس بیوجار-خاک فسفات- حل کننده‌های فسفات، TSP: سوپرفسفات تریپل، Count، شاهد

BC-PSB-RP: Biochar-Phosphate solubilizing bacteria- rock phosphate, BC-PSB: Biochar-Phosphate solubilizing Bacteria, PSB: Phosphate solubilizing bacteria, BC: Apple-Grap Biochar, TSP: Super phosphate triple, Count: Control

جدول ۷- مقایسه میانگین اثر تیمارهای آزمایش بر اشکال معدنی فسفر در خاک S2 در طول دوره انکوباسیون

Table 7. Mean comparison of the effect of treatments on P mineral forms in S2 soil during incubation period

Treatments	After 7 days					
	Ca <sub>2</sub> -P	Ca <sub>8</sub> -P	Al-P	Fe-P	Ca <sub>10</sub> -P	Residual-P
Cont	7.5b	46.0a	10.3a	7.5b	145.5a	85b
BC	6.6b	44.9a	10.4a	7.3b	149a	87b
BC-RP	5.9b	45.4a	10a	6.8b	144a	87b
PSB	7.9a	35.4a	10a	7.8b	147a	87a
BC-PSB	6.4b	39.6a	11a	8.2b	148a	90a
BC-PSB-RP	8a	40a	11.2a	9.5a	148a	91a
TSP	8.4a	45a	9.7a	6.2b	144.6a	87b
Treatments	After 30 days					
	Ca <sub>2</sub> -P	Ca <sub>8</sub> -P	Al-P	Fe-P	Ca <sub>10</sub> -P	Residual-P
Cont	6.4c	44.6	10.3b	7.5a	147.2a	85b
BC	5.9c	53.2a	10.4b	7.3a	145.2a	87b
BC-RP	13.7b	46.3b	10.3b	6.8a	146.3a	87b
PSB	15.7b	26b	9b	7a	133b	94a
BC-PSB	24a	27.5c	9.7b	7.6a	121b	93a
BC-PSB-RP	32a	27c	9.7b	7.6a	117b	98a
TSP	4.7c	49.9ab	12a	7.2a	148.3a	87b
Treatments	After 60 days					
	Ca <sub>2</sub> -P	Ca <sub>8</sub> -P	Al-P	Fe-P	Ca <sub>10</sub> -P	Residual-P
Cont	8.2c	46.3b	11.1b	7.5a	147.4a	86b
BC	6cd	49.2b	12.4ab	7.3a	151a	87b
BC-RP	15.4b	47.4b	11.3b	6.8a	149.4a	87b
PSB	22.4b	25b	9.4b	7.4a	149a	93a
BC-PSB	34a	24c	8.5c	7a	113b	98a
BC-PSB-RP	43a	28c	7.6c	8.1a	114b	93a
TSP	4d	57.4a	13.5a	7.2a	148.5a	87b

BC: بیوچار معمولی سیب-انگور، BC-RP: کمپلکس بیوچار- خاک فسفات، BC-PSB-RP: کمپلکس بیوچار- خاک فسفات- باکتری‌های حل کننده فسفات، TSP: سوپرفسفات تریپل. حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار آماری ( $P < 0.01$ ) است.

BC-PSB-RP: Biochar-phosphate solubilizing bacteria- rock phosphate, BC-PSB: Biochar-Phosphate solubilizing Bacteria, PSB: Phosphate solubilizing bacteria, BC: Apple-Grap Biochar, TSP: Super phosphate triple, Count: Control. Means with similar letters are not significantly different at 1% probability level according to LSD tests

