# تغییر شکل‌های معدنی فسفر و فعالیت فسفاتازی خاک شنی پس از غنی شدن با اصلاح‌کننده‌های معدنی، آلی و میکروبی و انکوباسیون دوماهه

سیده فرشته هاشمی، رویا زلقی* و نعیمه عنایتی ضمیر[۱]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۶/۳۱ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۲/۲۷)

**چکیده**

**در این پژوهش اثر برخی میکروارگانیسم‌های حل‌کننده فسفات بر شکل‌های معدنی فسفر در یک خاک شنی تیمارشده با مواد معدنی و آلی، مورد مطالعه قرار گرفت. آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار با دو فاکتور میکروارگانیسم (شاهد، انتروباکتر، بریوندوموناس و پریفورموسپورا ایندیکا) و کانی (شاهد، آپاتیت (۵ درصد وزنی)، آپاتیت (۵ درصد) درکنار زئولیت (۳ درصد) و آپاتیت (۵ درصد) درکنار ملاس (۱ درصد)) انجام شد. پس از اعمال تیمارها و ۶۰ روز انکوباسیون، اجزای فسفر معدنی خاک و فعالیت فسفاتاز قلیایی اندازه‌گیری شد. توزیع فسفر در خاک در شکل‌های اکتاکلسیم‌فسفات > آپاتیتی > دی‌کلسیم‌فسفات > اولسن > آلومینیوم فسفات > آهن فسفات مشاهده شد و کاربرد آپاتیت سبب افزایش همه شکل‌های فسفر شد. تیمار آپاتیت- زئولیت بسیار مؤثر بود و هرچند نسبت به کاربرد آپاتیت سبب افزایش معنی‌دار در فسفر اولسن نشد (که می‌تواند به دلیل ظرفیت تبادل کاتیونی اندک خاک باشد) اما بر دیگر شکل‌های فسفر تأثیر معنی‌دار ($p<0.05$) داشت و منجر به افزایش شکل دی‌کلسیم‌فسفات (۶۹/۲٪)، کاهش فسفر آپاتیتی (۳۴/۸ ٪) و فسفات آهن (۶۰/۰٪) شد. کاربرد آپاتیت- ملاس نسبت به کاربرد آپاتیت سبب افزایش معنی‌دار ($p<0.05$) دی‌کلسیم‌فسفات (۴۸/۹٪) و اکتاکلسیم‌فسفات (۲۹/۳٪) و کاهش معنی‌دار ($p<0.05$) فسفر آپاتیتی (۶۲/۱٪) و فسفر اولسن (۶۳/۹٪) شد. مایه‌زنی میکروبی سبب افزایش معنی‌دار فسفر اولسن و دی‌کلسیم‌فسفات و کاهش معنی‌دار اکتاکلسیم‌فسفات و فسفر آپاتیتی شد که نشان¬دهنده توانمندی میکروارگانیسم‌ها برای افزایش قابلیت دسترسی فسفر است. مجموع نتایج نشان‌دهنده تأثیر بیشتر انتروباکتر و پریفورموسپورا ایندیکا نسبت به بریوندوموناس است. به نظر می‌رسد میکروارگانیسم‌ها در حضور مواد اصلاح‌کننده متفاوت پاسخ‌های متفاوتی را ابراز می‌کنند، به‌طوری که در تیمارهای آپاتیت و ملاس- آپاتیت فعالیت فسفاتاز قلیایی در پی مایه‌زنی میکروبی افزایش داشت، درحالی که در تیمار زئولیت- آپاتیت pH کاهش داشته که نشان¬دهنده تولید اسیدهای آلی توسط میکروارگانیسم‌ها است.**

**واژه‌های کلیدی: آپاتیت، زئولیت، ملاس، جزءبندی فسفر، میکروارگانیسم‌های حل‌کننده فسفر**

۱. گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز

*: مسئول مکاتبات: پست الکترونیکی: r.zalaghi@scu.ac.ir

## مقدمه

خاک‌های شنی حاوی ذرات درشت و بافت سبک، چسبندگی کم، زهکشی و نفوذپذیری بسیار خوب اما مواد آلی اندک بوده و تخلخل و نفوذپذیری زیاد باعث آبشویی و هدرروی عناصر غذایی به ویژه فسفر می‌شود. از روش‌های افزایش محصول در خاک شنی استفاده از اصلاح‌کننده‌های رسی جهت بهبود ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی این خاک‌ها است. این اصلاح‌کننده‌ها باعث نگهداری عناصر غذایی و رطوبت خاک شده و مواد غذایی مورد نیاز گیاه را تأمین می‌سازد.

فسفر در خاک به دو شکل آلی و معدنی وجود دارد این عنصر غذایی پرمصرف برای فتوسنتز، انتقال انرژی، بیوسنتز ماکرومولکول‌ها و تنفس گیاهان ضروری بوده اما در اکثر خاک‌های کشاورزی قابلیت دسترسی آن پایین است. وقتی کودهای فسفاته به خاک اضافه می‌شوند به مرور به صورت ترکیبات کم‌محلول و نامحلول در خاک رسوب می‌کنند. کاهش فراهمی فسفر در خاک تابعی از نوع و مقدار ترکیبات خاک به ویژه واکنش‌پذیری رس‌های سیلیکانی، کربنات کلسیم، اکسیدهای آهن و آلومینیوم، مواد آلی، زمان و میزان فسفر افزوده شده است (۷). در شرایط طبیعی، عمده‌ترین ترکیب کانی فسفاته، آپاتیت یا سنگ فسفات کلسیم است (۱۸ و ۲۲). فسفات‌های معدنی همچنین به شکل محلول و فسفر نگهداری‌شده (جذب سطحی شده و تثبیت‌شده) وجود دارد. اگرچه آپاتیت کانی عمده فسفاته خاک و منبع تهیه کودهای شیمیایی فسفاته است اما حلالیت و آزادسازی فسفر از آن اندک است (۱۶ و ۲۰). به همین دلیل استفاده مستقیم از آپاتیت به خصوص در خاک‌های آهکی ایران توصیه نمی‌شود. با این وجود، نتایج تحقیقات مختلف نشان می‌دهد که با استفاده از یک سری روش‌ها و تدابیر علمی می‌توان حلالیت سنگ فسفات را افزایش داد.

بستر مصنوعی تشکیل شده از زئولیت و فسفات معدنی می‌تواند به‌عنوان یک روش قابل کنترل و احیاکننده برای فراهم ساختن عناصر مغذی مورد نیاز برای رشد گیاه عمل کند.

زئولیت یک کانی معدنی طبیعی حاصل از رسوب خاکسترهای آتشفشانی درون آب‌های شور و دارای ترکیب آلومینوسیلیکاتی حاوی بارهای منفی است و از خواص مهم این کانی ظرفیت تبادل کاتیونی (CEC) بالای آن است (۲). برخلاف دیگر کانی‌های رسی، زئولیت دارای چارچوب ساختمانی باز است که این ویژگی باعث ایجاد خواص منحصر به فرد در این کانی می‌شود. کاتیون‌ها به راحتی درون شبکه زئولیت بدون ایجاد تغییر در ساختار شبکه حرکت می‌کنند. همچنین، بارهای منفی موجود در ساختمان این کانی باعث ایجاد پدیده تبادل کاتیونی با سایر کاتیون‌های موجود در محیط می‌شود (۲۳). برای انحلال پیوسته سنگ فسفات فراورده‌های حاصل از انحلال آن مانند یون کلسیم باید از محیط انحلال حذف شود. بستر مصنوعی آپاتیت و زئولیت مانند کود کندرها عمل کرده و با جذب یون کلسیم توسط زئولیت (از طریق تبادل و تعادل شیمیایی بین زئولیت، آپاتیت و آب) انحلال بیشتر آپاتیت و تأمین فسفر مورد نیاز گیاه میسر می‌شود.

دیگر روش کمتر استفاده شده جهت افزایش حلالیت آپاتیت ترکیب این کانی با مواد آلی خاک است. ترکیبات آلی با تشکیل اسیدهای آلی و تأثیر بر اسیدیته خاک حلالیت فسفر را از سنگ فسفات افزایش داده در نتیجه بر عملکرد گیاه اثر می‌گذارد. مواد آلی همچنین سطوح خاک و آهک را پوشانده و از ترکیب فسفر با کلسیم جلوگیری می‌کند. تغییر و تبدیل بیولوژیک فسفر طی فرایندهایی مانند کلاته شدن، غیرمتحرک شدن فسفر توسط سلول‌های ریزجانداران، معدنی شدن ترکیبات فسفر توسط آنزیم‌هایی مانند فیتاز و فسفاتاز و آزاد شدن آرتروفسفات و اکسید و احیاشدن ترکیبات معدنی فسفر انجام می‌گیرد (۱).

یکی از دیگر روش‌های تأمین فسفر مورد نیاز گیاه استفاده از میکروارگانیسم‌های حل‌کننده فسفات است (۲۴). در قابل جذب شدن فسفر معدنی بسیاری از ریزجانداران ازجمله باکتری‌هایی از جنس سودوموناس، باسیلوس، آرتروباکتر، میکروکوکوس و قارچ‌هایی از جنس آسپرژیلوس، پنیسیلیوم و ریزوپوس دخالت

دارند.

