اثر ریزوسفر گندم بر فراهمی فسفر و برخی از ویژگی‌های زیستی در خاک‌های تیمار شده با لجن فاضلاب شهری

طاهره رئیسی[1] و علیرضا حسین‌پور

دانشجوی سابق دکتری گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد؛ taraiesi@gmail.com

استاد گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد؛ hosseinpur-a@agr.sku.ac.ir

دریافت: 92/4/30 و پذیرش: 93/5/21

چکیده

شرایط شیمیایی و زیستی خاک‌های ریزوسفری متفاوت از خاک غیرریزوسفری می‌باشد. اطلاعات در مورد قابلیت استفاده فسفر در خاک‌های ریزوسفری تیمار شده با لجن فاضلاب شهری محدود می‌باشد. این پژوهش با هدف ارزیابی اثرات ریزوسفر گندم بر فسفر قابل استفاده و بعضی از ویژگی‌های زیستی در 10 خاک آهکی تیمار شده با لجن فاضلاب شهری در ریزوباکس اجرا شد. کربن آلی محلول (DOC)، کربن زیست توده میکروبی (MBC)، فسفر زیست توده میکروبی (MBP) و کسر متابولیکی (qCO_2) در خاک‌های ریزوسفری و غیرریزوسفری تعیین گردید. هم‌چنین، فسفر قابل استفاده با روش‌های عصاره‌گیری اولسن، کلرید کلسیم 0/01 مولار، مهلیچ I و بری II که مکانیسم‌های استخراج متفاوتی داشتند تعیین شد. نتایج نشان داد که در خاک‌های ریزوسفر نسبت به خاک‌های غیرریزوسفری DOC، MBC و MBP افزایش و qCO_2 کاهش یافتند. همچنین، مقدار فسفر استخراجی با روش‌های مختلف عصاره‌گیری در خاک‌های ریزوسفر کمتر از خاک‌های غیرریزوسفری بود. نتایج مطالعات همبستگی نشان داد که ماده خشک بخش هوایی گندم با فسفر عصاره‌گیری شده توسط روش‌های مهلیچ I و اولسن به‌ترتیب در خاک‌های ریزوسفری و غیرریزوسفری همبستگی معنی‌داری داشت. بنابراین، روش‌های عصاره‌گیری مهلیچ I و اولسن می‌توانند برآوردی مناسب از فسفر قابل استفاده گندم به‌ترتیب در خاک‌های ریزوسفری و غیرریزوسفری مورد مطالعه داشته باشند.

واژه های کلیدی: عصاره‌گیرهای شیمیایی، کربن آلی محلول، کسر متابولیکی، کربن و فسفر زیست توده میکروبی

---

[1]. نویسنده مسئول: آدرس: شهرکرد، کیلومتر 2 جاده سامان دانشگاه شهرکرد، دانشکده کشاورزی، گروه علوم خاک.

مقدمه

ریشه گیاه به طور مستقیم از طریق فعالیت خود یا به طور غیر مستقیم از طریق تحریک جمعیت و فعالیت ریزجانداران می‌تواند، شرایط شیمیایی و زیستی متفاوتی در سطح خود نسبت به توده خاک ایجاد کند (هینسینگر، 1998). گونه‌های گیاهی اغلب مکانیسم‌های سازگاری مختلفی را برای کسب عناصر غذایی از جمله فسفر از مخازن خاک به کار می‌گیرند. فسفر یکی از مهمترین عناصر غذایی است که نقش کلیدی در تولید دانه و وزن ماده خشک محصولات زراعی دارد. با توجه به مقدار اندک فسفر در فاز محلول (طبق گزارش ملکوتی و همائی (1383) مقدار فسفر محلول در بیش از 50 درصد خاک‌ها کمتر از 0/6 میلی‌گرم بر لیتر است)، فسفر به زمین‌های تحت کشت به صورت کودهای شیمیایی یا کودهای آلی افزوده می‌شود. یکی از منابع آلی حاوی مقادیر ارزشمند فسفر، پسماندهای آلی نظیر لجن فاضلاب می‌باشند.

کاربرد لجن فاضلاب در مقادیر کم از نقطه نظر تغذیه گیاه، اکولوژیکی و اقتصادی مهم است. ولی این نیازمند بررسی دقیق فسفر باقیمانده قابل دسترس گیاه در خاک تیمار شده با لجن فاضلاب است. طبق گزارش سیدیکیو و رابینسون (2003) شاخص جذب فسفر به دنبال کاربرد لجن فاضلاب کاهش و قابلیت دسترسی فسفر به دنبال افزودن کود آلی و شیمیایی به خاک‌های مطالعه شده افزایش یافت. طی دهه‌های گذشته مطالعاتی نیز در ارتباط با آزمون‌های شیمیایی فسفر باقیمانده در خاک‌های تیمار شده با منابع آلی انجام شده است (اتیا و مالارینو، 2002؛ کاویجالی و تیین، 2003 و پگلیاری و همکاران، 2010). بررسی منابع نشان می‌دهد خصوصیا ت خاک، ترکیب کود آلی و فرایندهای ریزوسفری بر قابلیت دسترسی فسفر به دنبال کاربرد کودهای آلی مؤثر هستند (والدریپ و همکاران، 2011).

تاکنون درک کاملی از اثر متقابل میان ریشه گیاه، کود های آلی حاوی فسفر و حلالیت فسفر به دلیل وجود روابط پیچیده بین این ترکیبات حاصل نشده است. در خاک‌های آهکی دینامیک فسفر عمدتاً توسط کربنات کلسیم کنترل می‌شود. علاوه بر این، فسفر زیست توده میکروبی هم می‌تواند منبع مهمی برای گیاهان باشد. در ریزوسفر، گیاهان و ریزجانداران برای جذب فسفر متحرک شده رقابت می‌کنند (مارشنر و همکاران، 2007). بنابراین، زیست توده میکروبی نقشی کلیدی در چرخه‌ی عناصر غذایی و تغذیه معدنی گیاهان ایفا می‌کند. کوونو و همکاران (2002) گزارش کردند که سرعت تجزیه فسفر زیست توده میکروبی از سرعت تجزیه کربن زیست توده میکروبی سریعتر است. بنابراین، فسفر زیست توده میکروبی می‌تواند منبع مهمی در تأمین فسفر مورد نیاز گیاه باشد. در گذشته رابطه قوی بین شاخص‌های گیاهی و زیست توده میکروبی یا بین فسفر استخراج شده توسط عصاره‌گیرهای مختلف و زیست توده میکروبی گزارش شده است (مارشنر و همکاران، 2005، مارشنر و همکاران، 2007 و رز و همکاران، 2010). به طور کلی ریشه گیاه با جذب یا آزادسازی عنصر غذایی از محیط احاطه‌کننده ریشه منجربه تخلیه و یا تجمع و در نتیجه ایجاد تغییر در غلظت عنصر از جمله فسفر در اطراف خود می‌شود (نوروزمان و همکاران، 2006، مارشنر و همکاران، 2007 و لی و همکاران، 2008).

