

## توزیع شکل‌های فسفر در خاک آهکی تلقیح‌شده با قارچ‌های حل‌کننده فسفات

میرحسین رسولی صدقیانی<sup>۱\*</sup>، رقیه واحدی<sup>۲</sup>، مجید مشایخی<sup>۳</sup>، محسن برین<sup>۴</sup>

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۲۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۴/۰۴)

## چکیده

فسفر یکی از عناصر ضروری برای رشد گیاهان بوده و در اغلب خاک‌ها رفتار پیچیده‌ای داشته و با اجزاء خاک به صورت ترکیبات کم محلول تا نامحلول در می‌آید. لذا تعیین شکل‌های مختلف فسفر در خاک تحت تأثیر فعالیت ریزجانداران حل‌کننده فسفر در ارزیابی وضعیت فسفر خاک مهم است. به منظور بررسی اثرات ریزجانداران حل‌کننده فسفر بر توزیع شکل‌های فسفر در یک خاک آهکی، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. فاکتورها شامل تلقیح میکروبی (سویه‌های قارچی و شاهد بدون تلقیح میکروبی) و زمان انکوباسیون (صفر، هفت، ۲۱ و ۴۵ روز) بودند. نمونه‌های خاک به مدت ۴۵ روز در انکوباتور در دمای ثابت ۲۸ درجه سلیسیوس قرار داده شدند، و سپس شکل‌های مختلف فسفر معدنی، فسفر آلی و فسفر قابل استفاده به روش عصاره‌گیری دنباله‌ای تعیین شدند. نتایج نشان داد تلقیح قارچی باعث تغییرات معنی‌داری در میزان فسفر قابل استفاده، فسفر آلی و فسفر معدنی شدند. مقدار فسفر قابل دسترس، فسفر آلی، دی‌کلسیم فسفات (Ca<sub>2</sub>-P) و آپاتیت (Ca<sub>10</sub>-P) در تیمار تلقیح قارچی به ترتیب ۱/۵۳، ۱/۳۹، ۴/۰۵ و ۱/۰۷ برابر در پایان انکوباسیون در مقایسه با تیمار شاهد افزایش نشان دادند. با این حال اکتا کلسیم فسفات (Ca<sub>8</sub>-P) و آلومینیوم فسفات (Al-P) در تیمار قارچ به ترتیب با ۲۳/۷۶ و ۳۵/۹۵ درصد کاهش همراه بود. در پایان انکوباسیون توزیع شکل‌های فسفر در تیمار شاهد به صورت Olsen-P > Al-P > Ca<sub>2</sub>-P > Ca<sub>8</sub>-P > O-P > Ca<sub>10</sub>-P بود. در تیمار قارچی، همبستگی منفی معنی‌داری (r = -۰/۸۱\*\*) بین فسفر (Olsen-P) و O-P، و همبستگی مثبت معنی‌داری (r = ۰/۸۳\*\*) با (Ca<sub>2</sub>-P)، (Al-P) و Fe-P مشاهده شد. به طور کلی در خاک‌های آهکی استفاده از قارچ‌های حل‌کننده فسفر اطلاعات مفیدی را برای ارزیابی وضعیت فسفر و نیز حاصلخیزی خاک و تغذیه گیاه در اختیار می‌گذارد.

واژه‌های کلیدی: ریزجانداران حل‌کننده فسفر، فسفات کلسیم، فسفر آلی، قابلیت استفاده فسفر

رسولی صدقیانی م.ح.، واحدی ر.، مشایخی م.، برین م. ۱۳۹۹. توزیع شکل‌های فسفر در خاک آهکی تلقیح‌شده با قارچ‌های حل‌کننده فسفات. تحقیقات کاربردی خاک. جلد ۸، شماره ۲. صفحه: ۷۰-۸۱.

۱- استاد گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه (مکاتبه کننده)

۲- دانشجوی دکتری گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

۳- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج

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

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

## مقدمه

فسفر بعد از نیتروژن مهمترین عنصر غذایی مورد نیاز گیاه است که در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه نقش دارد (Vassilev *et al.*, 2006). فسفر به دو شکل آلی و معدنی در خاک به مقدار فراوانی یافت می‌شود. اما این دو شکل درگیر فرآیندهای جذب و رسوب در خاک هستند (Sharma *et al.*, 2011). لذا کمبود این عنصر از مهمترین مشکلات تغذیه گیاهان در خاک‌های آهکی می‌باشد. بنابراین آگاهی از وضعیت شکل‌های فسفر و تغییرات آن‌ها در خاک آهکی اهمیت بسیاری دارد. زیرا توزیع شکل‌های فسفر و تعیین فراوانی آن در توانایی گیاهان در استفاده از فسفر خاک حائز اهمیت است. روش تعیین شکل‌های شیمیایی فسفر توسط چانگ و جکسون (Chang & Jackson, 1957) و تغییرات اعمال شده به وسیله سایر پژوهشگران در این روش این امکان را فراهم می‌کند تا شکل‌های غالب فسفر در خاک‌ها تعیین شود و نیز شکل یا شکل‌هایی را استخراج کند که بیش‌تر قابل استفاده گیاه هستند. روش چانگ و جکسون (Chang & Jackson, 1957) به مرور زمان توسط سایر محققین تصحیح شد زیرا این روش در بعضی از خاک‌ها می‌تواند مفید باشند، ولی در مورد خاک‌های آهکی از دقت و حساسیت لازم برخوردار نیست. در این روش ترکیبات شیمیایی فسفر و کلسیم در خاک تحت یک گروه شیمیایی فسفات‌های کلسیمی (Ca-P) خلاصه شده است. با توجه به فعالیت یون کلسیم در خاک‌های آهکی، ترکیبات متفاوتی از فسفر و کلسیم در آن‌ها وجود دارد که نقش عمده‌ای را در حاصلخیزی خاک ایفا می‌کنند. در سال ۱۹۸۹ جیانگ و گو (Jiang & Gu, 1989) روش مناسبی را از بخش‌بندی فسفر در خاک‌های آهکی ارائه نمودند. آن‌ها بیان کردند جداسازی شکل‌های فسفر بر پایه حلالیت کانی‌های حاوی فسفات نظیر آپاتیت، واریسایت و استرینگیت در برخی عصاره گیرها استوار است. اشکال معدنی فسفر به شکل‌های مختلف فسفات‌های کلسیمی یعنی دی کلسیم فسفات، اکتا کلسیم فسفات، آپاتیت، فسفات‌های آهن و آلومینیوم و فسفات‌های محبوس شده در اکسیدهای آهن و آلومینیوم به طور جداگانه قابل اندازه‌گیری است. صمدی و گلیک (Samadi & Gilkes, 1998) با استفاده از روش جیانگ و گو (Jiang & Gu, 1998)

(1989) برای مطالعات شکل‌های شیمیایی فسفر در خاک‌های آهکی استرالیای غربی نشان دادند که فراوانی شکل‌های مختلف فسفر معدنی به صورت فسفات آلومینیوم < اکتا کلسیم فسفات > دی کلسیم فسفات < آپاتیت > فسفات آهن < فسفر محبوس در خاک‌های آهکی می‌باشد. منظور از فسفات‌های محبوس، فسفات‌های آهن و آلومینیوم هستند که در داخل اکسیدهای این فلز قرار دارند.