بنابراین، در این تحقیق با اضافه کردن تیمارهای آلی (ملاس)، معدنی (زئولیت) و میکروبی (Entrobacter cloacae، Brevundimonas sp، Piriformospora indica) به خاک شنی حاوی آپاتیت، تغییرات اشکال فسفر در خاک و نیز برخی ویژگی‌های بیولوژیک خاک مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

جهت انجام این پژوهش ۱۰ نمونه خاک از عمق ۰-۳۰ سانتی‌متر از مناطق با شرایط کاربری و توپوگرافی مختلف برداشت شد. نمونه‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه هوا خشک، کوبیده و از الک دو میلی‌متر عبور داده شد. برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک با روش‌های استاندارد اندازه‌گیری شده و پس از آنالیزهای مقدماتی روی نمونه‌ها، یک نمونه خاک با کمترین میزان فسفر کل و قابل جذب و EC پایین جهت انجام آزمایش انتخاب شد.

### تیمار میکروبی

گونه‌های میکروبی، از کلکسیون میکروبی گروه خاکشناسی تهیه شد. برای کشت باکتری‌ها از محیط مغذی .N.A و کشت ۴۸ ساعته و برای کشت قارچ از محیط P.D.A و کشت ۵ تا ۷ روز استفاده شد گونه‌های میکروبی تکثیر شده و با غلظت $10^8$ cfu $g^{-1}$soil برای باکتری‌ها و $10^6$cfu $g^{-1}$soil برای قارچ‌ها استفاده شد.

### تیمارهای آلی و معدنی

آپاتیت مورد استفاده با pH 7.6 و مشخصات جدول۴ از معدن آسفوردی یزد و زئولیت با pH 8.1 و مشخصات جدول ۴ از شرکت فیروزکوه تهیه شد. ملاس نیز با مشخصات جدول ۳ از شرکت کشت و صنعت نیشکر کارون شوشتر تهیه شد. تیمارهای معدنی و آلی در چهار سطح شامل شاهد، آپاتیت (۰.۵٪)، آپاتیت (۰.۵٪) + زئولیت (۰.۳٪)، آپاتیت (۰.۵٪) + ملاس (۰.۱٪) و میکروارگانیسم در چهار سطح (شاهد، Entrobacter، Brevundimonas، Piriformospora indica) به خاک اضافه شد. پس از دوره انکوباسیون ۶۰ روزه برخی ویژگی‌های خاک به شرح زیر اندازه‌گیری شد.

جداسازی شکل‌های معدنی فسفر: به‌منظور بررسی وجود ارتباط بین اشکال معدنی فسفر و فسفر اولسن، اشکال مختلف فسفر معدنی در خاک به روش عصاره‌گیری متوالی جیانگ و گو (۴ و ۲۶) جداسازی و تعیین شد. خلاصه مراحل عصاره‌گیری به روشی که در این پژوهش به کار رفته در جدول (۱) آورده شده است.

### اندازه‌گیری خصوصیات بیولوژیکی خاک

فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی به روش طباطبایی و همکاران (۲۸) با سوبسترای پارانیتروفنیل فسفات (در بافر قلیایی) اندازه‌گیری شد. فسفر زیتوده ریزجانداران در خاک، با روش بروکز و همکاران (۳) باگازدهی با کلروفرم و اندازه‌گیری به روش اولسن و قرائت با اسپکتروفتومتر در طول موج ۸۸۲ تعیین شد.

### تجزیه آماری

این پژوهش به شکل آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور اصلاح‌کننده و میکروارگانیسم و در سه تکرار انجام گرفت. آنالیز واریانس با نرم افزار SAS و مقایسه میانگین با آزمون دانکن در سطح پنج درصد و رسم منحنی با نرم افزار اکسل صورت گرفت.

## نتایج

جدول (۲) برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه را نشان می‌دهد. این خاک دارای بافت شنی و در محدوده خاک‌های غیر شور، غیر سدیمی است و به علت داشتن ۹۲ درصد شن دارای منافذ درشت فراوان بوده که باعث می‌شود ظرفیت نگهداری رطوبت آن کم باشد. پس انتظار می‌رود که بخش اعظم آب آبیاری در این خاک در اثر نیروی ثقل

**جدول ۱. روش عصاره‌گیری متوالی اشکال فسفر معدنی به روش جیانگ و گو (۲۶)**

| شکل معدنی فسفر | علامت | عصاره‌گیر |
|---|---|---|
| دی‌کلسیم‌فسفات | $Ca_2$-P | بیکربنات سدیم ($NaHCO_3$) ۰/۲۵ مولار با pH ۷/۵ |
| اکتاکلسیم‌فسفات | $Ca_8$-P | استات آمونیوم ($NH_4Ac$) ۰/۵ مولار با pH ۴/۲ |
| فسفات آلومینیوم | AL-P | فلوراید آمونیوم ($NH_4F$) ۰/۵ مولار با pH ۸/۲ |
| فسفات آهن | Fe-p | هیدروکسید سدیم ($NaOH$) و کربنات سدیم ( $Na_2CO_3$ ) ۰/۱ مولار |
| فسفر محبوس | O-P | سیترات، بیکربنات، دی تیونات (CBD-P) ۰/۳ مولار |
| فسفر آپاتیت | $Ca_2$-P | اسید سولفوریک ($H_2SO_4$) ۰/۵ مولار |

**جدول ۲. برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی اندازه‌گیری‌شده خاک مورد مطالعه**

| شن | سیلت | رس | فسفر کل | فسفرقابل جذب | کربنات کلسیم | ماده آلی | CEC | pH (1:1) | EC (1:1) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | % | | mg kg$^{-1}$ | mg kg$^{-1}$ | % | % | (meq 100g$^{-1}$) | | dSm$^{-1}$ |
| ۹۲/۶ | ۱/۴ | ۶ | ۱۴/۴۲ | ۲/۷ | ۳۶ | ۰/۱۶ | ۴/۱۸ | ۷/۸ | ۰/۷۱۳ |

خارج شده و باعث اتلاف آب و عناصر غذایی شود. همچنین، این خاک دارای pH بالا و میزان فسفر و پتاسیم قابل جذب اندک است و انتظار بر آن است که قابلیت جذب کودهای فسفاته و عناصر کم‌مصرف در آن به علت بالابودن pH، کم باشد. با توجه به شنی‌بودن خاک و نیز میزان پایین ماده آلی خاک، به‌منظور ایجاد شرایط بهینه برای فعالیت میکروارگانیسم‌های خاک و تأمین نیتروژن مورد نیاز آنها، کود اوره معادل ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار همراه آب به گلدان‌ها اضافه شد.

جدول‌های ۳ و ۴ به‌ترتیب مشخصات ملاس، خاک فسفات (آپاتیت پودرشده) و کانی زئولیت مورد استفاده را نشان می‌دهد. ملاس شور و دارای pH اسیدی است. خاک فسفات از معدن فسفات آسفوردی یزد تهیه شد. به جز فسفر اولسن، هدایت الکتریکی و pH که به روش‌های مرسوم اندازه‌گیری شدند سایر پارامترها براساس آنالیز اعلام‌شده توسط سازمان توسعه و نوسازی معادن و صنایع معدنی ایران (www.impasco.gov.ir) انجام شده است.

زئولیت با pH=۷/۱ قلیایی است که با یافته‌های مامپتون (۱۴) مبنی بر قلیایی بودن این کانی مطابقت دارد. خصوصیات زئولیت مورد مطالعه در جدول ۴ ارائه شده است. بخش اعظم ترکیب زئولیت مورد استفاده $SiO_2$ و پس از آن $Al_2O_3$ است که نشان‌دهنده آلومینوسیلیکاته بودن زئولیت است. تجزیه XRD نشان داد که زئولیت مورد استفاده از ۸۲/۵ درصد کلینوپتولیلیت، ۸/۶ درصد کوارتز، ۵/۳ درصد ایلایت، ۵/۳ درصد فلدسپار تشکیل شده است.

این پژوهش به صورت آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. در پایان آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار SPSS انجام گرفت. مقایسات میانگین با آزمون دانکن و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

### جزء بندی فسفر معدنی

جدول ۵ اشکال گوناگون فسفر را پس از اعمال تیمارها و انکوباسیون دو ماهه نشان می‌دهد. مقادیر هر جزء فسفر در خاک

**جدول ۳. مشخصات ملاس**

| رطوبت (٪) | خاکستر (٪) | EC ($dSm^{-1}$) | pH | N(٪) | C(٪) | C/N |
|---|---|---|---|---|---|---|
| ۳۱/۱ | ۵/۲ | ۱۲/۳۳۰ | ۵/۴ | ۰/۵۵ | ۳۳/۱ | ۶۰/۴ |

**جدول ۴. مشخصات آپاتیت و زئولیت**

| ترکیبات عنصری | آپاتیت | زئولیت |
|---|---|---|
| $SiO_2$ | ۳/۵ | ۶۱/۵ |
| $Al_2O_3$ | — | ۸ |
| CaO | ۵۰ | ۲/۳۹ |
| $K_2O$ | — | ۱/۱۴ |
| $Na_2O$ | — | ۱/۰۶ |
| $Fe_2O_3$ | ۳/۷ | ۰/۹۱ |
| MgO | ۱ | ۰/۷۰ |
| $TiO_2$ | — | ۰/۱۲ |
| $P_2O_5$ | ۳۷ | - |

شاهد بدون آپاتیت بسیارناچیز است. افزودن آپاتیت به خاک سبب افزایش همه اشکال فسفر خاک شد. سینگ و همکاران (۲۵) دریافتند که یک گرم خاک فسفات می‌تواند ۲۰ تا ۲۲ میلی‌گرم فسفر محلول تولید کند. پس از اضافه‌کردن تیمارهای آپاتیت، آپاتیت- زئولیت و آپاتیت- ملاس و انکوباسیون خاک، توزیع فسفر در این تیمارها به صورت زیر است؛ اکتاکلسیم فسفر> فسفر آپاتیتی> دی‌کلسیم‌فسفات> فسفر اولسن> فسفات آلومینیوم> فسفات آهن. مقدار فسفر در شکل‌های کلسیمی بالا بوده و در شکل اکسیدهای آهن و آلومینیوم بسیار کم است، که با توجه به درصد بالای کربنات کلسیم (جدول ۲) و درصد پایین اکسیدهای آهن و آلومینیوم در خاک‌های استان خوزستان، این نتیجه دور از انتظار نیست. افزایش شکل‌های فسفر در اثر اعمال کانی فسفاته آپاتیت امری مسلم است. نتایج شیخی (۲۱) نشان داد که اثر کاربرد خاک فسفات بر اکتاکلسیم‌فسفات در روز بیست و در روز چهل نسبت به خاک شاهد معنی‌دار شد. افزایش دی‌کلسیم‌فسفات در خاک‌های حاوی آپاتیت می‌تواند ناشی از واکنش‌پذیری بالای آپاتیت باشد که احتمالاً ناشی از فراوانی یون کلسیم در سنگ فسفات است.