بنابراین، قابلیت دسترسی فسفر برای گیاه به سازوکارهای مختلف جذب فسفر از ریزوسفر توسط گیاه بستگی دارد. تعداد زیادی از آزمون‌های شیمیایی شامل روش اولسن (راجاپاکشا و راناسینگه، 2002، نوروزمان و همکاران، 2006، ونگ و همکاران، 2008 و زو و همکاران، 2009)، فسفر قابل استخراج با رزین (زویسا و همکاران، 1999 و لی و همکاران، 2008)، محلول‌های نمک رقیق (نوروزمان و همکاران، 2006، بالیک و همکاران، 2007 و رز و همکاران، 2010)، روش مهلیچ I و روش بری I (راجاپاکشا و راناسینگه، 2007 و نیسواتی و همکاران، 2008) برای ارزیابی فسفر قابل دسترس گیاه در خاک‌های ریزوسفری استفاده شده‌اند. بنابراین، ترکیبی از فرایندهای زیستی (معدنی شدن- آلی شدن) و شیمیایی (جذب- واجذبی و انحلال- رسوب) کنترل کننده چرخه و قابلیت دسترسی فسفر در خاک می‌باشد. با وجود تحقیقات فراوان صورت گرفته پیرامون فسفر قابل استفاده و ویژگی‌های زیستی، تاکنون در زمینه تأثیر ریزوسفر گندم بر این ویژگی‌ها در خاک‌های آهکی تیمار شده با لجن فاضلاب مطالعه‌ای انجام نگرفته است.

بنابراین، این تحقیق با هدف بررسی اثر ریزوسفرگندم بر فسفر عصاره‌گیری شده توسط برخی از عصاره‌گیرهای شیمیایی، کربن آلی محلول، فسفر و کربن زیست توده میکروبی و بررسی همبستگی بین فسفر استخراجی توسط روش‌های عصاره گیری با مکانیسم استخراج متفاوت در خاک‌های ریزوسفری و غیرریزوسفری با شاخص‌های رشد گیاه با استفاده از ریزوباکس در خاک‌های تیمار شده با لجن فاضلاب شهری انجام شد.

مواد و روش‌ها

برای انجام این پژوهش 30 نمونه خاک از نقاط مختلف زمین‌های زراعی دشت شهرکرد از عمق صفر تا

30 سانتیمتری جمع‌آوری شدند. پس از هوا خشک کردن و عبور از الک 2 میلی‌متری، 10 نمونه خاک بر اساس مقادیر درصد رس، کربنات کلسیم معادل و فسفر قابل استفاده (اولسن و سامرز، 1982) بر اساس ضریب تغییرات و اینکه خاک‌های منتخب دامنه وسیعی از لحاظ ویژگی‌های بررسی شده را به خود اختصاص دهند، انتخاب شدند. سپس برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی از جمله پ. هاش در سوسپانسیون 2 به 1 محلول به خاک (توماس، 1996)، قابلیت هدایت الکتریکی در عصاره‌های صاف شده با نسبت 2 به 1 محلول به خاک (روادز، 1996)، کربنات کلسیم معادل خاک به روش تیتراسیون برگشتی با هیدروکسید سدیم (لوپرت و اسپارکس، 1996)، درصد کربن آلی خاک به روش اکسیداسیون تر (نلسون و سامرز، 1996)، گنجایش تبادل کاتیونی به روش استات سدیم یک مولار در pH=8/2 (سامنر و میلر، 1996) و بافت خاک به روش هیدرومتر (جی، 1996) تعیین شد.

جهت انجام این پژوهش از لجن فاضلاب شهری از تصفیه‌خانه فاضلاب شهرکرد استفاده شد. لجن فاضلاب، هوا خشک شد و از الک 0/5 میلیمتری عبور داده شد و پاره‌ای ویژگی‌های لجن فاضلاب مورد استفاده ازجمله پ-هاش، قابلیت هدایت الکتریکی، کربن آلی، هم‌چنین، فسفر قابل استفاده به روش اولسن (اولسن و سامرز، 1982)، فسفر کل به روش کو (1996)، فسفرآلی به روش سوزاندن (کو، 1996)، نیتروژن کل به روش کجلدال (برمنر، 1996)، روی، مس، کادمیوم، نیکل و سرب کل (اسپوزیتو، 1982) اندازه‌گیری شدند.

به منظور مطالعه اثر ریزوسفر گندم، یک آزمایش گلخانه‌ای به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در 10 نوع خاک و در سه تکرار انجام و پس از برداشت گیاه، خاک‌های ریزوسفری و غیرریزوسفری جدا شد. برای مطالعه ریزوسفر گندم از ریزوباکس استفاده شد. ابعاد ریزوباکس 160×132×180 میلی‌متر (ارتفاع× عرض × طول) در نظر گرفته شد. ریزوباکس به سه بخش، شامل بخش مرکزی (ریزوسفر) (طول 32 میلی‌متر؛ یوسف و چینو، 1988) و بخش غیرریزوسفری (به طول 50 میلی-متر در دو طرف خاک ریزوسفری؛ یوسف و چینو، 1988) تقسیم شد. دو قسمت خاک غیرریزوسفری (توده خاک) از بخش خاک ریزوسفری توسط یک پوشش نایلونی با اندازه منافذ معین (24 میکرومتر) به گونه ای که به ریشه-ها اجازه نفوذ به بخش غیرریزوسفری را ندهد، جدا شدند. بخش ریزوسفری و بخش‌های غیرریزوسفری به ترتیب با 900 و 3100 گرم خاک هوا خشک پر شدند. به منظور تیمار خاک‌ها با لجن فاضلاب، معادل یک درصد وزنی (W/W) لجن فاضلاب عبور داده شده از الک نیم میلی‌متری به خاک‌ها اضافه و اختلاط لجن فاضلاب و خاک بوسیله مخلوط کردن با یک اسپاتولا انجام شد. رطوبت خاک‌ها به حد ظرفیت مزرعه رسانده و یک ماه پس از اعمال تیمارها، خاک‌ها به ریزوباکس‌ها منتقل شدند. برای کشت گیاه، بذرهای گندم (*Triticum aestivum* L.) رقم بک‌کراس روشن پس از ضدعفونی با هیپوکلریت سدیم (با غلظت 5 درصد و به مدت 3 دقیقه) به تعداد شش بذر در قسمت مرکزی ریزوباکس‌ها کشت شدند. در پایان هفته اول تعداد بوته‌ها در هرریزوباکس به چهار عدد کاهش یافت. در طول مدت رشد، مراقبت‌های لازم انجام گردید.

بخش هوایی و ریشه گیاهان 8 هفته بعد از کاشت برداشت شدند. بخش‌های هوایی گیاهان با آب مقطر شسته شده و به مدت 72 ساعت در دمای 65 درجه سلسیوس خشک و وزن خشک اندام هوایی و ریشه تعیین شد. نمونه‌های خشک شده در آون (بخش هوایی) به روش خاکستر خشک هضم (کالرا، 1998) و مقدار فسفر موجود در نمونه‌های هضم شده به روش رنگ-سنجی مورفی و رایلی (1960) تعیین شد. هم‌چنین، ریزوباکس‌ها در پایان هفته هشتم باز شدند و از هر ریزوباکس دو نمونه خاک، یکی از بخش ریزوسفر و دیگری از بخش توده‌ی خاک (خاک غیرریزوسفری) برداشت شد. این دو نمونه خاک در هر ریزوباکس به ترتیب معرف خاک ریزوسفری و خاک غیرریزوسفری بودند. مقداری از خاک‌های ریزوسفری و غیرریزوسفری هر ریزوباکس در یخچال در دمای 4 درجه سانتیگراد به منظور اندازه‌گیری کربن آلی محلول (DOC)، فسفر و کربن زیست توده میکروبی (MBP و MBC) نگه‌داری شدند. باقیمانده خاک ریزوباکس‌ها هوا خشک شد و برای اندازه‌گیری قابلیت استفاده فسفر، استفاده گردید.

