# اثر اسیدهای آلی ریشه در قابلیت جذب عناصر غذایی در ریزوسفر

زهرا خادمی،[1*] محمد جعفرملکوتی و دیوی جونز

استادیار پژوهش مؤسسه تحقیقات خاک و آب؛ zr_khademi@yahoo.com

استاد دانشگاه تربیت مدرس؛ mjmalakouti@hotmail.com

استاد خاکشناسی و محیط زیست دانشگاه ولز انگلستان؛ afs080@bangor.ac.uk

## چکیده

**بسیاری از خاکهای ایران در مناطق کشاورزی دارای طبیعت و خصوصیت آهکی و واکنش قلیایی هستند. در بسیاری از مناطق کشور کربنات کلسیم تقریباً 40 درصد از وزن خاکها را تشکیل می‌دهد. pH خاکهای آهکی عمدتاً توسط مقادیر کربنات کلسیم موجود در پروفیل خاک کنترل شده و اغلب بین 8/5-7/5 در نوسان می‌باشد. واکنش کربنات کلسیم در خاکهای آهکی منجر به افزایش pH خاک می شود خصوصاً در مناطقی که میزان بارندگی کم می‌باشد. این واکنشها در افق سطحی خاکهای آهکی حلالیت و جذب بسیاری از عناصر را مانند P، Zn، Mn، Cu و Fe محدوده نموده بعلاوه در رشد گیاه و ریشه هم اختلال ایجاد می کند و در نهایت باعث کاهش عملکرد می‌گردد مگر اینکه مقادیر زیادی کودهای شیمیایی مصرف شود. بنابراین حلالیت و قابلیت جذب اندک عناصر غذایی در خاکهای آهکی توجه بسیاری از دانشمندان علم تغذیه را با توجه به هزینه بالای کودهای شیمیایی، محیط زیست و سلامت جامعه به خود معطوف نموده است. مطالعات بسیاری نشان داده است که در خاکهای آهکی اسیدهای آلی حاصل از ترشحات ریشه گیاه می توانند به عنوان عامل موثر بر استخراج بخش قابل توجهی از عناصر غذایی مورد نیاز گیاه عمل نمایند و راندمان مصرف کود و آب را در این خاکها بهبود ببخشند. هدف اصلی از تهیه این مقاله معرفی اسیدهای آلی و جلب دیدگاههای جامعه علمی کشور به ویژه متخصصین علم تغذیه گیاه و حاصلخیزی خاک به نقش اسیدهای آلی مانند سیترات و اگزالات (که از ترکیبات آلی با وزن مولکولی کم می‌باشند و از ریشه گیاه در ریزوسفر ترشح می‌شوند) در افزایش حلالیت و قابل جذب نمودن عناصر غذایی کم محلول مانند فسفر، آهن، روی و انجام فعالیتهای پژوهشی متخصصین تغذیه گیاهی در این زمینه می‌باشد. در این مقاله تحقیقات انجام گرفته در گذشته و حال در مورد رفتار اسیدهای آلی در گیاه و خاک به صورت خلاصه مورد بررسی قرار گرفته است تا اهمیت و نقش آنها در ریزوسفر ارزیابی شود. ریزوسفر منطقه‌ای از خاک است که بلافاصله ریشه گیاه را احاطه کرده و در اثر فعالیت‌های ریشه و ویژگیهای اکولوژیکی آن تغییر می‌یابد. در این منطقه حساس گیاهان به محیطشان واکنش نشان می‌دهند. در شرایطی که گیاه دارای رشد و نمو معمول می‌باشد، مقدار فراوانی از مواد معدنی و آلی بین ریشه و خاک مبادله می‌گردد که به طور اجتناب‌ناپذیری منجر به تغییراتی در خصوصیات فیزیکی و شیمیایی ریزوسفر می‌شود. گیاهان همچنین در واکنش به محیط و تنش‌های مشخص محیطی قادر هستند در ریزوسفرتغییراتی ایجاد نمایند. اسیدهای آلی معمولاً از این منطقه بدست می‌آیند و ترشح آنها از ریشه‌های گیاه به کمبود عناصر غذایی و تنش‌های محیطی ارتباط پیدا می‌کند. اسیدهای آلی مانند سیترات (citrate)، اگزالات (oxalate) و مالات (malate) در بسیاری از فرآیندهای ریشه شرکت می‌کنند که این فرآیندها شامل استخراج عناصر غذایی، سمیت‌زدایی فلزی، هوازدگی مینرالی و جذب پاتوژن‌ها می‌باشد. البته تا زمانی که مکانیسم رهاسازی اسیدهای آلی و سرنوشت این ترکیبات در خاک کاملاً درک نشود، ارزیابی کامل نقش اسیدهای آلی در فرآیندهای یاد شده مقدور نخواهد بود. بنابراین بررسی حاضر شامل اطلاعاتی در زمینه غلظت و تجمع اسیدهای آلی در گیاهان، واکنش خاک، جذب (sorption) و تجزیه میکروبی (biodegradation) می‌باشد. بطور خلاصه، رهاسازی اسیدهای آلی از ریشه‌ها در پاسخ به تعدادی از تنش‌های محیطی مانند کمبود فسفر و کمبود آهن مشخص شده است که البته نوع گونه گیاهی در این واکنش‌ها نقش مهمتری دارند. از طرفی در این بررسی جذب (sorption) اسیدهای آلی توسط مینرالهای خاک و نیز تجزیه میکروبی آنها نقش بسیار اساسی در کارآیی اسیدهای آلی در فرآیندهای ریزوسفر دارند.**

**واژه های کلیدی:** اسیدهای آلی، ریزوسفر، ترشح ریشه، عناصر غذایی

---

1 - نویسنده مسئول: تهران، خیابان کارگر شمالی-خیابان جلال آل احمد- روبروی بیمارستان شریعتی-مؤسسه تحقیقات خاک و آب، صندوق پستی 14155-6185

* دریافت: 84/4/26 و پذیرش: 85/12/16

**مقدمه**

ریشه گیاهان مقادیر متنوع و قابل توجهی ترکیبات آلی در ریزوسفر خود آزاد می‌سازند. بطور متوسط 60-30 درصد از کربن حاصل از فتوسنتز در ریشه گونه های گیاهی قرار داد که از این کربن، بخش قابل ملاحظه‌ای (70-4 درصد) به عنوان ترکیبات آلی در ریزوسفر رها می‌شود. ریزوسفر بخشی از خاک است که ریشه را احاطه می‌کند. از خصوصیت ریزوسفر در مقایسه با توده خاک، رشد و فعالیت گسترده جامه میکروبی است که معمولاً از ترکیبات کربنه که از ریشه آزاد می‌شوند تغذیه می‌کنند (Lynch، 1990). این ترشحات از صدها ترکیب مختلف تشکیل یافته‌اند که نوع و میزان آنها بوسیله گیاه و محیط اطرافش مشخص می‌شود (Lynch، 1990).

