



دانشگاه گیلان

نشریه پژوهش‌های حفاظت آب و خاک  
جلد بیست و نهم، شماره دوم، ۱۳۹۸  
۱۵۷-۱۷۵

<http://jwsc.gau.ac.ir>  
DOI: 10.22069/jwsc.2019.15690.3087

## پیامد پسماند جامد کارخانه روغن‌کشی زیتون و باکتری‌های سودوموناس بر قابلیت دسترسی فسفر و برخی ویژگی‌های زیستی یک خاک آهکی

مهشید ماه‌صفت<sup>۱</sup>، نسرین قربان‌زاده<sup>۲</sup>، محمدباقر فرهنگی<sup>۲</sup> و مریم خلیلی‌راد<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup>دانشجوی کارشناسی‌ارشد گروه علوم خاک، دانشگاه گیلان، <sup>۲</sup>استادیار گروه علوم خاک، دانشگاه گیلان

تاریخ دریافت: ۹۷/۷/۱۳؛ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۰/۱۸

### چکیده

**سابقه و هدف:** ضایعات صنعتی - کشاورزی حاصل از فرایندهای روغن‌کشی زیتون، یک مشکل عمده زیست‌محیطی برای بسیاری از کشورهای تولیدکننده زیتون محسوب می‌شود. استفاده از این پسماندهای آلی مانند پسماند جامد زیتون می‌تواند برای بهبود شرایط خاک مفید باشد. فسفر عنصری ضروری پرمصرف برای رشد گیاه محسوب می‌شود. باکتری‌های حل‌کننده فسفر برای انحلال فسفر از منابع نامحلول دارای اهمیت هستند. با توجه به تولید حجم زیاد پسماند جامد در کارخانه‌های روغن‌کشی زیتون به‌ویژه در استان گیلان و از سویی نیاز روزافزون به کودهای فسفر در کشاورزی، این پژوهش با هدف افزایش فسفر قابل‌دسترس پسماند جامد زیتون در حضور باکتری‌های سودوموناس حل‌کننده فسفر انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** پسماند جامد از کارخانه روغن‌کشی (رودبار استان گیلان) تهیه شد. خاک لومی از لوشان از عمق ۰-۳۰ سانتی‌متری نمونه‌برداری شد. سودوموناس بومی با توان انحلال فسفر بر روی محیط کشت اسپربر حاوی فسفر نامحلول، جداسازی و شاخص انحلال فسفر اندازه‌گیری شد. تیمارها شامل سه سطح پسماند جامد صفر (W0)، دو (W2) و چهار (W4) درصد و سه سطح باکتری شامل بدون باکتری (Pn)، سودوموناس بومی (Pi) و سودوموناس چائو به‌عنوان باکتری شاخص (Pch) در ۱۱ زمان نمونه‌برداری بودند. نمونه‌های خاک با سطوح مختلف پسماند جامد مخلوط و با باکتری‌ها ( $10^6$  سلول/گرم) تلقیح شدند و سپس در دمای ۲۸ درجه سلسیوس و رطوبت ۷۰ درصد گنجایش مزرعه‌ای نگهداری شدند. نمونه‌برداری در زمان‌های صفر، ۲، ۷، ۱۴، ۲۸، ۴۲، ۵۶، ۸۶، ۱۱۶، ۱۴۶ و ۱۷۶ روز انجام شد. pH، کربن آلی، تنفس پایه، کربن زیست‌توده میکروبی، فسفر قابل‌دسترس و فعالیت آنزیم فسفاتاز در نمونه‌های خاک اندازه‌گیری شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل و در سه تکرار انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون دانکن ( $P \leq 0/05$ ) و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار SAS صورت گرفت.

\* مسئول مکاتبه: [nasrin.ghorbanzadeh@gmail.com](mailto:nasrin.ghorbanzadeh@gmail.com)

**یافته‌ها:** پیامد تغییرات پسماند، باکتری و زمان و برهم‌کنش آن‌ها بر ویژگی‌های مورد مطالعه معنادار ( $P \leq 0.01$ ) بود. مقایسه میانگین پیامد برهم‌کنش سطوح مختلف پسماند و باکتری نشان داد که با افزایش مقدار پسماند و فعالیت باکتری pH خاک کاهش یافت. بیش‌ترین تنفس در تیمار پسماند ۴ درصد و باکتری سودوموناس شاخص (W4Pch) مشاهده شد. با افزایش سطوح پسماند مقدار کربن آلی خاک نیز افزایش یافت و در تیمار W4Pch به ۳/۱٪ رسید. بیش‌ترین مقدار کربن زیست‌توده در تیمارهای دریافت‌کننده پسماند مشاهده شد. بیش‌ترین فسفر قابل‌دسترس در تیمار پسماند ۴ درصد و باکتری سودوموناس بومی (W4Pi) (۹۹/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و کم‌ترین مقدار در تیمار بدون پسماند و بدون باکتری (W0Pn) مشاهده شد. فعالیت آنزیم فسفاتاز نیز با افزایش سطوح پسماند در تیمارهای دارای باکتری‌های سودوموناس افزایش یافت. نتایج پیامد برهم‌کنش پسماند در زمان نشان‌دهنده یک افزایش سریع و موقت در تنفس پایه در پاسخ به سطوح پسماند بود.

**نتیجه‌گیری:** تغییرات معناداری در تنفس پایه، کربن زیست‌توده و کربن آلی در خاک‌هایی که پسماند جامد را دریافت کرده بودند در مقایسه با خاک شاهد مشاهده شد. افزودن این پسماند همراه با باکتری‌های حل‌کننده فسفر سبب افزایش فعالیت آنزیم فسفاتاز (شاخصی از فعالیت میکروبی و معدنی‌شدن فسفر) در خاک شد. کاربرد تیمار باکتری به همراه پسماند جامد راه‌کاری است که علاوه بر بهبود ویژگی‌های زیستی خاک می‌تواند به افزایش قابلیت دسترسی به فسفر، کاهش مصرف کودهای فسفر و مدیریت پایدار این نوع از پسماندهای جامد منجر شود.

**واژه‌های کلیدی:** باکتری‌های حل‌کننده فسفر، تنفس، فسفاتاز، کربن آلی

## مقدمه

پسماندهای آلی در کشاورزی با بهبود ویژگی‌های شیمیایی و زیستی خاک سبب افزایش کیفیت خاک می‌شود (۱۵).

روغن زیتون تنها بخش کوچکی از فرآورده اصلی کارخانه‌های روغن‌کشی را تشکیل می‌دهد و بخش عمده آن پسماند جامد<sup>۱</sup> (OSW) و پساب است (۱۶). با توجه به تولید سالانه ۶۵۰۰ تن روغن زیتون در ایران (در سال ۱۳۹۴)، مقادیر زیادی پسماند جامد (۹۷۵۰ تن) و پساب (۱۶۲۵۰ تن) تولید می‌شود. این پسماندها سبب ایجاد مشکلات جدی زیست‌محیطی در مناطق تولید روغن زیتون می‌شوند (۳۴). با توجه به مقدار بالای مواد آلی و مواد غذایی مورد نیاز گیاه به‌ویژه در پسماند جامد زیتون، این پسماند به‌طور بالقوه می‌تواند به‌عنوان کود و یا اصلاح‌کننده خاک

کشاورزی پایدار بر سیستم تولید پایدار و اقتصادی متمرکز است و ماده آلی خاک قلب آن محسوب می‌شود. ماده آلی منبع کربن و انرژی ریزجانداران خاک و ذخیره‌کننده و تأمین‌کننده عناصر غذایی مورد نیاز گیاه و جانداران خاک مانند نیتروژن، فسفر و گوگرد است (۶). پسماندهای کشاورزی مانند پسماند حاصل از استخراج روغن زیتون، تفاله‌های چغندر قند و غیره منابع آلی با ارزشی هستند که طی تجزیه میکروبی، ترکیب‌های مفیدی را به‌عنوان کود و اصلاح‌کننده تولید می‌نمایند (۲۴). نگهداری پسماندها و ذخیره تفاله‌ها سبب بروز مشکلات زیست‌محیطی مانند آلودگی آب و خاک می‌شود. بهبود این وضعیت نیازمند برنامه‌های مدیریتی مناسب برای استفاده صحیح از پسماندهای تولید شده می‌باشد. استفاده از

1- Olive solid waste

پسماند جامد کارخانه روغن‌کشی زیتون سبب افزایش مواد هیومیکی و مقدار نیتروژن، فسفر و پتاسیم خاک شده که بهبود ویژگی‌های شیمیایی خاک را سبب می‌شود (۷). واسیلو و همکاران (۲۰۰۷) افزایش فسفر محلول از سنگ فسفات و همچنین تولید آنزیم فیتاز را توسط قارچ *آسپرژیلوس نیجر*<sup>۲</sup> در حضور پسماند جامد کارخانه روغن‌کشی زیتون به‌عنوان سویسترای قارچ گزارش کردند (۴۷). با توجه به موارد ذکر شده و با توجه به تولید حجم زیادی از پسماند جامد در کارخانه‌های روغن‌کشی زیتون به‌ویژه در استان گیلان و از سویی نیاز روزافزون به کودهای فسفر در کشاورزی و نگرانی‌ها در رابطه با کاهش ذخایر معادن فسفر، این پژوهش با هدف افزایش فسفر قابل‌دسترس خاک از پسماند جامد زیتون در حضور باکتری‌های *سودوموناس* و همچنین پیامد کاربرد این پسماند بر برخی از ویژگی‌های زیستی در یک خاک آهکی انجام شد.