شکل‌های فسفر در خاک قابل تبدیل به یکدیگر بوده و با هم در تعادل هستند (۸). فسفر اولسن فرم قابل دسترس فسفر در خاک بوده و دیگر اشکال فسفر مانند دی‌کلسیم‌فسفات و سپس اکتاکلسیم‌فسفات قابل تبدیل به فرم قابل دسترس هستند. در تیمارهای بدون مایه‌زنی میکروبی کاربرد زئولیت- آپاتیت در مقایسه با کاربرد آپاتیت به تنهایی، باعث افزایش معنی‌دار دی‌کلسیم‌فسفات (٪ ۶۲/۸) و کاهش معنی‌دار فسفر آپاتیتی (٪ ۳۴/۸) و فسفات آهن (۶۰/۰٪) شد اما در فسفر اولسن، اکتاکلسیم‌فسفات و فسفات آلومینیوم اختلاف غیرمعنی‌دار مشاهده شد (جدول ۵). کاهش شکل‌های فسفر آپاتیتی و فسفات آهن و افزایش شکل دی‌کلسیم در اثر اعمال زئولیت تأثیر مثبت زئولیت را در استفاده به‌عنوان اصلاح‌کننده نشان می‌دهد که منجر به انحلال شکل‌های کم‌محلول فسفر در خاک و تبدیل آن‌ها به شکل‌های با حلالیت بیشتر می‌شود. کاربرد زئولیت- آپاتیت بیشترین تأثیر را بر فسفر دی‌کلسیم نسبت به خاک حاوی آپاتیت و آپاتیت- ملاس نشان داد. این تأثیر ممکن

**جدول ۵. نتایج مقایسه میانگین (آزمون دانکن) کاربرد تیمارهای کانی و میکروارگانیسم بر توزیع شکل‌های فسفر معدنی خاک ($mg\ kg^{-1}$) پس از دو ماه انکوباسیون**

| شکل فسفر | اصلاح کننده | شاهد (بدون مایه‌زنی) | P. indica | Entrobacter | Brevundimonas |
|---|---|---|---|---|---|
| دی‌کلسیم فسفات | شاهد (بدون آپاتیت) | ۰/۵۱±(۰/۱۰)$^{g}$ | ۲/۷۴±(۰/۱۰)$^{g}$ | ۱/۵۳±(۰/۲۸)$^{g}$ | ۱/۶۸±(۰/۳۲)$^{g}$ |
| | آپاتیت | ۳۱/۵±(۴/۱۲)$^{f}$ | ۳۹/۶±(۵/۱۲)$^{ef}$ | ۳۷/۵±(۴/۵۱)$^{f}$ | ۳۲/۵±(۵/۱۵)$^{f}$ |
| | آپاتیت- زئولیت | ۵۱/۳±(۲/۷۵)$^{d}$ | ۷۲/۱±(۵/۵۹)$^{a}$ | ۶۷/۶±(۵/۳۹)$^{ab}$ | ۶۱/۳±(۷/۸۶)$^{bc}$ |
| | آپاتیت- ملاس | ۴۶/۹±(۳/۲۹)$^{de}$ | ۶۲/۹±(۷/۵۰)$^{bc}$ | ۵۵/۵±(۸/۲۷)$^{cd}$ | ۴۹/۷±(۷/۵۵)$^{d}$ |
| اکتاکلسیم فسفات | شاهد (بدون آپاتیت) | ۳/۵۶±(۰/۵۴)$^{f}$ | ۲/۷۵±(۰/۵۱)$^{f}$ | ۳/۳۸±(۰/۱۳)$^{f}$ | ۳/۱۶±(۰/۰۲)$^{f}$ |
| | آپاتیت | ۱۲۳±(۱۲/۹)$^{c}$ | ۱۱۵±(۲/۵۹)$^{c}$ | ۱۲۱±(۵/۸۵)$^{c}$ | ۱۱۱/۴۴±(۵/۹۶)$^{c}$ |
| | آپاتیت- زئولیت | ۱۱۸±(۱۲/۹)$^{c}$ | ۷۱/۴±(۱۰/۶)$^{e}$ | ۶۰/۲±(۶/۵۲)$^{e}$ | ۸۴/۲±(۳/۸۸)$^{d}$ |
| | آپاتیت- ملاس | ۱۵۹/۸۳±(۹/۸۹)$^{a}$ | ۱۴۲/۲۲±(۱۹/۳)$^{b}$ | ۱۴۴±(۱۳/۸)$^{b}$ | ۱۴۹±(۱۲/۴)$^{ab}$ |
| فسفات آهن | شاهد (بدون آپاتیت) | ۱/۵۱±(۰/۷۵)$^{d}$ | ۱/۷۵±(۰/۷۵)$^{bcd}$ | ۰/۹۵±(۰/۲۵)$^{d}$ | ۱/۱۱±(۱/۰۱)$^{d}$ |
| | آپاتیت | ۴/۳۸±(۲/۱۰)$^{a}$ | ۳/۳۲±(۱/۵)$^{ab}$ | ۳/۷۱±(۱/۹۶)$^{a}$ | ۳/۵۲±(۰/۳۰)$^{abc}$ |
| | آپاتیت- زئولیت | ۱/۷۵±(۰/۴۳)$^{bcd}$ | ۱/۲۳±(۰/۲۵)$^{d}$ | ۱/۵۳±(۰/۵۱)$^{cd}$ | ۱/۷۵±(۰/۶۶)$^{bcd}$ |
| | آپاتیت- ملاس | ۱/۵۲±(۰/۵۳)$^{cd}$ | ۰/۸۵±(۰/۲۵)$^{d}$ | ۱/۴۸±(۱/۱۴)$^{cd}$ | ۱/۷۵±(۰/۶۵)$^{bcd}$ |
| فسفات آلومینیوم | شاهد (بدون آپاتیت) | ۳/۲۱±(۰/۷۵)$^{de}$ | ۲/۰۴±(۱/۶۳)$^{ef}$ | ۱/۶۶±(۱/۲۵)$^{ef}$ | ۱/۲۹±(۰/۸۸)$^{f}$ |
| | آپاتیت | ۴/۸۷±(۱/۱۲)$^{bc}$ | ۷/۸۷±(۰/۳۷)$^{a}$ | ۷/۱۲±(۰/۳۷)$^{a}$ | ۵/۲۵±(۰/۲۷)$^{b}$ |
| | آپاتیت- زئولیت | ۴/۸۵±(۰/۳۷)$^{bc}$ | ۳/۵۴±(۰/۳۱)$^{cd}$ | ۴/۸۷±(۰/۳۷)$^{bc}$ | ۵/۳۳±(۰/۳۳)$^{b}$ |
| | آپاتیت- ملاس | ۲/۲۵±(۰/۷۵)$^{def}$ | ۲/۲۵±(۰/۹۰)$^{def}$ | ۴/۶۲±(۰/۳۷)$^{bc}$ | ۱/۲۹±(۰/۸۸)$^{f}$ |
| آپاتیتی | شاهد (بدون آپاتیت) | ۱/۲۸±(۰/۱۹)$^{h}$ | ۰/۵۳±(۰/۱۹)$^{h}$ | ۱/۲۹±(۰/۳۰)$^{h}$ | ۰/۶۲±(۱/۳۴)$^{h}$ |
| | آپاتیت | ۹۹/۳±(۸/۳۲)$^{a}$ | ۷۶/۹±(۱۰/۷)$^{c}$ | ۸۰/۷±(۹/۹)$^{bc}$ | ۸۶/۳±(۵/۴۳)$^{b}$ |
| | آپاتیت- زئولیت | ۶۴/۷±(۵/۱۸)$^{d}$ | ۵۲/۵±(۹/۹۸)$^{e}$ | ۶۳/۸±(۴/۰۲)$^{d}$ | ۵۹/۳±(۶/۰۶)$^{de}$ |
| | آپاتیت- ملاس | ۳۷/۶±(۲/۱۱)$^{f}$ | ۱۵/۶±(۲/۸۱)$^{g}$ | ۳۱/۶±(۳/۵۲)$^{f}$ | ۲۲/۳±(۲/۵۱)$^{g}$ |
| اولسن | شاهد (بدون آپاتیت) | ۰/۴۴±(۰/۰۷)$^{d}$ | ۰/۶۱±(۰/۴۴)$^{d}$ | ۰/۴۳±(۰/۳۰)$^{d}$ | ۰/۵۸±(۰/۲۸)$^{d}$ |
| | آپاتیت | ۶/۲۳±(۳/۶۰)$^{c}$ | ۱۰/۹±(۲/۵۴)$^{a}$ | ۱۰/۲±(۳/۷۲)$^{a}$ | ۹/۳±(۱/۶۱)$^{ab}$ |
| | آپاتیت- زئولیت | ۵/۹۶±(۰/۷۲)$^{c}$ | ۹/۱۶±(۱/۶۳)$^{ab}$ | ۸/۸۳±(۰/۸۲)$^{ab}$ | ۷/۵۶±(۱/۵۲)$^{bc}$ |
| | آپاتیت- ملاس | ۲/۲۵±(۰/۸۰)$^{d}$ | ۱/۳۲±(۰/۴۹)$^{d}$ | ۱/۶۵±(۰/۱۵)$^{d}$ | ۲/۵۳±(۱/۶۰)$^{d}$ |

برای هر جزء فسفر، حروف مشترک نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین تیمارها با آزمون دانکن در سطح ۵ درصد ($P < 0.05$) است.