مقدار ترشح ترکیبات آلی معمولاً در انتهای ریشه‌ها بیشتر است در حالیکه تراکم جمعیت میکروبی در انتهای ریشه در مقایسه با سایر قسمتهای ریزوسفر در کمترین مقدار خود می‌باشد (Marschner، 1995؛ Schonwitz و Ziegler، 1982). با فاصله گرفتن از انتهای ریشه، مقدار ترشح معمولاً کاهش می‌یابد، در حالیکه تراکم جمعیت میکروبی افزایش می‌یابد. بنابراین منطقه بیشترین رهاسازی ترشحات ریشه و منطقه بالاترین تراکم جمعیت میکروبی از نظر مکانی متفاوت و جدا از یکدیگر می‌باشند و جدایی این دو منطقه تأثیر بسیار مهمی در کارآیی مکانیسم ترشحات ریشه در قابل جذب نمودن عناصر غذایی خاک دارد.

ترشحات ریشه یکی از قابل دسترس ترین منابع مواد آلی خاک و یکی از تعیین کننده‌ترین فاکتورها در حفظ حاصلخیزی خاک و پایداری ساختمان خاکهای کشاورزی می‌باشد (Marschner و Rengel، 2003). سن و نوع ریشه، وضعیت تغذیه‌ای گیاهان می‌تواند کیفیت و کمیت ترشحات ریشه را به طور معنی داری تغییر دهد (Yangو Crowley، 2000). ترشحات ریشه موادی هستند با انرژی بالا که در افزایش جامعه میکروبی ریزوسفر گیاهان بسیار موثر هستند. ترشحات ریشه علاوه بر منبع غذایی برای جمعیت میکروبی خاک، همچنین نقش ارزنده ای را در رهاسازی عناصر کم محلول مانند فسفر (P) و آهن (Fe) از طریق کمپلکس کردن به عهده دارند (Romheld، 1991؛ Dinkelaker و Marschner، 1992؛ Gerke، 1994؛ Jones و Darrah، 1994ab). به عنوان مثال افزایش مقادیر جذب سطحی اسیدهای آلی مانند سیترات و اگزالات به ذرات خاک منجر به افزایش حلالیت فسفر از طریق تعویض لیگاند و مسدود نمودن مکانهای جذب و محلول سازی مینرالهای دارای فسفر مانند Ca-P، Fe-P و Al-P می شود.

مطالعات آزمایشگاهی نشان داده است که ده دقیقه پس از اضافه نمودن اسیدهای آلی به خاک، 99 درصد و 83 درصد از سیترات به ترتیب جذب سطحی هیدروکسیدهای آهن و آلومینیوم و کائولینیت شده اند، که این منجر به کاهش معنی دار معدنی شدن سیترات در خاک می‌شود.

از میان نقش های مختلف ترشحات ریشه در اکولوژی گیاه، ظرفیت آنها در بهبود قابلیت جذب عناصر پرمصرف و کم مصرف در ریزوسفر بسیار مورد توجه قرار گرفته است (Marschner و همکاران، 1987؛ Jones و Edwards، 1993). به طور ویژه اسیدهای آلی موجود در ترشحات ریشه در حلالیت کاتیون‌هایی که جذب سطحی شده‌اند و نیز رسوب کرده‌اند شرکت دارند.

**ترکیبات آلی با وزن مولکولی کم (LMW) Organic Compounds) Low molecular weight:**

ترکیبات عمده این گروه شامل اسیدهای آلی، قندها، مواد فنولی و فیتوسیدروفورها هستند (Cieslinski و همکاران، 1998). مقدار و نسبت ترکیبات آلی ترشح شده از ریشه با توجه به گونه و ارقام گیاهی متفاوت می‌باشند (Merbach و همکاران، 1999). رها شدن اسیدهای آلی از ریشه گیاهان در ریزوسفر یک بخش عمده از مکانیسم‌های مختلفی است که جذب عناصر غذایی توسط ریشه‌ها را بهبود می بخشد (Marschner، 1986؛ Uren و Reisenauer، 1988). اسیدهای آلی از ترکیبات اصلی ترشحات ریشه و توسط بسیاری از دانشمندان به عنوان مکانیسمی برای افزایش قابلیت جذب عناصر غذایی در ریزوسفر فرض شده است (Gardner و همکاران 1981؛ Hoffland و همکاران 1989؛ Hoffland، 1992؛ Strome و همکاران، 1994؛ Marschner، 1995؛ Strome، 1997).

اسیدهای آلی ترکیباتی با وزن مولکولی کم می‌باشند که شامل حداقل یک گروه کربوکسیل (R-COOH) می‌باشند و بدلیل نقش اصلی که در متابولیسم سلولی دارند در تمام ارگانیسم‌های زنده یافت می‌شوند (Marschner، 1995). اگر چه این تعریف، گروه بزرگی از ترکیبات را با تنوع ساختمانی از اسیدهای چرب و اسیدهای آمینه در بر می‌گیرد، ولی این بررسی عمدتاً بر روی اسیدهای آلی با وزن مولکولی کم مانند سیترات (Citrate)، مالات (Malate)، اگزالات (Oxalate)، فامارات (Famarate) و مالونات (Malonate) تأکید دارد. گروه کربوکسیل باعث ایجاد بار منفی در اسیدهای آلی می‌شوند و بسته به تعداد گروه کربوکسیل، اسیدهای آلی شامل

بارهای منفی متفاوتی می‌باشند و به همین دلیل قادر هستند با کاتیون‌های فلزی محلول تشکیل کمپلکس داده (معادله 1) و یا جایگزین آنیون‌ها در خاک گردند (معادله 2) (Marschner، 1995).

$$Malate^{2-} + ZnSO_4 \rightarrow Zn-malate + SO_4^{2-} \quad (1)$$

$$Citrate^{3-} + FePO_4 \rightarrow Fe-Citrate + PO_4^{3-} \quad (2)$$

بنابراین اسیدهای آلی در بسیاری از فرآیندهای خاک شامل حلالیت و جذب عناصر غذایی سمیت زدایی فلزی به ویژه آلومنیوم (Al) و رشد و تکثیر میکروبی در محیط ریشه شرکت می‌کنند (Jones و همکاران، 1994). اینچنین نقشی برای اسیدهای آلی به مقدار زیادی بستگی به مقدار و نوع اسیدهای آلی رها شده به اضافه خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک دارد. ترشح اسیدهای آلی بوسیله ریشه گیاهان در حال حاضر به عنوان یکی از مکانیسم‌های مهم در افزایش حلالیت نسبی عناصر کم محلول خاک تلقی می‌گردد (Jones و همکاران، 1994).