### مواد و روش‌ها

**نمونه‌برداری از خاک و تهیه و آماده‌سازی پسماند جامد زیتون:** نمونه خاک از منطقه لوشان واقع در استان گیلان از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متری به‌گونه‌ای انتخاب شد (با پیش آزمایش) که دارای pH بالای ۷ و کربن آلی و فسفر قابل‌دسترس کم باشد. نمونه خاک پس از انتقال به آزمایشگاه هوا خشک و از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شد. برخی از ویژگی‌های خاک شامل بافت، pH، قابلیت هدایت الکتریکی در عصاره اشباع، ماده آلی و درصد کربنات کلسیم معادل به روش‌های معمول (۴۰)، فسفر قابل‌دسترس به روش آلسن (۳۱) و فسفر کل (۳۵) اندازه‌گیری شد. پسماند جامد زیتون از کارخانه روغن‌کشی زیتون رودبار واقع در استان گیلان تهیه شد و پس از انتقال

به‌کار رود (۸). فسفر از عناصر ضروری مورد نیاز گیاه می‌باشد که اگرچه در بسیاری از خاک‌ها فراوان است، اما یکی از عناصر غذایی محدودکننده رشد گیاهان به‌شمار می‌رود (۱۴). فسفر به شکل کودهای فسفات به خاک افزوده می‌شود؛ اما از آنجایی‌که تنها بخش محلول فسفر به‌وسیله گیاهان مورد استفاده قرار می‌گیرد و باقی‌مانده آن به سرعت کمپلکس‌های نامحلول را با اجزای خاک تشکیل می‌دهد، کارایی استفاده از فسفر اندک است (۲۸). ریزجاندارانی که فسفر نامحلول را به شکل محلول تبدیل می‌نمایند حل‌کننده فسفر نامیده می‌شوند (۳). از مهم‌ترین باکتری‌های حل‌کننده فسفر می‌توان به جنس‌های *سودوموناس*، *آزوسپریلیوم*، *باسیلوس*، *رایزوبیوم*، *سراشیا*، *آلکالیپتوز*، *اکیتوباکتر* و *فلاووباکتریوم* اشاره نمود (۴۳). در این میان *سودوموناس*‌ها به‌دلیل داشتن پلاسمیدهای حامل ژن‌های مؤثر در تجزیه ترکیب‌های آلی در خاک از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند. باکتری‌های *سودوموناس*<sup>۱</sup> با تولید بیوسورفکتانت‌های متفاوت و یا با کمک مکانیسم‌های چسبندگی / واجذبی سبب تجزیه ترکیب‌های آلی در خاک می‌شوند (۵). پژوهش‌هایی در زمینه بهبود وضعیت زیستی خاک ناشی از افزایش پسماند‌های آلی در خاک گزارش شده است (۲۵ و ۴۶). افزایش مقدار ماده آلی خاک سبب افزایش فعالیت آنزیمی، زیست‌توده میکروبی و تنفس در خاک می‌شود (۴۶). ناسینی و همکاران (۲۰۱۳) در آزمایشی مزرعه‌ای پسماند جامد کارخانه روغن‌کشی زیتون را به مدت ۴ سال به‌عنوان اصلاح‌کننده خاک در باغ‌های زیتون استفاده کردند و افزایش رشد رویشی درختان و بهبود کیفیت روغن زیتون را بدون پیامد منفی بر روی ویژگی‌های شیمیایی و زیستی خاک در درازمدت گزارش کردند (۲۹). دل‌بونو (۲۰۱۱) گزارش کرد که مقدار زیاد کربن موجود در

انجام آزمایش و انکوباسیون نمونه‌های خاک: ابتدا نمونه‌های خاک با سطوح صفر، دو و چهار درصد پسماند مخلوط و پس از مایه‌زنی در ظروف پلاستیکی نگهداری شد. به این منظور ۶۰۰ گرم خاک در یک سینی ریخته شد و با سطوح مختلف پسماند به‌طور کامل مخلوط شد. سپس رطوبت مخلوط‌ها به حدود ۷۰ درصد گنجایش مزرعه‌ای رسانده شد. پس از آماده شدن آمیخته خاک-پسماند، غلظت مشخصی (۱۰<sup>۶</sup> سلول در هر گرم) از مایه تلقیح حاوی باکتری سودوموناس بومی جداشده از خاک و باکتری سودوموناس شاخص سویه چائو (*Pseudomonas sp. strain CHA0*)، به آمیخته‌ها مایه‌زنی شد. پس از مایه‌زنی، آمیخته‌ها در شرایط آزمایشگاه (حدود ۲۵ درجه سلسیوس) و در رطوبت حدود ۷۰ درصد گنجایش مزرعه‌ای به مدت ۶ ماه نگهداری شدند. در طول دوره نگهداری رطوبت آمیخته‌ها با استفاده از روش وزنی در حدود ۷۰ درصد گنجایش مزرعه‌ای حفظ شد. در زمان‌های صفر، ۲، ۷، ۱۴، ۲۸، ۴۲، ۵۶، ۸۶، ۱۱۶، ۱۴۶ و ۱۷۶ روز از آمیخته‌ها نمونه‌برداری شد. غلظت فسفر قابل‌دسترس، کربن آلی و pH در نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. همچنین، تنفس پایه میکروبی به روش تیتراسیون با اسید کلریدریک (۲)، کربن زیست‌توده میکروبی به روش تدخین-انکوباسیون (۱۸) و فعالیت آنزیم فسفاتاز به روش رنگ‌سنجی p-نیتروفنل (۴۴) اندازه‌گیری شدند.

**تحلیل آماری داده‌ها:** آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل و در سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل پسماند جامد زیتون در سه سطح صفر (W0)، دو (W2) و چهار (W4) درصد، باکتری مایه‌زنی‌شده در سه سطح بدون باکتری (Pn)، باکتری سودوموناس بومی جداسازی‌شده (Pi) و

به آزمایشگاه، خشک و و از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شد و برای انجام آزمایش‌های بعدی در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شد. ویژگی‌های پسماند شامل کربن به روش سوزاندن در کوره (۳۰) و فسفر کل (۲۳) اندازه‌گیری شد. قابلیت هدایت الکتریکی و pH نیز در سوسپانسیون ۱ به ۱۰ پسماند جامد زیتون به آب اندازه‌گیری شد (۴۵ و ۳۶).

**جداسازی و خالص‌سازی باکتری سودوموناس بومی حل‌کننده فسفر:** برای جداسازی و خالص‌سازی باکتری‌های سودوموناس از نمونه خاک، سری رقت تهیه شد و بر روی پتری‌های دارای محیط کشت جامد King B کشت داده شد. کلونی‌های رشدیافته بر روی این محیط پس از چند بار بازکشت بر روی این محیط خالص‌سازی شدند (۲۰). برای بررسی توان انحلال فسفات از محیط کشت اسپریر جامد در پتری‌دیش استفاده شد (۴۱). سوسپانسیون هر کدام از گونه‌های سودوموناس به‌طور جداگانه در آب تهیه شد و سپس ۲۰ میکرولیتر از آن‌ها با روش قطره‌گذاری در محیط جامد اسپریر کشت داده شدند. پلیت‌ها به مدت ۷ روز در دمای ۲۸ درجه سلسیوس انکوباسیون شدند. قطر منطقه شفاف (هاله) احاطه شده اطراف کلونی‌ها و همچنین قطر کلونی بعد از زمان‌های ۲، ۴ و ۷ روز در سه تکرار اندازه‌گیری شد. نهایتاً شاخص انحلال فسفر<sup>۱</sup> (PSI) از طریق میانگین نسبت قطر هاله (mm) به قطر کلونی (mm) در روز هفتم محاسبه و آن باکتری که دارای بالاترین نسبت PSI بود برای ادامه آزمایش انتخاب شد. شناسایی فنوتیپی جدایه موردنظر شامل تست گرم، آزمون‌های کاتالاز، پراکسیداز و حرکت انجام گرفت (۳۸). نتیجه تست گرم برای جدایه سودوموناس منفی و نتیجه آزمون تحرک و کاتالاز مثبت بود.

1- Phosphorus solubilizing index

pH دیده نشد. اما به طور کلی، پیامد کاهش pH توسط باکتری بومی بیش تر از باکتری شاخص بود. ساندر و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند که باکتری‌های حل‌کننده فسفر از طریق تولید انواع اسیدهای آلی pH خاک را کاهش می‌دهند و از این طریق دسترسی به این عنصر را افزایش می‌دهند (۴۲).

**تنفس پایه میکروبی:** مقایسه میانگین‌های تنفس پایه میکروبی خاک برای پیامد برهم‌کنش سطوح مختلف پسماند و باکتری در شکل ۱-ب نشان داده شده است. با افزایش مقدار پسماند، تنفس افزایش معناداری یافت که علت این امر فراهم بودن سوپسترای کربن‌دار برای ریزجانداران است. بالاترین مقدار تنفس در تیمار W4Pch ( $1/11 \text{ mg CO}_2 \cdot 100 \text{ g}^{-1} \text{ dry soil} \cdot \text{day}^{-1}$ ) مشاهده شد. کم‌ترین مقدار تنفس پایه نیز مربوط به تیمار پسماند صفر درصد بود و حضور یا عدم حضور باکتری سبب تفاوت معناداری در تنفس پایه میکروبی نشد. مقدار تنفس پایه میکروبی در سطح پسماند صفر، در سطوح مختلف باکتری اختلاف آماری معناداری را نشان نداد. اما مقدار تنفس در سطوح ۲ و ۴ درصد پسماند در سطوح مختلف باکتری اختلاف معناداری را نشان داد که در هر دو مورد مقدار تنفس در باکتری شاخص نسبت به باکتری بومی اختلاف افزایشی معناداری را نشان داد. این افزایش تنفس توسط باکتری‌های سودوموناس نمایانگر فعالیت مثبت این باکتری‌ها در حضور پسماند جامد می‌باشد که می‌توانند از این ماده آلی برای انجام فعالیت‌های متابولیکی خود استفاده کنند. افزایش مواد آلی و عناصر غذایی در خاک سبب تحریک فعالیت زیست‌توده میکروبی و در نتیجه بالا رفتن سطح تنفس پایه می‌شود (۱۲). زیست‌توده میکروبی به سرعت و در کوتاه‌مدت به ورود کربن آلی از منابع مختلف پاسخ می‌دهد و چون اغلب خاک‌ها با محدودیت کربن روبرو هستند، مقدار آن معمولاً با افزودن مواد

باکتری شاخص *Pseudomonas sp. strain CHA0* (Pch) و زمان نمونه‌برداری در ۱۱ سطح (صفر، ۲، ۷، ۱۴، ۲۸، ۴۲، ۵۶، ۸۶، ۱۱۶، ۱۴۶ و ۱۷۶ روز) بودند. نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر با نرم‌افزار SAS 9.4 تحلیل شد و مقایسه میانگین داده‌های نیز با آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

### نتایج و بحث

خاک مورد مطالعه در این پژوهش دارای بافت لومی، pH ۷/۸، قابلیت هدایت الکتریکی (۰/۲) دسی‌زیمنس بر متر، فسفر قابل دسترس (۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، کربن آلی (۰/۶ درصد)، فسفر کل (۰/۱۱ درصد) و کربنات کلسیم معادل (۳۶ درصد) بود. پسماند مورد مطالعه دارای pH ۷/۷، قابلیت هدایت الکتریکی (۱/۳۴) دسی‌زیمنس بر متر، کربن آلی (۴۲/۷۵ درصد) و فسفر کل (۱/۵۵ درصد) بود.

