

مقایسه اثرات ممانعت کنندگی کلرید آمونیم و دی‌متیل پیرازول فسفات بر فرآیند نیتریفیکاسیون در خاک

محمد کاظم سوری^{*}

mk.souri@modares.ac.ir

کمال سادات اسیلان^۱

فولکر رومهلد^۲

معین نائیجی^۳

تاریخ پذیرش: ۸۹/۲/۳

تاریخ دریافت: ۸۸/۱۱/۳۰

چکیده

نیتریفیکاسیون فرآیند اکسیداسیون میکروبی آمونیم به نیترات در خاک است که همراه با هدر رفت نیترات و آلودگی منابع آب و خاک می‌باشد. مواد شیمیایی ممانعت کننده فرآیند نیتریفیکاسیون اصولاً جهت کاربرد در کشت محصولات با غبانی مخصوصاً سبزیجات که عمدهاً به صورت تازه مصرف می‌شوند و همچنین افزایش بازده کارآبی کودهای نیتروژن توسعه یافته‌اند. کاربرد همزمان این ترکیبات با کودهای آمونیمی باعث تشییت تغذیه آمونیمی و متعاقباً تجمع کم تر نیترات و اگزالات در سبزیجات و همچنین آلودگی کم تر آب‌های زیرزمینی می‌شود.

در این مطالعه کارآبی کلرید به دو شکل کلرید پتاسیم و کلرید آمونیم در مقایسه با ۳-و ۴-دی‌متیل پیرازول فسفات (DMPP) به عنوان یک ممانعت کننده استاندارد نیتریفیکاسیون به صورت آزمایش گلدنی تحت شرایط کنترل شده مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج نشان داد که DMPP به طور مؤثری از نیتریفیکاسیون در خاک در طول مدت آزمایش (هفت هفته) ممانعت نمود. از سویی دیگر کلراید به هر دو شکل کلرید آمونیم و کلرید پتاسیم در مقایسه با کنترل طی هفت هفته از شروع آزمایش، به طور معنی داری از نیتریفیکاسیون ممانعت نمود. اثرات ممانعت کنندگی کلراید رابطه مثبتی با غلظت‌های کاربردی کلراید داشت، به طوری که غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک ممانعت مؤثرتری را در مقایسه با غلظت‌های ۲۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک طی یک دوره ۵ هفته

۱- عضو هیئت علمی گروه با غبانی دانشگاه تربیت مدرس^{*} (مسئول مکاتبات)

۲- استادیار دانشگاه پیام نور واحد کرج

۳- استاد تقاضه گیاهی، دانشگاه هوهنهايم، اشتوتگارت ۷۰۵۹۹، آلمان.

۴- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم با غبانی دانشگاه تربیت مدرس

آزمایش باعث گردید. نتایج همچنین بیانگر آن است که جدا از ممانعت کننده های تجاری نیتریفیکاسیون، کلراید همچنین می تواند به طور معنی داری از اکسیداسیون میکروبی آمونیم در خاک ممانعت کند. لذا در مناطقی که کلراید مشکلی جهت خاک نمی باشد کاربرد فرم های کلریدی نیتروژن احتمالاً بتواند کارآیی کود نیتروژنه را به طور چشمگیری افزایش دهد.

واژه های کلیدی: نیتریفیکاسیون، آمونیم، نیترات، دیمتیل پیرازول فسفات، کلراید.

مقدمه

(۴، ۵ و ۶). به هر حال داشش موجود در مورد غلظت های ممانعت کننده و جزئیات مربوط به اثرات ممانعت کننده کلراید محدود می باشد. لذا این آزمایش جهت برآورد پتانسیل ممانعت کننده کلراید به دو فرم مختلف در مقایسه با DMPP انجام یافته است.