واکنش‌های شیمیائی اسیدهای آلی در خاک در حد وسیعی به نوع خاک بستگی دارد و می‌توان انتظار داشت که بسته به اثر متقابلی که بین خاک و گیاه وجود دارد متفاوت باشد. عموماً ریشه‌ها شامل انواع زیادی اسیدهای آلی هستند که در طول زنجیره با هم متفاوت هستند. ترکیبات آنیونی اولیه این اسیدها شامل استات، اگزالات، مالات، سیترات، فامارات می‌باشند (Jones و همکاران، 1994 ). مقدار و نوع اسیدهای آلی موجود در گیاهان بستگی به فرآیند تثبیت کربن در گیاه ($C_3$ و$C_4$)، وضعیت تغذیه‌ای و سن گیاه دارد (Jones، 1994). غلظت کل اسیدهای آلی ریشه گیاه معمولاً از 10 تا 20 میلی مولار می‌باشد که 4-1 درصد کل وزن خشک گیاه است (Jones و Darrah، 1996).

جریان‌های اصلی و حوضچه اسیدهای آلی در شکل یک نشان داده شده است. این شکل اساس و پایه بررسی حاضر را نشان می دهد. همانگونه که بیان گردید ترکیبات ترشحات ریشه بسته به نوع گیاه و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی اطراف آن کاملاً متغیر می‌باشد (Jones و همکاران، 1994). اخیراً مکانیسم‌های مختلفی که بر رهاسازی اسیدهای آلی از ریشه گیاهان تأثیر می‌گذارد مورد بررسی مجدد قرار گرفته‌اند (Jones و همکاران، 1994). غلظت اسیدهای آلی موجود در سیتوپلاسم ریشه معمولاً 1000 برابر بزرگتر از غلظت اسیدهای آلی موجود در محلول خاک می‌باشد (Jones و Darrah، 1996). مطالعات زیادی نشان داده است که اسیدهای آلی نقش بسیار مهمی را در از بین بردن تنش‌های تغذیه‌ای ایفا می‌کنند. (Jones و Edward 1998).

بیشتر مطالعات انجام شده در باره نقش اسیدهای آلی در ارتباط با عناصری مانند فسفر، آهن و آلومینیوم انجام شده است و تا بحال غالب این مطالعات با خاکهای اسیدی بوده است (Pohlmand و Recoll، 1986) و تحقیقات کمتری در مورد رفتار اسیدهای آلی در خاکهای آهکی انجام شده است .یک سری از مطالعات نشان داده است که گیاهان مخصوص خاکهای آهکی ( Calcicole plants) یعنی گیاهانی که در خاکهای آهکی خوب رشد می‌کنند هنگامیکه در کشت بدون خاک ( hydroponic culture) رشد داده می‌شوند اسیدهای آلی بیشتری ترشح می‌کنند در مقایسه با گیاهانی که در خاکهای غیر آهکی رشد می‌کنند. (Strome و همکاران، 1994؛Tyler و Strome، 1995؛ Strome، 1997).

**ترشح اسیدهای آلی از گیاهان در خاکهای آهکی و اسیدی**

بیشتر تحقیقات انجام گرفته تا بحال بر روی تأثیر کمبود عناصر غذایی در افزایش رهاسازی اسیدهای آلی از ریشه‌ها صورت گرفته است. گیاهانی که در خاکهای آهکی رشد می‌یابند لازم است که از مکانیسم‌های مختلفی استفاده نمایند تا بتوانند فسفر و آهن و سایر عناصر کم محلول را که از محدودیت‌های اولیه رشد در این قبیل خاکها می‌باشند قابل جذب نمایند. گیاهانی که در خاکهای آهکی رشد می‌کنند (Calcicole plants) ظرفیت بالاتری برای ترشح اسیدهای آلی از ریشه‌هایشان دارند در مقایسه با گیاهانی که در خاکهای اسیدی (Calcifuge plants) رشد می‌کنند (Strome و همکاران، 1994؛ Tyler و Strome، 1995). نوع ترشحاتی که گیاهان در ریزوسفر آزاد می‌سازند نقش مهمی را در توزیع گونه های گیاهی در اکوسیستم ایفا می‌کنند (Strome و همکارن، 1994). گیاهانی که در خاکهای آهکی رشد می‌کنند ( Calcicole plants) عمدتاً اسیدهایی با دو و یا سه گروه کربوکسیل (سیترات، اگزالات و مالات) با ظرفیت بالای محلول‌سازی فسفر، آهن، منگنز ترشح می‌کنند، در حالیکه گیاهانی که در خاکهای اسیدی رشد می‌کنند، عمدتاً اسیدهای با یک گروه کربوکسیل (استات و لاکتات) ترشح می‌کنند که این قبیل اسیدها در محلول سازی فسفر و یا آهن از خاکهای آهکی بسیار ضعیف عمل می‌کنند (Tyler و Strome، 1995؛ Strome، 1997).

**رهاسازی اسیدهای آلی در واکنش به کمبود فسفر قابل جذب در خاک**

قابل جذب بودن فسفر برای گیاه بدلیل حلالیت اندک آن در خاک و نیز به دلیل جذب سطحی آن به ذرات خاک یکی از فاکتورهای اصلی محدود کننده رشد می‌باشد. در شرایط کمبود فسفر، گیاه ممکن است با افزایش ریشه

از طریق تشکیل ریشه های باریک و یا افزایش طول و تراکم ریشه‌های موئین (Fohse و Junk، 1983)، سطح مقطع ریشه را افزایش دهند. بسیاری از گیاهان همچنین آنزیم فسفاتاز از ریشه‌های خود آزاد می‌سازند تا فسفر آلی را در خاک تجزیه و محلول سازند و یا ممکن است همزیستی با قارچهای میکوریز را افزایش دهند (Marschner، 1995). در واکنش به قابلیت جذب اندک فسفر در خاک، ریز جانداران خاک ممکن است راههای مختلفی را برای افزایش جذب فسفر بکار گیرند.

گیاهان و ریز جانداران همچنین ممکن است ترکیبات آلی مانند سیترات، مالات، اگزالات رها سازند که این ترکیبات حلالیت فسفر معدنی خاک را از طریق تعویض لیگاند و تجزیه منیرالهایی که جاذب فسفر هستند افزایش می‌دهند (Banik و Dey، 1983؛ Gerke، 1994؛ Neuman و همکاران، 1999). بنابراین واضح است که گیاه دارای استراتژی های متنوعی برای قابل جذب نمودن فسفر در خاک هستند.