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که پیامد تیمارهای مورد مطالعه و برهم‌کنش آن‌ها بر تغییرات pH، کربن آلی، فعالیت آنزیم فسفاتاز، فسفر قابل دسترس، تنفس پایه و کربن زیست‌توده میکروبی معنادار بود. تنها برهم‌کنش پسماند در زمان و پسماند در باکتری در زمان بر کربن زیست‌توده میکروبی معنادار نبود (جدول ۱).

**اسیدیته (pH):** مقایسه میانگین‌های pH خاک برای پیامد برهم‌کنش سطوح مختلف پسماند و باکتری در شکل ۱-الف نمایش داده شده است. با افزایش مقدار پسماند جامد زیتون و فعالیت باکتری‌ها مقدار pH کاهش یافت که علت این موضوع را می‌توان به تجزیه پسماند و آزادسازی اسیدهای آلی در خاک نسبت داد. اگرچه در سطح ۴ درصد پسماند، بین باکتری بومی (۷/۶۲) و باکتری شاخص (۷/۶۱) تفاوت معناداری در

پسماند، بین باکتری‌های سودوموناس بومی و شاخص مشاهده نشد. مقدار کربن آلی در سطح پسماند ۲ درصد برای باکتری بومی اختلاف معناداری با باکتری شاخص نشان نداد اما مقدار کربن آلی در سطح پسماند ۴ درصد افزایش و برای باکتری شاخص به حداکثر مقدار خود رسید. نوع کربن موجود در ماده آلی و ترکیبات موجود در آن می‌تواند بر روند تجزیه آن تأثیرگذار باشد (۲۷).

مانزونی و همکاران (۲۰۱۲) بیان کردند که اساس تجزیه ترکیبات آلی برای تامین انرژی ریزجانداران از طریق شکستن پیوندهای کربن در ترکیبات آلی است (۲۷).

آلی حاوی کربن ساده تجزیه‌شونده به خاک افزایش می‌یابد (۱۳).

**کربن آلی:** مقایسه میانگین‌های کربن آلی خاک برای پیامد برهم‌کنش سطوح مختلف پسماند و باکتری در شکل ۲- الف نشان داده شده است. با افزایش مقدار پسماند جامد زیتون، مقدار کربن آلی خاک افزایش یافت. در تیمار ۴ درصد پسماند و باکتری شاخص بالاترین مقدار کربن آلی (۳/۱ درصد) به دست آمد. مقدار کربن آلی در سطح ۴ درصد پسماند و باکتری سودوموناس بومی (W4Pi) اختلاف معناداری با شرایط بدون باکتری نشان نداد. همچنین تفاوت معناداری در مقدار کربن آلی در سطح ۲ درصد

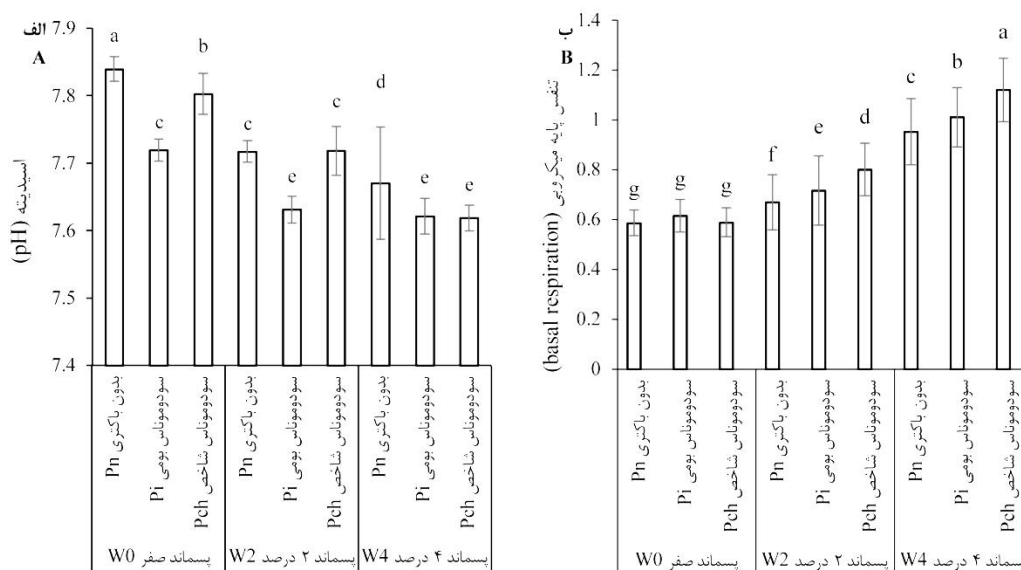
جدول ۱- تجزیه واریانس پیامد سطح پسماند، باکتری و زمان انکوباسیون بر ویژگی‌های مورد مطالعه.

**Table 1. Analysis of variance level of waste, bacteria and incubation time on studied characteristics.**

میانگین مربعات Mean squares						درجه آزادی Degree of freedom	منبع تغییر Sources of variations
کربن زیست‌توده میکروبی MBC	تنفس پایه میکروبی BR	فعالیت آنزیم فسفاتاز Pho	فسفر قابل دسترس P	کربن آلی OC	اسیدیته pH		
961**	4.822**	38.27**	251441**	110.34**	0.579**	2	پسماند W
393**	0.25**	38.15**	4384**	3.78**	0.185**	2	باکتری B
294**	0.595**	33.42**	95273**	1.6**	0.022**	10	زمان T
165**	0.071**	7.91**	768*	2.38**	0.025**	4	پسماند × باکتری W × B
23 <sup>ns</sup>	0.225**	5.13**	14109**	0.419**	0.015**	20	پسماند × زمان W × T
66*	0.013**	6.27**	2152**	0.246**	0.023**	20	باکتری × زمان B × T
17 <sup>ns</sup>	0.027**	3.28**	1035**	0.143**	0.007**	40	پسماند × باکتری × زمان W × B × T
37.86	0.005	0.30	207	0.053	0.0008	198	خطا Error

<sup>ns</sup>, \* و \*\* به ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

<sup>ns</sup>, \*, \*\* not significant and significant at  $P \leq 0.05$  and  $P \leq 0.01$ , respectively. W (waste), B (Bacteria), T (Time), pH (acidity), OC (organic carbon), P (available phosphorous), Pho (phosphatase enzyme activity), BR (basal microbial respiration) and MBC (microbial biomass carbon).



شکل ۱- پیامد برهم‌کنش سطوح مختلف پسماند و باکتری بر الف) pH و ب) تنفس پایه میکروبی ( $\text{mg CO}_2 \cdot 100 \text{ g}^{-1} \text{ dry soil} \cdot \text{day}^{-1}$ ). در تمامی شکل‌ها حروف متفاوت در روی ستون‌ها در هر شکل نشان‌دهنده تفاوت آماری معنادار در سطح احتمال ۵ درصد است. نوارهای خطا انحراف از معیار می‌باشند ( $n=3$ ).

**Figure 1. Effect of solid waste and bacteria interactions on A) pH and B) microbial basal respiration ( $\text{mg CO}_2 \cdot 100 \text{ g}^{-1} \text{ dry soil} \cdot \text{day}^{-1}$ ). In all figures, different letters indicate significant differences at  $P < 0.05$  and error bars are deviations from the criteria ( $n=3$ ). In all figures, W0, W2 and W4 are levels of solid waste 0, 2, and 4 percent, respectively.**

می‌تواند در نتیجه افزایش اجزای قابل تجزیه باشد که رشد میکروبی را تحریک می‌کند، اگرچه می‌تواند ناشی از پیامد مستقیم ریزجانداران افزوده شده با پسماند به خاک نیز باشد که در پژوهش سیرا و همکاران (۲۰۰۱) در کاربرد پساب در خاک مشاهده شده است (۳۹). جیا و همکاران (۲۰۰۵) نیز همبستگی مثبت معناداری بین تنفس میکروبی خاک و کربن زیست‌توده گزارش کردند و نشان دادند که با افزایش مقدار کربن زیست‌توده خاک، مقدار تنفس خاک و در پی آن تجزیه مواد آلی خاک افزایش می‌یابد (۱۹). کیریستن و همکاران (۲۰۱۱) تغییرات ماده آلی خاک را در ارتباط با دی‌اکسیدکربن اندازه‌گیری نمودند و رابطه مثبت معناداری بین افزایش ماده آلی و بالا رفتن تنفس خاک و کربن زیست‌توده میکروبی مشاهده کردند (۲۱).

کربن زیست‌توده میکروبی: مقایسه میانگین‌های کربن زیست‌توده میکروبی خاک برای پیامد برهم‌کنش سطوح مختلف پسماند و باکتری در شکل ۲- ب نشان داده شده است. افزودن پسماند به خاک سبب افزایش کربن زیست‌توده میکروبی شد. اما مایه‌زنی باکتری‌ها پیامد مثبتی بر آن نداشت. بیش‌ترین مقدار کربن زیست‌توده در شرایط بدون باکتری به‌دست آمد که در سطح پسماند ۴ درصد بیش‌تر از سطح پسماند ۲ درصد بود، اگرچه اختلاف آماری معناداری بین آن‌ها مشاهده نشد. در تیمارهای بدون پسماند اختلاف معناداری بین باکتری‌ها دیده نشد و در تیمارهای دارای پسماند هم مایه‌زنی خاک با باکتری‌ها سبب اختلاف آماری معناداری در مقدار کربن زیست‌توده نشد. افزایش مقادیر کربن زیست‌توده میکروبی در سطح پسماند ۴ درصد نسبت به سطح پسماند صفر

سبب تحرک بیش‌تر فسفر می‌شود. بنابراین افزودن ترکیب‌های غنی از فسفر به خاک می‌تواند نسبت کربن به فسفر را کاهش دهد و فسفر قابل‌دسترس خاک را به‌وسیله افزایش مقدار معدنی کردن فسفر آلی افزایش دهد (۴۹). این مسأله در رابطه با پسماند جامد با نسبت  $C:P = 27/6$  و درصد فسفر  $1/55$  در این پژوهش نیز صدق می‌کند. رنگی و همکاران (۲۰۱۷) نیز پیامد مثبت کاربرد ضایعات جامد کارخانه روغن‌کشی زیتون بر فعالیت رویشی و بازدهی میوه زیتون را به معدنی‌شدن پسماند و در نتیجه آزادسازی مواد غذایی مانند پتاسیم، فسفر، کلسیم، منیزیم و آهن مرتبط دانستند (۳۳). لویز پینرو و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که کاربرد طولانی‌مدت پسماند جامد زیتون سبب پیامدهای تجمعی و مثبت بر روی ویژگی‌های شیمیایی خاک مانند کربن آلی کل و بخش‌های هیومیکی شده و نیتروژن کل، فسفر قابل‌دسترس و پتاسیم را نیز افزایش می‌دهد (۲۶).

