

## اثر ریزجانداران حل کننده فسفات بر اشکال معدنی و آلی فسفر و فراهمی آن در خاک تحت کشت ذرت (*Zea mays* L.)

فروزان رضایی نسب<sup>۱</sup>، نعیمه عنایتی ضمیر<sup>۲\*</sup>، رویا زلفی<sup>۳</sup>، ندا مرادی<sup>۲</sup>

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۲/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۶/۲۹)

### چکیده

پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر نقش ریزجانداران محرک رشد گیاه بر توزیع شکل‌های فسفر در یک خاک آهکی تحت کشت ذرت (*Zea mays* L.) و ارزیابی ارتباط آن‌ها با ویژگی‌های میکروبی خاک انجام شد. آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی شامل تیمارهای شاهد (بدون مایه‌زنی میکروبی)، مایه‌زنی خاک با باکتری‌های *Staphylococcus hominis* و *Brevundimonas* sp. قارچ *Piriformospora indica* و مخلوط قارچ و باکتری در پنج تکرار تحت شرایط گلخانه‌ای اجرا شد. بذر ذرت در گلدان‌های سه کیلوگرمی کشت شد و بعد از سه ماه، شکل‌های مختلف فسفر معدنی و آلی، برخی ویژگی‌های میکروبی خاک (کربن و فسفر زیتوده میکروبی و فعالیت آنزیم فسفاتاز) و میزان جذب فسفر در گیاه اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان‌دهنده تأثیر مایه‌زنی میکروبی بر شکل‌های معدنی و آلی فسفر و همچنین جذب فسفر در گیاه بود. ترتیب اجزاء معدنی فسفر در خاک شاهد به صورت  $OCC-P < Fe-P < Olsen-P < Al-P < Ca_2-P < Ca_8-P < Ca_{10}P$  و در خاک دارای مخلوط میکروبی به صورت  $OCC-P < Fe-P < Ca_8-P < Al-P < Olsen-P < Ca_2-P < Ca_{10}P$  بود. اجزاء قابل دسترس فسفر شامل فسفر اولسن، فسفر آلی نسبتاً پایدار و ناپایدار همبستگی مثبت و معنی‌داری ( $p < 0.01$ ) با جذب فسفر توسط گیاه داشتند. هم‌چنین همبستگی مثبت و معنی‌داری (به ترتیب ۰/۹۸، ۰/۷۳ و ۰/۸۷) بین فسفر قابل استخراج به روش اولسن با فسفر و کربن زیتوده میکروبی و آنزیم فسفاتاز قلیایی وجود داشت. به‌طور کلی نتایج نشان‌دهنده نقش مثبت مایه‌زنی میکروبی به‌ویژه در تیمار مخلوط قارچ و باکتری‌ها در افزایش قابلیت دسترسی فسفر برای گیاه بود. بیش‌ترین مقدار فسفر قابل استخراج به روش اولسن و فسفر جذب شده در گیاه در تیمار مخلوط قارچ و باکتری‌ها با تفاوت معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) نسبت به سایر تیمارها به ترتیب با مقادیر ۳۴/۰۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ۱۱/۵۲ میلی‌گرم به‌ازای هر گلدان حاصل شد.

**واژه‌های کلیدی:** دی‌کلسیم‌فسفات، فسفاتاز، فسفر آلی، فسفر زیتوده میکروبی، مایه‌زنی

رضایی نسب ف، عنایتی ضمیر ن، زلفی ر، مرادی ن. ۱۴۰۰. اثر ریزجانداران حل‌کننده فسفات بر اشکال معدنی و آلی فسفر و فراهمی آن در خاک تحت کشت ذرت (*Zea mays* L.). تحقیقات کاربردی خاک. جلد ۹، شماره ۱. صفحه: ۱۰۲-۱۱۶.

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز

۲- دانشیار گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز

۳- استادیار گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز

\* پست الکترونیک: [n.enayatzamir@scu.ac.ir](mailto:n.enayatzamir@scu.ac.ir)

## مقدمه

فسفر بعد از نیتروژن، مهم‌ترین عنصر مورد نیاز گیاه است که بین ۰/۲ تا ۰/۸ درصد وزن خشک گیاهان را تشکیل داده (Kalayu, 2019) و در رشد و توسعه گیاه و بسیاری از فعالیت‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه نقش دارد. مقدار فسفر در خاک در حدود ۰/۰۵ درصد است که ۹۸ تا ۹۹ درصد آن به فرم نامحلول است (Walpolo 2012 & Yoon). بیش‌تر خاک‌ها حاوی میزان بالایی از فسفر کل هستند، اما قابلیت دسترسی آن برای گیاهان اندک است. خاک به طور متوسط دارای ۴۰۰ تا ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم فسفر کل است که از این میزان تنها یک تا ۲/۵ درصد آن قابل استفاده توسط گیاهان است (Chen et al., 2008). در مراحل اولیه توسعه خاک، فسفر به شکل‌های معدنی و عمدتاً به صورت آپاتیت در خاک وجود دارد (Reed et al., 2010). با هوادیدگی آپاتیت، فسفر به شکل‌های قابل دسترس تبدیل شده که مقداری از آن توسط گیاهان و ریزجانداران جذب شده و مقداری به سایر شکل‌های معدنی تبدیل شده یا به شکل‌های آلی در خاک باقی می‌ماند. بخش عمده فسفر خاک در زمین‌های کشاورزی از طریق افزودن کودهای معدنی فسفره تأمین می‌شود، که ۷۰ تا ۹۰ درصد آن در خاک تثبیت شده و از دسترس گیاه خارج می‌شود (Walpolo et al., 2019; Ahmed & Yoon, 2012). فسفر در خاک دارای اشکال شیمیایی گوناگونی است که از نظر حلالیت و قابلیت دسترسی برای گیاه با یکدیگر متفاوتند. فسفر بیش‌تر به شکل‌های کم‌محلول و نامحلول به صورت فسفات‌های آهن و آلومینیوم در خاک‌های اسیدی و فسفات‌های کلسیم در خاک‌های قلیایی حضور دارد. بنابراین شناخت و بررسی اشکال شیمیایی متفاوت می‌تواند تأثیر قابل توجهی در مدیریت کوددهی و مصرف فسفر توسط گیاه داشته باشد. مقادیر اجزاء معدنی در خاک‌ها متفاوت بوده و بین شکل‌های مختلف فسفر تعادل پویایی وجود دارد، به طوری که شکل‌های محلول معمولاً به فرم‌های نامحلول تبدیل می‌شوند (Hinsinger, 2001). بنابراین رفتار فسفر در خاک، استفاده از کودهای شیمیایی فسفره برای تولید پایدار محصولات کشاورزی را ایجاب می‌نماید. انحلال فسفر در خاک به صورت تحرک فسفر متصل به اجزاء معدنی خاک، عمدتاً آپاتیت، تعریف می‌شود که منجر به رهاسازی فسفر به بخش محلول خاک می‌شود (Walpolo & Yoon, 2012).

(2012). ریزجانداران خاک بخش مهمی از جانداران خاک-زی هستند که فرآیندهای خاک را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Osono et al., 2014). ریزجانداران خاک نقش مهمی در چرخه فسفر و معدنی شدن فسفر بازی می‌کنند. گیاهان و ریزجانداران با رهاسازی آنزیم‌های فسفاتاز موجب هیدرولیز و رهاسازی فسفر از بخش آلی و تبدیل آن از فرم آلی به فرم معدنی قابل استفاده گیاه می‌شوند. فسفاتاز نقش کلیدی در هیدرولیز و معدنی شدن فسفر آلی دارد و شاخص خوبی از پتانسیل معدنی شدن فسفر آلی و هم‌چنین فعالیت بیولوژیکی خاک است (Nannipieri et al. 2011). انحلال فسفر معدنی توسط ریزجانداران از طریق سازوکارهای مختلفی شامل تولید اسیدهای مختلف و آگزوپلی ساکاریدها، رهاسازی پروتون، کلاته شدن و تغییر شرایط ردکس در محیط رشد گیاه انجام می‌شود (Jones & Oburger, 2011; Walpolo & Yoon, 2012). ریزجانداران با ترشح اسیدهای آلی موجب آزاد شدن فسفر معدنی متصل به اکسیدها از طریق تبادل لیگاندی یا آنیونی و تشکیل کلات با یون‌های  $Al^{+3}$  و  $Fe^{+3}$  متصل به فسفر موجب افزایش انحلال و رهاسازی فسفر می‌شوند (Kunito et al., 2018). جمعیت باکتری‌های حل‌کننده فسفات حدود یک تا ۵۰ درصد و قارچ‌های حل‌کننده فسفات ۰/۱ تا ۰/۵ درصد از جمعیت میکروبی خاک را تشکیل می‌دهند (Walpolo & Yoon, 2012; Khan et al., 2009). بیش‌تر پژوهش‌ها در مورد تأثیر باکتری‌های حل‌کننده فسفر بر انحلال فسفر نامحلول انجام شده است، در حالی که قارچ *Piriformospora indica* از قارچ‌های اندوفیت ریشه بوده که نقش مهمی در انتقال فسفر به درون ریشه گیاه دارد و قادر به کلونیزه کردن ریشه گیاهان متعددی است و کاربردهای بیوتکنولوژی متعددی مانند کود زیستی دارد (Ngwene et al., 2016). از باکتری‌ها و قارچ‌های قادر به انحلال فسفات می‌توان *Bacillus Pseudomonas fluorescens*، *Rhizobium spp.*، *Azotobacter spp.*، *megateium*، *Staphylococcus hominis*، *Brevundimonas sp.*، *Penicillium spp.* و *Trichoderma spp.* را نام برد (Swetha et al., 2016). با توجه به سطوح بسیار پائین فسفر قابل جذب در ریزوسفر و نقش ریزجانداران مفید خاک در افزایش قابلیت دسترسی فسفر برای گیاه، اطلاع از وضعیت شکل‌های مختلف فسفر و تغییرات آن‌ها تحت