**رهاسازی اسید آلی در واکنش به کمبود سایر عناصر**

افزایش در رهاسازی اسیدهای آلی از ریشه تحت شرایط تنش سایر عناصر مانند کمبود پتاسیم (Kraffczyk و همکاران، 1984) و یا کلاً کمبود عناصر غذایی (Jones و Darrah، 1995) و همچنین در واکنش به مصرف نوع خاصی از منابع نیتروژنی گزارش شده است (Marschner، 1995). همچنین کمبود روی و کلسیم که منجر به افزایش نفوذپذیری غشاء می‌شود، سبب افزایش رهاسازی اسیدهای آلی می‌شوند (Cakmak و Marschner، 1988). گزارشهای مختلفی نشان داده است که افزایش تدریجی مالات و سیترات و اگزالات به محلول کشت بدون خاک می‌تواند سبب افزایش تجمع روی (Zn) گردد (Evans، 1991، Chairidchai و Ritchie، ab 1993).

اطلاعات زیادی دلالت بر وجود مقدار زیادی اسیدهای آلی در محلول خاک دارد (Jones، 1994). مقداری از این اسیدهای آلی از اتمسفر وارد محلول خاک می شود ولی بیشترین مقدار اسیدهای آلی از ترشحات ریشه، مواد آلی پوسیده و یا بر اثر تجزیه میکروبی وارد محلول خاک می‌شود (Jones، 1994)، کودهای آلی مانند کودهای حیوانی همچنین شامل مقدار زیادی اسیدهای آلی می‌باشد (Bolan و همکاران، 1994). به نظر می‌رسد که اسیدهای سیتریک، اگزالیک مهم‌ترین اسیدهای آلی هستند که در فرآیندهای ریزوسفر فعال می‌باشند و این اسیدها نوعاً در محلول خاک در غلظت‌هایی کمتر از غلظت اسیدهای آلی با یک گروه کربوکسیل قابل استخراج هستند. این اسیدها طبیعتاً در شیره ریشه فراوان هستند و این پتانسیل را دارند که در مقادیر زیاد نیز از بعضی گیاهان (*Lupinus albus*) ترشح شوند و عناصری مانند فسفر و آهن را محلول نموده و آنها را برای گیاهان قابل جذب سازند (Gerke، 1994؛ Dinkelakar و همکاران، 1995، Marschner و Romheld، 1996) و یا در بعضی موارد از فلزاتی مانند آلومینیوم (در گندم) سمیت زدایی نمایند.

**ریشه و اسیدهای آلی**

رهاسازی اسیدهای آلی از ریشه‌های گیاه کاملاً به اثبات رسیده است. در بررسی‌های اولیه با استفاده از روش های نیمه کمی مشخص شد که ترکیب ترشحات ریشه متغیر و به گونه، سن و محیط فیزیکوشیمیایی گیاه بستگی دارد (Jones و همکاران،a 1996) امروزه مکانیسم‌هایی که رهاسازی اسیدهای آلی از ریشه را کنترل می‌کنند، مورد بحث فراوان قرار گرفته است. ترکیب و مقدار ترشحات ریشه برحسب گونه‌های گیاهی متفاوت هستند (Jones و همکاران، 1996a؛ Kirk و همکاران، 2002).

**ملاحظات نظری**

از جنبه نظری صرفاً این گونه استنباط می‌شود که همواره ترشح اسیدهای آلی در ریزوسفر گیاه رخ می‌دهد و این براساس حقیقتی است که غلظت اسیدهای آزاد در سیتوسل (جدول 1) در حدود 1000 برابر بزرگتر از آن مقدار است که در محلول خاک وجود دارد (جدول 2، Samuels و همکاران 1992). علاوه بر این شیب بار الکتریکی قابل ملاحظه‌ای در غشاء پلاسمایی وجود دارد (-180 mV) که ناشی از عملیات ATP به عنوان نیروی محرکه (پمپ کردن پروتون $H^+$-ATP) و توان نفوذپذیری $K^+$ سیتوسل است. هنگامیکه یون هیدروژن به وسیله $H^+$-ATP به درون آپوپلاست پمپاژ می‌شود اختلاف باری را ایجاد می‌کند که برداشت کاتیونها از خاک را تسهیل می‌نماید و نیز تمایل به خارج نمودن آنیونها ($citrate^{-3}$ و $malate^{2-}$) به خارج از سلولها و به داخل محلول خاک دارد (Samuels و همکاران، 1992).

**آزمایشهای عملی**

قسمت اعظم مطالعات تجربی مربوط به ترشح اسیدهای آلی از ریشه در محلولهای کشت انجام گرفته است. در محلولهای کشت معمولاً جمع‌آوری اسیدهای آلی ترشح شده و تجزیه این اسیدها آسانتر صورت می‌گیرد (Jones و Darrah، 1996). این روش دارای یک نقطه ضعف اساسی است. اصلی‌ترین انتقاد این است که ریشه‌هایی که در محلولهای کشت رشد می‌کنند از لحاظ فیزیولوژیکی و مرفولوژیکی کاملاً متفاوت از آنهائی هستند که در خاک طبیعی رشد می‌کنند. همچنین شرایط تهویه،

وضعیت میکروبی و تغذیه‌ای هر یک از این محیط‌های کشت با محیط خاک معمولی بسیار متفاوت است، مطمئناً برای ریشه‌هایی که در آب مقطر قرار داده می‌شوند کمبود $Ca^{2+}$ به شدت و به طور اجتناب ناپذیری به غشاء سلولی آسیب می‌رساند که در برخی موارد منتهی به متلاشی شدن سلولهای ریشه و از دست دادن محتوی سلولی به بخش خارجی آن می‌گردد. در آزمایشهای دیگری که قبلاً در مورد اسیدهای آلی ریشه صورت گرفته، ریشه‌هایی که از خاک بیرون کشیده شده و شسته می‌شوند به آزاد شدن اسیدهای آلی از سلولهای آسیب دیده منجر می‌شوند. به علاوه در آزمایشهایی که در محیط‌های غیراستریل انجام شده است. هیچگونه گزارشی در مورد ترشحات ریزجانداران در ریزوسفر ارائه نگردیده است. علی‌رغم تمام محدودیت‌هایی که در این روشها وجود دارد، اینگونه مطالعات مقایسه‌ای ثابت کرده است که اسیدهای آلی نقش بسیار مهمی را در پاسخ گیاهان به تنش‌های تغذیه‌ای ایفا می‌کنند (Jones و همکاران، 1995).