کربن آلی محلول در خاک‌های ریزوسفری و غیرریزوسفری به روش اکسیداسیون تر (نلسون و سامرز، 1996)، MBC به روش جنکینسون و پائولسون (1976) و MBP به روش بروکس و همکاران (1982) اندازه‌گیری شدند. برای محاسبه کسر متابولیکی (qCO_2) از تقسیم میزان تنفس پایه نمونه‌های تدخین نشده طی 10 روز انکوباسیون بر کربن زیست توده میکروبی استفاده شد (دایلی و مانچ، 1996). همچنین برای بررسی قابلیت استفاده فسفر برای گندم، فسفر با روش‌های اولسن، کلرید کلسیم 0/01مولار، مهلیچ I، و بریII (کو، 1996) از خاک‌های ریزوسفری و غیرریزوسفری عصاره‌گیری شد.

غلظت فسفر نمونه‌ها به روش رنگ سنجی مورفی و رایلی (1960) تعیین شدند. در نهایت اثر ریزوسفر و نوع خاک بر قابلیت استفاده فسفر، DOC، qCO_2، MBP و MBC توسط تجزیه واریانس دو طرفه و اثر نوع خاک بر شاخص‌های گیاه توسط آنالیز واریانس یک طرفه با استفاده از نرم‌افزار STATISTICA نسخه 10 بررسی شد. معنی‌دار بودن تفاوت‌ها توسط آزمون حداقل اختلافات معنی‌دار (LSD) و در سطح احتمال 5 درصد مورد سنجش قرار گرفت.

نتایج و بحث

نتایج برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مطالعه شده در جدول 1 آورده شده است. همانگونه که مشاهده می‌شود، دامنه مقدار رس و سیلت در خاک‌های مورد مطالعه به ترتیب از 13/3 تا 55 و از 25 تا 56 درصد، دامنه کربنات کلسیم معادل از 162 تا 475 گرم بر کیلوگرم خاک و مقدار کربن آلی از 3/1 تا 13/9 گرم بر کیلوگرم خاک می‌باشد. خاک‌های مورد مطالعه قلیایی (دامنه پ. هاش از 7/9 تا 8/1) و غیرشور (دامنه هدایت الکتریکی از 0/26 تا 0/61 دسی‌زیمنس بر متر) بودند. بنابراین، می‌توان گفت خاک‌های بررسی شده دارای دامنه وسیعی از نظر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی مطالعه شده می‌باشند.

جدول 1- برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی اولیه خاک‌های مطالعه شده

خاک	واکنش خاک[1]	هدایت الکتریکی	گنجایش تبادل کاتیونی	سیلت	رس	کربنات کلسیم معادل	کربن آلی	فسفر اولسن
		دسی‌زیمنس بر متر	سانتی‌مول بر کیلوگرم خاک	درصد		گرم بر کیلوگرم	میلی‌گرم بر کیلوگرم	
1	8/0	0/36	14/2	35	37	421	3/1	24/7
2	8/0	0/38	23/7	40	48	162	5/0	15/9
3	8/0	0/46	10/3	33	25	410	4/3	17/5
4	8/0	0/42	12/4	56	49	475	4/1	19/1
5	8/0	0/46	29/4	43	52	388	5/4	18/1
6	7/9	0/59	33/3	30	55	267	8/4	22/4
7	8/1	0/36	16/3	44	37	325	5/1	40/1
8	8/1	0/59	25/9	39	49	266	13/9	32/0
9	8/0	0/61	18/9	47	37	210	10/4	71/9
10	8/0	0/26	10/3	25	13	190	7/0	16/8
ضریب تغییرات (%)	0/71	26	34	24	33	35	50	62

[1]- سوسپانسیون 2 به 1 محلول به خاک

لجن فاضلاب مورد استفاده داری pH کمی قلیایی (7/5) و شوری نسبتاً زیادی (2/25 دسی‌زیمنس بر متر) بود. مقدار کربن آلی این ترکیب حدود 20 درصد بود که می‌تواند اثر مطلوبی بر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک داشته باشد. مقدار نیتروژن کل، فسفرکل و فسفر قابل استفاده این منبع آلی به ترتیب 5/7، 1/85 و 0/08 درصد بود. همچنین مقدار روی و مس کل لجن فاضلاب به ترتیب 1321 و 78 میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. بنابراین انتظار می‌رود این منبع آلی حداقل بخشی از نیاز گیاه به این عناصر کم نیاز را تأمین کند. مقدار کل کادمیوم، نیکل و سرب موجود در این منبع آلی به ترتیب 73، 78 و 583 میلی‌گرم بر کیلوگرم بود.

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر نوع خاک، نوع محیط (ریزوسفر و یا غیرریزوسفری) و اثر متقابل نوع خاک و محیط بر کلیه ویژگی‌های زیستی مطالعه شده، معنی‌دار بود. اثر فعالیت ریشه بر DOC، MBC، MBP و qCO_2 در جدول 2 آورده شده است. همانگونه که مشاهده می‌شود، دامنه تغییرات کربن زیست‌توده میکروبی در خاک‌های ریزوسفری از 93 (خاک 1) تا 363 (خاک 9) و در خاک‌های غیرریزوسفری از 71 (خاک 1) تا 279 (خاک 9) میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک بود. مقدار

MBC در خاک‌های ریزوسفر بیشتر از خاک‌های غیرریزوسفری بود ($P\leq0/01$). هم‌چنین، دامنه تغییرات فسفر زیست‌توده میکروبی در خاک‌های ریزوسفری از 9 (خاک 4) تا 49 (خاک 9) و در خاک‌های غیرریزوسفری از 4 (خاک 4) تا 46 (خاک 9) میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک بود. مقدار MBP نیز در خاک‌های ریزوسفر بیشتر از خاک‌های غیرریزوسفری بود ($P\leq0/01$). دامنه تغییرات کربن آلی محلول در خاک‌های ریزوسفری از 56 (خاک 10) تا 479 (خاک 5) و در خاک‌های غیرریزوسفری از 45 (خاک 10) تا 245 (خاک 5) میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. ریزوسفر گندم منجربه افزایش معنی‌دار DOC گردید ($P\leq0/01$). به طور کلی، ورودی کربن آلی توسط ریشه‌ی گیاهان در حال رشد به خاک به دو بخش کربنی که توسط جمعیت ریز جانداران هتروترف معدنی می‌شود و کربنی که در خاک به صورت بقایای ریشه و سلول‌های میکروبی و متابولیت‌های آنها باقی می‌ماند، تقسیم می‌شود (هلال و سائوربک، 1989). لیکن، هیووانگ و اسچائنائو (1998) گزارش کردند که DOC در خاک‌های معدنی عمدتاً حاصل فعالیت ریشه می‌باشد. به علاوه، برخی پژوهشگران عنوان نمودند که DOC، شاخصی از قابلیت دسترسی کربن برای ریزجانداران می‌باشد (بویر و گرافمن، 1996). در مطالعه حاضر، DOC در خاک‌های ریزوسفر گندم در مقایسه با خاک غیرریزوسفری افزایش یافت. هم‌چنین نتایج نشان داد که کسر متابولیکی (qCO_2)، در خاک‌های ریزوسفر کمتر از خاک‌های غیرریزوسفری بود. نسبت دی‌اکسیدکربن متصاعد شده به زیست توده میکروبی، qCO_2، شاخصی از کارایی استفاده از سوبسترا توسط ریزجانداران می‌باشد (آندرسون و دامسچ، 1990). با افزایش qCO_2 قسمت اعظم سوبسترا معدنی و از طریق فعالیت و تنفس ریزجانداران خارج می‌شود. به عبارت دیگر، هر چه qCO_2 بزرگتر باشد بدین معناست که سهم اختصاص یافته منبع انرژی به آنابولیسم (ساخت) ریزجانداران از کاتابولیسم (سوخت) کمتر می‌باشد. دو فرضیه برای توجیه تفاوت در مقدار کسر متابولیکی در خاک‌های ریزوسفر و غیرریزوسفری پیشنهاد می‌شود: فرضیه اول، میزان کسر متابولیکی کمتر نشان دهنده سطح پایین‌تر استرس در جامعه میکروبی در خاک-های ریزوسفری است؛ و فرضیه دوم، کسر متابولیکی کمتر نشان دهنده تغییر در جامعه میکروبی است و افزایش جمعیت قارچ‌ها می‌باشد (ایزلام و ویل، 2000).