چمران اهواز تهیه شد. نمونه‌های سه کیلوگرمی از خاک هوا خشک، به گلدان‌های پلاستیکی انتقال داده شد. به منظور تأمین عناصر مورد نیاز گیاه ذرت، پتاسیم از منبع سولفات پتاسیم (۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک) و فسفر از سوپرفسفات ساده (۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم خاک) و نیمی از نیتروژن مورد نیاز از منبع اوره (۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک)، به خاک‌ها افزوده شدند. نوبت دوم نیتروژن، در آخر هفته چهارم رشد گیاه ذرت به خاک گلدان‌ها افزوده شد. در هر گلدان هشت بذر ذرت رقم سینگل کراس ۷۰۴ در عمق حدود ۲ سانتی متری خاک کشت شد. در تیمارهای دارای مایه‌زنی میکروبی، در زیر هر بذر از کشت شبانه باکتری‌ها (۱۰<sup>۶</sup> واحد سلول بر میلی لیتر) و کشت تازه قارچ (۱۰<sup>۵</sup> اسپور بر میلی لیتر) به میزان یک میلی لیتر مایه‌زنی شد. در تیمار فاقد قارچ و باکتری به همان میزان آب مقطر استریل در زیر بذرها استفاده شد. گلدان‌ها در شرایط گلخانه‌ای و رطوبت زراعی به روش وزنی در حد ۸۰ تا ۸۵ درصد ظرفیت زراعی به مدت سه ماه نگهداری شدند. در هفته سوم رشد گیاه، تعداد سه بوته در هر گلدان نگهداری شد. به منظور کاهش تأثیر عوامل محیطی نظیر نور و ایجاد شرایط یکنواخت، گلدان‌ها هفته‌ای یک‌بار جابه‌جا شدند. پس از گذشت سه ماه از کشت گیاه عملیات برداشت گیاهان انجام پذیرفت. هنگام برداشت، اندام هوایی از محل طوقه قطع شد. وزن خشک گیاه پس از خشک کردن در آون در دمای ۶۰ درجه سلسیوس اندازه‌گیری شد. سپس برای اندازه‌گیری غلظت فسفر در گیاه از روش هضم خشک استفاده گردید (Chapman & Pratt, 1961) و غلظت فسفر به روش رنگ‌سنجی در طول موج ۴۷۰ نانومتر از طریق دستگاه اسپکتروفتومتر (Shimadzu UV3100) تعیین گردید. پس از جدا نمودن ریشه‌ها، قسمتی از خاک گلدان‌ها به منظور اندازه‌گیری شکل‌های معدنی فسفر هوا خشک گردید. شکل‌های معدنی فسفر خاک به روش Jiang & Gu (1989) تعیین شدند. این روش برای تعیین اجزای مختلف معدنی فسفر در خاک‌های آهکی پیشنهاد شده است و فسفر معدنی را به شش شکل دی‌کلسیم فسفات (Ca<sub>2</sub>-P)، اکتاکلسیم فسفات (Ca<sub>8</sub>-P)، فسفات‌های پیوند شده با آلومینیوم (Al-P)، فسفات‌های پیوند شده با آهن (Fe-P)، آپاتیت (Ca<sub>10</sub>-P) و فسفر محصور شده (OCC-P) تفکیک می‌کند.

تأثیر ریزجانداران محرک رشد گیاه اهمیت ویژه‌ای دارد. لذا پژوهش حاضر به منظور ارزیابی تأثیر باکتری‌های *Staphylococcus hominis* و *Brevundimonas sp.* و قارچ *Piriformospora indica* بر مقادیر قابل استفاده فسفر و شکل‌های شیمیایی مختلف آن در یک خاک آهکی تحت کشت ذرت انجام شد.

## مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر فعالیت میکروبی بر اشکال فسفر معدنی، یک نمونه خاک زراعی سطحی از مزارع کشت و صنعت نیشکر فارابی دارای فسفر کل بالا و فسفر قابل جذب (Olsen-P) پایین انتخاب شد. پس از هوا خشک کردن و عبور از الک دو میلی متری برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک شامل بافت به روش هیدرومتری (Gee & Bauder, 1986)، pH و هدایت الکتریکی (EC) در عصاره گل اشباع، کربن آلی به روش Walky (1934) & Black، کربنات کلسیم معادل (CCE) به روش خنثی‌سازی با اسید کلریدریک (Rayment & Higginson, 1992)، ظرفیت تبادل کاتیونی (CEC) به روش استات سدیم نرمال (Page et al., 1982)، پتاسیم قابل تبادل توسط استخراج با استات آمونیوم و فسفر قابل استفاده گیاه (Olsen-P) به روش اولسن (Olsen et al., 1954) اندازه‌گیری شد. خاک مورد نظر دارای بافت رسی، pH حدود ۷/۷۷، هدایت الکتریکی ۲/۸۷ دسی زیمنس بر متر، کربن آلی ۰/۵۶ درصد، کربنات کلسیم معادل ۴۴/۸۷ درصد، ظرفیت تبادل کاتیونی ۲۲/۶۶ سانتی مول بار بر کیلوگرم، پتاسیم قابل تبادل ۱۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم و فسفر قابل استفاده ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم بود. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار میکروبی در پنج تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل چهار سطح تلقیح میکروبی (بدون مایه‌زنی، مایه‌زنی خاک با دو باکتری، قارچ، مخلوط باکتری‌ها و قارچ) بود. سوبه-های میکروبی مورد استفاده در این آزمایش شامل باکتری‌های حل‌کننده فسفات *Staphylococcus hominis* و *Brevundimonas sp.* به ترتیب با کد دسترسی MN227288 و MN227292 و قارچ حل‌کننده فسفات *Piriformospora indica* از کلکسیون میکروبی آزمایشگاه بیولوژی گروه خاک‌شناسی دانشگاه شهید

نرم‌افزار Statistic8.1، مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی در سطح احتمال پنج درصد و ترسیم نمودارها نیز با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام شد.

### نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد، تأثیر تلقیح میکروبی در سطح احتمال یک درصد بر میزان pH، فسفر قابل دسترس، آنزیم فسفاتاز قلیایی، کربن و فسفر زیتوده میکروبی، جذب فسفر توسط گیاه و وزن خشک گیاه معنی‌دار بود (جدول ۱). هم‌چنین جدول ۲ نشان داد که اثر تلقیح میکروبی در سطح احتمال یک درصد بر شکل‌های معدنی و آلی فسفر غیر از شکل‌های معدنی Fe-P و Al-P معنی‌دار بود.

عصاره‌گیری متوالی فسفر آلی در خاک نیز به روش Zhang & Kovar (2000) تعیین گردید. این روش سه شکل از فسفر آلی خاک شامل فسفر آلی ناپایدار، فسفر آلی نسبتاً ناپایدار و فسفر آلی پایدار را به ترتیب با استفاده از بی‌کربنات سدیم، اسید کلریدریک-هیدروکسید سدیم و اسید سولفوریک از هم تفکیک می‌کند. آنزیم فسفاتاز قلیایی خاک به روش (1969) Bremner Tabatabai & فسفر زیتوده میکروبی (MBP) در خاک به روش (1982) Hedley & Stewart جداسازی و کربن زیتوده میکروبی (MBC) به روش تدخین-استخراج (1976) Jenkinson & Powlson اندازه‌گیری شدند. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها، شامل آزمون نرمال بودن داده‌ها و خطای آزمایش، تجزیه واریانس و همبستگی با استفاده از

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس تأثیر تلقیح میکروبی بر برخی ویژگی‌های خاک و جذب فسفر و وزن خشک گیاه

Table 1. Analysis of variance for effect of microbial inoculation on some soil properties and phosphorous uptake by plant

| Source of variation   | df | pH     | Olsen-P  | MBP       | MBC       | Alk       | P-Up    | DW      |
|-----------------------|----|--------|----------|-----------|-----------|-----------|---------|---------|
| Microbial inoculation | 3  | 0.05** | 337.80** | 2822.51** | 5736.93** | 14574.1** | 41.73** | 15.17** |
| Error                 | 16 | 0.004  | 0.10     | 1.51      | 897.10    | 219.2     | 0.25    | 0.20    |
| CV (%)                |    | 0.94   | 1.42     | 8.60      | 6.34      | 2.13      | 12.60   | 5.55    |