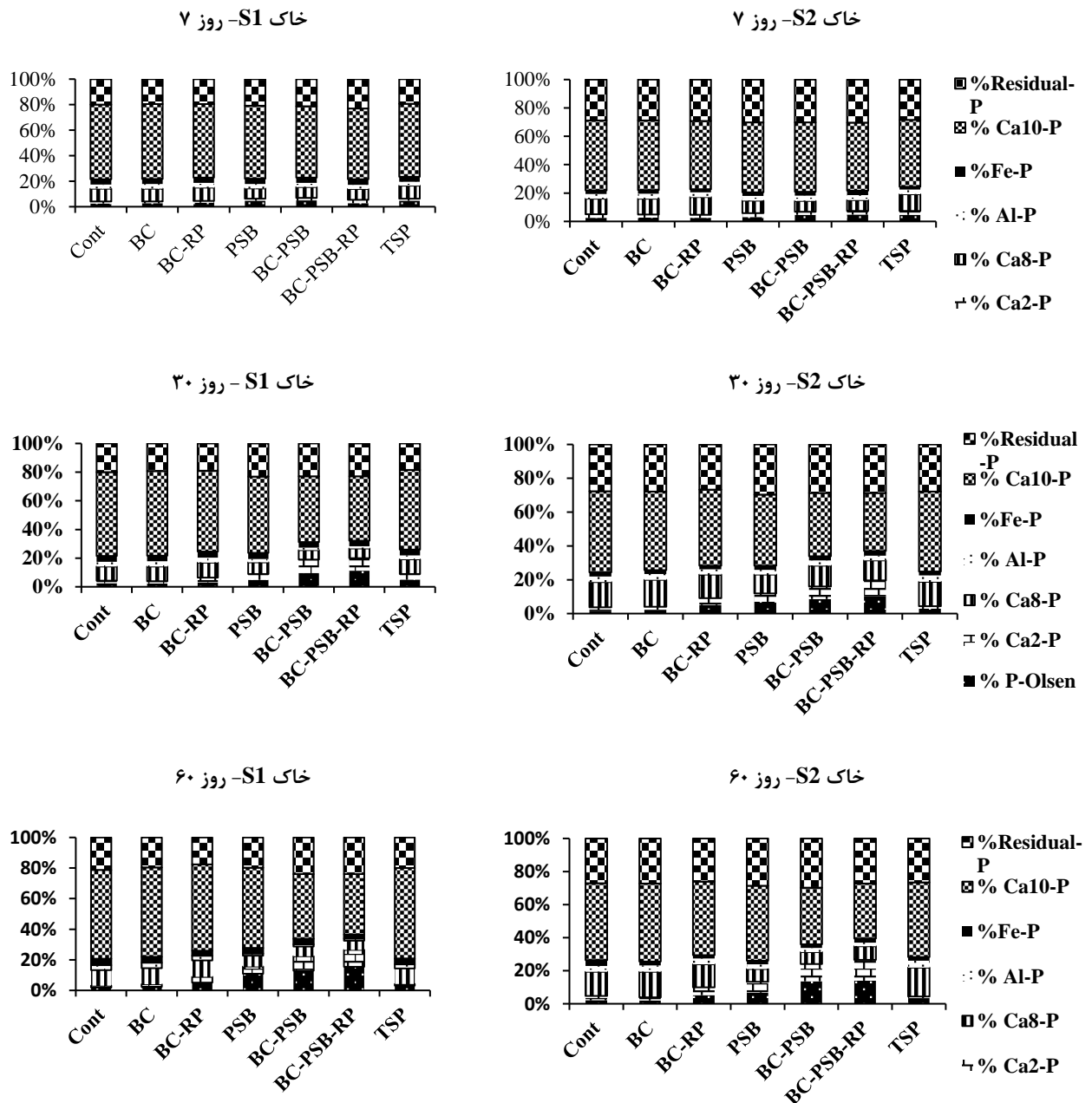
استفاده (۲/۴٪) بود. بطور میانگین در اثر اعمال تیمارهای میکروبی ترتیب توزیع اجزاء مختلف فسفر بصورت آپاتیت (۳۵/۵٪) < باقیمانده (۳۲/۰٪) < فسفر قابل استفاده (۱۳/۱٪) < دی کلسیم فسفات (۱۰/۰٪) < اکتاکلسیم فسفات (۶/۵٪) < فسفات آهن (۲/۴٪) < فسفات آلومینیوم (۲/۱٪) تغییر کرد. در نتیجه کاربرد بیوچار غنی شده و تیمارهای میکروبی، بخش آپاتیت، اکتاکلسیم و فسفات آلومینیوم هر دو خاک به دی کلسیم فسفات تبدیل شد و قابلیت فراهمی فسفر بطور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافت. کاهش درصد آپاتیت، اکتاکلسیم فسفات و فسفات آلومینیوم و افزایش درصد دی کلسیم فسفات و فسفر اولسن می‌تواند نشان دهنده افزایش قابلیت فراهمی فسفر توسط تیمارهای میکروبی آزمایش باشد. بطور کلی در هر دو خاک، جزء آپاتیت و باقیمانده بیشترین سهم نسبی فسفر معدنی را به خود اختصاص دادند. Jalali و Tabar (۲۰۱۱) در بررسی جزءبندی فسفر در طیف