است به دلیل نوع زئولیت مورد استفاده باشد. زیرا زئولیت از نوع کلسیمی بوده و اعمال آن در کنار خاک فسفات احتمال تشکیل فسفات‌های کلسیمی ناپایدار را افزایش می‌دهد. عدم تغییر معنی‌دار فسفر اولسن در تیمارهای حاوی زئولیت را می‌توان در تمایل زئولیت در جذب و نگه‌داری و آزادسازی کنترل‌شده عنصر فسفر توسط آن دانست (۱۴). رهاشدن تدریجی عناصر از سایت‌های تبادلی زئولیت فرصت لازم برای جذب را در اختیار گیاه قرار می‌دهد. انتخاب صحیح نوع زئولیت مصرفی هنگامی‌که این مواد به‌عنوان اصلاح‌کننده به خاک اضافه شوند، از طریق افزایش فراهمی طولانی مدت عناصر غذایی به بهبود رشد گیاه کمک می‌کند (۱۹).

اگر فرم‌های فسفر مایه‌زنی شده آپاتیت زئولیت را با فرم‌های فسفر مایه‌زنی شده آپاتیت مقایسه کنیم شاهد افزایش دی‌کلسیم‌فسفات (٪ ۸۲/۱، ٪ ۸۰/۳ و ٪ ۸۸/۶ به‌ترتیب در تیمارهای پریفورموسپورا، انتروباکتر و بریوندوموناس)، کاهش اکتاکلسیم‌فسفات (٪ ۳۷/۹، ٪ ۵۰/۲ و ٪ ۲۴/۱ به‌ترتیب در تیمارهای پریفورموسپورا، انتروباکتر و بریوندوموناس)، کاهش فسفات آهن (٪ ۶۳/۰، ٪ ۵۸/۸ و ٪ ۵۰/۳ به‌ترتیب در تیمارهای پریفورموسپورا، انتروباکتر و بریوندوموناس) کاهش فسفر آپاتیتی (٪ ۳۱/۷، ٪ ۲۰/۹ و ٪ ۳۱/۳ به‌ترتیب در تیمارهای پریفورموسپورا، انتروباکتر و بریوندوموناس) و کاهش فسفات آلومینیوم (٪ ۵۵/۰ و ٪ ۳۱/۶ به‌ترتیب در تیمارهای پریفورموسپورا و انتروباکتر) می‌باشیم. این نتایج بر تأثیر بیشتر زئولیت در حضور میکروارگانیسم‌ها دلالت دارد. زیرا درتیمارهای آپاتیت- زئولیت نسبت به آپاتیت تغییرات کمتر بوده و برخی فرم‌های فسفر (اکتاکلسیم‌فسفات و فسفات آلومینیوم) تغییرات معنی‌دار نداشتند، درحالی‌که در تیمارهای آپاتیت- زئولیت مایه زنی شده نسبت به آپاتیت مایه‌زنی شده، تغییرات شدیدتر در فرم‌های مختلف فسفر دیده می‌شود.

همچنین، مایه‌زنی خاک آپاتیت- زئولیت نسبت به تیمار بدون مایه‌زنی آپاتیت- زئولیت سبب افزایش معنی‌دار دی‌کلسیم‌فسفات (٪ ۴۰/۵، ٪ ۳۱/۸ و ٪۱۹/۴۰ به‌ترتیب برای پریفورموسپورا، انتروباکتر و بریوندوموناس)، افزایش معنی‌دار فسفر اولسن (٪ ۵۳/۷ و ٪ ۴۸/۲ به‌ترتیب برای پریفورموسپورا و انتروباکتر)، کاهش معنی‌دار اکتاکلسیم‌فسفات (٪ ۳۹/۵، ٪ ۴۹/۰ و ٪ ۲۸/۶ به‌ترتیب برای پریفورموسپورا، انتروباکتر و بریوندوموناس) و کاهش فسفر آپاتیتی (٪ ۱۸/۹ برای پریفورموسپورا) شد. در اینجا تأثیر مایه‌زنی میکروبی به وضوح دیده می‌شود و میکروارگانیسم‌ها سبب افزایش فرم‌های قابل دسترس فسفر شده است.

تغییرات شکل‌های معدنی فسفر در اثر اعمال تیمارهای میکروبی، اثر مثبت این میکروارگانیسم‌ها را بر انحلال سنگ فسفات نشان می‌دهد. میشرا و همکاران (۱۳) با افزودن مقادیر مشخصی از خاک فسفات به محیط کشت میکروارگانیسم‌های حل‌کننده فسفات نشان دادند که در حضور میکروارگانیسم‌ها فسفر محلول کاهش می‌یابد این امر ممکن است به دلیل مصرف این فسفر توسط میکروارگانیسم‌های حل‌کننده فسفر و آلی شدن فسفر باشد. همچنین به علت نبود گیاه و عدم جذب از یک طرف و آهکی بودن خاک از طرف دیگر احتمال دارد که فسفر اولسن بار دیگر جذب سطحی ذرات خاک شده و به شکل فسفر ناپایدار دی‌کلسیم‌فسفات درآمده باشد.

کاربرد آپاتیت- ملاس در مقایسه با کاربرد آپاتیت به تنهایی، سبب افزایش معنی‌دار دی‌کلسیم‌فسفات (۴۸٪/۹) و اکتاکلسیم‌فسفات (۲۹٪/۳) و کاهش معنی‌دار فسفات آهن (۶۵٪/۳)، فسفات آلومینیوم (۵۳٪/۸)، فسفر آپاتیتی (۶۲٪/۱) و فسفر اولسن (۶۳٪/۹) شد. با اینکه ملاس سبب کاهش فسفر اولسن شده است اما اشکال کم‌محلول فسفر مانند آپاتیتی، آهن و آلومینیوم را هم کاهش داده است. پس در اینجا کاهش فسفر اولسن به دلیل تبدیل آن به فرم‌های معدنی کم‌تحرک نیست بلکه از آنجایی که بخش بزرگی از ملاس به شکل ماده آلی است، می‌توان کاهش شکل اولسن فسفر را به آلی شدن فسفر و تحرک کمتر آن در مقایسه با اشکال معدنی و نیز ظرفیت کم تبادلی خاک (کم‌بودن CEC خاک و کم‌بودن فسفر اولسن) نسبت داد. افزایش شکل کم‌محلول اکتاکلسیم‌فسفات در حضور

ملاس نشان‌دهنده تأثیر حضور آپاتیت در کنار ملاس بوده که با قلیایی‌کردن محیط مانع از کاهش pH در اثر اسیدهای آلی ملاس می‌شود و این احتمال را به وجود می‌آورد که فسفر موجود توسط کلسیم تثبیت شود درحالی‌که شکل آپاتیتی فسفر کاهش داشته است. نتایج شیخی (۲۱) نشان داد که اعمال یک درصد ملاس و نسبت ۱:۸ خاک فسفات:کاه گندم باعث کاهش فسفر استخراجی آپاتیتی شد. به نظر می‌آید که در حالت معمول با افزایش خاک فسفات، فسفر آپاتیتی افزایش می‌یابد در صورتی که اعمال مواد جاذب با قدرت تبادل یونی بالا مانند زئولیت و مواد آلی این فسفر را به شکل محلول‌تر درآورده و میزان این شکل از فسفر را در خاک کاهش می‌دهد.