**فعالیت آنزیم فسفاتاز:** مقایسه میانگین‌های فعالیت آنزیم فسفاتاز خاک برای پیامد برهم‌کنش سطوح مختلف پسماند و باکتری در شکل ۳- ب نشان داده شده است. باکتری سودوموناس شاخص در هر سه سطح پسماند دارای فعالیت آنزیم فسفاتاز بالاتری بود و بیش‌ترین فعالیت آنزیم فسفاتاز آن  $(18/8 \text{ mg PNP} \cdot \text{g}^{-1} \text{ dry soil h}^{-1})$  در پسماند ۴ درصد به‌دست آمد. سودوموناس بومی نیز در مقایسه با تیمار بدون باکتری دارای فعالیت آنزیم فسفاتاز بالاتری بود. کم‌ترین مقدار فعالیت آنزیم فسفاتاز نیز در تیمار بدون پسماند و بدون باکتری مشاهده شد. نتایج پژوهش‌های آکوستامارتینز و همکاران (۲۰۰۳) نشان داد که فعالیت آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز، فسفاتاز اسیدی و آریل سولفاتاز رابطه مثبت و معناداری با کربن آلی داشته است که بیانگر نتایج به‌دست آمده در این پژوهش است

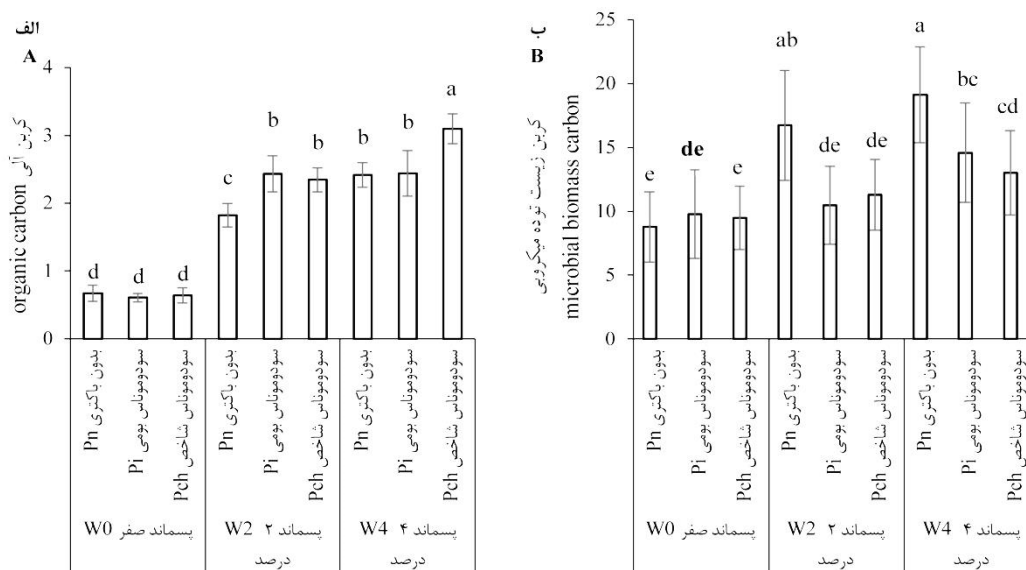
**فسفر قابل‌دسترس:** مقایسه میانگین‌های فسفر قابل‌دسترس خاک برای پیامد برهم‌کنش سطوح مختلف پسماند و باکتری در شکل ۳- الف نشان داده شده است. با افزایش سطح پسماند جامد، مقدار فسفر قابل‌دسترس خاک افزایش معناداری یافت به‌طوری‌که بیش‌ترین مقدار فسفر قابل‌دسترس در تیمار ۴ درصد پسماند و برای باکتری بومی  $(160/18)$  میلی‌گرم بر کیلوگرم) و کم‌ترین مقدار فسفر قابل‌دسترس در تیمار بدون پسماند و بدون باکتری  $(41/21)$  میلی‌گرم بر کیلوگرم) به‌دست آمد. در تیمار بدون پسماند، مایه‌زنی سویه‌های شاخص و بومی سودوموناس سبب افزایش معنادار فسفر قابل‌دسترس نسبت به حالت بدون باکتری شد که نشان‌دهنده پیامد این باکتری‌ها در آزادسازی فسفر از ترکیب‌های معدنی و آلی خاک می‌باشد. در شرایطی که ماده آلی در خاک کم بود تفاوت آماری معناداری در آزادسازی فسفر توسط این دو باکتری مشاهده نشد. در تیمار ۲ درصد پسماند نیز بین سویه‌های شاخص و بومی سودوموناس اختلاف آماری معناداری در آزادسازی فسفر دیده نشد. اگرچه اضافه کردن ریزجانداران حل‌کننده فسفر به خاک لزوماً سبب افزایش فسفر قابل‌دسترس آن نمی‌شود، ولی استفاده از آن‌ها به همراه کود آلی بسیار سودمند است. افزودن هر گونه ماده آلی به خاک از طریق فرایندهایی مانند تولید اسید کربنیک، تجزیه ترکیب‌های مختلف فسفوهومیک، جایگزینی سطحی یون‌های هومات با فسفات‌های نامحلول، پوشاندن سطوح ذرات اکسیدهای آهن و آلومینیوم با هوموس و کلات کردن عناصری که فسفر را تثبیت می‌کنند، قابلیت جذب فسفر قابل‌دسترس به‌وسیله گیاه را افزایش می‌دهند (۳۳). زمانی‌که ماده آلی دارای مقادیر بالای  $C:P$  باشد باکتری‌ها سبب غیرمتحرک کردن فسفر قابل‌دسترس خاک می‌شوند در حالی‌که در مقادیر پایین این نسبت،



یافته است (جدول ۲) که علت آن را می‌توان به افزودن ماده آلی فسفردار به خاک که سبب تحریک باکتری‌های بومی و مایه زنی شده به خاک که دارای قابلیت انحلال فسفر می‌باشند نسبت داد. بالاترین مقدار فسفر قابل دسترس (۲۲۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در تیمار دارای سودوموناس شاخص در روز ۱۴۶ ام (PchT10) به دست آمد. جاروبی و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که با افزایش ترکیبات آلی حاصل از پساب کارخانه روغن‌کشی زیتون در خاک جمعیت میکروبی خاک به خصوص باکتری‌های هوازی افزایش می‌یابد و به دنبال این افزایش تجزیه ترکیبات آلی که حاوی فسفر هستند نیز افزایش یافته و در نتیجه فسفر قابل دسترس در خاک به صورت معناداری افزایش پیدا می‌کند (۱۷). روند تغییرات فسفر قابل دسترس با فعالیت آنزیم فسفاتاز همسان بود. همان‌گونه که در بالا اشاره شد علت این افزایش و سپس کاهش در ویژگی‌ها را می‌توان به جمعیت میکروبی خاک نسبت داد چراکه در ابتدا مواد غذایی برای آن‌ها فراهم بوده و با توان بالایی جمعیت خود را افزایش می‌دهند و به تبع این افزایش برخی از ویژگی‌های زیستی خاک از جمله ترشح آنزیم فسفاتاز و کربن زیست‌توده افزایش می‌یابد، بعد از مصرف مواد غذایی و کاهش این مواد، جمعیت میکروبی کاهش و بنابراین مقدار کربن زیست‌توده و ترشح آنزیم فسفاتاز کاهش می‌یابد. علاوه بر این، فعالیت آنزیم فسفاتاز با افزایش فسفر فراهم کاهش پیدا می‌کند که سبب کاهش بازخورد این آنزیم می‌شود (۴). کاهش کربن زیست‌توده می‌تواند ناشی از زیاد شدن ترکیب‌های مضر و سخت تجزیه‌شونده از پسماند در دوره انکوباسیون باشد.

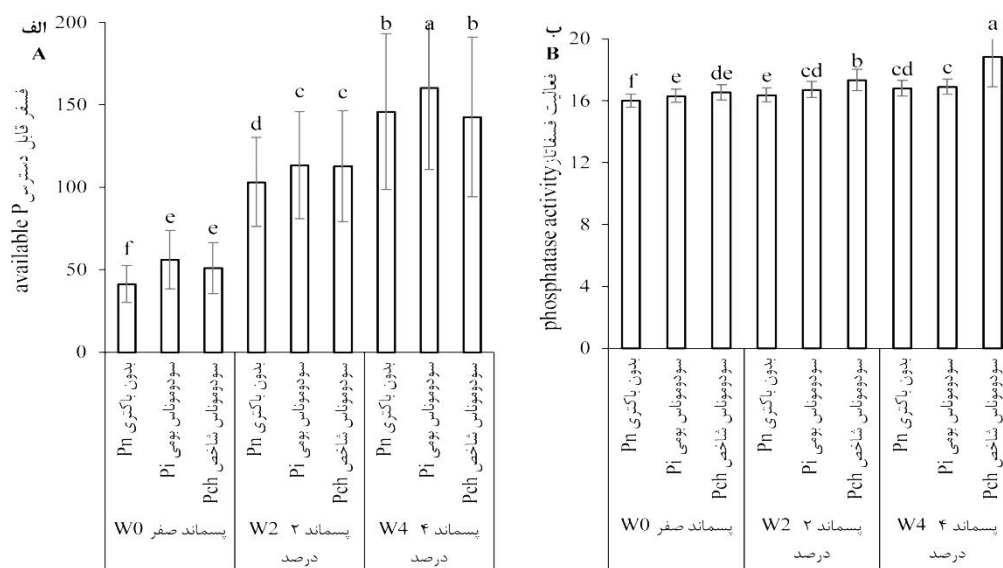
(۱). وانگ و همکاران (۲۰۱۳) دلیل این همبستگی انکارناپذیر را نقش کلیدی کربن آلی به عنوان پیش‌ماده برای سنتز آنزیمی عنوان کردند (۴۸). کریکت و براود (۲۰۰۸) گزارش کردند که فعالیت فسفاتاز خاک که نقش مهمی را در معدنی شدن فسفر آلی بازی می‌کند بعد از کاربرد پسماند جامد زیتون به طور معناداری افزایش پیدا کرد (۴). سامپدرو و همکاران (۲۰۰۹) نیز با کاربرد کوتاه‌مدت (۴۵ روز) پسماند جامد زیتون افزایش فعالیت فسفاتاز را گزارش کردند (۳۷). دیک (۱۹۹۴) در بررسی خود بر روی خاک‌های مختلف نشان داد که رابطه خطی و معنادار بین فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز و کربن آلی خاک وجود دارد. وی به نقش کلیدی مواد آلی در حفظ فعالیت‌های آنزیمی خاک اشاره کرد و بیان کرد که با توجه به این که آنزیم آلکالین فسفاتاز به منبع ترشح میکروبی نسبت به سایر منابع وابستگی بیش‌تری دارد، اساساً بین فعالیت این آنزیم و کربن آلی خاک همبستگی بالا و معناداری وجود دارد (۹).