یکی از راهکارهای انحلال فسفر معدنی (تری کلسیم فسفات، دی کلسیم فسفات، دی هیدروکسی آپاتیت و خاک فسفات) و آلی نامحلول استفاده از پتانسیل ریزجانداران می‌باشد. ریزجانداران حل‌کننده فسفر گروهی از ریزجانداران خاکزی هستند که به‌عنوان اجزای تکمیل‌کننده فسفر قادرند از طریق مکانیسم‌های مختلف فسفر را از منابع نامحلول آزاد نمایند. قارچ‌های حل‌کننده فسفر نسبت به باکتری‌ها توانایی بیش‌تری در معدنی کردن فسفر آلی دارند، زیرا ریشه‌های آن‌ها قادر است فواصل دورتری از خاک را به آسانی در مقایسه با باکتری‌های طی کنند (Kucey, 1983). از مهم‌ترین قارچ‌های حل‌کننده فسفر می‌توان به گونه *Aspergillus* و *Penicillium* اشاره کرد (Reddy *et al.*, 2002; Whitelaw, 1999). قارچ‌های حل‌کننده فسفات علاوه بر تبدیل شکل‌های غیرقابل دسترس فسفر به شکل قابل دسترس (از طریق تولید اسیدهای آلی، تولید پروتون و ایجاد کلات)، سبب تولید مواد محرک رشد شده و اثر حفاظتی در برابر پاتوژن‌های خاک نیز دارد (Duponnois *et al.*, 2006). آسپرژیلوس با تولید اسیدسیتریک کاهش pH نقش تأثیر گذاری در انحلال شکل‌های فسفات نامحلول دارد (Kang *et al.*, 2008). حل‌کنندگی فسفات توسط این سویه‌ها به صورت کاهش pH محیط توسط اسیدهای آلی و فرآیند کلاته شدن یون آلومینیوم در خاک‌های اسیدی و یون کلسیم در خاک‌های قلیایی و واکنش‌های تبدیلی به افزایش حلالیت فسفات‌های نامحلول کمک می‌کند (Sharma *et al.*, 2011). توانایی حلالیت قارچ‌ها نسبت به باکتری‌ها هم در محیط مایع و هم در محیط کشت جامد (آگاردار) نیز بیش‌تر است. هیف‌های قارچی در محیط کشت مایع به ذرات معدنی فسفر متصل شده که این توسط میکروسکوپ الکترونی قابل رویت است در حالی که باکتری‌ها اینطور

نرمال (Page *et al.*, 1982) و کربنات کلسیم فعال به روش اگزالات آمونیوم (Drouineau, 1942) اندازه‌گیری شد (جدول ۱). همچنین فسفر قابل جذب (Olsen-P) (Olsen, 1954) و شکل‌های شیمیایی فسفر شامل فسفر کل خاک (TP) (Walker & Adam, 1958)، فسفر آلی (O-P) و معدنی (MP) خاک و عصاره‌گیری متوالی شکل‌های معدنی فسفر شامل دی کلسیم فسفات (Ca<sub>2</sub>-P)، اکتا کلسیم فسفات (Ca<sub>8</sub>-P)، فسفات آلومینیوم (Al-P)، فسفات آهن (Fe-P) و آپاتیت (Ca<sub>10</sub>-P) (Jiang & Gu, 1989) اندازه‌گیری شدند (جدول ۲). برای انجام آزمایش انکوباسیون ابتدا ۱۵۰ گرم از نمونه خاک‌ها را درون ظروف پلی‌اتیلن ریخته شدند و دهانه ظروف به وسیله درپوش پلاستیک بسته شدند تا از تبخیر بیش‌تر رطوبت از نمونه‌ها در طول انکوباسیون و آلودگی میکروبی جلوگیری شود. در روی درپوش‌های پلاستیکی، منفذهای ریز یکنواخت جهت تسهیل تبادلات گازی تعبیه شد، سپس ظروف به مدت ۲۰ دقیقه و خاک‌ها به مدت دو ساعت در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس و فشار ۱/۵ بار استریل شدند. برای تلقیح میکروبی از سویه‌های قارچی موجود در بانک میکروبی گروه علوم خاک دانشگاه ارومیه استفاده گردید. همچنین برای تهیه زاد مایه میکروبی، سویه‌های قارچی منتخب در محیط کشت پیکوفسکایا (Pikovskaya, 1999) کشت داده شد. پس از گذشت ۴۸ ساعت از رشد قارچ‌ها، یک لوپ از کشت تازه هر جدایه به درون یک ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر از محیط نوترینت برات مایه‌زنی و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۸ درجه سلسیوس در شیکر (۸۰ rpm) تکان داده شدند. در آزمایش‌های مقدماتی، توانایی این سویه‌ها در انحلال فسفر مشخص شده بود. رطوبت نمونه‌ها با افزودن آب مقطر استریل به صورت اسپری در رطوبت ظرفیت زراعی تنظیم شدند. سپس ۱۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون برای هر یک از ظروف پلی‌اتیلنی حاوی ۱۵۰ گرم خاک استریل‌الته در نمونه‌های شاهد نیز این محیط کشت به صورت استریل شده، افزوده شد. در سوسپانسیون میکروبی اضافه شده به خاک با OD=۰/۷ در ۶۰۰ nm جمعیت حدود ۱×۱۰<sup>۸</sup> cfu ml<sup>-1</sup> بدست آمد. ظروف به مدت ۴۵ روز در انکوباتور در دمای ۲۸ درجه سلسیوس قرار داده شدند. در زمان‌های صفر، هفت، ۲۱ و ۴۵ روز بعد از شروع

نیستند (Chabot *et al.*, 1993). گزارش شده است در مناطق خشک قارچ آسپرژیلوس تریوس بیشترین پتانسیل را برای معدنی کردن فسفر آلی داشت و به دنبال آن به ترتیب آسپرژیلوس تاماری، آسپرژیلوس نیجر، تریکودرما هارزیانوم و پنیسیلیوم بریویکوم پکتیوم قرار داشت (Rao & Tarafdar, 2002).

شناخت شکل‌های فسفر در خاک آهکی و تعیین مقدار هر یک از آن‌ها و تأثیر قارچ‌های حل‌کننده فسفر بر این شکل‌ها می‌تواند ضمن کمک به شناخت فرآیند تکامل خاک و فهم چرخه فسفر در اراضی کشاورزی در ارزیابی حاصلخیزی خاک نیز به کار رود. با توجه به ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مناطق مختلف، فسفر می‌تواند به صورت ترکیب شیمیایی متنوعی در خاک مشاهده شود، گیاهان تنها قادر به استفاده از بخش محدودی از فسفر کل خاک می‌باشند. لذا پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر قارچ‌های حل‌کننده فسفر بر تغییرات اجزاء فسفر در زمان‌های مختلف در یک خاک آهکی انجام شد.

## مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی که فاکتورها شامل تلقیح میکروبی (۱ استفاده از کنسر سیوم قارچی شامل قارچ‌های *Aspergillus niger*، *Aspergillus terreus*، *Penicillium sp.* و شاهد بدون تلقیح میکروبی) با زمان انکوباسیون صفر، هفت، ۲۱ و ۴۵ روز در شش تکرار اجرا گردید. برای انتخاب نمونه خاک، خاک زراعی از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری مزرعه تحت کشت چغندر قند از سری راهدانه، زیرگروه Typic Calcixerepts و رده Inceptisols در استان آذربایجان غربی جمع‌آوری شد و بعد از هوا خشک کردن از غربال دو میلی‌متری عبور داده شد. برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی نظیر بافت خاک به روش هیدرومتری (Gee & Bauder, 1986)، pH در عصاره‌های صاف شده یک به پنج خاک و محلول ۰/۰۱ مولار کلرید کلسیم، کربن آلی به روش والکی بلاک (Walky & Black, 1934)، کربنات کلسیم معادل (CCE) به روش تیترا سیون برگ‌گشتی با سود (Tandon, 1998)، ظرفیت تبادل کاتیونی (CEC) به روش استات سدیم یک

انکوباسیون، ۲۰ گرم از نمونه‌ها جهت انجام آزمایش‌ها برداشته و هوا خشک شده و شکل‌های مختلف فسفر در نمونه‌ها اندازه‌گیری گردید. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد با نرم افزار MSTATC و رسم نمودارها با نرم افزار Excel انجام گردید.

جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه

Table 1. Some physical and chemical of the studied soil

Sampling location	pH	ACCE	CCE	OC	CEC	Clay	Silt	Sand	texture
			%		(cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> )		%		
Rahdaneh	7.7	4.3	6.2	0.6	26	17	20	63	Sandy loam

کربنات کلسیم فعال؛ ACCE، کربن آلی؛ OC، کربنات کلسیم معادل؛ CCE، ظرفیت تبادل کاتیونی؛ CEC  
CEC: Cation-exchange capacity, CCE: CaCO<sub>3</sub> equivalent, OC: organic matter, ACCE: CaCO<sub>3</sub> active

جدول ۲- مقادیر شکل‌های مختلف فسفر در خاک مورد مطالعه

Table 2. The values of different forms of phosphorus in studied soil

Soil	Ca <sub>2</sub> -P	Ca <sub>8</sub> -P	Al-P	Fe-P	Ca <sub>10</sub> -P	Olsen-P	O-P	Pt
(mg kg <sup>-1</sup> )								
Rahdaneh	8.3	81	31	65	449	12	404	1354

زمان و تلقیح میکروبی همچنین اثرات متقابل آن‌ها بر شکل‌های فسفر به جز فسفات آهن (Fe-P) معنی‌دار گردید ( $P < 0.01$  و  $P < 0.1$ ).

## نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس مقادیر فسفر قابل استفاده و اشکال مختلف فسفر در خاک در جدول ۳ ارائه شده است. تأثیر

جدول ۳- تجزیه واریانس مقادیر فسفر قابل استفاده و اشکال مختلف فسفر در خاک

Table 3. Analysis of variance for P-Olsen and fractions phosphorus in soil

Source of variation	Degree of freedom	Mean Square						
		Olsen-P	O-P	Ca <sub>2</sub> -P	Ca <sub>8</sub> -P	Al-P	Fe-P	Ca <sub>10</sub> -P
Incubation time (T)	3	470.0***	73664**	1179.0***	1031**	7.27***	142.80 <sup>ns</sup>	503700.9***
Microbial inoculation (M)	1	1614.1***	903188***	3740.2***	4584**	44.6***	89 <sup>ns</sup>	71355.2***
T*M	3	553.0**	115032**	761.2***	519**	5.06**	16.91 <sup>ns</sup>	59561.5**
Error	40	10.1	2150	3.28	49	1.07	148	2397.6
CV (%)	-	17.85	11.90	8.92	11.00	13.17	7.6	8.8

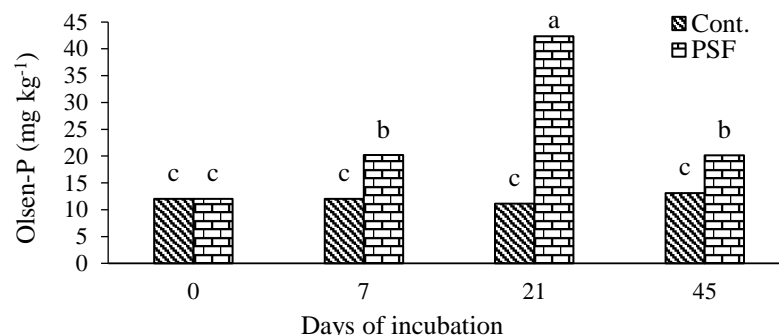
ns, \*\* and \*\*\* respectively non-significant, significant at 1% and 0.1%

تیمار تلقیح قارچی و شاهد بود که پس از ۲۱ روز انکوباسیون مشاهده شد (شکل ۱). هر چند اختلاف معنی‌داری در زمان صفر بین سویه‌های قارچی و شاهد وجود نداشت. همچنین در تمام زمان‌های انکوباسیون تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای شاهد مشاهده نداشت. در زمان هفت و ۴۵ روز تلقیح قارچی منجر به افزایش به ترتیب ۱/۶۷ و ۱۱/۵۳ برابری فسفر قابل استفاده نسبت به تیمار شاهد شدند. قارچ‌های حل‌کننده فسفر با تغییر pH

اثر قارچ‌های حل‌کننده فسفر بر فسفر قابل استفاده در خاک (Olsen-P)

مقایسه میانگین اثر متقابل زمان انکوباسیون و تلقیح میکروبی نشان داد (شکل ۱) که تلقیح قارچی منجر به افزایش معنی‌دار میزان فسفر قابل استفاده در همه تیمارها در طی انکوباسیون شد، که در این میان بیش‌ترین مقدار فسفر قابل استفاده (۴۲/۳۵ میلی‌گرم در کیلوگرم) و کم‌ترین آن (۱۱/۱۱ میلی‌گرم در کیلوگرم) مربوط به

pH و آزاد شدن فسفر موثر است. شروع روند کاهش در فسفر قابل استخراج با بی کربنات سدیم (فسفر اولسن) بعد از ۴۵ روز در تیمار تلقیح قارچی در مقایسه با روزهای هفت و ۲۱ می تواند بدلیل کاهش جمعیت میکروبی این ریزجانداران و احتمالاً در نتیجه کاهش مواد غذایی موجود در محیط خاک باشد. این روند را می توان ناشی از کاهش معدنی شدن فسفر و همچنین تبدیل این بخش از فسفر به شکل های پایدارتر دانست که با نتایج جانگ و همکاران (Zhang *et al.*, 2004) مطابقت داشت.