\*\* significant at 1% level

\*\* معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

Olsen-P فسفر قابل استخراج به روش اولسن؛ MBP فسفر زیتوده میکروبی؛ MBC کربن زیتوده میکروبی؛ Alk فسفاتاز قلیایی؛ P-Up فسفر جذب شده توسط گیاه؛ DW وزن خشک گیاه

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس تأثیر تلقیح میکروبی بر شکل‌های معدنی و آلی فسفر

Table 2. Analysis of variance for effect of microbial inoculation on phosphorous fractions

| Source of variation   | df | SOP       | NOP      | MOP      | OCC-P | Fe-P               | AL-P               | Ca <sub>10</sub> -P | Ca <sub>8</sub> -P | Ca <sub>2</sub> -P |
|-----------------------|----|-----------|----------|----------|-------|--------------------|--------------------|---------------------|--------------------|--------------------|
| Microbial inoculation | 3  | 26511.7** | 2950.4** | 2424.8** | 9.3** | 0.06 <sup>ns</sup> | 0.86 <sup>ns</sup> | 14262.2**           | 9165.2**           | 488.2**            |
| Error                 | 16 | 281.3     | 0.41     | 1.61     | 1.16  | 0.10               | 0.27               | 4.1                 | 19.86              | 0.34               |
| CV (%)                |    | 8.38      | 0.64     | 0.45     | 18.58 | 3.59               | 1.57               | 0.64                | 6.39               | 0.86               |

\*\*<sup>ns</sup> significant at 1% level and non-significant.

\*\* و <sup>ns</sup> معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد و عدم معنی‌داری.

SOP فسفر آلی پایدار؛ NOP فسفر آلی ناپایدار؛ MOP فسفر آلی نسبتاً پایدار؛ OCC-P فسفر محبوس؛ Fe-P فسفر متصل به آهن؛ Al-P فسفر متصل به آلومینیوم؛ Ca<sub>10</sub>-P آپاتیت؛ Ca<sub>8</sub>-P اکتاکلسیم فسفات؛ Ca<sub>2</sub>-P دی کلسیم فسفات.

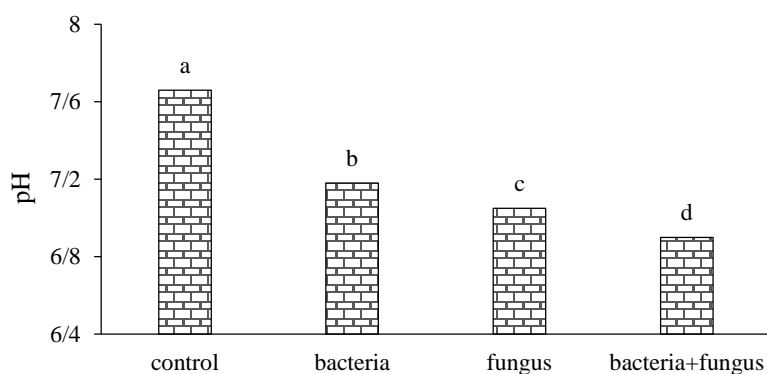
یافت. تولید اسیدهای مختلف و رهاسازی پروتون توسط *Piriformospora indica* و باکتری‌های انحلال‌کننده فسفات در کاهش pH خاک مؤثر بوده و در نتیجه افزایش انحلال فسفر را سبب می‌شود (Wu et al., 2018). انحلال فسفر را احتمالاً کاهش محسوس pH خاک در تیمار مخلوط قارچ و باکتری‌ها نشان‌دهنده اثر تشدید همراهِ قارچ و باکتری‌های مورد استفاده و تأثیر آن‌ها بر افزایش فعالیت میکروبی و ترشحات ریشه گیاه

### تأثیر تیمارهای میکروبی بر pH و برخی ویژگی‌های بیولوژیکی خاک

نتایج مقایسه میانگین تأثیر تیمارهای میکروبی بر میزان pH خاک اطراف ریشه نشان داد (شکل ۱)، تمامی تیمارهای میکروبی در مقایسه با تیمار شاهد سبب کاهش میزان pH خاک شدند. به طوری که تیمار قارچ به همراه باکتری از لحاظ آماری بیش‌ترین تأثیر را در کاهش pH خاک داشت که نسبت به تیمار شاهد، ۱۱ درصد کاهش

(شکل ۲). تیمارهای قارچ و قارچ+باکتری در مقایسه با تیمار شاهد سبب افزایش معنی دار ( $p \leq 0.05$ ) فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در خاک شدند. همچنین نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در تیمار باکتری و شاهد اختلاف معنی دار با هم نداشتند. احتمالاً افزایش فعالیت آنزیم فسفاتاز در تیمار مخلوط قارچ و باکتری به دلیل افزایش فعالیت و تنوع میکروبی و افزایش ترشحات ریشه گیاه باشد (Mandal *et al.*, 2007).

باشد. آنزیم فسفاتاز نیز نقش مهمی در چرخه فسفر داشته و در هیدرولیز ترکیبات فسفرآلی به فرم‌های معدنی نقش دارد (Nannipieri *et al.*, 2011). افزایش فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در ریزوسفر به دلیل ترشحات ترکیبات آلی مانند قندها و اسیدهای آلی توسط گیاه است که به عنوان منبع انرژی برای ریزجانداران است (Whipps, 1990). نتایج پژوهش حاضر نشان‌دهنده تأثیر تیمارهای میکروبی بر افزایش فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در خاک بود



شکل ۱- مقایسه میانگین تأثیر تیمارها بر pH خاک

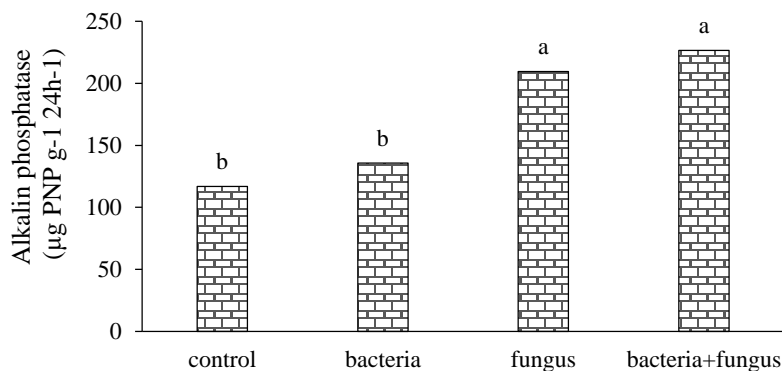
Figure 1. Mean comparison of treatments effect on soil pH

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک، به روش آزمون چند دامنه‌ای توکی تفاوت معنی دار در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

Means with the same letter are not significantly different by Tukey test ( $p \leq 0.05$ ).

کربن زیتوده میکروبی تحت تأثیر جمعیت میکروبی قرار دارد، و در چرخه تغییر و تبدیل عناصر غذایی و مواد آلی در خاک نقش دارند (Hoffman *et al.*, 2003). ریزجانداران می‌توانند مقداری از فسفر قابل استفاده را جذب و به صورت آلی در آورند. فسفر اندوخته شده در زیتوده میکروبی از جذب یون فسفات محلول در محیط پدید می‌آید. اگرچه این بخش از فسفر در سلول باکتری‌ها بی‌جنبش شده و برای گیاهان فراهم نیست، پس از مرگ ریزجانداران از شکل بی‌جنبش شده و آلی به شکل معدنی دگرگون می‌شود و برای گیاه فراهم و در دسترس خواهد شد (Stewart & Tiessen, 1987).

بیش‌ترین فعالیت فسفاتاز در تیمار مخلوط میکروبی نشان‌دهنده همراهی مثبت باکتری‌ها و قارچ مایه‌زنی شده به خاک است. کربن و فسفر زیتوده میکروبی نیز با تلقیح میکروبی افزایش پیدا کرد؛ بیش‌ترین میزان هر دو شاخص زیستی در تیمار دارای مخلوط باکتری و قارچ به دست آمد (شکل ۳). اما میانگین MBC در تیمارهای باکتری، قارچ و قارچ+باکتری اختلاف معنی دار وجود نداشت. مقدار MBP در تیمارهای باکتری، قارچ و قارچ+باکتری در مقایسه با شاهد به ترتیب ۲/۴۳، ۲/۲۷ و ۳/۲۱ برابر افزایش یافت.