جدول 2- اثر نوع خاک و ریزوسفر گندم بر کربن و فسفر زیست توده میکروبی، کربن آلی محلول و کسر متابولیکی در خاک‌های تیمار شده با لجن فاضلاب شهری

خاک	DOC		MBC		MBP		qCO_2
							میکروگرم دی‌اکسید کربن بر میلی‌گرم زیست‌توده در روز
	غیرریزوسفر	ریزوسفر	غیرریزوسفر	ریزوسفر	غیرریزوسفر	ریزوسفر	غیرریزوسفر	ریزوسفر
1	161	192	71	93	19	20	311	232
2	125	189	110	148	19	18	230	191
3	222	313	81	102	16	21	408	296
4	215	272	73	219	4	9	275	113
5	245	479	165	291	14	14	117	122
6	65	164	131	252	7	15	156	147
7	225	300	94	200	14	16	187	168
8	82	105	163	238	43	36	168	167
9	136	303	279	363	46	49	152	114
10	45	56	197	233	10	18	170	150
میانگین	152	237	137	214	19	22	217	170
	LSD	F	LSD	F	LSD	F	LSD	F
محیط	27	39**	9/6	264**	1/7	8/2**	13	54**
خاک	61	19**	21	91**	3/8	93**	29	48**
محیط×خاک	87	2/6*	30	9/6**	5/4	2/7*	41	7/1**

** و * به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال 99 درصد و 95 درصد

هر کدام از داده‌های ارائه شده در جدول میانگین سه تکرار هستند

qCO_2: کسر متابولیکی؛ DOC کربن آلی محلول؛ MBC: کربن زیست‌توده میکروبی؛ MBP: فسفر زیست‌توده میکروبی

تأثیر مثبت ریزوسفر بر ویژگی‌های زیستی خاک توسط محققان گزارش شده است (چنگ و همکاران، 1996، دنرگارد و مگید، 2001، هلال و سائوربک، 1984، مارشنر و همکاران، 2005 و زائو و همکاران، 2010). مارشنر و همکاران (2005) گزارش کردند که ریزوسفر گندم منجر به افزایش معنی‌دار MBP در خاک‌های با دامنه نسبتاً وسیعی از پ-هاش (4/4 تا 8/7) گردید. چنگ و همکاران (1996) گزارش کردند که غلظت کربن محلول در آب در خاک‌های ریزوسفری ذرت نسبت به خاک‌های غیرریزوسفری بالاتر بود. همچین افزایش MBC تشخیص داده شده در خاک‌های ریزوسفری این تحقیق در توافق با نتایج گزارش شده توسط محققان دیگر در خاک‌های ریزوسفری ذرت (هلال و سائوربک، 1984) و چاودار (دنرگارد و مگید، 2001) بود. بعلاوه، زائو و همکاران (2010) مقدار MBC و کربن آلی محلول بیشتری در خاک‌های ریزوسفر سه درخت بومی چین نسبت به خاک‌های غیرریزوسفری مشاهده کردند.

به طور کلی، در مطالعه حاضر مقادیر pH در خاک‌های ریزوسفری متفاوت از خاک‌های غیرریزوسفری نبود (داده‌ها نشان داده نشده است). هم‌چنین، بررسی نتایج نشان داد که خصوصیات زیستی مورد مطالعه (MBC، MBP و DOC) در خاک‌های ریزوسفری نسبت به خاک‌های غیرریزوسفری متفاوت بود و ریزوسفر گندم سبب افزایش DOC، MBC، MBP در خاک‌های مطالعه شده گردید. لیکن در واقع فسفر زیست توده میکروبی می‌تواند از طریق رقابت با گیاهان برای جذب فسفر مخزن مهمی برای فسفر محلول خاک و یا از طریق تأمین بخشی از فسفر مورد نیاز گیاه منبع مهمی از فسفر باشد. مازاد براین، تولیدات حاصل از تخریب میکروبی و ترشحات آلی گیاه از قبیل DOC می‌توانند منجر به واجذبی فسفر جذب سطحی شده، گشته و همچنین، می‌توانند حلالیت فسفر غیرقابل دسترس گیاه را افزایش داده و از این طریق منجربه افزایش فسفر قابل استفاده گردند. بنابراین، همان‌طور که خصوصیات زیستی تحت تأثیر ریزوسفر قرار گرفته، احتمالاً خصوصیات شیمیایی خاک نیز تحت‌تأثیر محیط ریزوسفر قرار می‌گیرند.

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر نوع خاک، نوع محیط (ریزوسفر و یا غیرریزوسفری) و اثر متقابل نوع خاک و محیط بر فسفر استخراجی با روش‌های اولسن، کلرید کلسیم 0/01 مولار، مهلیچ I و بری II معنی‌دار بود. مقدار فسفر عصاره‌گیری شده با روش‌های مختلف در جدول 3 آورده شده است. همانگونه که در این جدول مشاهده می‌شود، فسفر استخراج شده با روش‌های شیمیایی ذکر شده عمدتاً در خاک‌های ریزوسفری نسبت به خاک غیرریزوسفری کاهش یافته است. دامنه تغییر مقدار فسفر استخراجی با روش اولسن در خاک‌های ریزوسفری از 25 (خاک 6 و 10) تا 60 (خاک 9) و در خاک‌های غیرریزوسفری از 31 (خاک 3 و 10) تا 67 (خاک 9) میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. نتایج نشان داد که ریزوسفر گندم منجربه تخلیه معنی‌دار فسفر اولسن شد ($P\leq 0/01$). بررسی نتایج نشان داد که مقدار فسفر قابل استفاده اولیه خاک 9 نسبت به سایر خاک‌های مطالعه شده بیشتر و همچنین این خاک از درصد سیلت بالایی (45 درصد) نیز برخوردار بود. در واقع ممکن است در خاک 9 کربنات کلسیم در اندازه سیلت وجود داشته و یا در بخش سیلت این خاک کانی‌های وجود داشته باشد که توانسته‌اند فسفر را به صورت جذب سطحی نگه داشته و این فسفر طی عصاره‌گیری آزاد شده است. دامنه درصد کاهش فسفر استخراجی با روش اولسن از 0 تا 25 درصد بود. دامنه تغییر مقدار فسفر استخراجی با روش کلرید کلسیم 0/01 مولار در خاک‌های ریزوسفری از 0/7 تا 4/6 و در خاک‌های غیرریزوسفری از 0/8 تا 5/5 میلی‌گرم بر کیلوگرم یافت شد.