در مورد نتایج بدست آمده از روشهای مختلف برای محاسبه سرعت و میزان ترشح اسیدهای آلی قضاوت‌های متفاوتی ممکن است صورت بگیرد. بعنوان مثال به نظر می‌رسد در بعضی از گونه‌های گیاهی رها شدن اسیدهای آلی به مقدار زیادی منحصر به نوک ریشه باشد (Schwab و همکاران، 1983). چنانچه میزان رهاسازی براساس نوک ریشه محاسبه شده باشد و حتی بهتر از آن، اگر رهاسازی را بتوان کمی کرد، نتایج بسیار دقیق‌تر خواهد بود ولی اگر میزان رهاسازی برای کل وزن ریشه محاسبه و بیان شود، میزان ترشح آزاد شده کمتر از مقدار واقعی تخمین‌زده خواهد شد و اختلافات در نسبت نوک به وزن بین تیمارها به مقدار زیادی نتایج را منحرف خواهد نمود (Delhaize و همکاران، 1983). به همین دلیل غالباً مشکل خواهد بود که بسیاری از مطالعاتی را که در آنها ترشح تلفیقی است از کل سیستم ریشه و در مدت زمان طولانی (بیشتر از 24 ساعت) و جایی که هیچ گزارشی از رشد ریشه داده نشده است، تفسیر نمود (Schwab و همکاران، 1983). مطالعات بیشتری لازم است تا رهاسازی ترشح را در مدت زمان کوتاه‌تری (کمتر از 12 ساعت) اندازه‌گیری نمود و در صورت امکان باید بخشهای مختلف ریشه را از هم جدا کرد بطوریکه مقادیر ترشح را بتوان به صورت دقیق و کمی اندازه‌گیری نمود (جدول 2) (Hoffland و همکاران، 1992؛ Delhaize و همکاران، 1993).

**گیاهان و اسیدهای آلی**

نوعاً، ریشه‌ها دارای اسیدهای آلی بسیاری هستند که در طول زنجیره با هم تفاوت دارند. این اسیدها شامل لاکتات (lactate)، استات (acetate)، اگزالات (oxalate)، ساکسینات (succinate)، فامارات (fumarate)، مالات (malate)، سیترات (citrate)، ایزوسیترات (isocitrate) و اَکونیتات (aconitate) می‌باشند که از آنیونهای اولیه هستند. برای درک کامل و آشنایی بیشتر با مسیرهای بیوسنتز که در تولید این اسیدهای آلی شرکت دارند، می‌توان از Marschner (1995) استفاده نمود. در حالیکه برخی از این اسیدهای آلی مانند سیترات (citrate) و مالات(malate) در تولید انرژی به عنوان واسطه(mediator) چرخه تری‌کوبوکسیل (TCA) شرکت دارند، مابقی مانند مالات (malate)، مالونات (malonate) و اگزالات (oxalate) ابتدا در سلول‌ها برای تعادل بار الکتریکی و یا برای حفظ و نگهداری پتانسیل اسمزی حضور دارند. اسیدهای آلی گیاهان معمولاً توسط سیر فتوسنتز آنها ($C_4$، $C_3$)، وضعیت تغذیه و سن آنها کنترل می‌شوند. خلاصه‌ای از غلظت اسیدهای آلی معمول که در ریشه گیاهان یافت می‌شوند در جدول 3 نشان داده شده است.

معمولاً غلظت کل اسیدهای آلی در ریشه‌ها حدود 20-10 میلی‌مولار (mM) می‌باشد (4-1 درصد کل وزن خشک) که حداقل می‌تواند برای ذرت با دیگر مواد آلی موجود در سلولهای ریشه مانند اسیدهای آمینه (20-10 میلی‌مولار) و قندها (90 میلی‌مولار) قابل مقایسه باشد (Jones و Darrah، 1994a، 1996). توزیع این مواد و تفاوت آنها در یک ریشه منفرد ذرت نشان داده شده است.

یکی از عوامل اولیه در مشخص نمودن میزان اسیدهای آلی در ریشه، میزان عدم تعادل بین کاتیون ـ آنیون می‌باشد. هنگامی که ریشه‌ها مقدار زیادی کاتیون (به ویژه $K^+$) را جذب می‌کنند، بار منفی مورد نیاز برای حفظ تعادل، معمولاً توسط اسیدهای آلی مانند مالات (malate)، مالونات (malonate)، سیترات (citrate) و اکونیتات (aconitate) فراهم می‌شود.

یکی از مشکلات موجود در تغییر غلظت اسیدهای آلی ریشه و تأثیر آن بر اسیدهای آلی خروجی این است که مکان‌های سلولی اسیدهای آلی در ریشه بندرت مورد بررسی قرار گرفته است. واکوئل می‌تواند بخش عظیمی از سلولهای ریشه را اشغال کند که از 15 درصد در کلاهک ریشه تا 90 درصد حجم سلولی یک سانتیمتر دورتر از رأس ریشه متفاوت است (Patel، 1990). اگرچه حوضچه واکوئلی ممکن است بعنوان یک حوضچه ذخیره برای اسیدهای آلی از اهمیت ویژه‌ای

برخوردار باشد، ولی این نسبت غلظت مابین سیتوسل و محلول خاک است که نهایتاً میزان جریان خروجی را تعیین می‌کند. در پاسخ به شیب بار الکتریکی قابل ملاحظه ای که در غشاء پلاسمایی وجود دارد، اسیدهای آلی از میان لایه های لیپیدی به صورت آهسته و غیر فعال انتشار می یابند. با باز شدن کانالهایی که در لایه لیپیدی قرار گرفته‌اند خروجی اسیدهای آلی می توانند افزایش یابند (شکل 3).

غلظت اسیدهای آلی در سیتوسل بایستی دقیقاً کنترل شود تا اینکه نیازهای سینتیک و باز دارنده آنزیم‌های شرکت کننده در متابولیسم سلولی همسان گردد. هنگامیکه تجمع اسیدهای آلی در ریشه‌ها مشاهده می‌شود، این ممکن است نشان‌دهنده افزایش غلظت واکوئلی و یا حجم واکوئلی باشد. این مسئله بوسیله آنالیز جریان و $C^{13}$-NMR Spectroscopy نشان داده است. غلظت واسطه‌های متابولیتی مانند مالات (malate) و سیترات (citrate) در سیتوسل به ندرت بیشتر از 5 mM می‌باشد در حالیکه غلظت در واکوئل می‌تواند تا 15 برابر بیشتر باشد (Roberts و Chang، 1989 و 1991). در مقایسه غلظت اسیدهای آلی براساس طول ریشه با داده‌های خروجی باید کاملاً احتیاط نمود زیرا غلظت متابولیت می‌تواند در طول ریشه متغیر باشد (شکل 3، Chang و Roberts، 1989؛ Jones و Darrah، 1995؛ Stumpf و Burris، 1981). بسیاری از محققین همچنین تلاش نموده‌اند تا افزایش اسیدهای آلی خروجی را با افزایش سطوح آنزیم‌های سنتز کننده اسیدهای آلی ربط دهند. در بعضی موارد ارتباط خوبی مشاهده گردیده در حالیکه در پاره‌ای دیگر هیچگونه ارتباطی مشاهده نشده است (Hoffland، 1992؛ Ryan و همکاران، 1995؛ Johnson و همکاران، ab 1996).