#### توزیع شکل‌های فسفر تحت اثر تیمارهای مورد مطالعه در طول انکوباسیون

توزیع شکل‌های معدنی فسفر در خاک S1 به صورت آپاتیت (۵۹٪) < فسفر باقیمانده (۲۰/۴٪) < اکتاکلسیم فسفات (۱۰/۰٪) < فسفات آلومینیوم (۳/۴٪) < دی-کلسیم فسفات (۱/۴٪) < فسفات آهن (۴/۲٪) < فسفر قابل استفاده (۱/۶٪) بود. در اثر اعمال تیمار BC-PSB-RP بعد از ۶۰ روز انکوباسیون توزیع اشکال فسفر، بطور میانگین به آپاتیت (۴۷/۲٪) < باقیمانده (۲۸/۶٪) < فسفر قابل استفاده (۱۸/۴٪) < دی کلسیم فسفات (۱۳/۴۴٪) < اکتاکلسیم فسفات (۷/۱٪) < فسفات آهن (۳/۲٪) < فسفات آلومینیوم (۱/۷٪) تغییر یافت. ترتیب توزیع اشکال فسفر در خاک S2 به صورت آپاتیت (۵۰/۱٪) < باقیمانده (۲۷/۵٪) < اکتاکلسیم فسفات (۱۶/۵٪) < دی کلسیم فسفات (۲/۶٪) < فسفات آلومینیوم (۳/۳٪) < فسفات آهن (۲/۷٪) < فسفر قابل

این امر را ماهیت و غالبیت  $\text{CaCO}_3$  و همچنین اکسیدهای آهن در پیوند با فسفر در خاک‌های آهکی عنوان کردند.

وسیع‌تری از خاک‌های آهکی با بارندگی کمتر از ۳۰۰ میلی‌متر و با کاربری‌های متفاوت گزارش کردند آپاتیت و فسفر باقیمانده دارای بیشترین فراوانی نسبی بود. دلیل



شکل ۲- توزیع نسبی شکل‌های فسفر حاصل از عصاره‌گیری متوالی در تیمارهای مختلف

Figure 2. Relative contribution of phosphorus forms from sequential extraction in different treatments  
 BC: بیوجار معمولی سیب-انگور، PSB: حل‌کننده‌های فسفات، BC-PSB: کمپلکس بیوجار-حل‌کننده‌های فسفات، BC-PSB-RP: کمپلکس بیوجار-خاک  
 فسفات- حل‌کننده‌های فسفات، TSP: سوپرفسفات تریپل، Count: شاهد  
 BC-PSB-RP: Biochar-Phosphate solubilizing bacteria- rock phosphate, BC-PSB: Biochar-Phosphate solubilizing Bacteria, PSB:  
 Phosphate solubilizing bacteria, BC: Apple-Grap Biochar, TSP: Super phosphate triple, Count: Control