مواد و روش ها

این آزمایش با یک خاک لومی که برای مدت طولانی در شرایط خشک نگه داشته شده بود انجام گرفت. لذا قبل از شروع آزمایش آن با نیم لیتر عصاره خاک مزرعه ای به طور یکنواختی مخلوط گردید و به مدت دو هفته در ظرفیت نگه داری آب ۵٪ در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد جهت انگیزش فعالیت میکروبی تحت شرایط اتاقک رشد نگه داری شد. تیمارها شامل آمونیم سولفات (بدون DMPP) به عنوان کنترل، آمونیم سولفات+DMPP (به میزان یک درصد نیتروژن آمونیمی)، سولفات آمونیم+کلرید پتانسیم (۳۰/۵ میلی گرم بر ۱۰۰ گرم خاک خشک)، و آمونیم کلراید بودند. میزان نیتروژن در تمام تیمارها برابر ۱۲۰ میلی گرم نیتروژن بود. تیمارها به طور یکنواختی با خاک مخلوط شده و چندین بار با الک ۲ میلی متری جهت هموژنیزه کردن مخلوط خاک الک شدند. DMPP همراه با سولفات آمونیم در آب مقطر حل شده و به طور یکنواختی به داخل خاک مخلوط شد. یک میزان ۵۹ گرم خاک مرطوب (در ۶۰٪ ظرفیت نگه داری آب خاک) که حاوی تیمارهای مربوطه (۴ تیمار) بود در گلدان های پلاستیکی ۵۰ گرمی (سه تکرار) و هر تیمار چهار زمان مختلف نمونه برداری (۰، ۳، ۵، ۷ هفتگه) قرار داده شد. گلدان ها جهت ممانعت از هدر رفت رطوبت با پوشش های پلاستیکی به طور کامل ایزوله

نیتریفیکاسیون فرایند اکسیداسیون آمونیم یا فرم های آلی نیتروژن به نیترات توسط میکروب های خاک می باشد. این فرایند به سبب تولید گازهای گلخانه ای و تخریب لایه ازن، نقش مهمی در آلودگی زیست محیطی دارد. لذا ممکن است تولید اکوسیستم را نیز به طور منفی تحت تأثیر قرار دهد (۱). نیتریفیکاسیون همواره نقش مهمی در هدر رفت نیتروژن به سبب تحرک بیش از حد محصول نهایی (نیترات) دارد. از سویی دیگر تغذیه آمونیمی گیاهان مخصوصاً سبزیجات که به صورت تازه مصرف می شوند می تواند در کاهش تجمع نیترات در آن ها، کاهش آلودگی منابع آب و بهبود سلامتی محیط و انسان بسیار مفید باشد. آمونیم فرم بهتری از نیتروژن جهت تغذیه گیاهی به سبب راندمان بهتر و آلودگی های زیست محیطی کم تر می شود. در سیستم های زراعی کنترل نیتریفیکاسیون برای مدت محدودی می تواند کمک کند تا به اندازه نیازگیاه نیتروژن به کار رود که نهایتاً باعث بهبود کلآیی نیتروژن کاربردی و مصرف کمتر می گردد. در کشاورزی ممانعت از نیتریفیکاسیون به وسیله کاربرد مواد سنتتیک N-serve (CD) و یا دیمتیل پیرازول فسفات (DMPP) صورت می گیرد. نوع اخیر به هر حال یک ماده نسبتاً جدید است که در اروپا به طور کامل جایگزین DCD شده است. این به سبب کارآیی بهتر DMPP، به علاوه عدم اثرات جانبی آن می باشد (۲ و ۳). جدا از ممانعت کننده های تجاری، طیف وسیعی از مواد شیمیایی می توانند از فرایند نیتریفیکاسیون مخصوصاً تحت شرایط آزمایشگاهی ممانعت کنند. مثلاً نشان داده شده است که کلراید در غلظت های ۷-۵۰ میلی مولار باعث کاهش نیتریفیکاسیون تحت شرایط آزمایشگاهی و مزرعه ای می گردد