**پیامد برهمکنش باکتری‌ها در زمان بر مقدار فسفر و فعالیت آنزیم فسفاتاز:** در جدول ۲ پیامد برهم‌کنش سطوح باکتری در زمان بر فعالیت آنزیم فسفاتاز و مقدار فسفر قابل دسترس نشان داده شده است. با گذر زمان فعالیت آنزیم فسفاتاز روند افزایشی داشته که علت این موضوع را می‌توان به فراهم بودن مواد غذایی برای ریزجانداران ترشح‌کننده فسفاتاز و افزایش جمعیت این ریزجانداران نسبت داد. بیش‌ترین فعالیت آنزیم فسفاتاز خاک در تیمار دارای باکتری شاخص و در روز ۱۱۶ ام انکوباسیون (PchT9) ( $21/47 \text{ mg PNP} \cdot \text{g}^{-1} \text{ drysoil h}^{-1}$ ) مشاهده شد. مقدار فسفر قابل دسترس در خاک نیز در گذر زمان افزایش



شکل ۲- پیامد برهم‌کنش سطوح مختلف پسماند و باکتری بر الف) کربن آلی (g. 100g<sup>-1</sup>) و ب) کربن زیست‌توده میکروبی (mgC.100 g<sup>-1</sup> dry soil).

Figure 2. Effect of solid waste and bacteria interactions on A) organic carbon (g.100g<sup>-1</sup>) and B) microbial biomass carbon (mgC.100 g<sup>-1</sup> dry soil).



شکل ۳- پیامد برهم‌کنش سطوح مختلف پسماند و باکتری بر الف) فسفر قابل دسترس (mg. kg<sup>-1</sup>) و ب) فعالیت آنزیم فسفاتاز (mg PNP.g<sup>-1</sup> dry soil h<sup>-1</sup>).

Figure 3. Effect of solid waste and bacteria interactions on A) available phosphorus (mg kg<sup>-1</sup>) (and B) phosphatase activity (mg PNP. g<sup>-1</sup> dry soil h<sup>-1</sup>).

مقدار فسفر قابل دسترس نشان داده شده است. با گذر زمان فعالیت آنزیم فسفاتاز روند افزایشی داشته که علت این موضوع را می‌توان به فراهم بودن مواد غذایی

پیامد برهم‌کنش باکتری‌ها در زمان بر مقدار فسفر و فعالیت آنزیم فسفاتاز: در جدول ۲ پیامد برهم‌کنش سطوح باکتری در زمان بر فعالیت آنزیم فسفاتاز و

پیامد برهمکنش سطوح پسماند در زمان بر ویژگی‌های مورد مطالعه: در جدول ۳ تغییرات ویژگی‌های مورد مطالعه در اثر مصرف پسماند جامد زیتون در زمان‌های مختلف نمایش داده شده است. داده‌های جدول ۳ نشان می‌دهد در شرایطی که از پسماند استفاده نشده است با گذشت زمان مقدار کربن آلی خاک (مقدار پایه ماده آلی خاک) کاهش یافته و مورد تجزیه میکروبی قرار گرفته است. اما در تیمارهای مختلف که از پسماند (۲ و ۴ درصد) استفاده شده است روند تغییرات کربن آلی خاک نامنظم است (به صورت کلی کاهش) و این موضوع را می‌توان به سرعت تجزیه متفاوت اجزای ماده آلی نسبت داد. به لحاظ وجود اختلاف در ترکیب‌هایی همانند پروتئین، سلولز، پکتین، همی سلولز و پلی فنل‌ها، ترکیب گونه گیاهی در یک اکوسیستم اثر قابل توجهی بر سرعت تجزیه مواد، چرخش عناصر غذایی و سرانجام توان باروری خاک دارد (۳۲). همچنین نتایج نشان داده است که با گذشت زمان مقدار آزادسازی فسفر ابتدا افزایش یافته است و پس از زمان ۴ ماه کاهش چشمگیری در آن رخ داده است. مقدار آزادسازی فسفر در تیمار ۴ درصد بیش‌تر از تیمار ۲ و صفر درصد پسماند بود. براساس نتایج کوجور و همکاران (۲۰۱۲) مقدار کربن آلی در انواع خاک‌های مختلف، همبستگی مثبت و معناداری با فسفر از خود نشان داده است (۲۲). نقش مثبت فسفر در تنفس خاک را می‌توان به نقش تغذیه‌ای این عنصر برای ریزجانداران خاک و افزایش جمعیت آن‌ها نسبت داد (۱۱). تغییرات کربن زیست‌توده نیز به‌طور کلی مشابه فسفاتاز است. دودور و طباطبایی (۲۰۰۳) در برخی از سایت‌های تحقیقاتی خود مشاهده کردند که علاوه بر زیست‌توده میکروبی، تنفس میکروبی خاک نیز از جایگاه ویژه‌ای در ارتباط با مقدار فعالیت آنزیم‌ها برخوردار است (۱۰).

برای ریزجانداران ترشح‌کننده فسفاتاز و افزایش جمعیت این ریزجانداران نسبت داد. بیش‌ترین فعالیت آنزیم فسفاتاز خاک در تیمار دارای باکتری شاخص و در روز ۱۱۶ ام انکوباسیون (PchT9) ( $\text{mg PNP} \cdot \text{g}^{-1} \text{drysoil} \cdot \text{h}^{-1}$ ) (۲۱/۴۷) مشاهده شد. مقدار فسفر قابل‌دسترس در خاک نیز در گذر زمان افزایش یافته است (جدول ۲) که علت آن را می‌توان به افزودن ماده آلی فسفردار به خاک که سبب تحریک باکتری‌های بومی و مایه‌زنی‌شده به خاک که دارای قابلیت انحلال فسفر می‌باشند نسبت داد. بالاترین مقدار فسفر قابل‌دسترس (۲۲۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در تیمار دارای سودوموناس شاخص در روز ۱۴۶ ام (PchT10) به دست آمد. جاربویی و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که با افزایش ترکیبات آلی حاصل از پساب کارخانه روغن‌کشی زیتون در خاک جمعیت میکروبی خاک به خصوص باکتری‌های هوازی افزایش می‌یابد و به دنبال این افزایش تجزیه ترکیبات آلی که حاوی فسفر هستند نیز افزایش یافته و در نتیجه فسفر قابل‌دسترس در خاک به صورت معناداری افزایش پیدا می‌کند (۱۷). روند تغییرات فسفر قابل‌دسترس با فعالیت آنزیم فسفاتاز همسان بود. همان‌گونه که در بالا اشاره شد علت این افزایش و سپس کاهش در ویژگی‌ها را می‌توان به جمعیت میکروبی خاک نسبت داد چرا که در ابتدا مواد غذایی برای آن‌ها فراهم بوده و با توان بالایی جمعیت خود را افزایش می‌دهند و به تبع این افزایش برخی از ویژگی‌های زیستی خاک از جمله ترشح آنزیم فسفاتاز و کربن زیست‌توده افزایش می‌یابد، بعد از مصرف مواد غذایی و کاهش این مواد جمعیت میکروبی کاهش و بنابراین مقدار کربن زیست‌توده و ترشح آنزیم فسفاتاز کاهش می‌یابد. علاوه بر این، فعالیت آنزیم فسفاتاز با افزایش فسفر فراهم کاهش پیدا می‌کند که سبب کاهش بازخورد این آنزیم می‌شود (۴). کاهش کربن زیست‌توده می‌تواند ناشی از زیاد شدن ترکیب‌های مضر و سخت‌تجزیه‌شونده از پسماند در دوره انکوباسیون باشد.

جدول ۲- پیامد برهم‌کنش سطوح باکتری و زمان بر فعالیت آنزیم فسفاتاز و مقدار فسفر قابل دسترس.

**Table 2. The effect of interaction between levels of bacteria and time on phosphatase enzyme activity and available phosphorus.**