وجود همبستگی مثبت و معنی‌دار بین فسفر اولسن با اجزاء معدنی  $\text{Ca}_2\text{-P}$  و Residual بیانگر برگشت‌پذیر

همبستگی شکل‌های مختلف فسفر با فسفر قابل دسترس خاک

(Samadi, 2003) و نجفی و توفیقی (۱۳۹۰) نیز بترتیب توجیه ۹۰ و ۸۳ درصدی تغییرات P-Olsen به وسیله دی‌کلسیم فسفات را گزارش کردند. وجود همبستگی منفی بین فسفر اولسن با Ca<sub>8</sub>-P و Ca<sub>10</sub>-P و Al-P می‌تواند بیانگر این باشد که این اجزاء معدنی فسفر در تأمین فسفر قابل جذب گیاه در کوتاه مدت نقشی ندارند عبارتی کاهش میزان این اجزاء پس از اعمال تیمارها و وجود همبستگی منفی نشان دهنده تبدیل این اجزاء به فسفر قابل استفاده طی یک پروسه کند است که کمبود فسفر محلول را جبران می‌کند (Zhang et al., 2004; Abdollahi, 2010).

بودن فسفر جذب شده توسط این اجزاء می‌باشد. عبارتی این اجزاء می‌تواند منبع اصلی فسفر قابل جذب گیاه در خاک‌های مورد مطالعه باشد و احتمالاً فسفر استخراج شده توسط عصاره‌گیر اولسن از این اجزاء آزاد می‌شود (Samadi & Gilkes, 1998). بیشترین ضریب همبستگی مربوط به P-Olsen و شکل Ca<sub>2</sub>-P بود که احتمالاً حلالیت بالای دی‌کلسیم فسفات در مقایسه با دیگر اجزاء دلیل این امر باشد. در بین اجزاء معدنی، شکل Ca<sub>2</sub>-P بیشترین اثر را بر مقدار فسفر قابل جذب خاک‌های مورد مطالعه داشت، به طوری که ۹۸ درصد تغییرات P-Olsen توسط Ca<sub>2</sub>-P توجیه می‌شود. در توافق با نتایج ما، صمدی

جدول ۸- ضریب همبستگی بین اجزاء مختلف فسفر معدنی در تیمارهای مورد استفاده

Table 8. Correlation coefficient (r) between different fractions of mineral P in different treatments

	P-Olsen	Ca <sub>2</sub> -P	Ca <sub>8</sub> -P	Al-P	Fe-P	Ca <sub>10</sub> -P
P-Olsen	1	-	-	-	-	-
Ca <sub>2</sub> -P	0.98**	1	-	-	-	-
Ca <sub>8</sub> -P	-0.76**	0.93**	1	-	-	-
Al-P	-0.75**	0.45 <sup>ns</sup>	-0.37 <sup>ns</sup>	1	-	-
Fe-P	0.41 <sup>ns</sup>	0.41 <sup>ns</sup>	0.76**	-0.51*	1	-
Ca <sub>10</sub> -P	-0.79**	-0.73	0.95**	-0.33 <sup>ns</sup>	0.74**	1
Residual-P	0.67**	0.82**	-0.76**	-0.28 <sup>ns</sup>	-0.79**	-0.75**

ns, \* and \*\* respectively non-significant, significant at 5% and 1%

مقدار دی‌کلسیم فسفات و کاهش مقادیر اکتاکلسیم فسفات و آپاتیت مربوط به تیمار BC-PSB-RP بود. در این پژوهش، فسفر قابل جذب گیاه همبستگی مثبت و معنی‌دار با دی‌کلسیم فسفات و فسفر باقیمانده داشت. عبارتی این اشکال در تأمین فسفر قابل جذب گیاه نقش داشتند. این مطالعه به قابلیت دسترسی شیمیایی فسفر خاک در شرایط انکوباسیون بدون در نظر گرفتن قابلیت دسترسی مکانی در شرایط مزرعه پرداخت. تحقیقات گسترده با در نظر گرفتن عوامل مختلف محیطی و شیوه‌های مدیریتی مختلف تحت شرایط رشد گیاه برای برون‌یابی این نتایج به شرایط مزرعه لازم است.

### نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد استفاده از بیوچار غنی شده و تیمارهای میکروبی باعث تغییر در میزان فسفر و تبدیل و استفاده از اجزاء معدنی فسفر شده است. نتایج پژوهش کاهش ثابت pH خاک‌ها در اثر کاربرد بیوچار غنی شده را نشان داد که می‌تواند به عنوان عامل بسیار مهم در کنترل قابلیت فراهمی فسفر در خاک‌های مورد مطالعه باشد. از اینرو در این خاک‌ها غنی‌سازی بیوچار می‌تواند در افزایش حاصلخیزی فسفر خاک موثر واقع گردد. در بین تیمارهای میکروبی بیشترین اثر مثبت در افزایش

## References

- Abd-Alla M.H., 1994. Phosphatases and the utilization of organic phosphorus by *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae*, *Letters in Applied Microbiology*, 18: 294-296.
- Abd-Elrahman S. H., 2016. Effect of unconventional phosphorus sources and phosphate solubilizing bacteria on fractions of phosphorus in a calcareous soil cultivated with wheat plants. *International Journal of Plant and Soil Science*.
- Akhtar S. S., Andersen M. N., and Liu F. 2015. Biochar mitigates salinity stress in potato. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 201(5): 368-378.
- Akhtar, S. S., Andersen, M. N., Naveed, M., Zahir, Z. A., and Liu, F. 2015. Interactive effect of biochar and plant growth-promoting bacterial endophytes on ameliorating salinity stress in maize. *Functional Plant Biology*, 42(8): 770-781.
- Ali S., Charles T.C., and Glick B.R. 2014. Amelioration of high salinity stress damage by plant growth-promoting bacterial endophytes that contain ACC deaminase. *Plant Physiology and Biochemistry*. 80:160-167.
- Ashraf M., and Akram N.A. 2009. Improving salinity tolerance of plants through conventional breeding and genetic engineering: an analytical comparison. *Biotechnol. Adv.* 27: 744-752
- Bhise K.K., Bhagwat P.K. and Dandge P.B. 2017. Plant growth-promoting characteristics of salt tolerant *Enterobacter cloacae* strain KBPD and its efficacy in Amelioration of salt stress in *Vigna radiata* L. *Journal of Plant Growth Regulation*. 36: 215–226.
- Ch'ng H. Y., Ahmed O. H., and Majid N. M. A. 2014. Improving phosphorus availability in an acid soil using organic amendments produced from agroindustrial wastes. *The Scientific World Journal*, 2014.
- Chen Y.P., Rekha P.D., Arun A.B., Shen F.T., Lai W.A., and Young C.C. 2006. Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. *Applied Soil Ecology* 34(1): 33-41.
- Chia C. H., Singh B. P., Joseph S., Graber E. R., and Munroe P. 2014. Characterization of an enriched biochar. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 108: 26-34.
- Chimdi A., Esala M., and Ylivainio K. 2014. Sequential fractionation patterns of soil phosphorus collected from different land use systems of Dire Inchine District, West Shawa Zone, Ethiopia. *American-Eurasian Journal of Scientific Research*. 9(3): 51-57.
- Chinnusamy V., Jagendorf A., and Zhu J. 2005. Understanding and improving salt tolerance in plants. *Crop Science*. 45: 437-448.
- Dehghani F., and Saadat S., 2019. Handbook of Use Gypsum to Remediate Sodic Soils, Iran, 30p.
- Esawy M., Lamyaa Abd M.I., E R and Khader A. 2019. Effects of biochar and phosphorus fertilizers on phosphorus fractions, wheat yield and microbial biomass carbon in *Vertic Torrifluvents*. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 50(3) 362-372.
- Francois L. E., and Maas E.V. 1994. Crop Response and Management on Salt-Affected Soils. In: Pessarakli, M. (Ed.), *Handbook of Plant and Crop Stress*. Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 149-181.
- Halford. I. C. R. 1979. Evaluation of soil phosphate buffering indices, *Australian Journal Soil Research*. 17. 495-504.
- Hammer E.C., Balogh-Brunstad Z., Jakobsen I., Olsson P.A., and Stipp SLRillig M.C. 2014. A mycorrhizal fungus grows on biochar and captures phosphorus from its surfaces. *Soil Biology and Biochemistry* 77: 252-260.
- Hinsinger P., Brauman A., Devau N., Gerard F., Jourdan C., Laclau J.P., Cadre E., Jaillard B.T., and Plassard C. 2011. Acquisition of phosphorus and other poorly mobile nutrients by roots. Where do plant nutrition models fail? *Plant Soil*. 348(1-2): 29-61.
- Jalali M., and Tabar S.S. 2011. Chemical fractionation of phosphorus in calcareous soils of Hamedan, western Iran under different land use. *Plant Nutrient and Soil Science*. 174:523–531.
- Keren R. 2000. Salinity. In: Sumner ME, editor. *Handbook of Soil Science*. Boca Raton, FL: CRC Press, pG3–G25.
- Klute A. 1986. *Methods of Soil Analysis, Part 1 Physical and Mineralogical Methods*, Arnold Klute ed. Agronomy, 9, (part 1).
- Lashari M.S., Ye Y., Ji H., Li L., Kibue G.W., Lu H., Zheng J., and Pan G. 2014. Biochar-manure compost in conjunction with pyroligneous solution alleviated salt stress and improved leaf