همچنین مایه‌زنی میکروبی تیمارهای آپاتیت- ملاس در مقایسه با آپاتیت مایه‌زنی شده سبب افزایش معنی‌دار دی‌کلسیم‌فسفات (۵۸/۸ ٪، ۴۸/۰ ٪ و ۵۲/۹ ٪ به‌ترتیب در تیمارهای پریفورموسپورا، انتروباکتر و بریوندوموناس)، افزایش معنی‌دار اکتاکلسیم‌فسفات (۲۳/۵ ٪، ۱۹/۰ ٪ و ۳۴/۲ ٪ به‌ترتیب در تیمارهای پریفورموسپورا، انتروباکتر و بریوندوموناس)، کاهش معنی‌دار فسفات آهن (۷۴/۴ ٪ و ۶۰/۱ ٪ به‌ترتیب در تیمارهای پریفورموسپورا و انتروباکتر)، کاهش معنی‌دار فسفات آلومینیوم (۷۱/۴ ٪، ۳۵/۱ ٪ و ۷۵/۴ ٪ به‌ترتیب در تیمارهای پریفورموسپورا، انتروباکتر و بریوندوموناس)، کاهش معنی‌دار فسفر آپاتیتی (۷۹/۷ ٪، ۶۰/۸ ٪ و ۷۴/۲ ٪ به‌ترتیب در تیمارهای پریفورموسپورا، انتروباکتر و بریوندوموناس) و کاهش معنی‌دار فسفر اولسن (۸۷/۹ ٪، ۸۳/۸ ٪ و ۷۲/۸ ٪ به‌ترتیب در تیمارهای پریفورموسپورا، انتروباکتر و بریوندوموناس) شده است. در آزمایش محمدی ترکاشوند و بریموندی (۱۲) افزودن ملاس در همه تیمارها (نسبت به تیمار شاهد) باعث کاهش معنی‌دار فسفر قابل جذب در زمان یک روز شد. به نظر می‌رسد تثبیت فسفر توسط میکروارگانیسم‌ها علت کاهش فسفر قابل جذب بود به این دلیل که افزودن ملاس به خاک سبب جذب فسفر معدنی توسط میکروارگانیسم‌ها و آلی شدن آن می‌شود. سپس در زمان یک ماه میزان فسفر قابل جذب نسبت به ۲۴ ساعت اول افزایش معنی‌دار داشته است زیرا آلی‌شدن بیولوژیکی فسفر کوتاه‌مدت بوده و از تثبیت طولانی مدت فسفر قابل جذب توسط کانی جلوگیری می‌کند. پس افزایش میزان فسفر قابل جذب به دلیل آزاد شدن مجدد فسفر از میکروارگانیسم‌ها یا به دلیل افزایش pH به محدوده مناسب برای فعالیت میکروبی است که باعث معدنی شدن فسفر آلی می‌شود. اما در آزمایش حاضر افزایش فسفر اولسن پس از دوره انکوباسیون دیده نشد که علت می‌تواند عدم حضور گیاه، ظرفیت تبادلی اندک خاک و حضور مقدار زیاد آپاتیت در خاک باشد.

اعمال تیمارهای میکروبی نسبت به تیمار بدون مایه‌زنی، سبب افزایش معنی‌دار فسفر اولسن (در تیمارهای آپاتیت و آپاتیت- زئولیت)، افزایش معنی‌دار دی‌کلسیم‌فسفات (در تیمارهای آپاتیت- زئولیت)، کاهش معنی‌دار اکتاکلسیم‌فسفات (در تیمارهای آپاتیت- زئولیت و آپاتیت- ملاس) و کاهش فسفر آپاتیتی (در تیمارهای آپاتیت، آپاتیت- زئولیت، آپاتیت- ملاس) شد. برای بیشتر جزءهای فسفر بین سه میکروارگانیسم مایه‌زنی شده تفاوت معنی‌داری وجود ندارد، با این حال مجموع نتایج نشان‌دهنده تأثیر بیشتر انتروباکتر و پریفورموسپورا ایندیکا نسبت به بریوندوموناس است.

تلقیح باکتری‌ها در تیمار آپاتیت- ملاس نسبت به آپاتیت- ملاس بدون مایه‌زنی سبب افزایش معنی‌دار در دی‌کلسیم‌فسفات (۳۴/۱ ٪ در تیمار پریفورموسپورا)، کاهش معنی‌دار در اکتاکلسیم‌فسفات (۱۰/۷ ٪ و ۹/۴۳ ٪ به‌ترتیب در تیمارهای پریفورموسپورا و انتروباکتر)، افزایش معنی‌دار فسفات آلومینیوم (۱۰۵٪ در تیمار انتروباکتر) و کاهش معنی‌دار فسفر آپاتیتی (۵۸/۵ ٪ و ۴۰/۷ ٪ به‌ترتیب در تیمارهای پریفورموسپورا و بریوندوموناس) شده است.

### خصوصیات بیولوژیکی

اعمال آپاتیت اختلاف غیر معنی‌دار در فسفر میکروبی نسبت به

خاک شاهد نشان داد (جدول ۶). این نشان می‌دهد که در خاک استفاده شده کمبود مواد آلی و کمبود دیگر مواد غذایی نیز عامل محدودکننده رشد میکروبی بوده و افزودن آپاتیت به تنهایی تأثیر معنی‌داری بر افزایش رشد زیتوده میکروبی بومی خاک و افزایش فسفر زیتوده میکروبی نداشته است. درحالی‌که مایه‌زنی میکروبی باعث افزایش فسفر زیتوده در تیمارهای شاهد (بدون آپاتیت) (٪ ۵/۹۲، ٪ ۱۳/۹ و ٪ ۹/۷۵ به‌ترتیب در تیمارهای پریفورموسپورا، انتروباکتر و بریوندوموناس) و تیمارهای خاک فسفر (آپاتیت) (٪ ۱۱/۰، ٪ ۱۳/۹ و ٪ ۱۶/۴ به‌ترتیب در تیمارهای پریفورموسپورا، انتروباکتر و بریوندوموناس) نسبت به وضعیت بدون مایه‌زنی شد. این موضوع دلالت بر توانمندی رشد میکروارگانیسم‌های مایه‌زنی شده نسبت به میکروب‌های بومی خاک دارد. ریزجانداران با رشد تندی که دارند، می‌توانند به تندی فسفر افزوده شده به خاک را در زیتوده خود جذب کند که همانند یک اندوخته از فسفر است که به کندی با مرگ یاخته‌های ریزجانداران مرده برای گیاه فراهم می‌شود (۱۷).

کاربرد زئولیت در کنار خاک‌فسفات سبب افزایش معنی‌دار فسفر زیتوده میکروبی نسبت به خاک شاهد و خاک فسفات شد. این تأثیر در تیمار بدون مایه‌زنی زئولیت- آپاتیت با افزایش ٪۱۵/۰ نسبت به تیمار بدون مایه‌زنی آپاتیت و در تیمار زئولیت- آپاتیت مایه‌زنی شده با انتروباکتر با ٪۸/۳۳ درصد افزایش نسبت به تیمار مشابه آپاتیت (مایه‌زنی با انتروباکتر) دیده می‌شود (جدول ۶). همچنین تیمارهای زئولیت- آپاتیت مایه‌زنی شده با انتروباکتر (٪۷/۳۰) و بریوندوموناس (٪۵/۷۱) نسبت به تیمار بدون مایه‌زنی زئولیت- آپاتیت، افزایش معنی‌دار داشتند.

همچنین اعمال ملاس در کنار خاک فسفات به‌عنوان ماده آلی با تیمار نسبت به تیمار شاهد و تیمار خاک فسفات افزایش معنی‌دار در فسفر زیتوده میکروبی نشان داد. در اینجا به نظر می‌رسد که حضور ماده آلی باعث بی‌جنبش شدن بخشی از فسفر خاک و آلی‌شدن آن شده است. در تیمارهای ملاس- آپاتیت نسبت به تیمارهای آپاتیت افزایش معنی‌دار در فسفر زیتوده میکروبی (٪ ۱۷/۲، ٪ ۶/۹۰ و ٪۱۹/۶ به‌ترتیب در تیمارهای بدون مایه‌زنی، مایه‌زنی شده با پریفورموسپورا و مایه‌زنی شده با انتروباکتر) دیده می‌شود. همچنین، در بین تیمارهای ملاس- آپاتیت بیشترین فسفر زیتوده میکروبی مربوط به تیمار مایه‌زنی شده با انتروباکتر است که ٪۱۶/۲ نسبت به تیمار بدون مایه‌زنی ملاس- آپاتیت افزایش داشته است. البته بایستی توجه کرد که ویژگی‌های رشدی قارچ و باکتری با هم تفاوت‌های اساسی دارند و آنها را نمی‌توان به راحتی بر اساس مقدار زیتوده یا مقدار فسفر زیتوده با هم مقایسه کرد و بهتر است برای مقایسه پارامترهای دیگر مانند تولید آنزیم فسفاتاز را مورد بررسی قرار داد.

در تیمارهای بدون مایه‌زنی میکروبی، افزودن اصلاح‌کننده‌های معدنی (آپاتیت و آپاتیت- زئولیت) و اصلاح‌کننده معدنی- آلی (ملاس- آپاتیت)، سبب افزایش معنی‌دار فسفاتاز قلیایی نسبت به خاک بدون اصلاح‌کننده شد (جدول۶). در تیمارهای مایه‌زنی شده میکروبی، افزودن آپاتیت (نسبت به خاک شاهد بدون اصلاح‌کننده) سبب افزایش معنی‌دار فسفاتاز قلیایی (٪۱۱۷ و ٪۲۱۴ به‌ترتیب در پوریفورموسپورا و بروندوموناس) و افزودن ملاس- آپاتیت سبب افزایش معنی‌دار فسفاتاز قلیایی (٪۷۲/۵، ٪۳۶/۰ و ٪۲۸/۸ به‌ترتیب برای پریفورموسپورا، انتروباکتر و بریوندوموناس) شد. در حالی‌که افزودن زئولیت- آپاتیت سبب کاهش معنی‌دار فسفاتاز قلیایی (٪۵۴/۴ و ٪۶۳/۵ به‌ترتیب در پوریفورموسپورا و بریوندوموناس) شد. باید توجه کرد که کم‌بودن فسفاتاز در تیمارهای خاک شاهد بدون اصلاح‌کننده می‌تواند به دلیل کم بودن زیتوده میکروبی در این تیمارها باشد. بیشترین فسفاتاز قلیایی در تیمارهای ملاس- آپاتیت دیده می‌شود که می‌تواند به دلیل ماده آلی بالای ملاس باشد و احتمالاً آلی‌شدن فسفر سبب فعالیت کم آن شده و میکروارگانیسم‌ها برای معدنی‌سازی فسفر مجبور به ساخت فسفاتاز بیشتری شده‌اند (۱۰، ۲۷). در مطالعات لیلاهاونگ و