**اسیدهای آلی و کمبود آهن**

از مشخصه خاکهای آهکی کمبود عناصری مانند Fe است که این به دلیل عدم حلالیت این عنصر در pH بالای خاک است (Marschner، 1995). اسیدهای آلی مانند سیترات (citrate) و مالات (malate) از کمپلکس‌کننده‌های قوی آهن در خاک هستند که سبب تجزیه هیدروکسیدهای غیرقابل دسترس و نامحلول فریک می‌شوند (Gerke، 1992؛ Johnson و همکاران، 1996). اخیراً چنین بیان شده است که سیترات (citrate) ممکن است نقش عمده‌ای را در فراهم نمودن آهن برای گیاهان دو لپه ایفا کند (Johnson و همکاران، ab 1996). کمبود آهن سبب تجمع (افزایش 5 برابر) اسیدهای آلی در بافت‌های ریشه و همچنین افزایش بالای (10-5 برابر) $H^+$ و یا تراوش اسید آلی می‌شود. در اثر کمبود آهن، $H^+$-ATPase مانند یک منبع برای خروج $H^+$ عمل می‌کند. در خاکهای آهکی، قدرت اسیدی $H^+$-AT Pases همراه با قدرت کمپلکس کردن سیترات می‌تواند راهی برای افزایش حلالیت Fe در ریزوسفر را فراهم کند (Devos و همکاران، 1986؛ Guerinot و Yi، 1994؛ Landsberg، 1981؛ Ohwaki و Sugahara، 1997).

هنگامیکه کمپلکس سیترات با $Fe^{3+}$ در محلول خاک تشکیل می‌شود، دو لپه‌ایها می‌توانند با استفاده از احیا کننده فریک غشاء پلاسمایی که $Fe^{3+}$ را به $Fe^{2+}$ تبدیل می‌کند و سیترات را رها ساخته و به محلول بر می‌گرداند، به Fe دسترسی پیدا کنند. سپس $Fe^{2+}$ می‌تواند با استفاده از شیب پتانسیل الکترو شیمیایی و احتمالاً در ترکیب با کانال کاتیون دو ظرفیتی به ریشه منتقل شود (شکل 4).

**مراحل شامل**: (1) اسیدی کردن ریزوسفر به وسیله $H^+$-ATPase. (2) رها سازی سیترات (Citrate) از سیتوپلاسم به درون خاک. (3) واکنش سیترات با $Fe(OH)_3$ در خاک و تشکیل کمپلکس سیترات-$Fe^{3+}$. **(4) احیاء کمپلکس** سیترات-$Fe^{3+}$ در سطح غشای پلاسمایی به وسیله احیاء کننده $Fe^{3+}$. (5) رها سازی کلات کننده سیترات و برگرداندن به محلول خاک. (6) جذب $Fe^{2+}$ احیاء شده به درون ریشه توسط کانال کاتیون دو ظرفیتی.

مکانیسمی که موجب می‌شود $Fe^{3+}$ احیاء شده و نیز $Fe^{2+}$ انتقال یابد، معمولاً در اثر کمبود آهن و آنزیم موجود در ریشه تنظیم می‌شود (Wlech و همکاران، 1993). با این حال ماهیت رهاسازی اسیدهای آلی و مکان دقیق آنها در ریشه دو لپه‌ایها در اثر کمبود آهن هنوز شناخته نشده است. هرچند براساس محاسبات ریاضی، پیش‌بینی شده که مقدار رهاسازی اسیدهای آلی از ریشه‌های *Brassica napus*، حتی تحت شرایط عدم کمبود آهن ممکن است برای فراهم نمودن مقدار مورد نیاز گیاه کافی باشد (Jones و همکاران، a 1996).

**اسیدهای آلی و کمبود فسفر**

قابلیت جذب فسفر یکی از محدودیت‌های عمده رشد گیاه است. گیاهان می‌توانند در اثر کمبود فسفر حتی اگر فسفر کل در خاک بیشتر از مقدار مورد نیاز باشد، صدمه ببینند. علت آن مقدار کم فسفر محلول خاک (کمتر از 5 میکرومولار) در مقایسه با مقدار فسفری است که با مینرالهای خاک و یا مکانهای باردار تشکیل پیوند داده و یا به شکلهای آلی وجود دارد که برای گیاه غیرقابل دسترس است (Marschner و همکاران 1995). بنابراین به دلیل حلالیت ضعیف و ظرفیت بالای جذب در خاک، تأمین فسفات می‌تواند یکی از محدودیت‌های اصلی برای رشد گیاه باشد (Marschner، 1995). گیاهان با استفاده از استراتژیهای مختلف می‌توانند بر کمبود فسفر فائق آیند که

این استراتژیها یا کار آئی مصرف فسفر را افزایش می‌دهند و یا به استخراج بیشتر فسفر از خاک کمک می‌نماید (Schachtman و همکاران، 1998). این استراتژیها شامل تغییرات در متابولیسم سلولی و توسعه ریشه، ایجاد همزیستی میکوریز، اسیدی کردن ریزوسفر، (که سبب رهاسازی عناصر غذایی از کانیهای آزاد خاک می‌گردد) و همچنین ترشح فسفاتاز و آنیون‌های آلی است. چند مورد از مزایای وجود آنیون‌های آلی در ریزوسفر در ذیل بیان می‌شود. آنها با گروههای فسفات برای مکانهای جذب در خاک رقابت می‌کنند، و با $Al^{3+}$ و $Fe^{3+}$ و $Ca^{2+}$ کمپلکس‌های قوی‌تر از فسفات تشکیل می‌دهند. در نتیجه فسفر می‌تواند از کانیهای Ca-P در اثر تشکیل کمپلکس آنیونهای آلی با Ca و یا جلوگیری از جذب فسفر به مکانهای جذب دیگر آزاد شود (Jones و Darrah ، 1994 و خادمی و همکاران 2006). ریشه برخی از گیاهان دو لپه و به ویژه گیاهان بدون میکوریز مانند *Lupinus albus* و *Brassica napus* توانایی آزادسازی مقدار زیادی اسیدهای آلی در ریزوسفر را در پاسخ به کمبود فسفر از خود نشان می‌دهند (Gerke، 1994؛ Hoffland و همکاران، 1992؛ Imas و همکاران، a 1997). در حالیکه دیگر دو لپه‌ایها مانند *Sisymbrium officinale* به نظر نمی‌رسد که این ویژگی را از خود نشان دهند (Gerke، 1994؛ Hoffland و همکاران، 1992؛ Imas و همکاران، 1997a؛ Johnson و همکاران، 1996a؛ Laheurte و Berthelin، 1998؛ Lipton و همکاران، 1987؛ Schwab و همکاران، 1983).