فعالیت آنزیم فسفاتاز	باکتری × زمان	فعالیت آنزیم فسفاتاز	باکتری × زمان	فعالیت آنزیم فسفاتاز	باکتری × زمان
Pho	B×T	Pho	B×T	Pho	B×T
15.26 <sup>rs</sup>	۱ سودوموناس شاخص × زمان PchT1	15.17 <sup>s</sup>	۱ سودوموناس بومی × زمان PiT1	15.15 <sup>s</sup>	۱ بدون باکتری × زمان PnT1
15.35 <sup>rs</sup>	۲ سودوموناس شاخص × زمان PchT2	15.32 <sup>rs</sup>	۲ سودوموناس بومی × زمان PiT2	15.30 <sup>rs</sup>	۲ بدون باکتری × زمان PnT2
16.44 <sup>l-p</sup>	۳ سودوموناس شاخص × زمان PchT3	15.94 <sup>pq</sup>	۳ سودوموناس بومی × زمان PiT3	15.80 <sup>qr</sup>	۳ بدون باکتری × زمان PnT1
16.55 <sup>k-o</sup>	۴ سودوموناس شاخص × زمان PchT4	16.18 <sup>n-q</sup>	۴ سودوموناس بومی × زمان PiT4	15.83 <sup>qr</sup>	۴ بدون باکتری × زمان PnT4
17.41 <sup>e-i</sup>	۵ سودوموناس شاخص × زمان PchT5	16.51 <sup>k-p</sup>	۵ سودوموناس بومی × زمان PiT5	16.02 <sup>n-q</sup>	۵ بدون باکتری × زمان PnT5
18.15 <sup>d</sup>	۶ سودوموناس شاخص × زمان PchT6	16.88 <sup>h-m</sup>	۶ سودوموناس بومی × زمان PiT6	16.34 <sup>m-q</sup>	۶ بدون باکتری × زمان PnT6
18.88 <sup>c</sup>	۷ سودوموناس شاخص × زمان PchT7	17.32 <sup>e-j</sup>	۷ سودوموناس بومی × زمان PiT7	16.80 <sup>j-m</sup>	۷ بدون باکتری × زمان PnT7
19.92 <sup>b</sup>	۸ سودوموناس شاخص × زمان PchT8	17.52 <sup>e-g</sup>	۸ سودوموناس بومی × زمان PiT8	16.95 <sup>e-l</sup>	۸ بدون باکتری × زمان PnT8
21.47 <sup>a</sup>	۹ سودوموناس شاخص × زمان PchT9	17.70 <sup>ef</sup>	۹ سودوموناس بومی × زمان PiT9	17.10 <sup>f-k</sup>	۹ بدون باکتری × زمان PnT9
17.03 <sup>f-l</sup>	۱۰ سودوموناس شاخص × زمان PchT10	16.87 <sup>i-m</sup>	۱۰ سودوموناس بومی × زمان PiT10	17.28 <sup>e-j</sup>	۱۰ بدون باکتری × زمان PnT10
16.64 <sup>k-n</sup>	۱۱ سودوموناس شاخص × زمان PchT11	17.47 <sup>e-h</sup>	۱۱ سودوموناس بومی × زمان PiT11	17.60 <sup>ef</sup>	۱۱ بدون باکتری × زمان PnT11
فسفر قابل دسترس	باکتری × زمان	فسفر قابل دسترس	باکتری × زمان	فسفر قابل دسترس	باکتری × زمان
P	B×T	P	B×T	P	B×T
20.44 <sup>lm</sup>	۱ سودوموناس شاخص × زمان PchT1	18.44 <sup>lm</sup>	۱ سودوموناس بومی × زمان PiT1	8.44 <sup>m</sup>	۱ بدون باکتری × زمان PnT1
30.88 <sup>l</sup>	۲ سودوموناس شاخص × زمان PchT2	32.44 <sup>kl</sup>	۲ سودوموناس بومی × زمان PiT2	33.11 <sup>kl</sup>	۲ بدون باکتری × زمان PnT2
51.11 <sup>j</sup>	۳ سودوموناس شاخص × زمان PchT3	46.00 <sup>jk</sup>	۳ سودوموناس بومی × زمان PiT3	49.11 <sup>j</sup>	۳ بدون باکتری × زمان PnT1
76.66 <sup>hi</sup>	۴ سودوموناس شاخص × زمان PchT4	76.00 <sup>hi</sup>	۴ سودوموناس بومی × زمان PiT4	75.33 <sup>hi</sup>	۴ بدون باکتری × زمان PnT4
72.44 <sup>i</sup>	۵ سودوموناس شاخص × زمان PchT5	76.22 <sup>hi</sup>	۵ سودوموناس بومی × زمان PiT5	74.88 <sup>hi</sup>	۵ بدون باکتری × زمان PnT5
90.00 <sup>h</sup>	۶ سودوموناس شاخص × زمان PchT6	86.22 <sup>hi</sup>	۶ سودوموناس بومی × زمان PiT6	86.22 <sup>hi</sup>	۶ بدون باکتری × زمان PnT6
158.44 <sup>de</sup>	۷ سودوموناس شاخص × زمان PchT7	169.77 <sup>cd</sup>	۷ سودوموناس بومی × زمان PiT7	121.11 <sup>g</sup>	۷ بدون باکتری × زمان PnT7
141.77 <sup>f</sup>	۸ سودوموناس شاخص × زمان PchT8	188.22 <sup>b</sup>	۸ سودوموناس بومی × زمان PiT8	145.33 <sup>ef</sup>	۸ بدون باکتری × زمان PnT8
133.11 <sup>fg</sup>	۹ سودوموناس شاخص × زمان PchT9	163.11 <sup>d</sup>	۹ سودوموناس بومی × زمان PiT9	157.33 <sup>de</sup>	۹ بدون باکتری × زمان PnT9
224.00 <sup>a</sup>	۱۰ سودوموناس شاخص × زمان PchT10	181.77 <sup>bc</sup>	۱۰ سودوموناس بومی × زمان PiT10	188.88 <sup>b</sup>	۱۰ بدون باکتری × زمان PnT10
123.11 <sup>g</sup>	۱۱ سودوموناس شاخص × زمان PchT11	170.22 <sup>cd</sup>	۱۱ سودوموناس بومی × زمان PiT11	123.11 <sup>g</sup>	۱۱ بدون باکتری × زمان PnT11

B (باکتری)، T (زمان)، Pn (بدون باکتری)، Pi (سودوموناس بومی)، Pch (سودوموناس شاخص). بودن حرف متفاوت بر روی اعداد در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت آماری معنادار در سطح احتمال ۵ درصد است.

B (bacteria), T (time), Pn (without bacteria), Pi (isolated *pseudomonas*), Pch (index *pseudomonads*). Different letters on numbers in each column indicate significant differences at  $P \leq 0.05$ .

جدول ۳- پیامد برهم کنش سطوح مختلف پسماند و زمان بر ویژگی‌های مورد مطالعه.

**Table 3. The effect of interaction between different levels of solid waste and time on studied characteristics.**

فعالیت آنزیم فسفاتاز Pho	فسفر قابل دسترس P	اسیدیته pH	کربن آلی OC	کربن زیست توده میکروبی MBC	تفس پایه میکروبی BR	پسماند × زمان W×T
15.15 <sup>p</sup>	8.44 <sup>n</sup>	7.68 <sup>g-k</sup>	1.87 <sup>g-k</sup>	10.40 <sup>e-h</sup>	0.82 <sup>ef</sup>	پسماند صفر × زمان ۱ (W0T1)
15.30 <sup>op</sup>	33.11 <sup>lm</sup>	7.74 <sup>b-d</sup>	1.68 <sup>i-m</sup>	9.92 <sup>e-h</sup>	0.92 <sup>a-d</sup>	پسماند صفر × زمان ۲ (W0T2)
15.80 <sup>no</sup>	49.11 <sup>k</sup>	7.76 <sup>b</sup>	1.15 <sup>o</sup>	11.98 <sup>d-h</sup>	0.92 <sup>a-d</sup>	پسماند صفر × زمان ۳ (W0T3)
15.83 <sup>no</sup>	75.33 <sup>ij</sup>	7.74 <sup>bc</sup>	1.65 <sup>k-m</sup>	18.03 <sup>b-d</sup>	0.88 <sup>c-e</sup>	پسماند صفر × زمان ۴ (W0T4)
16.02 <sup>l-n</sup>	74.88 <sup>ij</sup>	7.73 <sup>b-e</sup>	1.75 <sup>h-l</sup>	12.10 <sup>d-h</sup>	0.59 <sup>k-m</sup>	پسماند صفر × زمان ۵ (W0T5)
16.34 <sup>k-n</sup>	86.22 <sup>ij</sup>	7.72 <sup>c-f</sup>	1.71 <sup>i-m</sup>	24.57 <sup>a</sup>	0.8 <sup>h-j</sup>	پسماند صفر × زمان ۶ (W0T6)
16.80 <sup>h-k</sup>	121.11 <sup>gh</sup>	7.71 <sup>d-g</sup>	1.82 <sup>g-k</sup>	16.94 <sup>b-e</sup>	0.65 <sup>i-k</sup>	پسماند صفر × زمان ۷ (W0T7)
16.95 <sup>f-j</sup>	145.33 <sup>ef</sup>	7.70 <sup>e-h</sup>	1.67 <sup>j-m</sup>	15.61 <sup>b-f</sup>	0.70 <sup>h-j</sup>	پسماند صفر × زمان ۸ (W0T8)
17.10 <sup>f-i</sup>	157.33 <sup>de</sup>	7.70 <sup>f-h</sup>	1.56 <sup>l-n</sup>	15.73 <sup>b-f</sup>	0.82 <sup>ef</sup>	پسماند صفر × زمان ۹ (W0T9)
16.51 <sup>i-m</sup>	87.66 <sup>ij</sup>	7.75 <sup>bc</sup>	0.58 <sup>p</sup>	5.80 <sup>h</sup>	0.50 <sup>n</sup>	پسماند صفر × زمان ۱۰ (W0T10)
17.47 <sup>e-g</sup>	71.77 <sup>j</sup>	7.76 <sup>b</sup>	0.66 <sup>p</sup>	5.32 <sup>h</sup>	0.56 <sup>l-n</sup>	پسماند صفر × زمان ۱۱ (W0T11)
15.17 <sup>p</sup>	18.44 <sup>mn</sup>	7.63 <sup>m-o</sup>	2.48 <sup>ab</sup>	10.89 <sup>e-h</sup>	0.94 <sup>a-c</sup>	پسماند دو × زمان ۱ (W2T1)
15.32 <sup>op</sup>	32.44 <sup>lm</sup>	7.63 <sup>m-o</sup>	1.93 <sup>g-i</sup>	11.98 <sup>d-h</sup>	0.96 <sup>ab</sup>	پسماند دو × زمان ۲ (W2T2)
15.94 <sup>mn</sup>	46.00 <sup>kl</sup>	7.65 <sup>k-m</sup>	1.50 <sup>mn</sup>	13.19 <sup>c-g</sup>	0.96 <sup>ab</sup>	پسماند دو × زمان ۳ (W2T3)
16.18 <sup>l-n</sup>	76.00 <sup>ij</sup>	7.68 <sup>g-k</sup>	1.8 <sup>h-l</sup>	22.14 <sup>ab</sup>	0.87 <sup>c-e</sup>	پسماند دو × زمان ۴ (W2T4)
16.51 <sup>i-m</sup>	76.22 <sup>ij</sup>	7.67 <sup>h-l</sup>	2.34 <sup>a-c</sup>	10.65 <sup>e-h</sup>	0.67 <sup>h-j</sup>	پسماند دو × زمان ۵ (W2T5)
16.88 <sup>g-k</sup>	86.22 <sup>ij</sup>	7.66 <sup>i-m</sup>	1.87 <sup>g-k</sup>	16.21 <sup>b-f</sup>	0.74 <sup>gh</sup>	پسماند دو × زمان ۶ (W2T6)
17.32 <sup>e-h</sup>	169.77 <sup>d</sup>	7.66 <sup>j-m</sup>	1.93 <sup>g-i</sup>	13.19 <sup>c-g</sup>	0.63 <sup>j-l</sup>	پسماند دو × زمان ۷ (W2T7)
17.52 <sup>ef</sup>	188.22 <sup>c</sup>	7.64 <sup>m-o</sup>	1.87 <sup>g-k</sup>	8.10 <sup>gh</sup>	0.75 <sup>f-h</sup>	پسماند دو × زمان ۸ (W2T8)
17.70 <sup>de</sup>	163.11 <sup>d</sup>	7.62 <sup>no</sup>	1.35 <sup>no</sup>	7.14 <sup>gh</sup>	0.90 <sup>b-d</sup>	پسماند دو × زمان ۹ (W2T9)
17.71 <sup>de</sup>	183.77 <sup>c</sup>	7.64 <sup>l-n</sup>	1.97 <sup>f-h</sup>	10.77 <sup>e-h</sup>	0.51 <sup>nm</sup>	پسماند دو × زمان ۱۰ (W2T10)
17.34 <sup>e-h</sup>	117.11 <sup>h</sup>	7.67 <sup>h-l</sup>	2.99 <sup>e-h</sup>	10.89 <sup>e-h</sup>	0.55 <sup>nm</sup>	پسماند دو × زمان ۱۱ (W2T11)
15.26 <sup>op</sup>	20.44 <sup>mn</sup>	7.69 <sup>f-i</sup>	2.50 <sup>a</sup>	10.40 <sup>e-h</sup>	0.91 <sup>b-d</sup>	پسماند چهار × زمان ۱ (W4T1)
15.35 <sup>op</sup>	30.88 <sup>m</sup>	7.80 <sup>a</sup>	2.20 <sup>c-f</sup>	10.89 <sup>e-h</sup>	0.99 <sup>a</sup>	پسماند چهار × زمان ۲ (W4T2)
16.44 <sup>j-m</sup>	51.11 <sup>k</sup>	7.69 <sup>f-j</sup>	1.83 <sup>g-k</sup>	11.74 <sup>d-h</sup>	0.99 <sup>a</sup>	پسماند چهار × زمان ۳ (W4T3)
16.55 <sup>i-l</sup>	76.66 <sup>ij</sup>	7.76 <sup>b</sup>	2.26 <sup>b-d</sup>	19.24 <sup>a-c</sup>	0.93 <sup>a-d</sup>	پسماند چهار × زمان ۴ (W4T4)
17.41 <sup>e-g</sup>	72.44 <sup>j</sup>	7.75 <sup>bc</sup>	2.22 <sup>c-e</sup>	12.22 <sup>d-h</sup>	0.81 <sup>e-g</sup>	پسماند چهار × زمان ۵ (W4T5)
18.15 <sup>d</sup>	90.00 <sup>i</sup>	7.73 <sup>b-e</sup>	1.81 <sup>g-k</sup>	12.95 <sup>c-g</sup>	0.85 <sup>de</sup>	پسماند چهار × زمان ۶ (W4T6)
18.88 <sup>c</sup>	158.44 <sup>de</sup>	7.71 <sup>d-g</sup>	1.91 <sup>g-j</sup>	10.53 <sup>e-h</sup>	0.71 <sup>hi</sup>	پسماند چهار × زمان ۷ (W4T7)
19.92 <sup>b</sup>	141.77 <sup>f</sup>	7.69 <sup>f-h</sup>	2.20 <sup>c-f</sup>	9.68 <sup>f-h</sup>	0.90 <sup>b-d</sup>	پسماند چهار × زمان ۸ (W4T8)
21.47 <sup>a</sup>	133.11 <sup>fg</sup>	7.67 <sup>h-l</sup>	1.84 <sup>g-k</sup>	9.19 <sup>f-h</sup>	0.90 <sup>b-d</sup>	پسماند چهار × زمان ۹ (W4T9)
16.97 <sup>f-j</sup>	332.22 <sup>a</sup>	7.61 <sup>o</sup>	2.31 <sup>abc</sup>	13.67 <sup>c-g</sup>	0.56 <sup>l-n</sup>	پسماند چهار × زمان ۱۰ (W4T10)
16.90 <sup>g-k</sup>	227.55 <sup>b</sup>	7.82 <sup>a</sup>	2.06 <sup>d-g</sup>	13.07 <sup>c-g</sup>	0.64 <sup>i-k</sup>	پسماند چهار × زمان ۱۱ (W4T11)