درصد کاهش فسفر استخراجی با کلرید کلسیم 0/01 مولار از 9 تا 44 درصد متغییر بود. هم‌چنین، دامنه مقادیر فسفر استخراجی با عصاره‌گیر مهلیچ I از خاک‌های ریزوسفری از1/5 تا 20/8 و در خاک‌های غیرریزوسفری از 1/8 تا 4/ 26میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. دامنه درصد تغییر فسفر استخراجی با روش مهلیچ I از 12 تا 35 درصدبود. دامنه تغییر فسفر استخراجی به روش بری II در خاک‌های ریزوسفری از 0/2 تا 131 و در خاک‌های غیرریزوسفری از 1/2 تا 158 متغیر بود. دامنه درصد کاهش فسفر استخراجی با روش بریII از 3 تا 80 درصد متغییر بود. متوسط مقدار فسفر استخراجی با عصاره‌گیرهای مختلف به ترتیب، بری II> >اولسن> > مهلیچ I> کلریدکلسیم 0/01 مولارکاهش یافت (جدول 3). مقدار فسفر استخراج شده توسط روش‌های مختلف عصاره‌گیری در یک خاک متفاوت بود. به طور کلی در عصاره‌گیری فسفر از خاک از روش‌های حل شدن در اسید، تشکیل کمپلکس با کاتیون‌های در ارتباط با فسفر، رسوب و هیدرولیز کاتیون‌های در ارتباط با فسفر استفاده می‌شود (فیکسن و گراو، 1990).

جدول 3- اثر نوع خاک، ریزوسفر گندم و اثرات متقابل آنها بر مقدار فسفر استخراجی (میلی‌گرم بر کیلوگرم) توسط روش‌های مختلف عصاره‌گیری در خاک‌های تیمار شده با لجن فاضلاب شهری

خاک	بری II			مهلیچ I			کلرید کلسیم 0/01 مولار			اولسن		
	غیرریزوسفر	ریزوسفر	درصد تغییر	غیرریزوسفر	ریزوسفر	درصد تغییر	غیرریزوسفر	ریزوسفر	درصد تغییر	غیرریزوسفر	ریزوسفر	درصد تغییر
1	64	62	-3	3/5	3/0	-13	1/9	1/7	-9	35	32	-9
2	57	43	-24	2/1	1/6	-25	1/6	1/0	-38	33	28	-15
3	3	1	-60	8/8	5/8	-34	2/0	1/8	-11	31	27	-14
4	1/2	0/2	-80	3/4	2/5	-26	1/0	1/1	7	40	33	-17
5	62	46	-26	1/8	1/5	-17	1/2	0/8	-34	37	31	-17
6	108	78	-28	5/3	4/6	-12	1/5	1/2	-25	33	25	-25
7	158	131	-17	26/4	20/8	-21	3/2	1/8	-44	45	41	-8
8	1/6	0/3	-80	2/6	3/1	20	0/8	0/7	-13	41	41	0
9	132	118	-10	15/0	10/8	-28	5/5	4/6	-17	67	60	-11
10	5	2	-56	3/1	2/0	-35	1/3	1/1	-15	31	25	-17
میانگین	56	45		7/2	5/6		2/0	1/6		39	34	
	LSD	F		LSD	F		LSD	F		LSD	F	
محیط	2/4	73**		0/39	68**		0/13	44**		0/91	122**	
خاک	5/5	785**		0/87	524**		0/30	147**		2/0	224**	
محیط x خاک	7/7	7/69**		1/2	10/6**		0/42	4/56**		2/9	2/85*	

** و * به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال 99 درصد و 95 درصد هر کدام از داده‌های ارائه شده در جدول میانگین سه تکرار هستند.

روش‌های عصاره‌گیری مورد استفاده در این مطالعه را بر اساس روش استخراج فسفر می‌توان در چهار گروه قرار داد. گروه اول شامل: روش عصاره‌گیری اولسن است. گروه دوم شامل: روش عصاره‌گیری بری II می‌باشد. گروه سوم شامل روش مهلیچ I است و گروه چهارم عصاره‌گیر کلرید کلسیم 0/01 مولار را در بر می‌گیرد. استخراج فسفر در گروه اول بر اساس تشکیل کمپلکس با کاتیون‌های در ارتباط با فسفر و هیدرولیز این کاتیون‌ها می‌باشد. عصاره‌گیرهای موجود در گروه دوم بر اساس تشکیل کمپلکس با کاتیون‌های در ارتباط با فسفر و هم‌چنین حل شدن در اسید، فسفر را استخراج می‌کنند. استخراج فسفر در گروه سوم بر اساس حل شدن در اسید می‌باشد و فسفر عصاره‌گیری شده با کلرید کلسیم 0/01 مولار (گروه چهارم)، فسفر محلول می‌باشد. مقدار فسفر استخراجی با روش‌های عصاره‌گیری مختلف در خاک‌های ریزوسفر کمتر از خاک‌های غیرریزوسفری بود. متوسط درصد کاهش فسفر استخراجی با عصاره‌گیرهای مختلف در ریزوسفر به ترتیب، صورت بری II> کلرید کلسیم > مهلیچ I> اولسن کاهش یافت. تخلیه ریزوسفر از فسفر قابل استفاده به دلیل جذب این عنصر توسط ریشه و ریزجانداران می‌باشد. تخلیه فسفر قابل استخراج با رزین (مارشنر و همکاران، 2005) و فسفر قابل استخراج با بی‌کربنات سدیم (نوروزمان و همکاران، 2006، ونگ و همکاران، 2008 و زو و همکاران، 2009) در سطح ریشه گندم نسبت به نواحی دورتر از ریشه گزارش شده است. نوروزمان و همکاران (2006) به بررسی تخلیه فسفر قابل استفاده (فسفر معدنی محلول در بی‌کربنات سدیم و فسفر محلول در آب) در خاک‌ها با فاصله 1 تا 6 میلی‌متری از سطح ریشه سه نوع گیاه لگوم و یک گندم پرداختند. بررسی نتایج نشان داد که حداقل فسفر قابل استفاده در فاصله چند میلی‌متر از سطح ریشه، صرف نظر از گونه گیاهی مشاهده شد. رز و همکاران (2010) گزارش کردند که فسفر محلول در آب در ریزوسفر گندم، کلزا، خلر و باقالا نسبت به خاک غیرریزوسفری کاهش یافت. نیسواتی و همکاران (2008) گزارش کردند که فسفرقابل استخراج با روش بری I تحت تأثیر سن و فاصله از سطح ریشه ذرت بود. همچنین این محققین گزارش کردند که فسفر قابل استفاده در خاک ریزوسفری ذرت نسبت به غیرریزوسفری بالاتر بود. بالیک و همکاران (2007) گزارش کردند که فسفر محلول در آب تا فاصله دو میلیمتری از سطح ریشه گیاه گندم در خاک‌های تیمار شده با لجن فاضلاب، کود دامی و خاک‌های تیمار نشده کاهش یافت.