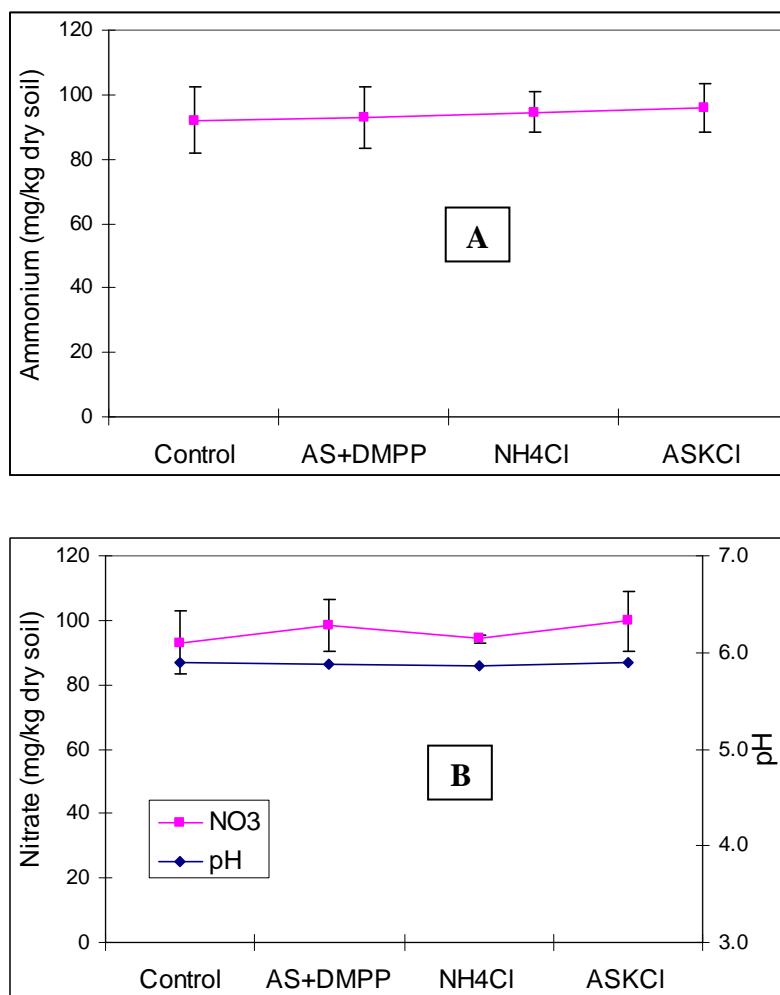
پارامترها برای نمونه های خاک در شروع آزمایش می باشد (شکل ۱). بعد از حدود سه هفته از شروع آزمایش، غلظت نیترات تغییراتی را نشان می دهد که این تغییرات معنی دار نیستند (شکل ۲). به هر حال مقادیر نیتریفیکاسیون خالص به فرم نیترات تولید شده تنها بعد از گذشت ۵ هفته از شروع آزمایش قابل تشخیص بود (شکل ۳) به طوری که بیشترین میزان تولید نیترات در تیمار کنترل و کم ترین میزان آن در تیمار AS+DMPP اندازه گیری شد. همچنین تیمار کلراید به هر دو فرم کلرید پتاسیم و کلرید آمونیم باعث کاهش معنی دار تولید نیترات در مقایسه با کنترل گردید. یک همبستگی معکوسی بین نیتریفیکاسیون (تولید نیترات) و pH عصاره خاک مشاهده شد (شکل ۳). بعد از گذشت ۷ هفته از آزمایش، تیمار DMPP مؤثرترین ممانعت را در مقایسه با کلراید باعث گردید به طوری که در پایان آزمایش بعد از ۷ هفته غلظت نیترات در تیمار DMPP برابر حدود ۱۲۵ میلی گرم نیترات بر گیلوگرم خاک بود که تقریباً مشابه غلظت آن در ابتدای آزمایش بود، که این خود بیانگر اثر قوی این ممانعت کننده روی نیتریفیکاسیون می باشد (شکل ۴). از سویی دیگر هر دو فرم کلراید نیز در مقایسه با کنترل از نیتریفیکاسیون به طور معنی داری ممانعت نمودند (شکل ۴). گذشت زمان تا هفت هفته بعد از شروع آزمایش بیانگر همبستگی بهتر و قوی تر نیتریفیکاسیون و pH عصاره خاک بود (شکل ۵). همچنین در آزمایشی جداگانه طی مدت ۵ هفته مشخص شد که غلظت های مختلف کلراید به شکل کلرید پتاسیم باعث کاهش سرعت نیتریفیکاسیون یا تولید نیترات شده است (شکل ۶).

شده، به علاوه این که هر ۵-۴ روز رطوبت گلدان ها کنترل گردید. سپس گلدان ها در اتفاق رشد $^{\circ}\text{C}$ ۲۳/۲۰ قرار داده شدند. در آزمایشی جداگانه غلظت های مختلف کلراید (۱۰۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم خاک) به فرم کلرید پتاسیم جهت برآورد اثرات غلظت کلراید بر فرایند نیتریفیکاسیون طی مدت ۵ هفته در شرایط مشابه بررسی گردید.