**جدول ۶. میانگین اثرات کاربرد توأم تیمارها بر فسفر زیتوده ($\mu g g^{-1}$) و فعالیت فسفاتاز قلیایی ($\mu g$ PNP 100 $g^{-}$ soil h)**

| ویژگی | تیمارها | شاهد (بدون مایه‌زنی) | پیریفورموسپورا ایندیکا | انتروباکتر | بریوندوموناس |
|---|---|---|---|---|---|
| فسفر زیتوده میکروبی | شاهد (بدون آپاتیت) | ۲۸۷±(۸/۷۵)$^{f}$ | ۳۰۴±(۰/۹۵)$^{e}$ | ۳۲۷±(۴/۶۳)$^{bcd}$ | ۳۱۵±(۵/۲۱)$^{de}$ |
| | آپاتیت | ۲۷۴±(۲۲/۲)$^{f}$ | ۳۰۴±(۲/۹۰)$^{e}$ | ۳۱۲±(۳/۳۰)$^{de}$ | ۳۱۹±(۱۸/۹)$^{cde}$ |
| | آپاتیت- زئولیت | ۳۱۵±(۴/۰۶)$^{de}$ | ۳۱۷±(۱/۳۴)$^{de}$ | ۳۳۸±(۷/۹۷)$^{b}$ | ۳۳۳±(۴/۲۵)$^{bc}$ |
| | آپاتیت- ملاس | ۳۲۱±(۲/۸۴)$^{cd}$ | ۳۲۵±(۱/۳۸)$^{bcd}$ | ۳۷۳±(۲/۳۶)$^{a}$ | ۳۲۲±(۹/۱۴)$^{cd}$ |
| فسفاتاز قلیایی | شاهد (بدون آپاتیت) | ۳۹/۴±(۲/۵۴)$^{h}$ | ۵۵/۳±(۳/۷۴)$^{ge}$ | ۴۴/۳±(۱۰/۲)$^{eh}$ | ۱۱۶±(۱۲/۶)$^{f}$ |
| | آپاتیت | ۶۴/۶±(۰/۸۳)$^{g}$ | ۱۲۰±(۷/۵۵)$^{f}$ | ۱۳۹±(۰/۴۹)$^{e}$ | ۱۵۶±(۳/۵۷)$^{d}$ |
| | آپاتیت- زئولیت | ۵۳/۴±(۳/۱۲)$^{ge}$ | ۵۴/۷±(۱/۸۸)$^{ge}$ | ۵۴/۱±(۲/۸۳)$^{ge}$ | ۵۷/۰±(۲/۸۰)$^{g}$ |
| | آپاتیت- ملاس | ۱۷۰±(۷/۲۷)$^{c}$ | ۲۰۷±(۱۰/۵)$^{a}$ | ۱۸۹±(۹/۹۸)$^{b}$ | ۲۰۱±(۷/۱۳)$^{a}$ |

وجود حروف مشترک برای هر ویژگی نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار با آزمون دانکن در سطح ۵٪ است.

پاجسیلپ (۱۰) بر روی فعالیت فسفاتازی باکتریایی و عوامل مؤثر بر تولید آنزیم‌های فسفاتاز توسط باکتری‌ها مشاهده شد که استفاده از مواد آلی باعث افزایش تولید فسفاتازهای اسیدی و قلیایی توسط تمام سویه‌های مورد آزمایش شد. ماده آلی بر جذب آنزیم فسفاتاز بر سطوح کانی و میزان فعالیت کانی نیز تأثیرگذار است. نتایج هوانگ و همکاران (۹) نشان داد که جذب سطحی آنزیم فسفاتاز بر کلوئیدها و کانی‌های خاک به‌طور متفاوت تحت تأثیر اسیدهای آلی و آنیون‌های فسفاته قرار گرفت. در مطالعه ایشان استات موجب افزایش جذب سطحی آنزیم روی کانی در اثر تشکیل میزان کم لیگاندها شد، درصورتی که اگزالات، تارتارات و فسفات‌ها باعث کاهش جذب آنزیم در اثر افزایش تشکیل لیگاندها شدند.

اما نکته جالب توجه این است که در تیمارهای مایه‌زنی شده میکروبی زئولیت- آپاتیت با اینکه فسفر زیتوده میکروبی نزدیک به تیمارهای ملاس- آپاتیت و بالاتر از تیمارهای آپاتیت است اما فسفاتاز قلیایی در این تیمارها نسبت به تیمارهای آپاتیت و ملاس کاهش داشته و نزدیک به خاک بدون اصلاح‌کننده است. احتمال داده می‌شود که زئولیت کانی رسی سیلیکاته حاوی آلومینیوم، موجب جذب سطحی آنزیم فسفاتاز شده و در نتیجه موجب کاهش فعالیت آن می‌شود. زئولیت به‌عنوان یک ماده معدنی با pH بالا و جذب سطحی بالا می‌تواند سبب جذب فسفاتاز قلیایی بر روی سطح کانی و کم‌شدن فعالیت آن شود (۹، ۱۱، ۱۵). جیان فردا و بولاج (۶) بیان کردند که جذب آنزیم بر سطوح کانی‌ها با کاهش قابل توجه فعالیت آن آنزیم همراه است. مطالعات زو و همکاران (۳۰) نشان داد زمانی که مونت‌موری‌لونایت و گئوتایت به محلول حاوی آلکالین‌فسفاتاز اضافه شدند، آلکالین فسفاتاز به سرعت جذب این کانی‌ها شد که نشان می‌دهد برخی کانی‌ها می‌توانند به سرعت و با بازده بالا فسفاتاز را جذب سطحی کنند. مکانیسم‌های جذب پروتئین‌ها مانند آنزیم فسفاتاز توسط کانی علاوه بر سطح ویژه می‌تواند شامل واکنش‌های آبگریز، واکنش‌های الکترواستاتیک و باندهای هیدروژنه باشد.

همچنین، عامل مؤثر دیگر قابلیت دسترسی بالاتر فسفر در تیمار زئولیت- آپاتیت است. در این تیمار کاربرد زئولیت- آپاتیت در مقایسه با آپاتیت سبب افزایش فرم دی‌کلسیم‌فسفات شد مقدار بالاتر فرم دی‌کلسیم‌فسفات که احتمالاً برای میکروارگانیسم‌ها

قابل استفاده بوده سبب شده میکروارگانیسم از نظر فسفر مورد نیاز تأمین شده و نیاز کمتری به تولید فسفاتاز و محلول کردن فسفر دارد. قولارتا و همکاران (۵) گزارش کردند که با افزایش فسفر کاهش معنی‌دار در فعالیت فسفاتاز اسیدی و قلیایی دیده می‌شود. از طرفی در این پژوهش مایه‌زنی میکروبی زئولیت- آپاتیت نسبت به تیمار بدون مایه‌زنی، سبب افزایش فرم‌های اولسن و دی‌کلسیم‌فسفات شد. پس احتمالاً در این تیمارها میکروارگانیسم‌ها در کنار تولید فسفاتاز قلیایی (ممکن است فسفاتاز توسط زئولیت جذب و غیرفعال شده باشد و یا ممکن است فسفاتاز قلیایی کمتری تولید کرده باشند)، از مکانیسم دیگری مانند تولید اسید نیز استفاده کرده‌اند.

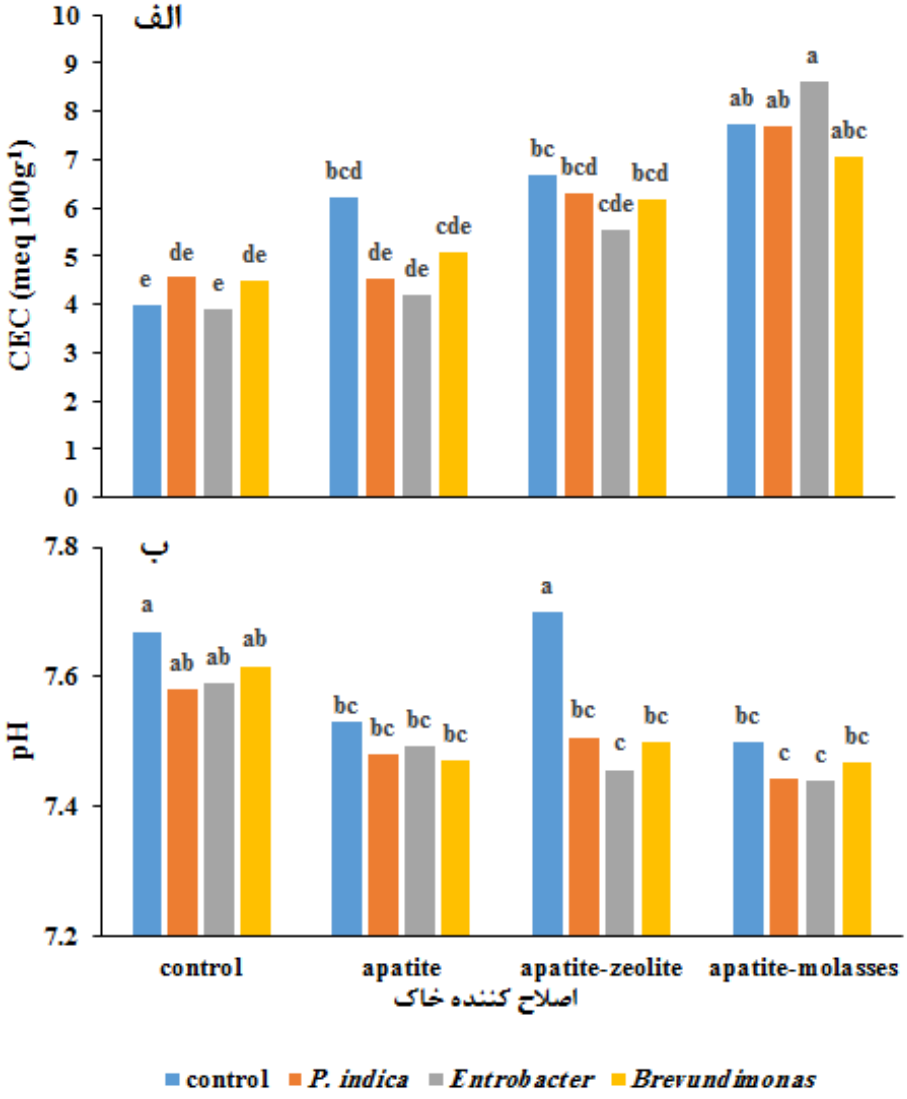
همچنین، در مورد هر اصلاح‌کننده، مایه‌زنی میکروبی نسبت به تیمار بدون مایه‌زنی سبب افزایش معنی‌دار فسفاتاز قلیایی در خاک شاهد بدون اصلاح‌کننده (۴۰/۴٪ و ۱۹۴٪ به‌ترتیب در تیمارهای مایه‌زنی شده با پریفورموسپورا و بریوندوموناس)، در خاک با اصلاح‌کننده آپاتیت (۸۵/۸٪، ۱۱۵٪ و ۱۴۱٪ به‌ترتیب در تیمارهای پریفورموسپورا، انتروباکتر و بریوندوموناس) و در خاک آپاتیت ملاس (۲۱/۸٪، ۱۱/۲٪ و ۱۸/۲٪ به‌ترتیب در تیمارهای پریفورموسپورا، انتروباکتر و بریوندوموناس) شده است (جدول ۶).