نتایج مطالعه همبستگی بین فسفر استخراجی توسط چهار روش عصاره‌گیری فسفر و فسفر زیست‌توده میکروبی در خاک‌های ریزوسفری و غیریزوسفری در جدول 4 آورده شده است. فسفر زیست‌توده میکروبی همبستگی معنی‌داری با هیچ یک از روش‌های عصاره-گیری مطالعه شده در خاک‌های ریزوسفری و غیریزوسفری تیمار شده با لجن فاضلاب شهری نداشت. هم‌چنین، نتایج مطالعه همبستگی نشان داد که فسفر استخراجی به روش اولسن همبستگی معنی‌داری با فسفر استخراجی توسط روش مهلیچ I در خاک‌های ریزوسفری داشت. مازاد براین، فسفر استخراجی با روش مهلیچ I همبستگی معنی‌داری با فسفر استخراجی به روش‌های بری II و کلرید کلسیم 0/01 مولار در خاک‌های ریزوسفری و غیریزوسفری داشت. فسفر استخراجی با روش بری II همبستگی معنی‌داری با فسفر استخراجی با روش‌های مهلیچ I و کلرید کلسیم 0/01 مولار داشت. فسفر استخراجی با روش کلرید کلسیم 0/01 مولار همبستگی معنی‌داری با فسفر استخراجی با روش مهلیچ I و بری II داشت. هالفورد (1980) به بررسی همبستگی بین چهار روش آزمون خاک فسفر (اولسن، کالول، بری I و بری II) پرداخت. او گزارش کرد که همبستگی بالا بین دو آزمون خاک تنها زمانی قابل انتظار است که آزمون‌ها از درجه حساسیت مشابهی به ظرفیت بافری برخوردار باشند. به عبارت دیگر، احتمال وجود همبستگی بین مقادیر فسفر استخراج شده توسط عصاره‌گیرها که از سازوکارهای مختلف استخراج برخوردار هستند، در دامنه وسیعی از خاک‌ها ضعیف است.

جدول 4- ضرایب همبستگی بین چهار روش عصاره‌گیری فسفر، MBP در خاک‌های مورد آزمایش (n= 30)

		2	3	4	5
1- اولسن	ریزوسفر	0/40*	0/21	0/19	0/29
	غیرریزوسفر	0/29	0/31	0/22	0/33
2- مهلیچI	ریزوسفر	-	0/52**	0/72**	0/34
	غیرریزوسفر		0/54**	0/69**	-0/04
3- بریII	ریزوسفر		-	0/59**	0/08
	غیرریزوسفر			0/70**	0/17
4- کلرید کلسیم 0/01 مولار	ریزوسفر			-	0/25
	غیرریزوسفر				0/29
5- فسفر زیست توده میکروبی	ریزوسفر				-
	غیرریزوسفر				

** و * به ترتیب معنی‌دار در سطح اطمینان 99 و 95 درصد

وزن ماده خشک، غلظت فسفر و فسفر جذب شده توسط بخش هوایی گندم در ده خاک مورد مطالعه در جدول 5 آورده شده است. کمترین و بیشترین جذب فسفر توسط گندم به ترتیب در خاک 1 (9/7 میلی‌گرم در ریزوباکس)؛ و خاک 9 (33/5 میلی‌گرم در ریزوباکس) بود. هم‌چنین کمترین وزن ماده خشک و غلظت فسفر در بخش هوایی گندم در خاک 10 مشاهده شد و بیشترین وزن ماده خشک و غلظت فسفر در بخش هوایی گندم مربوط به خاک 9 بود. نتایج نشان داد که تمامی شاخص‌های کمی وکیفی مورد مطالعه گیاه گندم، به طور معنی‌داری تحت‌تأثیر نوع خاک قرار گرفته است (جدول 5).

ضرایب همبستگی شاخص‌های رشد گیاه گندم با فسفر استخراجی توسط چهار روش عصاره‌گیری فسفر و با MBP در خاک‌های ریزوسفری و غیریزوسفری در جدول 6 آورده شده است. غلظت فسفر در گندم همبستگی معنی‌داری با فسفر استخراجی با روش کلرید کلسیم 0/01 مولار، مهلیچ I و بری II در خاک‌های ریزوسفری وغیریزوسفری داشت. وزن ماده خشک بخش هوایی گندم نیز همبستگی معنی‌داری با فسفر استخراجی با روش مهلیچ I در خاک‌های ریزوسفری و با فسفر استخراجی با روش اولسن در خاک‌های غیریزوسفری داشت. همچنین، فسفر جذب شده توسط بخش هوایی گندم همبستگی معنی‌داری با فسفر استخراجی با روش‌های مهلیچ I، بری II و اولسن در خاک‌های ریزوسفری و غیریزوسفری و با فسفر استخراجی با روش کلرید کلسیم 0/01 مولار در خاک‌های غیریزوسفری داشت. نتایج همبستگی نشان داد که درجه همبستگی شاخص‌های گندم با فسفر استخراجی

توسط روش‌های مختلف در خاک‌های ریزوسفری متفاوت از خاک‌های غیرریزوسفری بود.

جدول 5- اثر نوع خاک بر وزن خشک اندام هوایی، غلظت فسفر و جذب فسفر توسط گیاه گندم در خاک‌های تیمار شده با لجن فاضلاب شهری

خاک	غلظت فسفر اندام هوایی میلی‌گرم فسفر بر کیلوگرم	وزن ماده خشک اندام هوایی گرم بر ریزوباکس	جذب فسفر توسط اندام هوایی میلی‌گرم فسفر بر ریزوباکس
1	2353	4/1	9/7
2	2953	4/6	13/5
3	3372	4/7	15/9
4	2661	4/4	11/8
5	3008	5/4	16/3
6	3300	7/3	24/2
7	4578	7/6	30/4
8	2483	7/1	17/6
9	5853	5/7	33/5
10	3104	3/4	10/4
LSD	667	1/3	5/2
F	22**	9/8**	22**

** و * به ترتیب معنی‌دار در سطح اطمینان 99 و 95 درصد

بنابراین اثر متقابل خاک- ریشه در محیط ریزوسفر، شرایط زیستی و شیمیایی متفاوتی را نسبت به خاک‌های غیرریزوسفری ایجاد می‌کند که به دنبال آن قابلیت دسترسی فسفر برای گیاه متفاوت و همبستگی شاخص-های گیاه با ویژگی‌های اندازه‌گیری شده در خاک‌های ریزوسفری متفاوت از خاک غیرریزوسفری خواهد بود. بررسی ضرایب همبستگی نشان داد که ماده خشک بخش هوایی گندم در خاک‌های ریزوسفری و غیرریزوسفری به-ترتیب همبستگی معنی‌داری با فسفر استخراجی با روش اولسن و مهلیچ I نشان داد. بنابراین، با توجه به نتایج همبستگی به نظر می‌رسد در خاک غیرریزوسفری روش استخراجی اولسن برآوردی مناسب از فسفر قابل استفاده گیاه گندم را دارد و اما در خاک ریزوسفری روش مهلیچ I می‌تواند بهتر فسفر قابل استفاده گیاه را برآورد نماید که با توجه شرایط اسیدی تر ریزوسفر (نتایج آورده نشده) و مکانیسم استخراج روش عصاره گیری مهلیچ I توجیه پذیر می‌باشد. در مطالعات قبلی نیز نتایجی مبنی بر وجود همبستگی معنی‌دار بین ماده خشک بخش هوایی گیاه با فسفر استخراجی با روش اولسن و در خاک‌های آهکی و با فسفر استخراجی با روش مهلیچ I () گزارش شده است. دامنه کفایت فسفر برای گندم بهاره در زمان ظهور خوشه 0/50-0/20 درصد (خوشگفتارمنش، 1386) می‌باشد. دامنه فسفر قابل استخراج با روش اولسن در خاک‌های یک ماه خوابانیده شده با لجن فاضلاب شهری از 29/5 (خاک 1) تا 60/2 (خاک 9) میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. طبق تجزیه بخش هوایی گندم، غلظت فسفر در بخش هوایی همه‌ی گیاهان به استثنا گندم‌های رشد یافته در خاک 9 در دامنه کفایت قرار داشت. غلظت فسفر در بخش هوایی گندم رشد یافته در خاک 9 بالاتر از حد کفایت بود و در مرز زیاد بود قرار می‌گرفت. همچنین، نتایج مطالعات همبستگی بین شاخص‌های گیاه و ویژگی-های بیولوژیکی نشان داد که شاخص‌های گندم در خاک-های تیمار نشده همبستگی معنی‌داری با فسفر زیست‌توده میکروبی نداشتند.