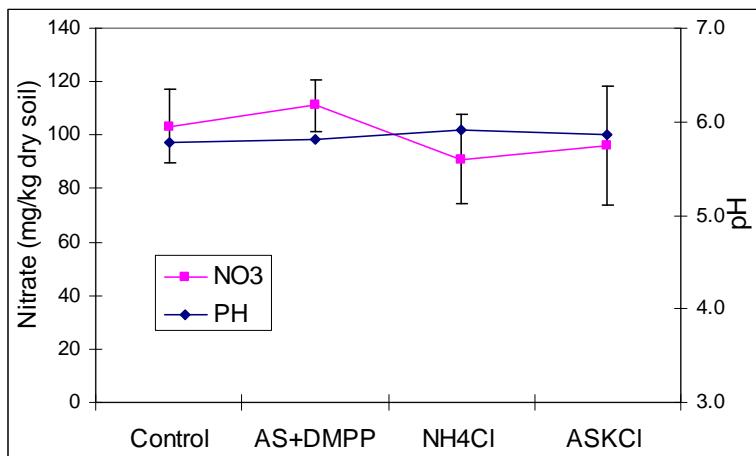
در زمان های مشخص نمونه های مربوط به هر تاریخ نمونه برداری (۰، ۳، ۵ و ۷ هفته) از اتفاق رشد خارج و ۳۰ گرم از خاک تازه هر گلدان به بطی های پلاستیکی ۱۰۰ میلی لیتری منتقل و ۳۰ میلی لیتر از محلول ۰.۰۲۵ M کلرید کلسیم به هر بطی اضافه گردید و کل مخلوط برای مدت ۱ ساعت در ۲۰۰ rpm با شیکر تکان داده شد. بعد از آن pH هر نمونه با استفاده از pH متر مدل (Mettler Toledo) اندازه گیری گردید. سپس محلول با استفاده از فیلتر (Blue Ribbon Filter paper 110 mm) فیلتراسیون و Merck- نیترات به وسیله تست سریع نیترات (Reflectoquant Quicktest Darmstadt, Germany) اندازه گیری گردید (میانگین سه بار اندازه گیری برای هر تکرار). مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره خاکی استخراج شده با ۰/۰۲۵ مولار کلرید کلسیم جهت اندازه گیری آمونیم به وسیله HPLC به کار برد شد. نتایج بیانگر میانگین \pm SD می باشد.

نتایج

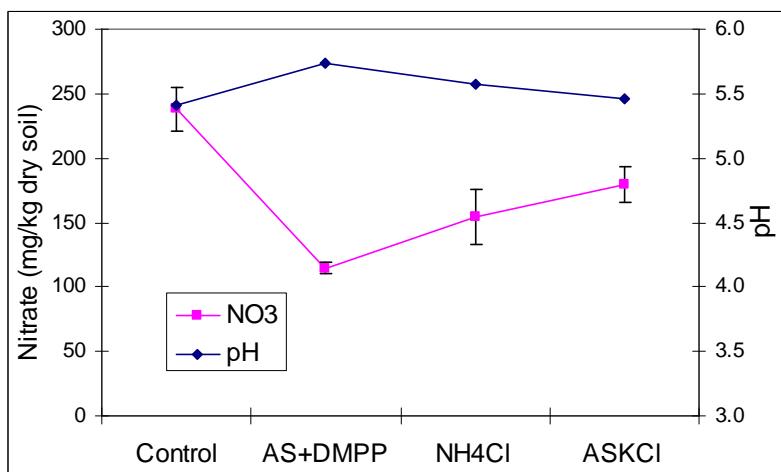
اندازه گیری غلظت آمونیم، نیترات و pH عصاره محلول نمونه های خاک بیانگر مقادیر کم و بیش یکسان این