به نظر می‌رسد مالات (malate) و سیترات (citrate) اولین اسیدهایی باشند که تحت شرایط کمبود فسفر آزاد می‌شوند. در *Brassica napus* افزایش ترشح اسیدهای آلی به مقدار 4 برابر تا حد زیادی به رأس ریشه اختصاص دارد و مقدار کمتری از بخش‌های دیگر ریشه بالغ آزاد می‌شود (Hoffland، 1992). بنابراین ترشح اسیدهای آلی معمولاً به مکانهای مشخصی از سیستم ریشه اختصاص دارد. گونه‌های دیگر، شکل ریشه‌هایشان را در پاسخ به کمبود فسفر تغییر می‌دهند و ترشح اسید محدود به ساختمان ریشه‌های جدید می‌شود. یک مثال مهم تشکیل ریشه‌های خوشه‌ای مانند (Cluster) است. کلاستر ریشه‌های کوتاه انتهایی هستند که با انبوهی از ریشه‌های موئین پوشیده شده است. این ریشه‌های اختصاصی به گیاه این توانایی را می‌دهند که بتواند به فسفر کم محلول در خاک که برای بیشتر گونه‌های گیاهی غیرقابل دسترس است، دسترسی پیدا کند (Braum و Helmke، 1995؛ Gardner و همکاران، 1981). علاوه بر ترشح مقدار زیادی سیترات و مالات، آنها سطح تماس را برای جذب عناصر غذایی افزایش می‌دهند (Johnson و همکاران، a 1996).

**اسیدهای آلی و کمبود سایر عناصر غذایی**

ترشح اسیدهای آلی در اثر کمبود سایر عناصر غذایی مانند $K^+$ و نیز در پاسخ به نوع منبع نیتروژنی (Imas و همکاران، 1997b) افزایش می‌یابد. به نظر می‌رسد که کمبود $Ca^{2+}$ و $Zn^{2+}$ که نفوذپذیری غشاء را افزایش می‌دهند همچنین باعث افزایش در ترشح اسیدهای آلی می‌شوند (Cakmak و Marschner، 1988). نقش اسیدهای آلی در قابلیت جذب Zn و سایر عناصر ریزمغذی مانند Cu در ریزوسفر نیاز به بررسی و تحقیق بیشتر دارد.

**اسیدهای آلی موجود در محلول خاک**

شواهد بسیاری نشان می‌دهد مقادیر زیاد و قابل توجهی اسیدهای آلی می‌تواند در محلول خاک یافت شود. این اطلاعات اخیراً به دلیل پیشرفتهایی است که در تجزیه و اندازه‌گیری کمی اسیدهای آلی به وجود آمده و جداسازی و اندازه‌گیری آنها را در غلظت‌هایی براساس نانومولار (nM) امکانپذیر می‌سازد (Fan و همکاران، 1997؛ Krzyszowska و همکاران، 1996؛ Shen و همکاران، 1996). البته مقداری از اسیدهای آلی موجود در محلول خاک از طریق آتمسفر به خاک اضافه می‌شود (آب باران در مناطق شهری شامل 500-10 نانومولار استات و فورمات است (Millet و همکاران، 1997). ولی قسمت عمده و غالب اسیدهای آلی موجود در خاک از ترشحات ریشه و مواد مرده گیاهی و نتیجه تجزیه میکروبی است. کودهای آلی (حیوانی) همچنین می‌توانند محتوی مقدار زیادی اسیدهای آلی باشند (Bolan و همکاران، 1994). تمام اسیدهای آلی را که منشاء گیاهی دارند می‌توان در مقادیر قابل توجهی (100-0/1 میلی‌مولار) از محلول خاک جدا نمود. معمولاً غلظت اسیدهای آلی در ریزوسفر در مقایسه با توده خاک بسیار بیشتر است (Krzyszowska و همکاران، 1996؛ Pohlman و همکاران، 1988، Shen و همکاران، 1996).

با توجه به روشهای مختلف اندازه‌گیری، در تفسیر نتایج باید کاملاً احتیاط نمود. روشهای استخراج محلول خاک از طریق سانتریفیوژ کردن مقادیر قابل توجهی از اسیدهای آلی را از ریشه‌های زنده و میکروبها استخراج نمی‌کند. همچنین روشهای استخراج با آب مقطر که برای مدت زمان بیشتر از 10 دقیقه تکان داده می‌شود، منجر به آلودگی ناشی از تخریب سلولهای میکروبی و بقایای گیاهی می‌شود.

**اسیدهای آلی و کمپلکس‌های فلزی در محلول خاک**

اسیدهای آلی قادر هستند در محلول خاک با فلزات تشکیل کمپلکس‌های فلزی بدهند. درجه کمپلکس شدن بستگی به نوع اسید آلی واکنش کننده دارد (تعداد گروههای کربوکسیل)، همچنین به نوع فلز و به pH محلول خاک نیز بستگی دارد. اسیدهای آلی که فقط شامل یک گروه کربوکسیل هستند مانند لاکتات (lactate)، فرمات (formate) و استات (acetate) ، توانایی اندکی در تشکیل کمپلکس‌های فلزی دارند. از ثابت پایداری در جدول 4 می توان مشاهده نمود که مالات (malate)، سیترات (citrate) و اگزالات (oxalate) تمایل بالایی برای فلزات سه ظرفیتی مانند $Al^{3+}$ و $Fe^{3+}$ از خود نشان می‌دهند و این قبیل فلزات هستند که در بیشتر خاکها توسط اسیدهای آلی قابل جذب و یا غیر قابل جذب می‌شوند (Jones و همکاران، 1996؛ Pohlman و همکاران، 1986). هرچند این به آن مفهوم نیست که همیشه کمپلکس‌ها در تمامی pHهای محلول خاک یکسان عمل می‌کنند (Mench و Martin، 1991). به عنوان مثال با استفاده از نرم‌افزار Geochem می‌توان پیش‌بینی نمود که تشکیل کمپلکس Fe با مالات (malate)، سیترات (citrate) و اگزالات (oxalate) به مقدار زیادی به pH محلول خاک بستگی دارد و در pH بالای خاک هیچگونه کمپلکسی تشکیل نشده و یا بسیار اندک خواهد بود (شکل 5، Mench و Martin، 1991). برخلاف سیترات (citrate) و مالات (malate)، اگزالات (oxalate) همچنین این تمایل را دارد که با $Ca^{2+}$ تشکیل رسوب دهد. این مسئله توانایی کمپلکس کردن اسیدهای آلی (اگزالات) را با بعضی از عناصر غذایی کاهش می‌دهد. این عمل در رهاسازی فسفر از کانیهای حاوی کلسیم مانند آپاتیت بسیار مهم است.