طبق گزارش اگبنین و آدنیی (2005) در خاک‌های با قابلیت دسترسی پایین فسفر، سیکل فسفر از طریق فسفر زیست‌توده میکروبی یک مکانیسم حفاظتی فسفر قابل استفاده می‌باشد. بنابراین با توجه به اثر مثبت لجن فاضلاب بر قابلیت استفاده فسفر و تأمین فسفر مورد نیاز گیاه گندم، به نظر می‌رسد در خاک‌های مطالعه شده فسفر زیست‌توده میکروبی در تأمین فسفر مورد نیاز گیاه دخیل نمی‌باشد. اتیا و مالارینو (2002) گزارش کردند که فسفر استخراجی با روش‌های بری I، مهلیچ III و اولسن به‌طور معنی‌داری با جذب فسفر توسط گیاه همبستگی داشتند. کاویجالی و تیین (2003) گزارش کردند که روش عصاره‌گیری بری I قادر به پیش‌بینی جذب فسفر توسط سورگوم در خاک‌های تیمار شده با کود آلی نبود. پگلیاری و همکاران (2010) گزارش کردند که فسفر قابل استخراج با روش بری I مقادیر زیادی از فسفر را در خاک‌های تیمار شده با خاکستر کود آلی استخراج کرد. بر عکس

فسفر استخراجی با روش اولسن شاخص خوبی از فسفر قابل استفاده ذرت است و از همبستگی بالایی با پاسخ ذرت نیز برخوردار بود.

جدول 6- ضرایب همبستگی شاخص‌های گیاه گندم با MBP (میلی‌گرم بر کیلوگرم) و فسفر استخراجی (میلی‌گرم بر کیلوگرم) توسط روش‌های مختلف عصاره‌گیری، در خاک‌های ریزوسفری و غیرریزوسفری تیمار شده با لجن فاضلاب شهری (30 =n)

روش‌های مختلف عصاره‌گیری	محیط	غلظت فسفر ساقه	وزن ماده خشک اندام هوایی	جذب ساقه
اولسن	ریزوسفر	0/15	0/29	0/39*
	غیرریزوسفر	0/27	0/44*	0/53**
مهلیچI	ریزوسفر	0/43*	0/50**	0/61**
	غیرریزوسفر	0/56**	0/26	0/53**
بریII	ریزوسفر	0/57**	0/35	0/60**
	غیرریزوسفر	0/54**	0/32	0/57**
کلرید کلسیم 0/01 مولار	ریزوسفر	0/52**	-0/05	0/30
	غیرریزوسفر	0/62**	0/00	0/39*
خصوصیات زیستی				
فسفر زیست توده میکروبی	ریزوسفر	0/06	0/08	0/14
	غیرریزوسفر	0/09	0/19	0/27

** و * به ترتیب معنی‌دار در سطح اطمینان 99 و 95 درصد

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که DOC، MBC و MBP در خاک‌های ریزوسفر نسبت به خاک‌های غیرریزوسفری افزایش یافتند. هچنین، مقدار فسفر عصاره-گیری شده با روش‌های شیمیایی در خاک‌های ریزوسفری کمتر از خاک‌های غیرریزوسفری بود. متوسط درصد کاهش فسفر استخراجی با عصاره‌گیرهای مختلف در ریزوسفر به ترتیب، بری II> کلرید کلسیم 0/01 مولار> اولسن> مهلیچ I کاهش یافت. با توجه به نتایج همبستگی و مکانیسم استخراج عصاره‌گیرهای مورد مطالعه و به نظر می‌رسد، روش‌های عصاره‌گیری اولسن و مهلیچ I می‌توانند برآوردی مناسب از فسفر قابل استفاده گندم به‌ترتیب در خاک‌های ریزوسفری و غیرریزوسفری داشته باشند.

فهرست منابع:

1. خوشگفتارمنش، ا.ح. 1386. ارزیابی وضعیت تغذیه‌ای گیاه و مدیریت بهینه کودی. مرکز نشر دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان.
2. ملکوتی، م.ج. و م. همائی. 1383. حاصلخیزی خاک‌های مناطق خشک و نیمه خشک: مشکلات و راه‌حل‌ها. مرکز نشر دانشگاه تربیت مدرس، تهران.
3. Agbenin, J.O. and T. Adeniyi. 2005. The microbial biomass properties of a savanna soil under improved grass and legume pastures in northern Nigeria. Agric. Ecosyst. Environ. 109: 245–254.
4. Anderson, T.H. and K.H. Domsch. 1990. Application of eco~ physiological quotients (qCO_2 and qD) on microbial biomasses from soils of different cropping histories. Soil Biol. Biochem. 22: 251-255.
5. Atia, A.M. and A.P. Mallarino. 2002. Agronomic and environmental soil phosphorus testing in soils receiving liquid swine manure. Soil Sci. Soc. Am. J. 66:1696–1705.
6. Balík J., D. Pavlíková, V. Vaněk, M. Kulhánek and B. Kotková. 2007. The influence of long-term sewage sludge application on the activity of phosphatases in the rhizosphere of plants. Plant Soil Environ. 53: 375–381
7. Boyer, J.N. and P.M. Groffmann. 1996. Bioavailability of water-extractable organic