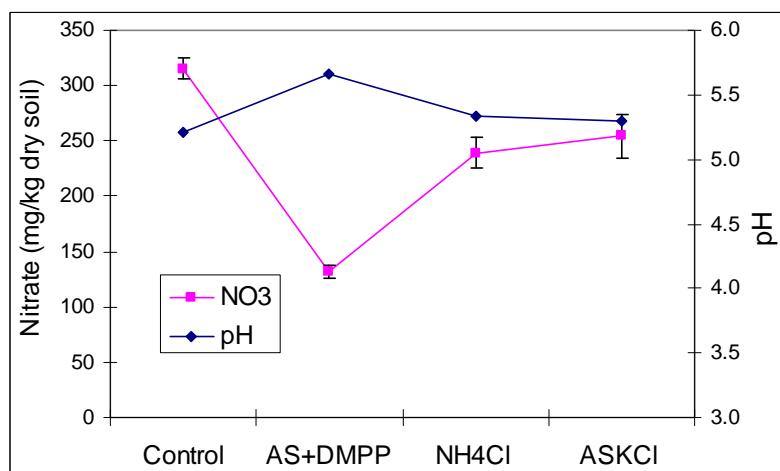
شکل ۱- غلظت آمونیم (A)، نیترات و pH (B) در تیمارها در شروع آزمایش (زمان صفر). تیمارها شامل کنترل (فقط سولفات آمونیم)، سولفات آمونیم+AS+DMPP (کلرید آمونیم+DMPP+ آمونیم) و سولفات آمونیم+کلرید پتاسیم بودند. داده ها میانگین ۳ تکرار \pm SD می باشند.



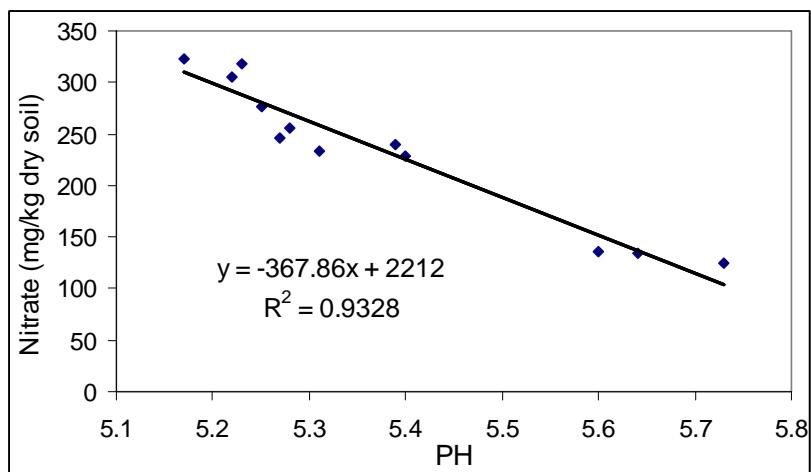
شکل ۲- غلظت نیترات و pH تحت تأثیر تیمارها بعد از ۳ هفته از آزمایش. تیمارها شامل کنترل (فقط سولفات آمونیم)، سولفات آمونیم+ کلرید آمونیم (NH₄Cl)، سولفات آمونیم+ کلرید پتاسیم (AS+DMPP) و داده ها میانگین ۳ تکرار \pm SD می باشند.



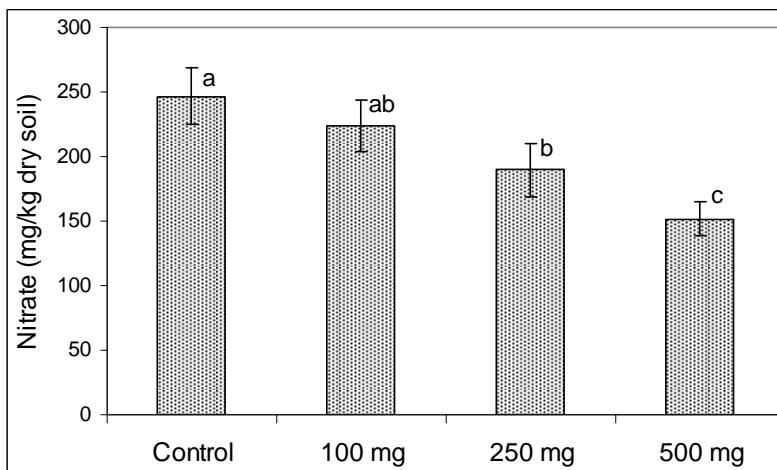
شکل ۳- غلظت نیترات و pH تحت تأثیر تیمارها بعد از ۵ هفته از آزمایش. تیمارها شامل کنترل (فقط سولفات آمونیم)، سولفات آمونیم+ کلرید آمونیم (NH₄Cl)، سولفات آمونیم+ کلرید پتاسیم (AS+DMPP) و داده ها میانگین ۳ تکرار \pm SD می باشند.