- bioactivity of maize in a saline soil from Central China: A two-year field experiment. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.
- Lehmann J., Rillig M.C., Thies J., Masiello C.A., Hockaday W.C., and Crowley D. 2011. Biochar effects on soil biota – a review. *Soil Biology and Biochemistry* 43, 1812–1836.
- 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 Biochemical*. 37: 1185–1195.
- Murphy I. C. R., and Riley J. P. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica. Acta*. 27: 31-143.
- Namli A., Mahmood A., Sevilir B., and Özkır E. 2017. Effect of phosphorus solubilizing bacteria on some soil properties, wheat yield and nutrient contents. *Eurasian Journal of Soil Science*. 6(3): 249-258.
- Nelson D. W., and Sommers L. 1982. Total Carbon, Organic Carbon, and Organic Matter 1. Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological Properties, (Methods of soil analysis part 2). 539-579.
- Olsen S. R., Sommers L. E., and Page A. L. 1982. Methods of Soil Analysis. Part, 2, 403-430.
- Opala P. A., Okalebo J. R., and Othieno C. O. 2012. Effects of organic and inorganic materials on soil acidity and phosphorus availability in a soil incubation study. *ISRN Agronomy*.
- Pitman M. G., and Läuchli A. 2002. Global Impact of Salinity and Agricultural Ecosystems. In *Salinity: Environment-Plants-Molecules* (pp. 3-20). Springer, Dordrecht.
- Rajkovich, S., Enders, A., Hanley, K., Hyland, C., Zimmerman, A. R., and Lehmann, J. (2012). Corn growth and nitrogen nutrition after additions of biochars with varying properties to a temperate soil. *Biology and Fertility of Soils*, 48, 271–284.
- Rasouli-Sadaghiani M. H., Barin M., Ashrafi-Saeidlou S. Shakouri F. 2019. Effects of phosphate-solubilizing microorganisms and mycorrhizal fungi on the growth parameters of corn (*Zea mays* L.) under salinity condition. *Applied Soil Research*, 7(3):25-39.
- Samadi A., and Gilkes R. J. 1998. Forms of phosphorus in virgin and fertilised calcareous soils of Western Australia. *Soil Research*. 36(4): 585-602.
- Sharpley A.N., Smith S. J., and Bain W. R. 1993. Nitrogen and phosphorus fate from long-term poultry litter applications to Oklahoma soils. *Soil Science Society of America Journal*. 57(4): 1131-1137.
- Thomas S.C., Frye S., Gale N., Garmon M., Launchbury R., Machado N., Melamed S., Murray J., Petroff A., and Winsborough C. 2013. Biochar mitigates negative effects of salt additions on two herbaceous plant species. *Journal of Environmental Management*. 129: 62–68.
- Uygur V., and Karabatak I. 2009. The effect of organic amendments on mineral phosphate fractions in calcareous soils. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 172(3): 336-345.
- Zhai L. Z., Cai Ji J., Liu H., Wang T. Ren, Gai X. and Liu H. 2015. Short-term effects of maize residue biochar on phosphorus availability in two soils with different phosphorus sorption capacities. *Biology and Fertility of Soils*. 51: 113-122.