پسماند (W)، زمان (T)، بودن حرف متفاوت بر روی اعداد در هر ستون نشان دهنده تفاوت آماری معنادار در سطح احتمال ۵ درصد است.

W0 (پسماند صفر)، W2 (پسماند ۲ درصد)، W4 (پسماند ۴ درصد).

Waste (W), Time (T). Different letters on numbers in each column indicate significant differences at  $P \leq 0.05$ . W0, W2 and W4 are levels of solid waste 0, 2 and 4 percent, respectively.

### نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد که پسماند جامد زیتون پیامدهای مثبتی را بر روی کیفیت خاک دارد و سبب بهبود ویژگی‌های شیمیایی و زیستی خاک می‌شود. تغییرات معناداری در ویژگی‌های خاک شامل تنفس پایه، کربن زیست‌توده و کربن آلی در خاک‌هایی که پسماند جامد را دریافت کرده بودند در مقایسه با خاک شاهد مشاهده شد. ماده آلی در پسماند جامد می‌تواند به‌عنوان منبع کربن و انرژی برای فعالیت ریزجانداران خاک باشد. افزودن این پسماند همراه با باکتری‌های حل‌کننده فسفر سبب افزایش فعالیت آنزیم فسفاتاز (شاخصی از فعالیت میکروبی و معدنی شدن فسفر) در خاک شد. نتایج همچنین نشان داد که افزودن باکتری‌های حل‌کننده فسفر به خاک روشی

مفید و مؤثر برای افزایش قابلیت دسترسی به فسفات‌های آلی موجود در پسماند است. افزایش فسفر قابل‌دسترس با کاربرد پسماند جامد نه تنها مزایای کشاورزی تولید می‌کند بلکه به حل مشکلات مرتبط با تثبیت فسفر که به فراوانی در خاک‌های آهکی مشاهده می‌شود نیز کمک می‌نماید. بنابراین به‌نظر می‌رسد که پسماند جامد ممکن است بتواند به‌عنوان کود آلی مورد استفاده قرار گیرد، اگرچه پژوهش‌های پیش‌تری در مقیاس وسیع و در مزرعه در حضور گیاه و پیامد پسماند بر روی برخی از ویژگی‌های فیزیکی خاک از جمله هدایت الکتریکی و نفوذپذیری نیز ضروری است.

### منابع

1. Acosta-Martínez, V., Klose, S., and Zobeck, T.M. 2003. Enzyme activities in semiarid soils under conservation reserve program, native rangeland, and cropland. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 166: 699-707.
2. 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.
3. Chaiarn, M., and Lumyong, S. 2009. Phosphate solubilization potential and stress tolerance of rhizobacteria from rice soil in Northern Thailand. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 25: 305-314.
4. Criquet, S., and Braud, A. 2008. Effects of organic and mineral amendments on available P and phosphatase activities in a degraded Mediterranean soil under short-term incubation experiment. *Soil Till. Res.* 98: 164-174.
5. 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: 1339-1345.
6. Davis, J.G., and Wilson, C.R. 2005. Choosing a soil amendment, Colorado.
7. Del Buono, D., Said-Pullicino, D., Proietti, P., Nasini, L., and Gigliotti, G. 2011. Utilization of olive husks as plant growing substrates: phytotoxicity and plant biochemical responses. *Compost Science and Utilization.* 19: 52-60.
8. Dermeche, S., Nadour, M., Larroche, C., Mouliti-Mati, F., and Michaud, P. 2013. Olive mill wastes: biochemical characterizations and valorization strategies. *Process Biochemistry.* 48: 1532-1552.
9. Dick, R.P. 1994. Soil enzyme activities as indicators of soil quality. P 107-124. In: Doran, J.W., Coleman, D.C., Bezdicek, D.F. and Stewart, K. (eds.) *Defining Soil Quality for a Sustainable Environment.* Special Publication, Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin.

10. Dodor, D.E., and Tabatabai, M.A. 2003. Effect of cropping systems on phosphatases in soils. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 166: 7-13.
11. Ehlers, K., Bakken, L.R., Frostegård, A., Frossard, E., and Bünemann, E.K. 2010. Phosphorus limitation in a Ferralsol: impact on microbial activity and cell internal P pools. *Soil Biology and Biochemistry.* 42: 558-566.
12. 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: 65-77.
13. Gregorich, E.G., Carter, M.R., Doran, J.W., Danks, C.E., and Dwyer, L.M. 1997. Biological attributes of soil quality. P 28: 81-104. In: E.G. Gregorich and M.R. Carter (Ed.), *Soil Quality for Crop Production and Ecosystem Health. Developments in Soil Science.*
14. Gyaneshwar, P., Kumar, G.N., Parekh, L.J., and Poole, P.S. 2002. The role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. *Plant and Soil.* 245: 83-93.
15. İlay, R., Kavdir, Y., and Sümer, A. 2013. The effect of olive oil solid waste application on soil properties and growth of sunflower (*Helianthus annuus* L.) and bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *International Biodeterioration and Biodegradation.* 85: 254-259.
16. IMPEL. 2003. IMPEL Olive Oil Project Report. European Union Network for the implementation and enforcement of Environmental Law. Available from: <<http://europa.eu.int/comm/environment/impel/olive-oil-project.htm>>.
17. Jarboui, R., Sellami, F., Kharroubi, A., Gharsallah, N., and Ammar, E. 2008. Olive mill wastewater stabilization in open air ponds: impact on clay-sandy soil. *Bioresource Technology.* 99: 7699-7708.
18. Jenkinson, D.S., and Ladd, J.N. 1981. Microbial biomass in soil measurement and turnover, In: Paul E.A., and Ladd J.N. (Eds)”, *Soil Biochemistry*, Pp: 415-471.
19. Jia, B.R., Zhou, G.S., Wang, Y.H., Yang, W.P., and Zhou, L. 2005. Partitioning root and microbial contributions to soil respiration in *Leymus chinensis* population, *Soil Biology and Biochemistry.* 38: 4. 653-660.
20. King, E.O., Ward, M.K., and Raney, D.E. 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. *J. Lab. Clin. Med.* 44: 301-307.
21. Kirsten, S.H., Donald, R.Z., Kelly, K.M., and Julie, D.J. 2011. Changes in forest soil organic matter pools after a decade of elevated CO<sub>2</sub> and O<sub>3</sub>, *Soil Biology and Biochemistry.* 43: 7. 1518-1527.
22. Kujur, M., Gartia, S.K., and Patel, A.K. 2012. Quantifying the contribution of different soil properties on enzyme activities in dry tropical ecosystems. *ARPN J. Agric. Biol. Sci.* 7: 763-772.
23. Kuo, S. 1996. Phosphorus. In: D.L. Sparks et al. (Ed.), *Methods of soil analysis. (Part 3) Chemical methods.* (pp. 869-920). Soil Science Society of America, Madison, WI.
24. Latique, S., and Candidate, D. 2013. Seaweed liquid fertilizer effect on physiological and biochemical parameters of bean plant (*Phaseolus vulgaris* variety paulista) under hydroponic system. *Europ. Sci. J.* 9: 30. 174-191.
25. Ling, N., Zhu, C., Xue, C., Chen, H., Duan, Y., Peng, C., Guo, S., and Shen, Q. 2016. Insight into how organic amendments can shape the soil microbiome in long-term field experiments as revealed by network analysis. *Soil Biology and Biochemistry.* 99: 137-149.
26. López-Pinheiro, A., Albarrañ, A., Cabrera, D., Peña, D., and Rato Nunes, J.M. 2011. De-Oiled two-phase olive mill waste application impact on phosphorus sorption and fractionation in a mediterranean soil under olive production. *Soil Science.* 176: 22-32.
27. Manzoni, S., Taylor, P., Richter, A., Porporato, A., and Agren, G.I. 2012. Environmental and stoichiometric controls on microbial carbon-use efficiency in soils. *New Phytologist.* 196: 1. 79-91.