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل تلقیح میکروبی و زمان انکوباسیون بر میزان فسفر قابل استفاده خاک

Figure 1. Mean comparisons of interaction of microbial inoculation and incubation time on the content of Olsen-P soil

میانگین های داری حروف مشترک بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف آماری معنی داری ندارند

Means with similar letters are not significantly different at 5% probability level according to Duncan tests

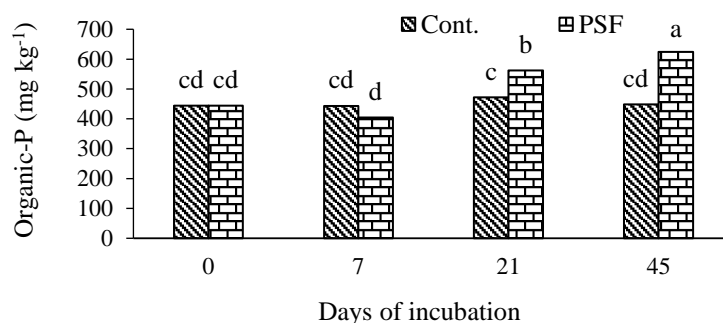
Cont. و PSF به ترتیب شاهد و تلقیح قارچی

Cont and PSF respectively control and phosphate solubilizing fungi.

فسفر نسبت به تیمار شاهد شد. تیمارهای قارچی می-توانند به دلیل کاهش pH خاک و در نتیجه سبب افزایش حلالیت عناصر غذایی شده که حلالیت عناصر غذایی به نوبه خود می تواند سبب افزایش جمعیت میکروبی که عاملی برای افزایش فسفر آلی و تبدیل شکل های دیگر فسفر به فسفر آلی باشد (Rongzhong *et al.*, 2010) کراس و شلسینگر (Cross & Schlesinger, 2001) با مطالعه نقش فسفر آلی و ریزجانداران در چرخه فسفر در خاک های نیمه خشک گزارش کردند که که بخش عمده ای از فسفر موجود در بخش آلی می تواند تحت تأثیر فرایند معدنی شدن قرار بگیرد و به همین دلیل تأثیر قابل توجهی بر قابلیت دسترسی فسفر برای گیاهان در اکوسیستم های مناطق خشک و نیمه خشک دارد.

#### اثر قارچ های حل کننده فسفر بر فسفر آلی در خاک (Organic-P)

مقایسه میانگین بین تیمارها در شکل ۲ نشان می دهد که تیمارها باعث افزایش معنی دار فسفر آلی در خاک شدند. تیمار قارچی بیشترین افزایش را به خود اختصاص دادند. به طوری که این افزایش در روز ۴۵ به بیشترین میزان (۶۲۴/۵ میلی گرم بر کیلوگرم در خاک) خود رسید. اما روند معنی داری همانند فسفر قابل استفاده در فسفر آلی نیز در تیمارهای شاهد با افزایش زمان انکوباسیون مشاهده نشد. در زمان سوم (۲۱ روز) تلقیح قارچی ۱۹/۲۵ درصد افزایش میزان فسفر آلی را نشان داد و در زمان چهارم (۴۵ روز) سبب افزایش ۳۹/۲۴ درصدی



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل تلقیح میکروبی و زمان انکوباسیون بر میزان فسفر آلی خاک

Figure 2. Mean comparisons of interaction of microbial inoculation and incubation time on the content of organic phosphorus soil

یانگین‌های داری حروف مشترک بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف آماری معنی‌داری ندارند

Cont. و PSF به ترتیب شاهد و تلقیح قارچی

Means with similar letters are not significantly different at 5% probability level according to Duncan tests  
Cont and PSF respectively control and phosphate solubilizing fungi

استفاده و نامحلول فسفر همانند دی کلسیم فسفر در خاک استفاده می‌کنند که شامل اسیدی شدن، کلاته شدن و یا تولید هورمون‌های گیاهی مثل ایندول استیک اسید است (Mehnaz & Lazarovits, 2006). در توافق با این پژوهش کنگ و همکاران (Kang *et al.*, 2008) گزارش کردند که قارچ‌های آسپرژیلوس با ترشح اسید سیتریک و کاهش pH نقش بسزایی در انحلال فسفات‌های نامحلول دارند.

مقایسه میانگین اثر متقابل تلقیح میکروبی و زمان انکوباسیون بر میزان اکتا کلسیم فسفات در شکل B-۲ نشان داد که بیش‌ترین میزان اکتا کلسیم فسفات مربوط به تیمار شاهد (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بعد از ۴۵ روز می‌باشد. علت این امر می‌تواند این باشد که احتمالاً طی ۴۵ روز در خاک آهکی دی کلسیم فسفات به اکتا کلسیم فسفات و آپاتیت تبدیل می‌شود (Lindsay, 1982). همچنین در بین تیمارهای تلقیح قارچی نیز بالاترین میزان اکتا کلسیم فسفات (۸۰/۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم) مربوط به زمان پایان انکوباسیون (۴۵ روز) بود. اما نسبت به تیمار شاهد کاهش نشان داد که به خاطر موقتی بودن کاهش pH توسط سویه‌های قارچی است که سبب رسوب مجدد فسفر می‌شود. چون قارچ‌های حل‌کننده فسفر هتروتروف هستند و منبع انرژی و کربن خود را از مواد آلی می‌گیرند. پس از گذشت زمان میزان مواد آلی موجود در خاک کاهش یافته و بنابراین از جمعیت آن‌ها کاسته و در نتیجه روند کاهش pH خاک در اثر فعالیت ریزجانداران کاهش می‌یابد، از طرف دیگر به خاطر اینکه کاهش pH

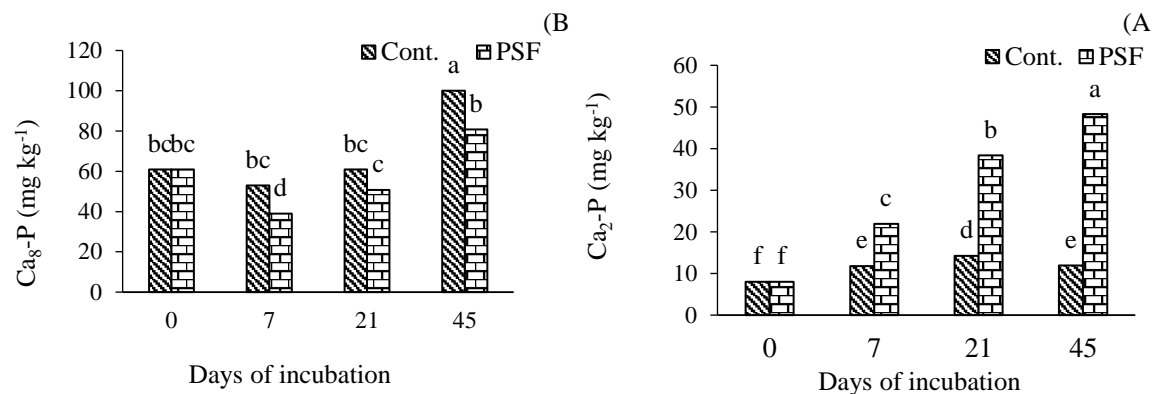
اثر قارچ‌های حل‌کننده فسفر بر شکل‌های مختلف فسفر معدنی در خاک