شکل ۴- غلظت نیترات و pH تحت تأثیر تیمارها بعد از ۷ هفته از شروع آزمایش. تیمارها شامل کنترل (فقط سولفات آمونیم)، AS+DMPP (سولفات آمونیم+DMPP)، NH₄Cl (کلرید آمونیم) و KCl+AS (سولفات آمونیم+کلرید پتاسیم) بودند. داده ها میانگین ۳ تکرار \pm SD می باشند.



۵- همبستگی بین نیترات تولید شده با pH عصاره خاک بعد از ۷ هفته از شروع آزمایش.



شکل ۶- مقدار نیترات تولید شده در اثر فرایند نیتریفیکاسیون تحت تأثیر غلظت های مختلف کلراید (۰، ۱۰۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم خاک). کلراید به فرم کلرید پتاسیم به کار رفت و نمونه ها برای مدت ۵ هفته مورد آزمایش قرار گرفتند. داده ها میانگین \pm SD می باشند.

از سویی دیگر کاربرد کلراید (غلظت ۳۰/۵ میلیگرم بر ۱۰۰ گرم

خاک) به هر دو شکل کلرید پتاسیم و یا کلرید آمونیم باعث کاهش معنی دار نیتریفیکاسیون در مقایسه با کنترل گردید. لذا فرم های کلرایدی آمونیم می تواند به طور مؤثرتری در مقایسه با دیگر اشکال کودی نیتروژن مورد استفاده گیاه قرار بگیرد مخصوصاً اگر در کشاورزی دقیق (precision farming) به طور محلی یا نقطه ای به کار رود (۴، ۵ و ۱۲). کلراید فشار اسمزی خاک را بیشتر از دیگر آنیون ها مانند سولفات افزایش می دهد (۴ و ۵). لذا افزایش غلظت و فشار اسمزی محلول خاک در اثر کاربرد کلراید ممکن است دلیلی بر اثر ممانعت کنندگی آن بر نیتریفیکاسیون باشد. نشان داده شده است که با افزایش فشار اسمزی خاک میزان نیتریفیکاسیون کاهش می یابد (۴ و ۱۳)، همچنین با افزایش غلظت نمک فعالیت میکروگانیسم ها نیز کاهش می یابد (۴ و ۱۴). شدت ممانعت فاکتوری از فشار اسمزی محلول خاک و ویژگی های اسمولیتی کود مورد استفاده می باشد. به هر حال در برخی آزمایش ها حتی غلظت های کم کلراید از نیتریفیکاسیون ممانعت نموده است که به نظر نمی رسد به سبب اثر اسمزی باشد (۴ و ۵). مشابه با آن نتایج این آزمایش بیانگر نقش اختصاصی یون های کلراید در ممانعت از نیتریفیکاسیون می باشد و نقش فشار

بحث

عدم تغییرات غلظت نیترات بعد از حدود سه هفته از شروع آزمایش (شکل ۲) بیانگر آن است که نیتریفیکاسیون خالص (Net nitrification) هنوز اتفاق نیافتداده است. تحت شرایط آزمایشگاهی و گلخانه ای معمولاً تأخیری یک تا دو هفته ای در نیتریفیکاسیون خالص مشاهده می گردد (۷ و ۸)، که احتمالاً به سبب محتوای ماده آلی کم خاک (۹) و یا زمان نسبتاً طولانی استقرار باکتری های اکسید کننده آمونیم در خاک می باشد (۱۰)، که می تواند توضیحی بر تأخیر ۳ هفته ای نیتریفیکاسیون خالص در این آزمایش باشد. نتایج در طول سه هفته ابتدای آزمایش بیانگر عدم وقوع نیتریفیکاسیون خالص می باشد به هر حال تغییرات pH و آمونیم (دادها ارائه نشده اند) بیانگر آن است که نیتریفیکاسیون (ناخالص) رخ داده است. DMPP به طور بسیار مؤثری باعث ممانعت از نیتریفیکاسیون در طول تمام ۷ هفته آزمایش شده است. این به طور مشابهی در دیگر آزمایش ها نیز نشان داده شده است، به طوری که این ماده یه عنوان مؤثرترین ممانعت کننده تجاری نیتریفیکاسیون مطرح می باشد (۳، ۲۱ و ۱۱).