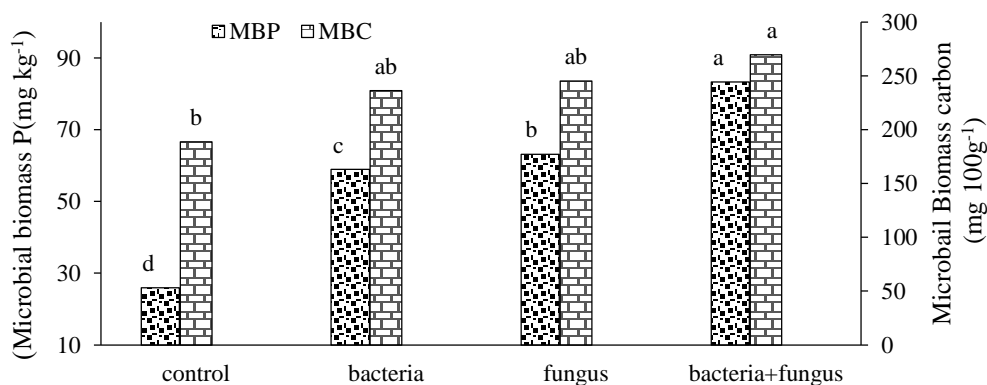


شکل ۲- مقایسه میانگین تاثیر تیمارها بر فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی

Figure2. Mean comparison of treatments effect on alkaline phosphatase activity

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک، به روش آزمون چند دامنه‌ای توکی تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

Means with the same letter are not significantly different by Tukey test ( $p \leq 0.05$ ).



شکل ۳- مقایسه میانگین تاثیر تیمارها بر کربن و فسفر زیتوده میکروبی

Figure3. Mean comparison of treatments effect on microbial biomass carbon and phosphorous

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک، به روش آزمون چند دامنه‌ای توکی تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

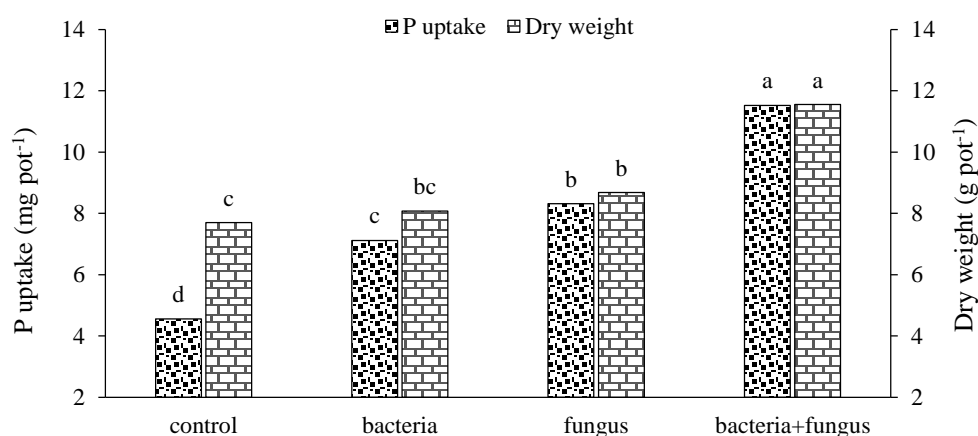
Means with the same letter are not significantly different by Tukey test ( $p \leq 0.05$ ).

تأثیر تیمارهای میکروبی بر میزان جذب فسفر در گیاه نتایج داده‌های مربوط به مقایسه میانگین تأثیر تیمارهای میکروبی بر جذب فسفر در گیاه ذرت (شکل ۴) نشان دهنده افزایش معنی‌دار جذب فسفر اندام هوایی نسبت به شاهد در تیمارهای میکروبی است. بیش‌ترین مقدار جذب فسفر مربوط به کاربرد توأم باکتری و قارچ بود که در مقایسه با شاهد، ۲/۵۴ برابر بیش‌تر بود. وزن خشک گیاه نیز در تیمارهای میکروبی نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری داشت (شکل ۴). بیش‌ترین مقدار وزن خشک گیاه نیز در تیمار مخلوط قارچ و باکتری‌ها و پس از آن در تیمار قارچ اندازه‌گیری شد. افزایش رشد *Brassica napus* در حضور *Piriformospora indica* با افزایش

کربن زیتوده میکروبی تحت تأثیر جمعیت میکروبی قرار دارد، و در چرخه تغییر و تبدیل عناصر غذایی و مواد آلی در خاک نقش دارند (Hoffman *et al.*, 2003). ریزجانداران می‌توانند مقداری از فسفر قابل استفاده را جذب و به صورت آلی در آورند. فسفر اندوخته شده در زیتوده میکروبی از جذب یون فسفات محلول در محیط پدید می‌آید. اگر چه این بخش از فسفر در سلول باکتری‌ها بی‌جنبش شده و برای گیاهان فراهم نیست، پس از مرگ ریزجانداران از شکل بی‌جنبش شده و آلی به شکل معدنی دگرگون می‌شود و برای گیاه فراهم و در دسترس خواهد شد (Stewart & Tiessen, 1987).

جذب فسفر در حضور منابع تری کلسیم فسفات، فسفات-های آهن و آلومینیوم گزارش شده است. یافته‌ها نشان داده است که قارچ با تحریک فعالیت فسفاتاز گیاهی و افزایش تولید اسیدهای آلی در انحلال منابع فسفات مؤثر است (Wu et al., 2018). قارچ *P. indica* قادر به کلونیزه کردن ریشه گیاه و پیشرفت رشد گیاه مستقل از غلظت فسفر در خاک است (Yadav et al., 2010). این قارچ شبیه قارچ‌های میکوریز آربوسکولار بوده که در هند جداسازی شده است و می‌تواند با گروه وسیعی از گیاهان همراه بوده، رشد و میزان زیستوده گیاهی، مقاومت به خشکی و شوری و دسترسی گیاه به فسفر را افزایش دهد

(Bhuyan et al., 2015; Franken, 2012). همراهی باکتری و قارچ (*Glomus sp.* و *Pseudomonas putida*) در افزایش رشد گیاه با انحلال فسفات گزارش شده است (Villegas & Fortin 2002, 2011). نقش باکتری‌ها در افزایش انحلال و جذب فسفر در گیاه با سازوکارهای مختلف مانند ترشح اسیدهای آلی و کاهش pH خاک گزارش شده است (Wu et al., 2018; Walpola & Yoon, 2012). نتایج Safirzadeh et al., (2019) نشان‌دهنده نقش دو سویه از باکتری *Enterobacter cloacae* در افزایش قابلیت انحلال منابع کم محلول فسفر در ریزوسفر نیشکر و جذب فسفر توسط گیاه بود.



شکل ۴- مقایسه میانگین تاثیر تیمارها بر وزن خشک و جذب فسفر گیاه ذرت

Figure 4. Mean comparison of treatments effect on dry weight and phosphorous uptake of maize plant

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک، به روش آزمون چند دامنه‌ای توکی تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

Means with the same letter are not significantly different by Tukey test ( $p \leq 0.05$ ).

۴۱ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش نشان داد. تیمارهای قارچ و سپس باکتری به همراه قارچ نیز بدون اختلاف معنی‌دار افزایش ۱۸ و ۱۶ درصدی در میزان دی کلسیم فسفات نسبت به تیمار شاهد نشان دادند. آزمون مقایسه میانگین اثر تلقیح میکروبی بر میزان اکتاکلسیم فسفات در جدول (۳) نشان داده شده است. میزان این فرم از فسفر به ترتیب در تیمارهای باکتری، قارچ و قارچ+باکتری ۴۹، ۵۱ و ۸۰ درصد کاهش نسبت به تیمار شاهد داشتند. تیمارهای میکروبی باعث کاهش معنی‌دار مقدار اکتاکلسیم فسفات نسبت به تیمار شاهد شد به طوری که کاهش مقدار اکتاکلسیم فسفات در تیمار توأم باکتری و قارچ بیش‌تر از تیمار مجزای باکتری و قارچ بود. مقایسه میانگین اثر تلقیح میکروبی بر مقدار آپاتیت در

شکل‌های معدنی و آلی فسفر، توزیع شکل‌های فسفر و

همبستگی بین شکل‌ها

مقایسه میانگین‌ها نشان داد کاربرد همه تیمارهای میکروبی سبب افزایش فرم قابل دسترس فسفر شد (جدول ۳). بیش‌ترین مقدار فسفر قابل جذب در تیمار مخلوط باکتری و قارچ با میانگین ۳۴/۰۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم به میزان ۱۲۷ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش نشان داد. سایر تیمارها، به ترتیب، تیمارهای قارچ و سپس باکتری نیز افزایش ۱۰۱ و ۷۳ درصدی در میزان فسفر قابل جذب نسبت به تیمار شاهد نشان دادند. تأثیر تیمارهای تلقیح میکروبی بر میزان دی کلسیم فسفات متفاوت بود. بیش‌ترین مقدار دی کلسیم فسفات در تیمار باکتری با میانگین ۸۱/۸۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم به میزان

میکروبی باعث کاهش معنی دار ( ۳۷ تا ۳۳/۷ درصد) مقدار فسفر محبوس نسبت به تیمار شاهد شدند اما بین تیمارهای مختلف میکروبی تفاوت معنی داری مشاهده نشد. میزان فسفر آلی ناپایدار و نسبتاً ناپایدار به صورت معنی دار با تلقیح میکروبی افزایش پیدا کرد (جدول ۳) تأثیر تیمار باکتری+قارچ بر مقدار فسفر آلی ناپایدار و نسبتاً ناپایدار بیش تر از سایر تیمارها بود. از طرفی میزان فسفر آلی پایدار با تلقیح میکروبی کاهش نشان داد.