28. Miller, S.H., Browne, P., Prigent-Cambaret, C., Combes-Meynet, E., Morrissey, J.P., and O'Gara, F. 2010. Biochemical and genomic comparison of inorganic phosphate solubilisation in *Pseudomonas* species. *Environmental Microbiology Reports*. 2: 403-411.
29. Nasini, L., Gigliotti, G., Alessandra Balduccini, M., Federici, E., Cenci, G., and Proietti, P. 2013. Effect of solid olive-mill waste amendment on soil fertility and olive (*Olea europaea* L.) tree activity. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 164: 292-297.
30. Navarro, A.F., Cegarra, J., Roig, A., and Garcia, D. 1993. Relationships between organic matter and carbon contents of organic wastes. *Bioresource Technology*. 44: 3. 203-207.
31. Olsen, S.R., Cole, C.V., Watanabe, F.S., and Dean, L.A. 1954. Estimation of Available Phosphorus in Soils by Extraction with Sodium Bicarbonate. Washington, DC: U. S. Department of Agriculture. 939.
32. Palm, C.A., Gachengo, C.N., Delve, R.J., Cadisch, G., and Giller, K.E. 2001. Organic inputs for soil fertility management in tropical agroecosystems: application of an organic resource database. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 83: 27-42.
33. Regni, L., Nasini, L., Ilarioni, L., Brunori, A., Massaccesi, L., Agnelli, A., and Proietti, P. 2017. Long term amendment with fresh and composted solid olive mill waste on olive grove affects carbon sequestration by prunings, fruits and soil. *Frontiers in Plant Science*. 7: 1-9.
34. Roig, A., Cayuela, M.L., and Sa'nchez-Monedero, M.A. 2006. An overview on olive mill wastes and their valorisation methods. *Waste Management*. 26: 960-969.
35. Russell, R.S., Rickson, J.B., and Adams, S.N. 1954. Isotope equilibria between phosphate in soil and their significance in the assessment of fertility by trace method. *J. Soil Sci*. 5: 85-105.
36. Ryan, J., Estefan, G., and Rashid, R. 2001. *Soil and Plant Analysis Laboratory Manual*. Second Edition. Available from ICARDA, Aleppo, Syria, 172p.
37. Sampedro, I., Giubilei, M., Cajthaml, T., Federici, E., Federici, F., Petruccioli, M., and D'annibale, A. 2009. Short-term impact of dry olive mill residue addition to soil on the resident microbiota. *Bioresource Technology*. 100: 6098-6106.
38. Schaad, N.W., Jones, J.B., and Chum, W. 2001. *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*. 3<sup>rd</sup> Ed. APS Press, St. Paul, MN, USA.
39. Sierra, J., Marti, E., Montserrat, G., Cruanas, R., and Garau, M.A. 2001. Characterisation and evolution of a soil affected by olive oil mill wastewater disposal. *The Science of the Total Environment*. 279: 207-214.
40. Sparks, D.L. 1996. *Methods of Soil Analysis Part 3 Chemical Methods*. Soil Science Society of America, American Society of Agronomy, Madison.
41. Sperber, J.I. 1958. The incidence of apatite-solubilizing organisms in the rhizosphere and soil. *Austr. J. Agric. Res.* 9: 778-781.
42. Sundra, B., Natarajam, V., and Hari, K. 2002. Influence of phosphorus solubilizing bacteria on the changes in soil available phosphorus and sugarcane and sugar yields. *Field Crops Research*. 77: 43-49.
43. Susilowati, L.E., and Syekhfani, M. 2014. Characterization of phosphate solubilizing bacteria isolated from Pb contaminated soils and their potential for dissolving tricalcium phosphate. *J. Deg. Min. Land Manage*. 1: 57-62.
44. Tabatabai, M.A. 1982. *Soil enzymes Methods of soil analysis*. Part 2. American Society of Agronomy, Madison, WI, USA. Pp: 539-579.
45. Toscano, P., Casacchia, T., Diacono, M., and Montemurro, F. 2013. Composted olive mill by-products: compost characterization and application on olive orchards. *J. Agric. Sci. Technol*. 15: 627-638.
46. Tu, C., Rustaino, J.B., and Hu, S. 2006. Soil microbial biomass and activity in organic tomato farming systems: effects of organic inputs and straw mulching. *Soil Biology and Biochemistry*. 38: 247-255.



47. Vassilev, N., Vassileva, M., Bravo, V., Fern'andez-Serrano, M., and Nikolaeva, I. 2007. Simultaneous phytase production and rock phosphate solubilization by *Aspergillus niger* grown on dry olive wastes. *Industrial Crops and Products*. 26: 332-336.
48. Wang, Q., Xiao, F., He, T., and Wang, S. 2013. Responses of labile soil organic carbon and enzyme activity in mineral soils to forest conversion in the subtropics. *Annals of Forest Science*. 70: 579-587.
49. Zhang, L., Ding, X., Chen, S., He, X., Zhang, F., and Feng, G. 2014. Reducing carbon: phosphorus ratio can enhance microbial phytin mineralization and lessen competition with maize for phosphorus. *J. Plant Interact.* 9: 1. 850-856.



Gorgan University of Agricultural  
Sciences and Natural Resources

*J. of Water and Soil Conservation*, Vol. 26(2), 2019

<http://jwsc.gau.ac.ir>

DOI: 10.22069/jwsc.2019.15690.3087

## The effect of solid waste of olive oil mill and *Pseudomonas* bacteria on phosphorus availability and some biological characteristics of a calcareous soil

M. Mahsefat<sup>1</sup>, \*N. Ghorbanzadeh<sup>2</sup>, M.B. Farhangi<sup>2</sup> and M. Khalili Rad<sup>2</sup>

<sup>1</sup>M.Sc. Student, Dept. of Soil Science, University of Guilan,

<sup>2</sup>Assistant Prof., Dept. of Soil Science, University of Guilan

Received: 10.05.2018; Accepted: 01.08.2019

### Abstract

**Background and Objectives:** Agro-industrial wastes of olive mill processing are an important environmental problem in olive-oil producing countries. The incorporation of organic wastes such as solid olive waste into soil can be useful for improving soil condition. Phosphorus is an essential nutrient for plant growth. Concurrently, it is also known that phosphate-solubilizing bacteria (PSB) are important for P-solubilization from insoluble phosphorus compounds due to large volume of solid waste generated in olive oil mill processing, especially in Guilan province and increasing demand for phosphorus fertilizers in agriculture, this study was conducted with the aim of increasing the available phosphorus from solid olive waste in the presence of *Pseudomonas* solubilizing phosphorus bacteria in calcareous soil.

**Materials and Methods:** Solid waste obtained from an olive oil mill (Rudbar, Guilan province) and loamy soil employed in this study was collected of Lowshan from the topsoil (0-30 cm). Native *pseudomonas* with the ability of phosphorus solubilizing was isolated in Sperber medium plate containing insoluble phosphorus and then phosphorus solubilizing index (PSI) was calculated. The treatments for soil incubation consisted of three levels of solid waste include 0 (W0), 2 (W2) and 4 (W4) percent and three levels of bacteria, without bacteria (Pn), isolated *pseudomonas* (Pi) and *pseudomonads* CHA0 (Pch) as an index bacteria in 11 sampling times. Soil samples were thoroughly mixed with solid wastes and after inoculating with bacteria ( $10^6$  cell/g) were incubated at 28 °C in 70% of the WHC. Sampling was carried out at 0, 2, 7, 14, 28, 42, 56, 86, 116, 146 and 176 days of incubation. pH, organic carbon, microbial basal respiration, microbial biomass carbon, available phosphorus and phosphatase activity were measured. A multi-level factorial experiment with complete randomized design was employed in three replications. Mean comparisons were done by Duncan method at  $P \leq 0.05$ . Data analysis was carried out on SAS.

**Results:** The effect of solid waste (W), bacteria (B) and time (T) and their interaction effects on soil studied properties were significantly difference ( $P \leq 0.01$ ). Results of the mean comparison of the effect of the different levels of waste and bacteria interaction showed that pH decreased with increasing the amount of solid waste and bacteria activity. The most basal respiration was observed in W4Pcha treatment. With increasing the levels of solid waste, the amount of organic carbon also increased and in W4Pcha treatment reached to 3.1%. The maximum amount of microbial biomass carbon was observed in treatments that received solid waste. The maximum amount of available phosphorus was observed in W4Pi ( $99.1 \text{ mg kg}^{-1}$ ) and the minimum amount

---

\* Corresponding Author; Email: [nasrin.ghorbanzadeh@gmail.com](mailto:nasrin.ghorbanzadeh@gmail.com)

was observed in W0Pn. The activity of phosphatase enzyme also increased with increasing the levels of waste in Pi and Pch bacteria. The results of the effect of waste and time interaction showed a rapid but temporary increase in basal respiration in response to waste.

**Conclusion:** Significant changes were observed in basal respiration, biomass carbon and organic carbon in soils that received solid waste compared to control soil. Adding of solid waste with phosphorous solubilizing bacteria increased phosphatase activity (as an indicator of microbial activity and phosphorous mineralization) in soil. The application of bacterial and solid waste treatment is a solution that, in addition improving the biological properties of the soil, can lead to increase availability of phosphorus, reduce the using of phosphate fertilizers use and the sustainable management of this type of solid waste.

**Keywords:** Organic carbon, Phosphatase, Phosphate solubilizing bacteria, Respiration