دی کلسیم فسفات و اکتا کلسیم فسفات

دی کلسیم فسفات، شکل ناپایدار فسفر است و به شکل‌های دیگر فسفر تبدیل می‌شود. مقایسه میانگین اثر تلقیح میکروبی بر دی کلسیم فسفات در زمان‌های مختلف نشان داد (شکل ۳-A)، که سویه‌های قارچی پس از ۴۵ روز سبب افزایش معنی‌دار ۴/۰۵ برابری دی کلسیم فسفات در مقایسه با تیمار شاهد شد. این افزایش به دلیل افزایش میزان فسفر قابل جذب در زمان سوم و تبدیل شکل‌های دیگر به دی کلسیم فسفات بوده است. صمدی (Samadi, 2003) با انجام رگرسیون چند متغیره گام به گام نشان داد که ۹۰ درصد تغییرات فسفر عصاره‌گیری شده با بی‌کربنات سدیم در خاک‌های آهکی به شکل دی-کلسیم فسفات مربوط می‌شود. در تیمارهای شاهد نیز افزایش معنی‌داری در میزان دی کلسیم فسفات با افزایش مدت انکوباسیون مشاهده شد. چنانچه گزارش شد در زمان سوم (۲۱ روز) که میزان فسفر قابل استفاده افزایش داشت، میزان دی کلسیم فسفات در سویه‌های قارچی نیز ۲/۶۹ برابر نسبت به شاهد افزایش نشان داد. که دلیل آن می‌تواند استفاده از عصاره‌گیرهای یکسان (بی‌کربنات سدیم) باشد. این امر با نتایج عبدالهی (Abdolahi, 2010) که بین دی کلسیم فسفات با فسفر قابل استفاده همانند این پژوهش همبستگی معنی‌داری (جدول ۴) مشاهده کرده‌اند، مطابقت دارد. قارچ‌های حل‌کننده فسفر از سازوکارهای مختلفی برای انحلال ترکیبات غیرقابل

۳۵/۸۹ درصدی اکتاکلسیم فسفات شد ولی پس از ۴۵ روز میزان اکتاکلسیم فسفات را افزایش داد، که این امر احتمالاً به خاطر سریع رشد بودن قارچ‌ها (به‌ویژه اسپریژیلوس) و افزایش سریع زیستوده آن‌ها می‌باشد.

در خاک‌های آهکی وابسته به ظرفیت بافری خاک است، آهک سبب افزایش pH شده و حلالیت عناصر غذایی کاهش می‌یابد و جمعیت میکروبی نیز کاهش می‌یابد. همچنین سویه‌های قارچی پس از هفت روز باعث کاهش



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل تلقیح میکروبی و زمان انکوباسیون بر میزان دی کلسیم فسفات (A) و اکتاکلسیم فسفات (B)

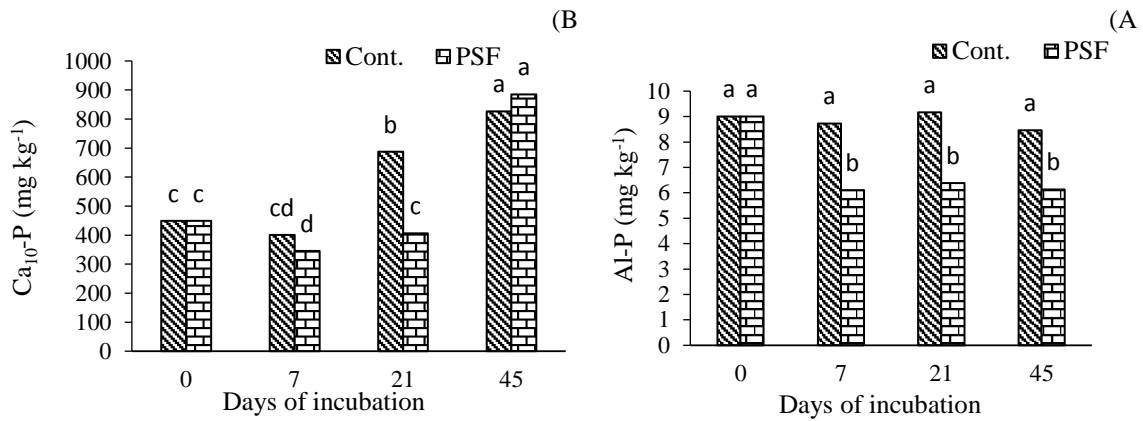
Figure 3. Mean comparisons of interaction of microbial inoculation and incubation time on the content of Ca<sub>2</sub>-P (A) and Ca<sub>8</sub>-P (B)

میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف آماری معنی‌داری ندارند. Means with similar letters are not significantly different at 5% probability level according to Duncan tests. Cont. and PSF respectively control and phosphate solubilizing fungi.

مقایسه میانگین میزان آپاتیت در زمان‌های مختلف انکوباسیون در شکل ۴-B نشان داده شده است. نتایج بیانگر کاهش آپاتیت در روز هفتم در تلقیح قارچی بود که ۳۰/۱۴ درصد کاهش نسبت به زمان اول (زمان صفر) داشت. ۲۱ روز پس از انکوباسیون بین تیمارهای تلقیح قارچی در میزان آپاتیت با روز اول (زمان صفر) اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. اما پس از طی ۴۵ روز اختلاف معنی‌داری در تیمارهای قارچی با سایر زمان‌های انکوباسیون مشاهده شد. بیش‌ترین میزان آپاتیت نیز مربوط به دوره انکوباسیون ۴۵ روز در هر دو تیمار تلقیح و شاهد بود که تفاوت معنی‌داری نداشتند. شاید عدم اختلاف معنی‌دار آن‌ها و نیز کاهش مقدار آپاتیت در تیمار تلقیح میکروبی در روز هفتم این باشد که آپاتیت پایدارترین فاز رسوب یافته در خاک‌های آهکی می‌باشد. تبدیل فسفر به شکل‌های مقاوم مثل آپاتیت فرآیند کندی است و انتظار نمی‌رود که در زمان‌های کوتاه، پیشرفت قابل ملاحظه‌ای داشته باشد (Pierzynski *et al.*, 1990; Fathi Gerdelidani *et al.*, 2016).

#### فسفات آلومینیوم و آپاتیت

مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارها نشان داد که به جزء در زمان اول (زمان صفر) تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای شاهد و تلقیح قارچی در میزان فسفات آلومینیوم وجود دارد (شکل ۴-A). این تفاوت بین تیمارهای تلقیح و شاهد وجود داشت ولی در بین تیمارهای شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در تیمارهای تلقیح نیز بالاترین میزان فسفات آلومینیوم در زمان اول انکوباسیون مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارهای در زمان‌های مختلف داشت. همچنین اختلاف معنی‌داری بین سویه‌های قارچی در زمان‌های هفت، ۲۱ و ۴۵ مشاهده نشد. به طور کلی روند کاهشی در تیمارهای تلقیح در زمان‌های مختلف نسبت به تیمارهای شاهد مشاهده می‌شود. شاید این کاهش بدلیل تبدیل این شکل به شکل‌های فسفر قابل استفاده یا فسفر آلی باشد که نشان دهنده‌ی همبستگی بالای آن با این شکل‌ها (جدول ۴) باشد (Abdolahi, 2010).