نتیجه گیری نهایی

کلراید به طور معنی داری باعث کاهش میزان نیتریفیکاسیون در مقایسه با کنترل گردید. هیچ گونه تفاوت معنی داری بین KCl و NH_4Cl مشاهده نشد. در تمام طول pH آزمایش یک همبستگی بین غلظت نیترات نمونه ها و محلول خاک وجود داشت. ماده تجاری ۳-۴-دیمتیل پیرازول فسفات (DMPP) به طور مؤثری در تمام طول آزمایش از نیتریفیکاسیون ممانعت نمود. گرچه میزان و شدت ممانعت از نیتریفیکاسیون توسط کلراید همانند DMPP نبود ولی کلراید نیز می تواند در مدیریت نیتروژن در کشاورزی جهت افزایش بازیافت کود نیتروژن (آمونیمی) کاربردی به کار رود. نتایج پیشنهاد می کند که بسته به مرحله رشد باکتری و تراکم جمعیتی آن ها حتی موادی که در شرایط عادی ممانعت کننده نیستند، بسته به غلظت های کاربردی، می توانند به عنوان ممانعت کننده فرآیند نیتریفیکاسیون عمل کنند.

منابع

1. Abbasi, M. K. and W. A. Adams. 2000. Gaseous N emission during simultaneous nitrification-denitrification associated with mineral N fertilization to a grassland soil under field conditions. *Soil Biol. Biochem* 32: 1251-1259.
2. Pasda, G. Hähndel, R. and W. Zerulla. 2001. Effect of fertilizers with the new nitrification inhibitor DMPP (3,4-dimethylpyrazole phosphate) on yield and quality of agricultural and horticultural crops. *Biology and fertility of Soils* 34: 85-97.
3. Weiske, A. Benckiser, G. Herbert, T. and J. Ottow. 2001. Influence of the nitrification inhibitor 3,4-dimethylpyrazole phosphate (DMPP) in comparison to dicyandiamide (DCD) on nitrous oxide emissions,

اسمزی از نظر اهمیت در مرتبه بعدی قرار دارد. گلدن و همکاران (۱۹۸۰) در مطالعه اثرات کلرید آمونیم، سولفات آمونیم و سوربیتوں نتیجه گیری نمودند که هر دو اثر مخصوص یون کلراید همراه با اثر اسمزی به طور مؤثرتری می تواند از نیتریفیکاسیون ممانعت کند. گرچه سازوکار دقیق یون کلراید در کاهش نیتریفیکاسیون مشخص نیست ولی کلراید و مشتقات آن به عنوان اکسید کننده ها و بیوساید های قوی مطرح هستند (۱۵) که احتمالاً باعث کاهش فعالیت باکتری های مسئول نیتریفیکاسیون در خاک می گردد. به علاوه این که در آزمایش های نیتریفیکاسیون کلرات در غلظت بسیار کم حدود ۷ mM جهت ممانعت از اکسیداسیون نیتریت به کار می رود (۱۶). کلراید ممکن است تحت برخی تغییرات بیولوژیکی یا شیمیایی در خاک تولید مواد فعالی کند که مشابه کلرات یا کلریت (۱۳) برای باکتری های نیتریفیکاسیون سمی باشد. جدا از نقش کنترل کنندگی کلراید بر باکتری های مسئول نیتریفیکاسیون، آن همچنین به سبب خواص آنتی بیوتیکی باعث کنترل عوامل بیماری زایی دیگر مانند ریزوکتونیا (۶) و بیماری پاخوره غلات (take all) می گردد (۱۷).