carbon fractions in forest and agricultural soil profiles. Soil Biol. Biochem. 28: 783–790.
8. Bremner, J.M. 1996. Nitrogen-total. In: D.L. Sparks (ed.), Methods of Soil Analysis. Part 3 chemical methods. SSSA, Madison, Wisconsin, USA. pp. 1085-1121.
9. Brookes, P.C., D.S. Powlson and D.S. Jenkinson. 1982. Measurement of microbial biomass phosphorus in soil. Soil Biol. Biochem. 14: 319-329.
10. Cavigelli, M.A. and S.J. Thien. 2003. Phosphorus bioavailability following incorporation of green manure crops. Soil Sci. Soc. Am. J. 67:1186–1194.
11. Cheng, W., Q. Zhang and D.C. Coleman. 1996. Is available carbon limiting microbial respiration in the rhizosphere?. Soil Biol. Biochem. 28: 1283-1288.
12. De Neergaard, A. and J. Magid. 2001. Influence of the rhizosphere on microbial biomass and recently formed organic matter. Eur. J. Soil Sci. 52: 377-384.
13. Dilly, O. and J.C. Munch. 1996. Microbial biomass content, basal respiration and enzyme activities during the course of decomposition of leaf litter in a black alder (*Aluns Glutinosa* (L). Gaertn.) Forest. Soil Biol. Biochem. 28: 1073-1081.
14. Fixen, P.E., and J.H. Grove, 1990. Testing soils for phosphorus. In: R.L. Westerman (ed.), Soil Testing and Plant Analysis. 3rd ed. SSSA, Wisconsin, USA. pp. 141-180.
15. Gee, G.H. and J.W. Bauder. 1986. Particle size analysis. In: A. Klute (ed.), Methods of Soil Analysis. Part 2 physical properties. SSSA, Madison, Wisconsin, USA. pp. 383-409.
16. Helal, H.M. and D. Sauerbeck. 1989. Carbon turnover in the rhizosphere. *Z.* Pflunzenerniihr. Nndenk. 152: 211-216.
17. Helal, H.M. and D. Sauerbeck. 1984. Influence of plant roots on C and P metabolism in soil. Plant Soil. 76: 175-182
18. Hinsinger, P. 1998. How do plant roots acquire mineral nutrients? Chemical processes involved in the rhizosphere. Adv. Agron. 64: 225-26
19. Holford, C.R. 1980. Greenhouse evaluation of four phosphorus soil tests in relation to phosphate buffering and labile phosphate in soils. Soil Sci. Soc. Am. J. 44: 555-559.
20. Huang, W.Z. and J.J. Schoenau. 1998. Fluxes of water-soluble nitrogen and phosphorus in the forest floor and surface mineral soil of a boreal aspen stand. Geoderma. 81:251-264.
21. Islam, K.R. and R. Weil. 2000. Soil quality indicator properties-in mid-Atlantic soils as influenced by conservation management. J. Soil Water Conserv. 55: 169-178.
22. Jenkinson, D.S. and D.S. Powlson. 1976. The effects of biological treatments on metabolism in soil. I. Fumigation with chloroform. Soil Biol. Biochem. 8: 167–177.
23. Kalra, Y.P. 1998. Handbook of reference methods for plant analysis. CRC, London, UK.
24. Kuo, S. 1996. Phosphorus. In: D.L. Sparks (ed.) Methods of Soil Analysis. Part 3 chemical methods. SSSA, Madison, Wisconsin, USA. pp. 869-920.
25. Kouno, K., J. Wu and P.C. Brooks. 2002. Turnover of biomass C and P in soil following incorporation of glucose or ryegrass. Soil Biol. Biochem. 34: 617-622.
26. Li, Y.F., A.C. Luo, X.H. Wei and X.G. Yao. 2008. Changes in phosphorus fractions pH and phosphatase activity in rhizosphere of two rice genotypes. Pedosphere. 18: 785-794.
27. Loeppert, R.H. and D.L. Sparks. 1996. Carbonate and gypsum. In D.L. Sparks (Ed.), Methods of Soil Analysis. Part 3, chemical methods. SSSA, Madison, Wisconsin, USA. pp. 437-474.
28. Marschner, P., Z. Solaiman and Z. Rengel. 2007. *Brassica* genotypes differ in growth, phosphorus uptake and rhizosphere properties under P-limiting conditions. Soil Biol. Biochem. 39: 87-98.
29. Marschner, P., Z.M. Solaiman and Z. Rengel. 2005. Growth phosphorus uptake and rhizosphere microbial community composition of a phosphorus-efficient wheat cultivar in soils differing in pH. J. Plant Nutr. Soil Sc. 168: 343-351.
30. Murphy, J. and J.P. Riley. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. Anal. Chem. Acta. 27: 31-36.
31. Nelson, D.W. and L.E. Sommers. 1996. Total carbon organic carbon and organic matter.

In D.L. Sparks (Ed.), Methods of Soil Analysis. Part 3, chemical methods. SSSA, Madison, Wisconsin, USA. pp. 961-1011.
32. Niswati A., S. Yusnaini and M.A.S. Arif. 2008. Phosphate Solubilizing Microorganism and Available P on the Rhizosphere of Some Ages and Distances from the Center of Maize Roots. Journal of Tanah Tropika. 13: 123-130.
33. Nuruzzaman, M., H. Lambers, M.D.A. Bolland and E.J. Veneklaas. 2006. Distribution of carboxylates and acid phosphatase and depletion of different phosphorus fractions in the rhizosphere of a cereal and three grain legumes. Plant Soil. 281: 109-12.
34. Olsen, S.R. and L.E. Sommers. 1982. Phosphorus. In: A. Klute (ed.) Methods of Soil Analysis. Part1 chemical and biological properties. SSSA, Madison, Wisconsin, USA. pp. 4013-430.
35. Pagliari, P., C. Rosen, J. Strock and M. Russelle. 2010. Phosphorus availability and early corn growth response in soil amended with Turkey manure ash. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 41: 1369-1382.
36. Rajapaksha, R.M.C.P. and S. Ranasinghe. 2007. Arbuscular mycorrhizae associations in exotic vegetables grown on ultisols of Nuwara Eliya. J. Soil Sci. Soc. Sri Lanka. 19:1-9
37. Rhoades, J.D. 1996. Salinity Electrical conductivity and total dissolved solids. In D.L. Sparks (Ed.), Methods of Soil Analysis. Part 3, chemical methods. SSSA, Madison, Wisconsin, USA. pp. 417-437.
38. Rose, T.J., B. Hardiputra and Z. Rengel. 2010. Wheat, canola and grain legume access to soil phosphorus fractions differs in soils with contrasting phosphorus dynamics. Plant Soil. 326: 159–170.
39. Siddique, M.T. and J.S. Robinson. 2004. Differences in phosphorus retention and release in soils amended with animal manures and sewage sludge. Soil Sci. Soc. Am. J. 68:1421–1428.
40. Sposito, G., L.J. Lund and A.C. Chang. 1982. Trace Metal chemistry in aird-zone field soils amended sewage sludge: I. Fractionation of Ni Cu Zn Cd Pb in solid phases. Soil Sci. Soc. Am. J. 46, 260-264.
41. Sumner, M.E. and W.P. Miller. 1996. Cation exchange capacity and exchange coefficient. In: D.L. Sparks (ed.) Methods of Soil Analysis. Part 3 chemical methods. SSSA, Madison, Wisconsin, USA. pp. 1201-1229.
42. Thomas, G.W. 1996. Soil pH and soil acidity. In: D.L. Sparks (Ed.), Methods of Soil Analysis. Part 3 chemical methods. Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin. pp. 475-491.
43. Waldrip, H., M.Z. He and M.S. Erich. 2011. Effects of poultry manure amendment on phosphorus uptake by ryegrass soil phosphorus fractions and phosphatase activity. Biol. Fert. Soils. 47: 407-418.
44. Wang, X., C. Tang, C.N. Guppy and P.W.G. Sale. 2008. Phosphorus acquisition characteristics of cotton (*Gossypium hirsutum L.*) wheat (*Triticum aestivum L.*) and white lupin (*Lupinus albus L.*) under P deficient conditions. Plant Soil. 312: 117–128.
45. Youssef, R.A. and M. Chino. 1988. Development of a new rhizobox system to study the nutrient status in the rhizosphere. Soil Science of Plant Nutrition 34: 461–465.
46. Zhao, Q., D. Zeng and Z. Fan. 2010. Nitrogen and phosphorus transformations in the rhizospheres of three tree species in a nutrient-poor sandy soil. Appl. Soil Ecol. 46: 341–346
47. Zhou, L.L., J. Cao, F.S. Zhang and L. Li. 2009. Rhizosphere acidification of faba bean soybean and maize. Sci. Total Environ. 407: 4356-4362.
48. Zoysa, A.K.N., P. Loganathan and M.J. Hedley. 1999. Phosphorus utilisation efficiency and depletion of phosphate fractions in the rhizosphere of three tea (Camellia sinensis L.) clones. Nutr. Cycl. Agroecosys. 53: 189–201.