با توجه به اینکه خاک مورد استفاده شنی بوده است، CEC خاک بسیار پایین بوده (شکل ۱ الف) و احتمالاً CEC مربوط به کربنات کلسیم بالای خاک است. CEC خاک، با کاربرد اصلاح‌کننده‌ها افزایش داشته است و به ویژه تیمار آپاتیت- ملاس سبب افزایش CEC خاک به میزان قابل ملاحظه‌ای شده است. برای هر اصلاح‌کننده تلقیح میکروبی پیامد معنی‌داری بر CEC نداشته است.

pH خاک در محدوده ۷/۴۴ تا ۷/۷ بوده و با اینکه خاک شنی بوده اما به دلیل وجود کربنات کلسیم به‌نسبت بالا خاصیت بافری بالایی داشته و تغییرات pH شدید نبوده است. نتایج مقایسات میانگین (شکل ۱ ب) نشان داد که تیمار شاهد بیشترین pH را داشته و اعمال تیمارهای اصلاح‌کننده باعث کاهش pH شد. در نتایج آزمایش وو و همکاران (۲۹) مشاهده شد که تولید اسیدهای آلی در هنگام افزایش منبع فسفر بسته به نوع منبع یک رخداد معمول است. همچنین غلظت و نوع اسید آلی تولید شده به نوع این منبع فسفر بستگی دارد. در مطالعه ایشان سیتریک اسید بیشترین اسید آلی تولید شده در پاسخ به افزایش منبع کلسیم‌فسفات و آلومینیوم‌فسفات بود در صورتیکه اگزالیک اسید به‌طور عمده در پاسخ به منبع فسفات آهن تولید شد. برای تیمارهای شاهد، آپاتیت و آپاتیت- ملاس، تلقیح میکروبی تأثیر معنی‌داری در مقایسه با تیمار بدون مایه‌زنی نداشت که با توجه به عدم وجود گیاه در این پژوهش و همچنین ماده آلی کم خاک که منجر به فعالیت کمتر میکروبی خاک و تولید اسید کمتر توسط میکروارگانیسم‌ها می‌شود قابل انتظار است. در تیمارهای مایه‌زنی میکروبی شده آپاتیت- زئولیت نسبت به تیمار بدون مایه‌زنی، کاهش pH دیده می‌شود که می‌تواند نشان‌دهنده تولید اسید توسط این میکروب‌ها باشد. ناریانسامی و بیسوا (۱۴) و شیو و همکاران (۲۴) عنوان کردند که فعالیت میکروبی می‌تواند موجب کاهش pH، انحلال خاک فسفات و افزایش فراهمی فسفر در خاک فسفات شود.

## بحث و نتیجه‌گیری

در این پژوهش تیمارهای آپاتیت، آپاتیت- زئولیت، آپاتیت- ملاس به یک خاک شنی و دارای آهک به‌نسبت بالا (۳۶٪) اضافه شده و پس از مایه‌زنی میکروبی با قارچ پریفورموسپورا ایندیکا و باکتری‌های انتروباکتر و بریوندوموناس و دو ماه انکوباسیون، اجزاء فسفر اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که در خاک مورد مطالعه بیش از نیمی از فسفر معدنی به شکل فسفات‌های کلسیمی است که نشان‌دهنده نقش مهم یون کلسیم موجود در این خاک‌ها است. نتایج به‌دست آمده این فرضیه که در خاک‌های مناطق خشک و نیمه خشک آهک و یون کلسیم عوامل اصلی تثبیت و کاهش حلالیت فسفر موجود در خاک‌ها هستند (۱۸) را تأیید می‌نماید. کاربرد مواد اصلاح‌کننده زئولیت و ملاس در کنار آپاتیت، باعث افزایش




**شکل ۱. میانگین اثرات کاربرد اصلاح‌کننده‌ها و تلقیح میکروبی بر (الف) CEC خاک و (ب) pH خاک**

**وجود حروف مشترک نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار با آزمون دانکن در سطح ۵٪ است (رنگی در نسخه الکترونیکی).**

کارایی خاک فسفات و افزایش فرم دی‌کلسیم‌فسفات در خاک شد. در اینجا به نظر می‌رسد کاربرد ملاس باعث افزایش اکتاکلسیم‌فسفات و کاهش فسفر اولسن نسبت به آپاتیت شد اما باید توجه کرد در خاک‌های با مواد آلی کم، برای افزایش سهم مواد آلی و تأمین عناصر غذایی، اختلاط خاک فسفات با مواد آلی ضروری است. قابل توجه است در تیمار آپاتیت- ملاس به دلیل افزایش قابل توجه فسفر زیتوده میکروبی و فعالیت آنزیم فسفاتاز، احتمالاً کاربرد ملاس سبب تبدیل بخش زیادی از فسفر به فرم آلی با قابلیت رهاسازی آهسته (۱۷) شده است که نیاز به تحقیقات بیشتر است. همچنین کاربرد زئولیت در افزایش فرم دی‌کلسیم‌فسفات مؤثرتر از ملاس بود.

نتایج این پژوهش نشان داد که اعمال میکروارگانیسم‌های حل‌کننده فسفات بر افزایش فرم اولسن فسفر تأثیر معنی‌دار داشته که نشان‌دهنده کارا بودن این میکروارگانیسم‌ها در انحلال سنگ‌فسفات است. همه میکروارگانیسم‌ها تولید آنزیم فسفاتاز کردند و باکتری بریوندوموناس بیشترین توانایی تولید آنزیم

فسفاتاز را داشت. از میان اصلاح‌کننده‌ها، بیشترین فسفاتاز در تیمارهای ملاس مشاهده شد. می‌توان نتیجه گرفت در تیمارهای مایه‌زنی شده آپاتیت و آپاتیت- ملاس نسبت به تیمارهای بدون مایه‌زنی، افزایش تولید فسفاتاز قلیایی سهم قابل توجهی در افزایش قابلیت دسترسی فسفر (فسفر اولسن) و کاهش اکتاکلسیم‌فسفات داشته است. درحالی‌که در تیمار آپاتیت- زئولیت مایه‌زنی میکروبی سبب کاهش معنی‌دار در pH شده و افزایش فسفر اولسن و دی‌کلسیم‌فسفات می‌تواند به دلیل ویژگی‌های تبادل یونی زئولیت و همچنین تولید اسید بیشتر توسط میکروارگانیسم‌ها (۱) در این تیمار باشد. پس میکروارگانیسم‌ها با توجه به نوع ماده اصلاحی (زئولیت یا ملاس) واکنش‌های متفاوتی نشان داده و از روش‌های گوناگون می‌توانند فرم‌های با قابلیت دسترسی بالاتر فسفر را افزایش دهند.

نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده مستقیم از خاک فسفات برای افزایش قابلیت دسترسی فسفر در خاک، امکان‌پذیر و باعث کاهش هزینه‌ها برای فرآوری کود شیمیایی می‌شود. کاربرد مواد اصلاح‌کننده زئولیت و ملاس در کنار آپاتیت کاملاً مؤثر بوده و باعث افزایش کارایی خاک فسفات و افزایش فرم دی‌کلسیم‌فسفات در خاک شد. در اینجا به نظر می‌رسد کاربرد زئولیت در افزایش فرم دی‌کلسیم‌فسفات مؤثرتر از ملاس بود. درحالی‌که کاربرد ملاس در بهبود وضعیت میکروبی خاک و تولید فسفاتاز قلیایی کاملاً مؤثر بود. مایه‌زنی میکروبی در افزایش فرم‌های اولسن و دی‌کلسیم‌فسفات کاملاً مؤثر بود و باکتری انتروباکتر و قارچ پریفورموسپورا تا حدودی بهتر از باکتری بریوندوموناس عمل کردند. با توصیه بر تکرار این آزمایش در شرایط رشد گیاه، نتایج نشان‌دهنده تأثیر مثبت کاربرد زئولیت- آپاتیت و مایه‌زنی میکروبی (پریفورموسپورا و انتروباکتر) بر بهبود قابلیت دسترسی فسفر در خاک است.