از سویی دیگر غلظت بالای آمونیم در محلول خاک نیز می تواند از نیتریفیکاسیون ممانعت نماید (۱۸). بنابراین کلرید آمونیم ممکن است فرم مناسب تری از نیتروژن جهت کاربرد در سیستم های کشاورزی باشد و در جایی که کلراید مشکلی نمی باشد، آن ممکن است نسبت به شکل های سولفاته کارآیی بیشتری داشته باشد. همه خاک ها مقداری کلراید به عنوان غلظت درونی دارند که باکتری های نیتریفیکاسیون به آن سازگار شده اند. به هر حال یک سطح بحرانی بایستی وجود داشته باشد که بالاتر از آن فعالیت این باکتری ها شدیداً کاهش می یابد. بنابراین در خاک های مختلف به علاوه در مراحل مختلف نمو جمعیتی باکتری های مسئول، این باکتری ها ممکن است پاسخی متفاوت به غلظت های کلراید نشان دهند. به طوری که حتی یک غلظت کم کلراید می تواند در شروع استقرار جمعیتی این باکتری ها اثر ممانعت کنندگی معنی داری داشته باشد.

- Pasda, G. Rädle, M. and A. Wissemeier. 2001. 3,4-Dimethylpyrazole phosphate (DMPP) - a new nitrification inhibitor for agriculture and horticulture. *Biology and Fertility of Soils* 34: 79-84.
12. McGuire, M. J. Lieu, N. I. and M. S. Pearthree. 1999. Using chlorite ion to control nitrification. *Journal American Water Works Association* 91: 52-61.
13. Low, A. P. Stark, J. M. and L. M. Dudley. 1997. Effects of Soil Osmotic Potential on Nitrification, Ammonification, N-assimilation, and Nitrous Oxide Production. *Soil Science* 162: 16-27.
14. Monaghan, R. M. and D. Barraclough. 1991. Some chemical and physical factors affecting the rate and dynamics of nitrification in urine-affected soil. *Plant and Soil* 143: 11-18.
15. Chen, G. H. and M. T. Wong. 2004. Impact of Increased Chloride Concentration on Nitrifying-Activated Sludge Cultures. *J. Envir. Eng.* 130: 116-125.
16. Kandeler, E. 1993. Bodenbiologische Arbeitsmethoden, Springer-Verlag, Heidelberg, Germany. pp 163-167.
17. Christensen, N.W., Taylor, R.G., Jackson, T.L., and Mitchell, B.L. 1981. Chloride effects on water potentials and yield of winter wheat infected with Take-all root rot. *Agron. J.*, 73: 1053-1058.
18. Pang, P. C. Hedlin, R. A. and C. M. Cho. 1973. Transformation and movement of band applied urea, ammonium sulphate, and ammonium hydroxide during incubation in several Manitoba soils. *Can. J. Soil Sc.* 53: 331-341.
- carbon dioxide fluxes and methane oxidation during 3 years of repeated application in field experiments. *Biology and Fertility of Soils* 34: 109-117.
4. Darrah, P. R. Nye, P. H. and R. E. White. 1987. The effect of high solute concentrations on nitrification rates in soil. *Plant and Soil* 97: 37-45.
5. Golden, D. C. Sivasubramaniam, S. Sandanam, S. and M. A. Wijedasa. 1980. Inhibitory effects of commercial potassium chloride on the nitrification rates of added ammonium sulphate in an acid red yellow podzolic soil. *Plant and Soil* 59: 147-151.
6. Wade, H. E. 1997. Influence of chloride and nitrogen form on rhizoctonia root and crown rot of table beets. *Plant Disease* 81: 635-640.
7. Hart, S. C. Nason, G. E. Myrold, D. D. and D. A. Perry. 1994. Dynamics of gross nitrogen transformations in an old-growth forest: the carbon connection. *Ecology* 75: 880-891.
8. Vitousek, P. M. Gosz, J. R. Grier, C. C. Melillo, J. M. and W. A. Reiners. 1982. A comparative analysis of potential nitrification and nitrate mobility in forest ecosystems. *Ecological Monographs* 52: 155-177.
9. Chander, K. Goyal, S. Mundra, M. C. and K. K. Kapoor. 1997. Organic matter, microbial biomass and enzyme activity of soils under different crop rotations in the tropics. *Biology and Fertility of Soils* 24: 306-310.
10. Killham, K. 1994. The nitrogen cycle. In: *Soil Ecology* Cambridge University Press, New York, pp. 108-141.
11. Zerulla, W. Barth, T. Dressel, J. Erhardt, K. von Locquenghien, K. H.