شکل ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل تلقیح میکروبی و زمان انکوباسیون بر میزان دی کلسیم فسفات آلومینیوم (A) و آپاتیت (B)

Figure 4. Mean comparisons of interaction of microbial inoculation and incubation time on the content of Al-P (A) and Ca<sub>10</sub>-P (B)

میانگین‌های داری حروف مشترک بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف آماری معنی‌داری ندارند

Means with similar letters are not significantly different at 5% probability level according to Duncan tests

Cont and PSF respectively control and phosphate solubilizing fungi

Cont and PSF respectively control and phosphate solubilizing fungi

در زمان اول توزیع شکل‌های فسفر به صورت  $Ca_{10}\text{-P} > Ca_2\text{-P} > Al\text{-P} > Olsen\text{-P} > Ca_8\text{-P} > O\text{-P}$  بود و میزان دی کلسیم فسفات ( $Ca_2\text{-P}$ ) کم‌ترین سطح را در بین شکل‌های دیگر داشت. در زمان دوم پس از هفت روز، توزیع شکل‌های فسفر به صورت  $O\text{-P} > Ca_{10}\text{-P} > Ca_8\text{-P} > Al\text{-P} > Olsen\text{-P} > Ca_2\text{-P}$  بود. در زمان دوم توانایی قارچ در افزایش میزان ( $Ca_2\text{-P}$ ) بالا بود و تا ۳/۱۱ برابر میزان آن را افزایش داد و میزان آپاتیت ( $Ca_{10}\text{-P}$ ) را ۱۳/۹۱ درصد کاهش داده و همچنین مقدار فسفر قابل استفاده ( $Olsen\text{-P}$ ) را تا ۹۱/۴۵ درصد افزایش داد. در زمان سوم توزیع شکل‌های فسفر بصورت  $O\text{-P} > Ca_{10}\text{-P} > Al\text{-P} > Ca_2\text{-P} > Olsen\text{-P} > Ca_8\text{-P} > P$  تغییر کرد. در زمان سوم فسفر قابل جذب ( $Olsen\text{-P}$ ) ۳/۱۱ برابر افزایش داشت (در مقایسه با روز اول) و به بیش‌ترین سطح خود رسید. در زمان سوم (۲۱ روز) میزان فسفر آلی نیز افزایش نشان داد. در زمان چهارم توزیع اشکال فسفر به صورت  $Ca_{10}\text{-P} > O\text{-P} > Ca_8\text{-P} > Ca_2\text{-P} > Olsen\text{-P} > Al\text{-P}$  بود. در این زمان به دلیل میزان پایین کربن خاک (۰/۶ گرم بر کیلوگرم خاک مورد مطالعه طبق جدول ۱)، احتمالاً با کاهش ذخایر کربن در خاک میزان فعالیت قارچ‌ها کاسته و شکل‌های محلول ناپایدار به شکل‌های کم محلول پایدار تبدیل شده و میزان شکل‌های با محلولیت کم، در زمان‌های آخر افزایش پیدا کرد. همبستگی‌های معنی‌دار

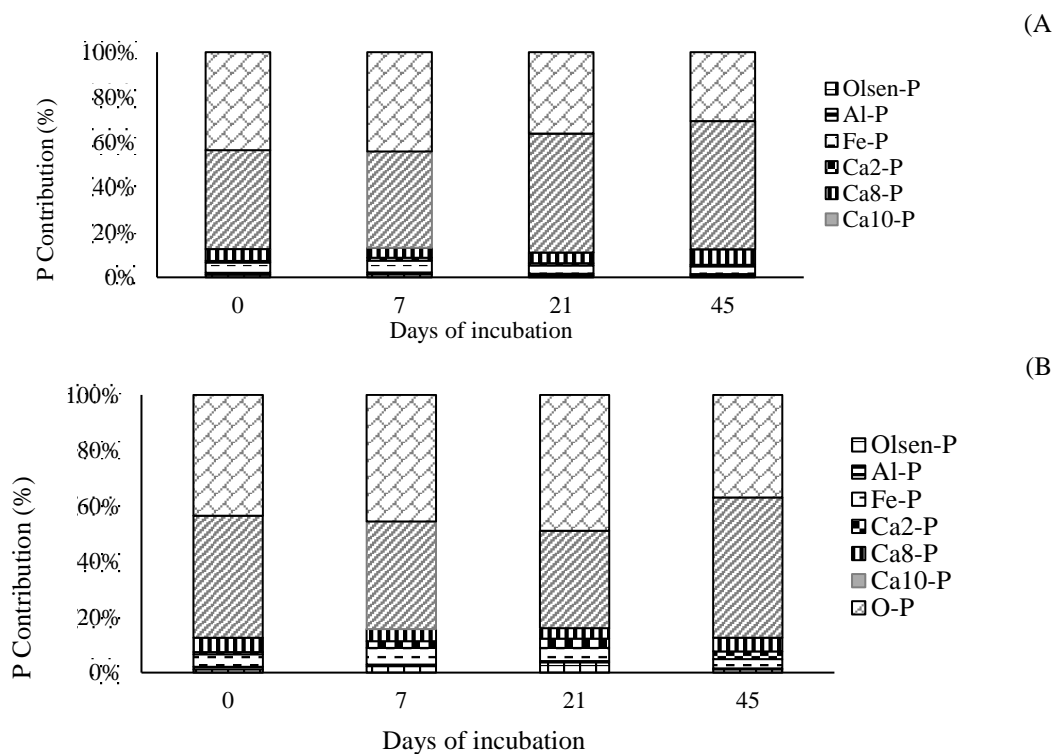
توزیع شکل‌های فسفر تحت تأثیر زمان‌های مختلف در خاک شاهد و تلقیح قارچی

سهم نسبی هر جزء فسفر از فسفر کل در شکل ۵ در خاک شاهد (A) و تلقیح قارچی (B) در زمان‌های صفر، هفت، ۲۱ و ۴۵ روز آورده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود در تیمار شاهد در زمان‌های مختلف شکل‌های ( $Ca_8\text{-P}$ ) ( $Ca_2\text{-P}$ )، ( $Ca_{10}\text{-P}$ ) با تغییر میزان روبرو بودند. در شکل‌های دیگر فسفر تغییر محسوسی مشاهده نشد. میزان شکل‌های فسفر در زمان اول در تیمار شاهد، به صورت  $Ca_{10}\text{-P} > O\text{-P} > Ca_8\text{-P} > Olsen\text{-P} > Al\text{-P} > Ca_2\text{-P}$  بوده است. در هفت و ۴۵ روز بعد از انکوباسیون میزان شکل‌های فسفر بصورت  $Ca_{10}\text{-P} > O\text{-P} > Ca_8\text{-P} > Al\text{-P} > Olsen\text{-P} > Ca_2\text{-P}$  تغییر یافت. در روز ۲۱ این تغییرات بصورت  $Ca_{10}\text{-P} > O\text{-P} > Ca_8\text{-P} > Ca_2\text{-P} > Olsen\text{-P} > Al\text{-P}$  مشاهده شد. در تیمار شاهد تغییرات محسوسی در میزان فسفر قابل جذب ( $Olsen\text{-P}$ ) و فسفر آلی ( $O\text{-P}$ ) مشاهده نشد. همچنین در این تیمار میزان فسفات‌های کلسیم افزایش نشان داد. این افزایش فسفات‌های کلسیم بیانگر تثبیت فسفر در خاک است. هائو و همکاران (Hao *et al.*, 2008) نیز گزارش کردند که فسفات‌های کلسیم بیش‌ترین مقدار از فسفر کل را در خاک‌ها شامل می‌شوند. تغییرات شکل‌های فسفر در زمان‌های مختلف تحت تأثیر تیمار قارچ نشان می‌دهد که



ها در خاک مورد مطالعه یک رابطه دینامیکی برقرار است (Tiessen *et al.*, 1984).