جدول (۳) نشان داده شده است. تیمارهای میکروبی باعث کاهش مقدار فرم آپاتیتی فسفر نسبت به تیمار شاهد شدند. کمترین مقدار آپاتیت در تیمار مخلوط باکتری و قارچ با ۳۰ درصد کاهش نسبت به تیمار شاهد اندازه گیری شد. میزان این فرم از فسفر در تیمارهای باکتری و قارچ به ترتیب ۲۷ و ۱۷ درصد کمتر از تیمار شاهد بودند. مقایسه میانگین اثرات اصلی تلقیح میکروبی بر مقدار فسفر محبوس در اکسید آهن نشان دهنده تأثیر معنی دار تیمارهای میکروبی بر این فرم از فسفر بود. تیمارهای

جدول ۳-مقایسه میانگین تأثیر تیمارها بر اجزاء فسفر آلی و معدنی خاک (میلی گرم بر کیلوگرم)  
Table 3. Mean comparison for effect of microbial inoculation on phosphorous fractions

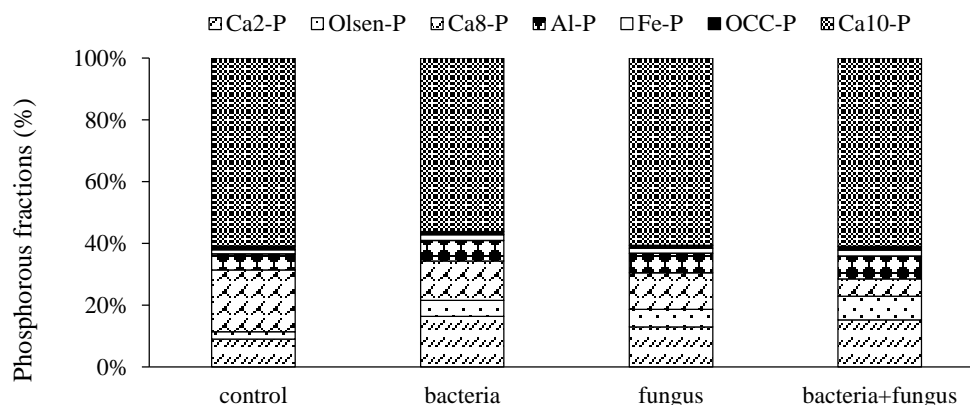
| Treatment | SOP     | NOP     | MOP    | OCC-P | Fe-P  | Al-P   | Ca <sub>10</sub> -P | Ca <sub>8</sub> -P | Ca <sub>2</sub> -P | Olsen-P |
|-----------|---------|---------|--------|-------|-------|--------|---------------------|--------------------|--------------------|---------|
| Control   | 288.46a | 74.53d  | 258.5d | 7.85a | 9.10a | 32.89a | 388.43a             | 127.80a            | 57.80c             | 14.98d  |
| Bacteria  | 229.60b | 86.71c  | 268.8c | 5.17b | 9.02a | 33.51a | 281.79c             | 64.13b             | 81.83b             | 25.97c  |
| Fungus    | 154.52c | 108.52b | 288.0b | 4.96b | 8.84a | 33.51a | 320.45b             | 62.57b             | 68.21b             | 30.14b  |
| Bac+Fung  | 128.53c | 129.5a  | 308.4a | 5.28b | 9.02a | 32.71a | 269.91b             | 24.51c             | 67.47b             | 34.02a  |

ستون های دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک، به روش آزمون چند دامنه ای توکی تفاوت معنی دار در سطح احتمال پنج درصد ندارند. Means with the same letter are not significantly different by Tukey test ( $p \leq 0.05$ ).

SOP فسفر آلی پایدار؛ NOP فسفر آلی ناپایدار؛ MOP فسفر آلی نسبتاً پایدار؛ OCC-P فسفر محبوس؛ Fe-P فسفر متصل به آهن؛ Al-P فسفر متصل به آلومینیوم؛ Ca<sub>10</sub>-P آپاتیت؛ Ca<sub>8</sub>-P اکتاکلسیم فسفات؛ Ca<sub>2</sub>-P دی کلسیم فسفات؛ Olsen-P فسفر قابل استخراج به روش اولسن.

صورت  $Fe < Olsen-P < Al-P < Ca_8-P < Ca_2-P < Ca_{10}P$  و در خاک دارای مخلوط میکروبی  $OCC-P < P$  بصورت  $Fe < Ca_8-P < Al-P < Olsen-P < Ca_2-P < Ca_{10}P$   $OCC-P < P$  تغییر کرد.

شکل ۵ بیانگر تغییرات شکل های معدنی فسفر تحت تأثیر تیمارهای مختلف میکروبی است. ترتیب توزیع شکل های معدنی فسفر در خاک شاهد بصورت  $Ca_8 < Ca_{10}P$  تیمار دارای قارچ و باکتری به تنهایی به  $OCC-P < Fe-P < Olsen-P < Al-P < Ca_2-P < P$



شکل ۵- درصد فراوانی اجزاء معدنی فسفر

Figure 5. Mean comparison of treatments effect on mineral phosphorous fractions

به ترتیب از پایین به بالا: Ca<sub>2</sub>-P دی کلسیم فسفات؛ Olsen-P فسفر قابل استخراج به روش اولسن؛ Ca<sub>8</sub>-P اکتاکلسیم فسفات؛ Al-P فسفر متصل به آلومینیوم؛ Fe-P فسفر متصل به آهن؛ OCC-P فسفر محبوس؛ Ca<sub>10</sub>-P آپاتیت



فسفات نامحلول گزارش شده است (Shi *et al.*, 2017; Wu *et al.*, 2018). توانایی باکتری‌های مورد استفاده در پژوهش حاضر از نظر انحلال فسفر در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی و مثبت گزارش شده است (Bakhtiaryfar, 2019). رابطه منفی بین کربن و فسفر زیتوده میکروبی با آپاتیت و اکتاکلسیم فسفات نشان‌دهنده نقش ریزجانداران تلقیح شده در انحلال فسفر از این منابع، کاهش مقدار آن‌ها در خاک و افزودن آن به بخش دی‌کلسیم فسفات، با توجه به همبستگی مثبت این ویژگی‌ها با دی‌کلسیم-فسفات است (جدول ۴). فسفر معدنی در خاک‌های آهکی به دلیل تثبیت توسط ترکیبات کلسیمی یکی از عوامل محدودکننده رشد گیاه محسوب می‌شود (Yadav *et al.*, 2017). بر اساس منابع ریزجانداران حل‌کننده فسفات از طریق تولید اسیدهای آلی متفاوت (Deubel & Merbach, 2005)، ترشح پروتون و کاهش pH ریزوسفر (Khan & Joergensen, 2009) و ترکیبات کلات‌کننده در انحلال فسفر نقش دارند. با این وجود ظرفیت بافوری خاک کارایی حل‌کنندگان فسفات را در رهاسازی فسفات از فسفات کلسیم کاهش می‌دهد (Joseph & Jisha, 2009). توانایی انحلال فسفات نامحلول توسط ریزجانداران حل‌کننده فسفات را از منبع تری‌کلسیم فسفات گزارش شده است (Mumtaz *et al.*, 2017). سازوکارهای مختلف ریزجانداران حل‌کننده فسفات شامل افزایش رهاسازی عناصر غذایی از ترکیبات نامحلول یا کم محلول و تولید آنزیم موجب افزایش حلالیت فسفر می‌شود (Mehboob *et al.*, 2009). در حضور اسیدهای آلی، بار منفی گروه‌های کربوکسیل مکان‌های جذب آنیون را در خاک اشغال کرده و در نتیجه جذب فسفر توسط خاک کاهش یافته و فسفر وارد فاز محلول و تبادل می‌شود (Imas *et al.*, 1997).