## Effect of Enriched Biochar and Phosphate Solubilizing Bacteria (PSB) on the Distribution of Phosphorus Forms in a Saline and non-Saline Soil of Lake Urmia Basin

Roghayeh Mousavi<sup>1</sup>, MirHassan Rasouli-Sadaghiani<sup>2\*</sup>, Ebrahim Sepehr<sup>2</sup>, Mohsen Barin<sup>3</sup>

(Received: November 2020

Accepted: September 2021)

### Abstract

To study the effect of enriched biochar (EB) by phosphate solubilizing bacteria (PSB) on soil phosphorus (P) fractionation and explain the change in soil phosphorus availability by determining changes in different forms of phosphorus, a factorial incubation experiment in a randomized complete design with six treatments (fertilizer treatments (control (count), biochar (BC), phosphate fertilizer (TSP), Biochar-Rock phosphate (BC-RP), biochar- PSB (BC-PSB) and enriched-biochar with rock phosphate and PSB (BC-RP-PSB) and two soil types with different EC (2 and 15 dS m<sup>-1</sup>) was studied in saline soils around Lake Urmia. Olsen-P, pH and different forms of inorganic P were determined by sequential extraction method at 7, 30 and 60 days of incubation. The results showed that on average, the BC-PSB-RP and BC-PSB treatments reduced the pH of soils S1 and S2 0.1 and 0.4 unit, respectively. BC-PSB-RP treatments reduced Olsen-P of S1 and S2 soils from 6 to 35.3 mg.kg<sup>-1</sup> and 7 to 41.7 mg.kg<sup>-1</sup>, respectively. Microbial treatments significantly ( $p < 0.01$ ) altered the distribution and amount of inorganic P forms. BC-PSB-RP treatment increased the amount of Ca<sub>2</sub>-P fraction in S1 soil by 10 and in S2 soil by 5.2 time. However, the amounts of Ca<sub>8</sub>-P, Al-P and Ca<sub>10</sub>-P fractions reduced significantly. Olsen P positively and significantly correlated with Ca<sub>2</sub>-P, Fe-P, and Ca<sub>10</sub>-P fractions and suggesting that in the extraction of Olsen-P, phosphorus is released from these mineral fractions. The results showed that the use EB by PSB can provide long-term P supply to plants and had a better effect on increasing the availability of P in saline conditions.

**Keywords:** Inorganic phosphorus fractions, Phosphorus availability, Saline soils, Enriched-biochar

Mousavi R., Rasouli-Sadaghiani M.H., Sepehr E., and Barin M. 2022. Effect of enriched biochar and phosphate solubilizing bacteria (PSB) on the distribution of Phosphorus forms in a saline and non-saline soil of Lake Urmia Basin. *Applied Soil Research*, 10(3): 15-29.

1. Ph.D. Student of Soil Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

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

3. Assistant Professor, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

\* Corresponding Author Email: [m.rsadaghiani@urmia.ac.ir](mailto:m.rsadaghiani@urmia.ac.ir)