بین شکل‌های مختلف فسفر در تیمار بین تمامی شکل‌ها به‌غیر از (Olsen-P, Ca8-P) وجود داشت (جدول ۴). این همبستگی‌ها با یکدیگر بیانگر این است که بین این شکل



شکل ۵- توزیع نسبی شکل‌های فسفر حاصل از عصاره‌گیری متوالی در خاک شاهد (A) و تلقیح قارچی (B) در زمان‌های مختلف انکوباسیون

Figure 5. Relative contribution of phosphorus forms from continuous extraction in control (A) and fungal inoculation of soil (B) at different periods

منفی و معنی‌داری ( $r = 0.77^*$ ) با فسفر قابل جذب دی-کلسیم فسفات و فسفات آهن وجود داشت. رایان و همکاران (Rayan *et al.*, 1985) نیز گزارش کردند که بین اکسیدهای آهن با فسفر قابل استفاده همبستگی معنی‌داری برقرار می‌باشد. استفاده ریزجانداران سبب تغییر اشکال کم محلول فسفر بخصوص آپاتیت ( $Ca_{10}\text{-P}$ ) که بیش‌ترین میزان فسفر خاک را تشکیل داده و تبدیل آن به اشکال محلول‌تر فسفر، فسفر آلی و فسفر قابل جذب (Olsen-P) می‌شوند. سویه آسپرژیلوس با تولید اسید سیتریک و کاهش pH نقش تأثیر‌گذاری در انحلال اشکال فسفات نامحلول دارد (Kang *et al.*, 2008).

همبستگی شکل‌های فسفر تحت تأثیر تلقیح میکروبی و زمان‌های انکوباسیون

بررسی جدول ۴ نشان داد که در تیمار تلقیح قارچی همبستگی مثبت و معنی‌داری ( $r = 0.99^{***}$ ) بین فسفات آلومینیم و آپاتیت و فسفر آلی وجود داشت و همچنین همبستگی منفی و معنی‌داری ( $r = -0.90^{**}$ ) با فسفر قابل استفاده، فسفات آهن، دی‌کلسیم فسفات و اکتاکلسیم فسفات داشت. این همبستگی‌های موجود بیانگر وجود رابطه تعادلی بین این شکل‌ها بود (Tiessen *et al.*, 1984). همچنین در سویه‌های قارچی همبستگی مثبت و معنی‌داری ( $r = 0.96^{***}$ ) بین آپاتیت با فسفر آلی، آلومینیم فسفات و اکتاکلسیم فسفات و همبستگی

جدول ۴- ضریب همبستگی ساده (r) بین اشکال مختلف فسفر در تیمار شاهد و قارچ

Table 4. Simple correlation coefficient (r) between different forms of phosphorus in treatment of control and fungi

Phosphorus forms	P-O	Ca <sub>2</sub> -P	Ca <sub>8</sub> -P	Al-P	Fe-P	Ca <sub>10</sub> -P
Olsen-P	-0.81**	0.71*	- 0.64	-0.77**	0.83**	- 0.77*
Ca <sub>10</sub> -P	0.81*	-0.70*	0.96***	0.82**	- 0.74*	
Fe-P	-0.95***	0.95***	-0.86*	-0.96***		
Al-P	0.99***	-0.90**	- 0.88**			
Ca <sub>8</sub> -P	0.87**	- 0.84**				
Ca <sub>2</sub> -P	0.88**					

\*, \*\*, و \*\*\* به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد، ۱ درصد و ۰/۱ درصد

پژوهش نشان داد، سویه‌های قارچ (آسپرژیلوس و پنی‌سیلیوم) بیش‌ترین همبستگی را بین فسفر قابل استفاده (Olsen-P)، فسفر آلی و اشکال معدنی فسفر را داشت. از این نتیجه می‌توان در برنامه‌ریزی و مدیریت توصیه کودی، کاهش پدیده آلودگی محیط زیست و حفظ و توسعه کشاورزی پایدار استفاده کرد.

### نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از سویه‌های قارچی باعث تغییر در میزان فسفر و تبدیل و استفاده از شکل‌های معدنی و آلی فسفر شده است. با گذشت زمان فعالیت سویه‌های قارچی کاهش یافت و توزیع شکل‌های فسفر به سمت آپاتیت پیش‌روی کرد. همچنین نتایج این

### References

- Abdollahi M. 2010. Distribution of inorganic phosphorus forms in sugar beet growing calcareous soils and adjacent virgin land in western- Azerbaijan province, Master of Science Thesis. Urmia University. Iran. (In Persian)
- Chang S.C., and Jackson M. L. 1957. Fractionation of soil phosphorus, *Soil Science*, 84: 133-144.
- Chabot R., Cescas M.P, and Antoun H. 1993. Microbiological solubilization of inorganic P-fractions normally encountered in soils. Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements. *Advances in Agronomy*, 77:329 p.
- Cross A.F., and Schlesinger, W.H. 2001. Biological and geochemical controls on phosphorus fractions in semiarid soils. *Biogeochemistry*, 52: 155-172.
- Drouineau G. 1942. Dosage rapide du calcaire du sol, nouvelles donnees sur la separation et al nature des fractions calcaires. *Annals Agronomy*, 12: 441-450.
- Duponnois R., Kisa M., and Olenchette C. 2006. Phosphate solubilizing potential of the nematode fungus *Arthrobotrys oligospora*. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 169: 280-282.
- Fathi Gerdelidani A., Mirseyed Hosseini H., and Farahbakhsh M. 2016. Effect of spent mushroom compost (SMC) and sugar cane bagasse biochar on availability and fractions of inorganic phosphorus in a calcareous soil. *Agricultural Engineering*, 39: 127-144. (In Persian)
- Gee G.W., and Bauder J.W. 1986. Physical and Mineralogical Methods. In: Clute A (Ed.). *Methods of Soil Analysis, Part 1*. ASA and SSSA, Medison Wisconsin, pp: 383-409.
- Hao X., Godlinski, F., and Chang, Ch. 2008. Distribution of Phosphorus Forms in Soil Following Long-term Continuous and Discontinuous Cattle Manure Applications. *Soil Science Society of America*, 72: 90-97.
- Illmer P., and Schinner F. 1992. Solubilization of inorganic phosphates by microorganisms isolated from forest soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 24:389-395.
- Jiang B., and Gu Y. 1989. A suggested fractionation scheme of inorganic phosphorus in calcareous soils. *Fertilizer Research*, 20: 159-165.
- Kang S.C., Pandey P., Khillon R., and Maheshwari D. K. 2008. Process of rock phosphate solubilization by *Aspergillus* sp PS 104 in soil amended medium. *Environmental Biology*, 29 (5): 743-746.