آزمون همبستگی شکل‌های مختلف فسفر و ویژگی‌های خاک در جدول ۴ مؤید نقش مایه‌زنی میکروبی خاک در توزیع شکل‌های مختلف فسفر در خاک است. فسفر معدنی در خاک‌های آهکی به دلیل تثبیت توسط ترکیبات کلسیمی یکی از عوامل محدودکننده رشد گیاه محسوب می‌شود (Yadav *et al.*, 2017). همبستگی مثبت و معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد بین آپاتیت و اکتاکلسیم فسفات با pH وجود داشت ( $r=0.95^{**}$  و  $r=0.86^{**}$ ). در حالی که همبستگی بین فسفر قابل جذب و pH منفی و معنی‌دار ( $r=-0.97^{**}$ ) بود (جدول ۴). نتایج پژوهش حاضر نشان‌دهنده همبستگی معنی‌دار ( $r=0.48^*$ ) بین فسفر قابل جذب و دی‌کلسیم فسفات بود، هم‌چنین همبستگی بین دی‌کلسیم فسفات و اکتاکلسیم فسفات منفی و معنی‌دار ( $r=-0.5^{**}$ ) بود که نشان‌دهنده تبدیل این فرم‌ها به یکدیگر است. دی‌کلسیم فسفات شکل ناپایدار فسفر است و به شکل‌های دیگر فسفر تبدیل می‌شود. نتایج پژوهش حاضر همبستگی منفی و معنی‌داری بین میزان آپاتیت و فسفر محبوس با فسفر قابل جذب نشان داد. عدم همبستگی معنی‌دار بین فسفر قابل جذب و فسفات آهن گزارش شده است، احتمالاً این شکل نمی‌تواند به فسفر قابل جذب تبدیل شود که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد (Samavati & Hosseinpour, 2011). همبستگی مثبت بین فسفر قابل جذب با شکل‌های دی‌کلسیم فسفات و فسفر آلی نسبتاً ناپایدار و ناپایدار (جدول ۴) نشان‌دهنده نقش این اجزاء معدنی و آلی فسفر در تأمین نیاز گیاه بود. همبستگی معنی‌دار بین فرم قابل استفاده فسفر با Ca<sub>2</sub>-P و فسفر آلی گزارش شده است (Moradi *et al.*, 2019). تغییر شکل فسفر نامحلول به فسفر قابل استفاده توسط باکتری‌ها و قارچ‌های حل‌کننده

جدول ۴- همبستگی اجزاء فسفر آلی و معدنی خاک (الف)

Table 4. Pearson correlation coefficients between mineral and organic phosphorous fractions (A)

|                     | Olsen-P | Ca <sub>2</sub> -P | Ca <sub>8</sub> -P | Ca <sub>10</sub> -P | Al    | Fe    | OCC-P   | MOP     | NOP     | SOP     |
|---------------------|---------|--------------------|--------------------|---------------------|-------|-------|---------|---------|---------|---------|
| Olsen-P             | 1       | 0.48*              | -0.97**            | -0.86**             | 0.05  | -0.18 | -0.68** | 0.91**  | 0.92**  | -0.93** |
| Ca <sub>2</sub> -P  |         | 1                  | -0.50*             | -0.74**             | 0.38  | -0.07 | -0.55*  | 0.07    | 0.08    | -0.21   |
| Ca <sub>8</sub> -P  |         |                    | 1                  | 0.93**              | -0.01 | 0.15  | 0.66**  | -0.88** | -0.89** | 0.88**  |
| Ca <sub>10</sub> -P |         |                    |                    | 1                   | -0.07 | 0.08  | 0.68**  | -0.69** | -0.69** | 0.70**  |
| Al                  |         |                    |                    |                     | 1     | 0.10  | 0.07    | -0.17   | -0.16   | 0.04    |
| Fe                  |         |                    |                    |                     |       | 1     | 0.04    | -0.10   | -0.12   | 0.11    |
| OCC-P               |         |                    |                    |                     |       |       | 1       | -0.51*  | -0.52*  | 0.64**  |
| MOP                 |         |                    |                    |                     |       |       |         | 1       | 0.99**  | -0.94** |
| NOP                 |         |                    |                    |                     |       |       |         |         | 1       | -0.94** |
| SOP                 |         |                    |                    |                     |       |       |         |         |         | 1       |

جدول ۴- همبستگی اجزاء فسفر آلی و معدنی خاک با برخی ویژگی‌های خاک و جذب فسفر در گیاه (ب)

Table 4. Pearson correlation coefficients between mineral and organic phosphorous fractions and some soil properties (B)

|                     | pH      | AlK     | MBP     | MBC     | P-Uptake |
|---------------------|---------|---------|---------|---------|----------|
| Olsen-P             | -0.97** | 0.87**  | 0.98**  | 0.73**  | 0.93**   |
| Ca <sub>2</sub> -P  | -0.47*  | 0.03    | 0.46*   | 0.32    | 0.24     |
| Ca <sub>8</sub> -P  | 0.95**  | -0.77** | -0.98** | -0.74** | -0.94**  |
| Ca <sub>10</sub> -P | 0.86**  | -0.56** | -0.91** | -0.68** | -0.81**  |
| Al-P                | -0.16   | -0.03   | -0.02   | -0.13   | -0.17    |
| Fe-P                | 0.11    | -0.16   | -0.12   | -0.08   | -0.17    |
| OCC-P               | 0.68**  | -0.39   | -0.67** | -0.69** | -0.61**  |
| MOP                 | -0.87** | 0.91**  | 0.91**  | 0.68**  | 0.96**   |
| NOP                 | -0.87** | 0.93**  | 0.91**  | 0.54**  | 0.94**   |
| SOP                 | 0.90**  | -0.90** | -0.90** | -0.75** | -0.90**  |

Ca<sub>2</sub>-P دی کلسیم فسفات؛ Ca<sub>8</sub>-P اکتاکلسیم فسفات؛ Ca<sub>10</sub>-P آپاتیت؛ Al-P فسفر متصل به آلومینیوم؛ Fe-P فسفر متصل به آهن؛ OCC-P فسفر محبوس؛ MOP فسفر آلی نسبتاً پایدار؛ NOP فسفر آلی ناپایدار؛ SOP فسفر آلی پایدار؛ AIK فسفاتاز قلیایی؛ MBC کربن زیتوده میکروبی؛ MBP فسفر زیتوده میکروبی؛ P-Uptake جذب فسفر در گیاه

برای گیاه دارد. همبستگی مثبت بین زیتوده قارچ و انحلال فسفر و همبستگی منفی بین pH و زیتوده قارچ گزارش شده است (Gaind, 2016). همبستگی مثبت و معنی دار بین فسفر و کربن زیتوده میکروبی با آنزیم فسفاتاز قلیایی (به ترتیب  $r=0.82^{**}$  و  $r=0.54^{**}$ ) و فسفر قابل جذب گیاه تأییدکننده نقش تلقیح میکروبی در افزایش قابلیت دسترسی فسفر برای گیاه است (جدول ۴). افزایش میزان جذب فسفر توسط گیاه مؤید این مطلب است (شکل ۴). بخشی از تأثیر ریزوسفر بر فعالیت فسفاتاز قلیایی با همبستگی منفی بین فعالیت این آنزیم و تخلیه فسفر آلی قابل توضیح است (Tarafdar & Jungk, 1987). در پژوهش حاضر نیز افزایش فسفر قابل دسترس و جذب فسفر توسط ذرت که با کاهش فسفر آلی پایدار همراه است (جدول ۳ و شکل ۴) نشان می‌دهد فعالیت میکروبی در معدنی شدن فسفر آلی نقش داشته است. همبستگی مثبت بین فعالیت فسفاتاز قلیایی و میزان فسفر زیتوده و همچنین بین فعالیت فسفاتاز قلیایی و فسفر قابل دسترس که نشان‌دهنده تبدیل فسفر آلی به فسفر زیتوده و فسفر قابل دسترس (با افزایش غلظت فسفر در گیاه کاهو) در نتیجه فعالیت این آنزیم است، گزارش شده است (Sakurai *et al.*, 2008). زیتوده میکروبی خاک مخزن و منبع اصلی فسفر قابل استفاده گیاه هستند و تبدیل بیوشیمیایی فسفر آلی نقش دارند (Stewart & Tiessen, 1987). همبستگی مثبتی بین فسفر زیتوده و فسفر قابل دسترس نشان می‌دهد وجود مواد آلی فعالیت فسفاتاز قلیایی و فسفر زیتوده میکروبی را افزایش داده و منجر به تأمین فسفر برای گیاه می‌شود (Sakurai *et al.*, 2008).

همبستگی منفی و معنی دار ( $r=-0.97^{**}$ ) بین فسفر قابل جذب و pH نشان می‌دهد کاهش pH در نتیجه ترشح اسیدهای آلی توسط ریزجانداران به عنوان مکانیسم اصلی انحلال فسفر ذکر شده است (Yadav *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2019; Akintokun *et al.*, 2007). اسیدهای آلی با کلات کردن آهن، کلسیم و آلومینیوم باعث رها شدن فسفر می‌شوند. همبستگی بالایی بین فسفر قابل جذب و pH گزارش شده است (Walpola & Yoon, 2012). البته بین ریزجانداران از نظر انحلال نوع بخش فسفر تفاوت وجود دارد (Toro *et al.*, 1996) که این تفاوت‌ها ممکن است به دلیل تفاوت در نوع اسیدهای آلی ترشح شده توسط ریزجانداران باشد. همبستگی مثبت و معنی‌داری بین فسفر آلی ناپایدار و نسبتاً ناپایدار با آنزیم فسفاتاز قلیایی وجود داشت (جدول ۴). بین فسفر آلی پایدار با فسفر آلی ناپایدار و نسبتاً ناپایدار همبستگی منفی و معنی دار وجود داشت، که نشان می‌دهد این شکل می‌تواند به فسفر آلی ناپایدار و نسبتاً ناپایدار تبدیل شود. همبستگی مثبت و معنی دار ( $r=0.87^{**}$ ) بین فسفر قابل جذب با آنزیم فسفاتاز نشان‌دهنده نقش ریزجانداران مایه‌زنی شده به خاک در افزایش فسفر قابل جذب بود. ریزجانداران انحلال‌کننده فسفات نامحلول با تولید آنزیم‌های خارج سلولی فسفاتاز موجب رهاسازی فسفر از منابع آلی و در نتیجه افزایش انحلال و دسترسی آن برای گیاه می‌گردند (Cabugao *et al.*, 2017; Della Monica *et al.*, 2018). همبستگی مثبت و معنی دار بین فسفر قابل جذب با فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی نشان‌دهنده تأثیر این آنزیم در انحلال فسفر و تأمین فسفر قابل دسترس