## سپاسگزاری

بدینوسیله نویسندگان مراتب قدردانی خود را از دانشگاه شهید چمران اهواز که این پژوهش در آنجا صورت گرفته (پژوهانه شماره ۹۸-۱۴۹۰۹/۰۵/۹۸/۳، SCU.AS98.28572) ابراز می‌دارند.

## منابع مورد استفاده

1. Alexander, M. 1983. Introduction to soil microbiology. John Wielly Publication. USA.
2. Allen, E. R. and D. W. Ming 1995. Recent Progress in the use of natural zeolites in agronomy and horticulture. PP. 477–490. *In:* Ming, D.W. and F.A. Mumpton (Eds.), Natural Zeolites, 93: Occurrence, Properties, Use, ICNZ, Brockport, NY.
3. Brookes, P. C., D. S. Powlson and D. S. Jenkinson. 1982. Measurement of microbial biomass phosphorus in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 14: 319-329.
4. Chang, S. C. and M. L. Jackson. 1957. Fractionation of soil phosphorus. *Soil Science* 84:133-144.
5. Ghoularata, M., F. Raeisi and H. Nadian. 2008. Salinity and phosphorus interactions on growth yield and nutrient uptake by Berseem Clover (Trifolium alexandrinum L.). *Iranian Journal of Field Crops Research* 6: 117-126 (In Farsi).
6. Gianfreda, L. and M. A. Rao. 2004. Potential of extra-cellular enzymes in remediation of polluted soils: a review. *Enzyme and Microbial Technology* 35: 339-354.
7. Halagnia, A., G. H. Halaghnia, A. Fotovat and R. Khorasani. 2009. Phosphorus fractions in calcareous soils amended with P fertilizer and cattle manure. *Geoderma* 150: 209-213.
8. Hanley, P. K. and M. D. Murphy. 1970. Phosphorus forms in particle size separate of Irish soils in relation to drainage and parent materials. *Soil Science Socity of America Proceeding* 34: 587-590.
9. Huang, Q., Z. Zhao and W. Chen. 2003. Effects of several low-molecular weight organic acids and phosphate on the adsorption of acid phosphatase by soil colloids and minerals. *Chemosphere* 52: 571-579.
10. Leelahawonge, C. and N. Pongsilp. 2009. Phosphatase activities of root-nodule bacteria and nutriona Factors Affecting productin of phosphatases by representative bacteria from three different genera. *KMITL Science and Technology Journal* 9: 65-83.

11. Margalef, O., J. Sardans and M. Fernandez-Martinez. 2017. Global patters of phosphatase activity in natural soils. *Scientific Reports* 7(1): 1337.
12. Mohammadi Torkashvand, A and R. Barimvandi. 2008. The effects of suger cane molasses on calcareous soil chemical characterstics. *Pajouhesh and Sazandegi* 81: 47-53 (In Frsi).
13. Mishra, M. M., K. K. Kapoor and K. S. Yadav. 1982. Preparation of P-enriched compost with rockphosphate and its effects on crop yield. *Indian Journal of Agricultural Science* 52: 674-678.
14. Mumpton, F. 1999. Uses of natural zeolite in agriculture and industry. *Producing of the National Academy USA* 96:3467-3470.
15. Naidja, A. and P. M. Huang. 1995. Deamination of aspartic acid by aspartase-Camontmorillonite complex. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical* 106: 255-265.
16. Naryanasamy, G. and D. S. Biswa. 2006. Rock phosphate enriched compost: An approach to improve low-grade Indian rock phosphate. *Bioresource Technology* 97: 2243-2251.
17. Oberson, A., K. D. Friesen, I. M. Rao, S. Buhler and E. Frossard. 2001. Phosphorus transformations in an Oxisol under contrasting land-use systems: the role of the soil microbial biomass. *Plant and Soil* 237: 197–210.
18. Paul, E. A. 2007. Soil Microbiology and Biochemistry. Linacre House, Jordan Hill, Oxford, UK.
19. Polat, E., M. Karaca, H. Demir and A. Naci Onus. 2004. Use of natural zeolita (clinoptilolite) in agriculture. *Fruit and Ornamental Plant Research* 12:183-189.
20. Salardini, A. A. 1992. Soil Fertility. Tehran University Publications,Tehran, Iran (In Farsi).
21. Sheikhi, K. 2015. The dissolution of rock phosphate (RP) in wheat straw medium by phosphorus solubilizing bacteria isolated from forest soils around Koh Sepid Lar Yasouj phosphate mine. Master Thesis. University of Yasouj, Yasouj, Iran (In Farsi).
22. Samadi, A. and R. J. Gilkes. 1998. Forms of phosphorus in virgin and fertilized calcareous soils of western Australia. *Australian Journal of Soil Research* 6: 585-601.
23. Shaw, J. W. and R. Andrews. 2001. Cation exchange capacity affects greens truf growth. *Golf Course Management* 69 (3): 73-77.
24. Shiv, M., S. Lal, K. Sanjay, S. Purnima, N. A. Paras and R. Rasik. 2011. Phosphate solubilizing ability of two Arctic Aspergillus Niger strains. *Polar Research* 301: 7283.
25. Singh, C. P., M. M. Mishra and K. S. Yadava. 1980. Solubilization of insoluble P by thermophilic fungi. *Annals of Microbiology* 11: 289-296.
26. Jiang, B. and Y. Gu. 1989. A suggested fractionation scheme for inorganic phosphorus in calcareous soil. *Fertilizer Research* 20: 150-165.
27. Kumar, S., S. Chaudhuri, S. K. Maiti. 2011. Phosphatase activity in natural and mined soil – A review. *Indian Journal of Environmental Protection* 31: 955-962.
28. Tabatabai, M. A., R. W. Weave, S. Angle, P. Bottomley, D. Bezdicek, S. Smith, A. Tabatabai and A. Wollum. 1994. Soil enzyme. PP. 775-834. *In:* Weaver, R.W. et al., (Eds.) Methods in soil Analysis, Part 2: Microbiological and Biochemical properties. Soil Science Society of America, Madison, WI.
29. Wu, M., Q. Wei, L. Xu, H. Li, R. Oelmuller and W. Zhang. 2018. Piriformospora indica enhances phosphorus absorbtion by stimulating acid phosphatase activities and organic acid accumulation in *brassica napus*. *Plant and Soil* 432: 333-344.
30. Zhu, Y. Y. 2016. Study on the effect of microorganisms on phosphorus trancformation in the Rhizosphere of wetland pants. Master thesis. Beijing Forestry University, Beijing, China.

**Journal of Water and Soil Science**
**Vol. 26, No. 1, Spring 2022, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.**

# The Conversion of Inorganic Phosphorus Fractions, Phosphatase Activity, and Some Biological Properties in Sandy Soil Enriched with Minerals, Organic Matter, and Microbial Modifiers under Two Months of Incubation

**S. F. Hashemi, R. Zalaghi* and N. Enayati Zamir[1]**

(Received: September 21-2020; Accepted: May 17-2021)

## Abstract

This study investigated the effect of the inoculation of the soil with some phosphorus solubilizing microorganisms (PSM) on inorganic P fractions in sandy soil enriched with inorganic and organic amendments. A factorial experiment arrangement was performed in a completely randomized design with three replications, using two factors: microorganisms (control, *Entrobacter cloacae*, *Brevundimonas*, and *piriformospora indica)* and amendments (control, (5%) apatite, (5%) apatite + (3%) zeolite, (5%) apatite + (1%) molasses). A 60-days incubation was performed after the application of treatments. Inorganic P fractionation and alkaline phosphatase activity of soil were measured at the end of the experiment. Phosphorus distribution in soil was as follow: octacalcium phosphate > apatite P > dicalcium phosphate > Olsen p > aluminium phosphate > iron phosphate. The application of apatite increased all of the P mineral fractions. The application of zeolite-appatie was very effective and although did not increase Olsen P (probably because of the low cation exchange capacity of soil), had a significant effect ($p<0.05$) on other P forms and caused dicalcium phosphate to increase (69.2%) and apatite P and octaclcium phosphate to decrease (34.8% and 60.0%, respectively) compared to apatite application. Application of molasses resulted in significant increases in dicalcium phosphate and octacalcium phosphate (48.9% and 29.3%, respectively) and decreases in apatite P and Olsen P (62.1% and 63.9%, respectively). Microbial inoculation resulted in a significant increase in Olsen P and dicalcium phosphate and a decrease in octacalcium phosphate and apatite P; showing the ability of these organisms to increase the phosphorus availability. *Entrobacter* and *Piriformospora indica* were more effective than *Brevundimonas*. It seems that microorganisms in different substrates had used different mechanisms; such that in apatite and apatite-molasses treatments microbial inoculation resulted in an increase in alkaline phosphatase activity, but in zeolite-apatite treatment, pH had decreased indicating the organic acid production by microorganisms.

**Keywords**: Apatite, Zeolite, Molasses, Phosphorus fractionation, Phosphorus solubilizing microorganisms

1- Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran.
*: Corresponding author, Email: r.zalaghi@scu.ac.ir