- Kucey R.M.N. 1983. Phosphate, solubilizing bacteria and fungi in various cultivated and virgin Alberta soils. *Soil Science*, 63:671-678.
- Lindsay W. L. 1982. Chemical Equilibria in Soils. John Wiley and Sons. Inc., New York.
- Mehnaz S., and Lazarovits G. 2006. Inoculation effects of *Pseudomonas putida*, *Gluconacetobacter azotocaptans*, and *Azospirillum lipoferum* on corn plant growth under greenhouse conditions. *Microbial Ecology*, 51(3), 326-335.
- Olsen S.R., Cole C.V., Watanabe F.S., and Dean L.A. 1954. Estimation of available phosphorus in soil by extraction with sodium bicarbonate. USDA. Circ. USDA, U.S. Government Printing office, Washington DC.
- Pierzynski G.M., Logan T.J., and Traina S.J. 1990. Phosphorus chemistry and mineralogy in excessively fertilized soils: Solubility equilibria. *Soil Science Society of America*, 54(6): 1589-1595.
- Pikovskaya R. I. 1948. Mobilization of phosphorus in soil connection with the vital activity of some microbial species. *Mikrobiologia*, 17: 362-370.
- Rao A.V., and Tarafdar J.C. 2002. Microbial mobilization of phosphorus for higher crop production in arid soils. *Biotechnology of Biofertilizers*, 323p.
- Rayan J., Curtin D., and Cheema M.A. 1985. Significance of iron oxides and calcium carbonate particle size in phosphate sorption by calcareous soils. *Soil Science Society of America*, 48: 74-76.
- Reddy M. S., Kumar S., Babita K., and Reddy M.S. 2002. Biosolubilization of poorly soluble rock phosphates by *Aspergillus tubingensis* and *Aspergillus niger*. *Bioresource Technology*, 84(2): 187-189.
- Rongzhong Ye., Alan L. Wright J., McCray M., Reddy K.R., Young L. 2010. Sulfur-induced changes in phosphorus distribution in Everglades Agricultural Area soils. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*. 87:127-135.
- Samadi, A. and Gilkes, R. J. 1998. Forms of phosphorus in virgin and fertilized calcareous soils of western Australia. *Soil Research of Australia*, 36: 585- 601.
- Samadi A. 2003. A study on distribution of forms of phosphorus in calcareous soils of Western Australia. *Agricultural Sciences and Technology*, 5: 39-49.
- Sharma S., Kumar V., and Tripathi R. B. 2011. Isolation of phosphate solubilizing microorganism (PSMs) from soil. *Microbial Biotechnology Research*, 1(2): 90-95.
- Sundara B., Natarajan V., and Hari K. 2002. Influence of phosphorus solubilizing bacteria on the changes in soil available phosphorus and sugarcane and sugar yields. *Field crop Research*, 77:43-49.
- Tandon H.L.S., 1998. Methods of Analysis of Soils, Plants, Waters and Fertilizers. Fertilizers Development and Consultancy Organization, New Delhi.
- Tiessen H., Stewart J.W.B., and Cole V.C. 1984. Pathways of phosphorus transformation in soils of differing pedogenesis. *Soil Science Society of America*, 48: 853-858.
- Vassilev N., Vassileva M., and Nikolaeva I. 2006. Simultaneous P-solubilizing and biocontrol activity of microorganisms: potentials and future trends. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 71: 137-144.
- Walker T.W., and Adams A.F.R. 1958. Studies on soil organic matter: I. Influence of phosphorus content of parent material on accumulation of carbon, nitrogen, sulfur and organic phosphorus in grassland soils. *Soil Science*, 85: 307-318.
- Walky A., and Black, I. A. 1934. An examination of Degtareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid in soil analysis. 1. Experimental. *Soil Science Society of America*, 79: 459-465.
- Whitelaw M. A. 1999. Growth promotion of plants inoculated with phosphate-solubilizing fungi. *Advances in Agronomy*, 69:99-151.
- Zhang T.Q., Mackenzie A.F., Liang B.C., and Drury C.F. 2004. Soil test phosphorus and phosphorus fractions with long term phosphorus addition and depletion. *Soil Science Society of America*, 68:519-528.

## Distribution of Phosphorus Forms in Calcareous Soils Inoculated with Phosphate-Solubilizing Fungi

Mir Hassan Rasouli-Sadaghiani<sup>1\*</sup>, Roghaye Vahedi<sup>2</sup>, Majid Mashayekhi<sup>3</sup>, Mohsen Barin<sup>4</sup>

(Received: February 2019 Accepted: Jun 2019)

### Abstract

Phosphorus (P) is one of nutrient elements for plant growth. In most soils P has complex behavior and forms sparingly soluble and insoluble compounds with soil particles. Determination of forms of soil phosphorus influenced the activity of phosphate-solubilizing microorganisms (PSM) is important in the evaluation of soil phosphorus status. To evaluate the effects of PSM on P fractions distribution in a calcareous soil, an experiment was conducted in a factorial based on completely randomized design. The factors were including incubation time (0, 7, 21, 45 days) and microorganisms (Fungal strains including: *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus*, *Penicillium sp.* and control (without microbial inoculation)). Soil samples were incubated at 28 ° C for a period of 45 days. Then, different forms of inorganic phosphorus, organic phosphorus and Olsen phosphorus were determined by sequential extraction method. The results showed that the fungal inoculation caused significant changes in the amount of phosphorus, organic phosphorus and mineral phosphorus. At the end of incubation, amount of available phosphorus, organic phosphorus, mineral forms (Ca<sub>2</sub>-P) and (Ca<sub>10</sub>-P) in fungal inoculation compared to control treatment increased 1.53, 1.39, 4.05 and 1.07 times, respectively. However, the (Ca<sub>8</sub>-P) and (Al-P) forms in the treatment of fungi were reduced 23.76 and 35.95%, respectively. The amount of phosphorus in different forms and treatment control to a Ca<sub>10</sub>-P > OP > Ca<sub>8</sub>-P > Olsen-P > Al-P > Ca<sub>2</sub>-P respectively. The fungal treatment was observed, a negative correlation ( $r = -0.81^{**}$ ) between phosphorus Olsen-P and Organic-P (O-P), Ca<sub>10</sub>-P and significant positive correlation ( $r = 0.83^{**}$ ) with Ca<sub>2</sub>-P, Fe-P and Al-P. In general, using phosphate-solubilizing fungi in calcareous soils provides useful information for evaluation of phosphorous status in soil and understanding of soil fertility that influence plant nutrition.

**Keywords:** Available P, Calcium phosphate, Phosphate-solubilizing microorganisms, Organic P

Rasouli Sadaghiani M.H., Vahedi R., Mashayekhi M., Barin M. 2020. Distribution of phosphorus forms in calcareous soils incubated with phosphate solubilizing fungi. *Applied Soil Research*, 8(2): 70-81.

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

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

3. Graduate MSc Student, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Karaj, Iran

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

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