## نتیجه‌گیری کلی

تیمار میکروبی اندازه‌گیری شد. کاهش ۵۰، ۴۶ و ۲۰ درصدی فسفر آلی پایدار به ترتیب در تیمارهای مخلوط باکتری‌ها و قارچ، قارچ و باکتری‌ها به دست آمد. ریزجانداران بکار برده شده در این پژوهش با ترشح آنزیم فسفاتاز قلیایی سبب آزادسازی فسفر آلی پایدار و تبدیل آن به فرم‌های نسبتاً پایدار و ناپایدار شدند. همبستگی مثبت بین فرم‌های دی‌کلسیم فسفات و فرم‌های آلی نسبتاً پایدار و ناپایدار با جذب فسفر توسط ذرت نشان‌دهنده نقش ریزجانداران بکار برده شده در افزایش قابلیت استفاده از فرم‌های مختلف فسفر در خاک است. البته به منظور استفاده از تیمارهای میکروبی مورد استفاده در مطالعه حاضر نیاز به بررسی‌های بیشتر در شرایط مزرعه است. همچنین پیشنهاد می‌شود نقش مواد آلی بر شکل‌های فسفر و توانایی تیمارها در آزادسازی فسفر آلی بیشتر مورد بررسی قرار گیرد.

بازیافت پایین کودهای فسفات‌هسته توسط گیاه به دلیل تثبیت فسفر در خاک و هزینه مصرف بالای کودهای فسفات‌هسته موجب توجه بیشتر به ریزجانداران حل‌کننده فسفات نامحلول خاک به منظور افزایش کارایی مصرف کود فسفات‌هسته شده است. در تحقیق حاضر مایه‌زنی میکروبی، به‌ویژه مخلوط باکتری‌ها و قارچ، باعث تغییر در شکل‌های معدنی و آلی فسفر و افزایش فسفر قابل دسترس گیاه و جذب فسفر توسط ذرت شد. تیمارهای مخلوط باکتری‌ها و قارچ، قارچ و باکتری‌ها به ترتیب سبب افزایش ۱۲۷، ۱۰۱ و ۷۳ درصدی جذب فسفر توسط گیاه نسبت به تیمار بدون مایه‌زنی میکروبی شد. در تیمارهای میکروبی افزایش میزان دی‌کلسیم فسفات و کاهش میزان اکتاکلسیم فسفات، آپاتیت و فسفر محبوس در هر سه

## References

- Ahmed W., Jing H., Kaillou L., Qaswar M., Khan M.N., Jin C., Geng S., Qinghai H., Yiren L., Guangrong L., and Mei, S. 2019. Changes in phosphorus fractions associated with soil chemical properties under long-term organic and inorganic fertilization in paddy soils of southern China. *PloS One*, 14(5).
- Akintokun A. K., Akande G.A., Akintokun P.O., Popoola T. O. S. and Babalola A. O. 2007. Solubilization of insoluble phosphate by organic acid-producing fungi isolated from Nigerian soil. *International Journal of Soil Science*, 2(4): 301–307.
- Bakhtaryfar M. 2019. Isolation and identification of non-rhizobial nodules endophytic bacteria and investigation of their traits related to plant growth promotion. M.Sc. dissertation, Shahid Chamran University of Ahvaz. (In Persian)
- Bhuyan S.K., Bandyopadhyay P., Kumar P., Mishra D.K., Prasad R., Kumari A., Upadhyaya K.C., Varma A. and Yadava, P.K. 2015. Interaction of *Piriformospora indica* with *Azotobacter chroococcum*. *Scientific Reports*, 5: 13911.
- Cabugao K.G., Timm C.M., Carrell A.A., Childs J., Lu T.Y.S., Pelletier D.A., Weston D.J. and Norby, R.J. 2017. Root and rhizosphere bacterial phosphatase activity varies with tree species and soil phosphorus availability in Puerto Rico tropical forest. *Frontiers in Plant Science*, 8: 1834.
- Chapman H.D., and Pratt P.E. 1982. Methods of analysis for soil plants and waters. University of California publ. No. 4034. Berkely.
- Chen Z., Ma S., and Liu L.L. 2008. Studies on phosphorus solubilizing activity of a strain of phosphobacteria isolated from chestnut type soil in China. *Bioresource Technology*, 99: 6702–6707.
- Della Monica I.F., Godoy M. S., Godeas A.M., and Scervino, J.M. 2018. Fungal extracellular phosphatases: their role in P cycling under different pH and P sources availability. *Journal of Applied Microbiology*, 124(1): 155–165
- Deubel, A., and Merbach, W. 2005. Influence of microorganisms on phosphorus bioavailability in soils. In *Microorganisms in soils: roles in genesis and functions*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 177-191.

- Franken P. 2012. The plant strengthening root endophyte *Piriformospora indica*: potential application and the biology behind. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 96: 1455–1464
- Gaind S. 2016. Phosphate dissolving fungi: mechanism and application in alleviation of salt stress in wheat. *Microbiological Research*, 193: 94-102.
- Gee G.W., and Bauder J.W. 2002. Particle size analysis. In: Jacob H. D., and Clarke G. (Eds.), *Methods of Soil Analysis, Part 4, Physical Methods*, SSSA. Madison, WI, pp. 201-214.
- Hedley M. J., Stewart J. W. B., and Chauhan, B. 1982. Changes in inorganic and organic soil phosphorus fractions induced by cultivation practices and by laboratory incubations 1. *Soil Science Society of America Journal*, 46(5): 970-976.
- Hinsinger P. 2001. Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: a review. *Plant and Soil*, 237: 173–195.
- Hofman J., Bezchlebová J., Dušek L., Doležal L., Holoubek I., Anděl P., and Malý, S. 2003. Novel approach to monitoring of the soil biological quality. *Environment International*, 28(8): 771-778.
- Imas P., Bar-Yosef B., Kafkafi U., and Ganmore-Neumann R. 1997. Phosphate induced carboxylate and proton release by tomato roots. *Plant and Soil*, 191(1):35-39.
- Jenkinson D. S., Powlson D.S. 1976. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil-V: A method for measuring soil biomass. *Soil Biology and Biochemistry*, 8(3): 209-213.
- Jiang B., and Gu Y. 1989. A suggested fractionation scheme of inorganic phosphorus in calcareous soils. *Fertilizer Research*, 20(3): 159-165.
- Jones D.L., and Oburger E. 2011. Solubilization of phosphorus by soil microorganisms. In *Phosphorus in action*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 169-198.
- Joseph, S., Jisha M.S. 2009. Buffering reduces phosphate solubilizing ability of selected strains of bacteria. *World Journal of Agricultural Sciences*, 5(1): 135-137.
- Kalayu G. 2019. Phosphate solubilizing microorganisms: Promising approach as biofertilizers. *International Journal of Agronomy*, 1-7
- Khan A., Jilani V., Akhtar M. S., Naqvi S. M. S., and Rasheed M. 2009. Phosphorus solubilizing bacteria: occurrence, mechanisms and their role in crop production, *Journal of Agricultural and Biological Science*, 1: 48–58.
- Khan K.S., and Joergensen R.G. 2009. Changes in microbial biomass and P fractions in biogenic household waste compost amended with inorganic P fertilizers. *Bioresource Technology*, 100(1):303-309.
- Kunito T., Hiruta N., Miyagishi Y., Sumi H., and Moro, H. 2018. Changes in phosphorus fractions caused by increased microbial activity in forest soil in a short-term incubation study. *Chemical Speciation and Bioavailability*, 30(1): 9-13.
- Li C., Li Q., Wang Z., Ji G., Zhao H., Gao F., Su M., Jiao J., Li Z., Li H. 2019. Environmental fungi and bacteria facilitate lecithin decomposition and the transformation of phosphorus to apatite. *Scientific Reports*, 9(1):1-8.
- Mandal A., Patra A.K., Singh D., Swarup A., Mastro R.E. 2007. Effect of long-term application of manure and fertilizer on biological and biochemical activities in soil during crop development stages. *Bioresource Technology*, 98: 3585-3592.
- Mehboob I., Naveed M., and Zahir Z.A. 2009. Rhizobial association with non-legumes: mechanisms and applications. *Critical Reviews in Plant Science*, 28(6): 432-456.
- Moradi N., and Rasouli Sadaghiani M. 2019. Effect of phosphate solubilizing bacteria (PSB) on distribution of phosphorus forms in a calcareous soil. *Applied Soil Research*, 7(2): 67-81. (In Persian)
- Mumtaz M.Z., Ahmad M., Jamil M., and Hussain T. 2017. Zinc solubilizing *Bacillus* spp. potential candidates for biofortification in maize. *Microbiological Research*, 202: 51-60.

- Nannipieri P., Giagnoni L., Landi L., and Renella G. 2011. Role of phosphatase enzymes in soil. *Soil Biology*, 26: 215–243.
- Ngwene B., Boukail S., Söllner L., Franken P., and Andrade-Linares D.R. 2016. Phosphate utilization by the fungal root endophyte *Piriformospora indica*. *Plant and Soil*, 405(1-2): 231-241.
- 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. 939. U.S. Gov. Print office, Washington, DC.
- Osono T., Azuma J. I., and Hirose D. 2014. Plant species effect on the decomposition and chemical changes of leaf litter in grassland and pine and oak forest soils. *Plant and Soil*, 376(1-2): 411-421.
- Page A.L., Miller R.H., and Keeney D.R. 1982. Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and microbiological methods. Agronomy and Soil Science Society of America. Pub. Madison, WI. U.S.A.
- Rayment, G.E., Higginson F.R. 1992. Oxalate – extractable Fe and Al. In Australian Laboratory Hand book of soil and water chemical methods. *In kata press*, 22: 137-151.
- Reed S.C., Townsend A.R., Taylor P.G., and Cleveland C.C. 2010. Phosphorus cycling in tropical forests growing on highly weathered soils. In: E. Buenemann E., Oberson A., and Frossard E. (Eds.). *Soil Biology 26: Phosphorus in Action Biological Processes in Soil Phosphorus Cycling: Springer, Berlin*, p. 339-369.
- Safirzadeh S., Chorom M., and Enayatizamir N. 2019. Effect of phosphate solubilizing bacteria on phosphorus release kinetic in rhizosphere of sugarcane and correlation with various source of phosphorus. *Applied Soil Research*, 7(2): 168-181.
- Sakurai M., Wasaki J., Tomizawa Y., Shinano T., and Osaki M. 2008. Analysis of bacterial communities on alkaline phosphatase genes in soil supplied with organic matter. *Soil science and plant nutrition*, 54(1): 62-71.
- Samavati M., and Hosseinpur A.R. 2011. Fractions and availability in some calcareous soils in Hamedan province. *Journal of Water and Soil Science*, 15 (55): 127-138. (In Persian)
- Scervino J.M., Mesa M.P., Mónica I.D., Recchi M., Moreno N.S., and Godeas A. 2010. Soil fungal isolates produce different organic acid patterns involved in phosphate salts solubilization. *Biology and Fertility of Soils*, 46: 755–763.
- Shi X.K., Ma J.J., and Liu, L.J. 2017. Effects of phosphate-solubilizing bacteria application on soil phosphorus availability in coal mining subsidence area in Shanxi. *Journal of Plant Interactions*, 12: 137–142.
- Stewart J.W.B., and Tiessen H. 1987. Dynamics of soil organic phosphorus. *Biogeochemistry*, 4: 41–60.
- Swethan S., and Padmavathi T. 2016. Study of acid phosphatase in solubilization of inorganic phosphates by *Piriformospora indica*. *Polish Journal of Microbiology*, 65(4): 407-412.
- Tabatabai M. A., and Bremner J. M. 1969. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biology and Biochemistry*, 1(4): 301-307.
- Tarafdar J.C., and Jungk A. 1987. Phosphatase activity in the rhizosphere and its relation to the depletion of soil organic phosphorus. *Biology and Fertility of Soils*, 3: 199–204.
- Toro M., Azcon R., and Barea J. 1997. Improvement of arbuscular mycorrhiza development by inoculation of soil with phosphate-solubilizing rhizobacteria to improve rock phosphate bioavailability ((sup32) P) and nutrient cycling. *Applied Environmental Microbiology*, 63(11): 4408-4412.
- Villegas J., and Fortin J. A. 2002. Phosphorus solubilization and pH changes as a result of the interactions between soil bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on a medium containing NO<sup>3</sup> as nitrogen source. *Canadian Journal of Botany*, 571–576

- Villegas J., and Fortin J. A. 2011. Phosphorus solubilization and pH changes as a result of the interaction between soil bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on a medium containing NH<sub>4</sub> as nitrogen source. *Canadian Journal of Botany*, 79: 865–870
- 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 American Journal*, 79: 459-465.
- Walpole B.C., and Yoon M.H., 2012. Prospectus of phosphate solubilizing microorganisms and phosphorus availability in agricultural soils: A review. *African Journal of Microbiology Research*, 6(37): 6600-6605.
- Whipps J.M. (1990). Carbon economy. In *The Rhizosphere*, Edited by: Lynch, JM. 59 West Sussex: Wiley and Son.
- Wu M., Wei Q., Xu L., Li H., Oelmüller R., and Zhang W. 2018. *Piriformospora indica* enhances phosphorus absorption by stimulating acid phosphatase activities and organic acid accumulation in *Brassica napus*. *Plant and Soil*, 432(1-2): 333-344.
- Yadav H., Fatima R., Sharma A., Mathur S. 2017. Enhancement of applicability of rock phosphate in alkaline soils by organic compost. *Applied Soil Ecology*, 113: 80-85.
- Yadav V., Kumar M., Deep D.K., Kumar H., Sharma R., Tripathi T., Tuteja N., Saxena A.K., and Johri A.K. 2010. A phosphate transporter from the root endophytic fungus *Piriformospora indica* plays a role in phosphate transport to the host plant. *Journal of Biological Chemistry*, 285: 26532–26544.
- Zhang H., and Kovar J.L. 2000. Phosphorus fractionation. In: Pierzynski, G. E (Ed). *Methods of Phosphorus Analysis for Soil, Sediments, Residues and Waters*; Southern Cooperative Series Bulletin No. 369, NCSU: Raleigh, NC, PP. 50-59.

## Impact of Phosphate Solubilizing Microorganisms on Mineral and Organic Forms of Phosphorus and its Availability in Soil under Maize (*Zea mays* L.) Cultivation

Forouzan Rezaeinasab<sup>1</sup>, Naeimeh Enayatizamir<sup>2\*</sup>, Roya Zalaghi<sup>3</sup>, Neda Moradi<sup>3</sup>

(Received: May 2020

Accepted: September 2020)

### Abstract

The present study was performed in order to investigate the effect of plant growth promoting microorganisms on distribution of phosphorus forms in a calcareous soil under maize (*Zea mays* L.) cultivation and to evaluate these forms relationship with soil microbial characteristics. The experiment was carried out as a completely randomized design including control (without microbial inoculation), soil inoculation with *Staphylococcus hominis* and *Brevundimonas* sp., *Piriformospora indica* and mixture of fungus and bacteria treatments at five replications under greenhouse conditions. Maize seeds were planted in 3 kg pots and different forms of mineral and organic phosphorus, some microbial characteristics (microbial biomass carbon and phosphorus and phosphatase activity) and the phosphorus uptake in the plant were measured after three months of cultivation. The results illustrated the influence of microbial inoculation on mineral and organic forms of phosphorus as well as phosphorus uptake in the plant. The decreasing order of phosphorus mineral components was as Ca<sub>10</sub>-P > Ca<sub>8</sub>-P > Ca<sub>2</sub>-P > Al-P > Olsen-P > Fe-P > OCC-P in the control soil and this trend obtained as Ca<sub>10</sub>-P > Ca<sub>2</sub>-P > Olsen-P > Al-P > Ca<sub>8</sub>-P > Fe-P > OCC-P in the soil containing a mixture of microbes. Available phosphorus components, including Olson-P, dicalcium phosphate, and relatively stable and unstable organic phosphorus had positive and significant correlation with phosphorus uptake by the plant. There was a positive correlation between extracted Olsen-phosphorus and microbial phosphorus and carbon biomass, and alkaline phosphatase activity. In general, the results showed the positive influence of microbial inoculation, especially fungal and bacterial mixture, on the enhancement of phosphorus availability for the plant. The highest values of extracted phosphorus by Olsen method and phosphorus uptake by plant were found at 34.02 mg kg<sup>-1</sup> and 11.52 mg pot<sup>-1</sup>, respectively, in the mixture of fungi and bacteria treatment with significant difference ( $p \leq 0.05$ ) compared to other treatments.

**Keywords:** Dicalcium phosphate, Inoculation, Microbial biomass phosphorus, Organic phosphorus, Phosphatase.

Rezaeinasab F., Enayatizamir N., Zalaghi R. and Moradi N. 2021. Impact of phosphate dissolution microorganisms on mineral and organic forms of soil phosphorus and its availability under maize cultivation (*Zea mays* L.). *Applied Soil Research*, 9(1): 102-116.

1. Former MSc Student, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz

2. Associate Professor, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz

3. Assistant Professor, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz

\* Corresponding Author Email: [n.enayatizamir@scu.ac.ir](mailto:n.enayatizamir@scu.ac.ir)