**جذب (Sorption) اسیدهای آلی در خاک**

ترشح ریشه به مقدار زیادی غلظت اسیدهای آلی در ریزوسفر را تعیین می‌کند. این خود تحت تأثیر بخش‌های جامد خاک (جذب و رها شدن)، آبشویی (leaching)، تجزیه بوسیله میکروارگانیسم‌های خاک و واکنش‌های کمپلکس شدن و رسوب قرار می‌گیرد (Jones و Brassington، 1998؛ Lunstrom و همکاران، 1995، خادمی و همکاران، 2006). به دلیل بار منفی گروههای کربوکسیل، اسیدهای آلی می‌توانند به سرعت جذب سطح ذرات خاک شوند و این حقیقتی است که همواره نادیده گرفته شده است. جذب اسیدهای آلی بر روی ذرات خاک به نظر می‌رسد به طور وسیعی به نوع خاک و نوع اسید بستگی داشته باشد(Jones و Brassingtion، 1998، خادمی و همکاران، 2006). ولی روند عمومی جذب معمولاً به صورت استات< سولفات < مالات < سیترات < اگزالات < فسفات است (Jones و brassington، 1998؛ Jones و Darrah، 1994b؛ Jones و همکاران، 1996b). همچنین ممکن است تمامی این آنیونها مکانهای جذب یکسان را تقسیم نمایند. مانند سیترات، مالات و اگزالات که به طور کامل قادر هستند فسفر را رها نموده و یا از جذب فسفری که بطور جدید اضافه شده است، جلوگیری نماید. مطالعات سینیتیک هیدروکسید فریک و آلومینیم نشان داده است که جذب اسیدهای آلی به pH بستگی دارد و با کاهش pH جذب افزایش می‌یابد (Jones و Brassington، 1998؛ Karltun، 1998). شدت جذب همچنین به نظر می‌رسد که توسط حضور کاتیونهای موجود در محلول خاک و آنیونهای قابل تعویض سطح خاک کنترل شود (Jones و Brassington، 1998؛ خادمی و همکاران، 2006).

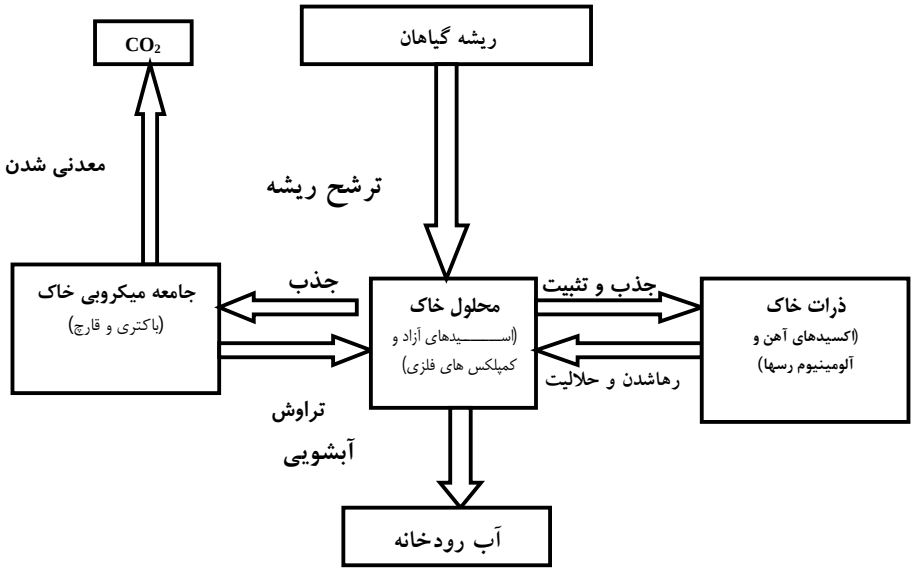
**اسیدهای آلی و جمعیت میکروبی خاک**

تأثیر جمعیت میکروبی خاک بر روی فرآیندهای ریزوسفر که شامل ترشحات ریشه نیز می‌باشد، بطور وسیعی نادیده گرفته شده است. بسیاری از محققین معتقد هستند که رهاسازی اسیدهای آلی محدود به قسمت انتهایی ریشه می‌شود که در این منطقه فعالیت میکروبی اندک است (Marschner، 1995). هرچند در مطالعاتی که از طریق نشان‌دار کردن انجام شده، مشاهده شده است که میکروبها به سرعت در قسمت انتهای ریشه کلنی تشکیل می‌دهند (Bowers و همکاران، 1996؛ Mawdsley و Burns، 1994؛ Wiehe و همکاران، 1994) مطالعات انجام شده بر روی معدنی شدن ترشحات نشان داده است که اضافه نمودن اسیدهای آلی مانند سیترات و مالات در غلظت‌هایی که در ریزوسفر وجود دارد (100-10 ماکرو مولار) به سرعت در منطقه غیر ریزوسفر تجزیه می‌شوند (با متوسط نیمه عمر 3-2 ساعت بسته به نوع خاک) (Jones و Darrah، 1994؛ Jones و همکاران، 1996). معمولاً معدنی شدن اسیدهای آلی در لایه‌های سطحی خاک ( با مواد آلی بالا) در مقایسه با لایه زیرین که (دارای ماده آلی کمتری است) سریعتر بوده و مقادیر معدنی شدن در ریزوسفر 2 تا 3 برابر سریعتر از توده خاک می‌باشد (Jones و همکاران، 1996). میکروبها می‌توانند ترشحات ریشه را مصرف نمایند. آنها همچنین قادر هستند دامنه وسیعی از اسیدهای آلی را خصوصاً در شرایط کمبود مواد غذایی تولید نمایند. رهاسازی مقادیر زیادی اگزالات (oxalate) و وجود کریستال‌های $Ca^{2+}$-oxalate بر روی میسلیوم‌های قارچی در چوب و در خاک به خوبی ثابت شده است (Dutton و Evans، 1996). تحقیقات نیز نشان داده است که مصرف اسیدهای آلی توسط جمعیت

میکروبی خاک به غلظت اسید و زمان واکنش بستگی دارد (Strom، 1997؛ Jones و Brassingtion، 1998، خادمی و همکاران، 2006).

## نتیجه‌گیری

گیاهان با ترشح اسیدهای آلی از ریشه‌های خود به محیطشان به تنش‌های محیطی واکنش نشان می‌دهند. اسیدهای آلی مانند سیترات و اگزالات با تغییر خصوصیات فیزیکوشیمیایی ریزوسفر، غلظت فلزات و آنیون ها را در محلول خاک افزایش داده و قابلیت جذب عناصر را برای گیاهان افزایش می‌دهند. البته این فرآیند بستگی به غلظت اسیدهای آلی در محلول خاک، نوع اسید آلی، فرم یونی، مدت زمان واکنش و نوع خاک دارد. هنگامی که اسیدهای آلی از ریشه ترشح می شوند واکنش های جذب (Sorption) و واجذب (desorption) و رسوب (precipitation) و تجزیه میکروبی (biodegradation) از مکانیسم های عمده ای هستند که در دسترس بودن این اسیدها را در محلول خاک کنترل می‌کنند. با توجه به محدودیت جذب عناصر غذایی در خاکهای آهکی که در نتیجه کاهش رشد گیاه و ریشه و در نهایت کاهش عملکرد را به دنبال خواهد داشت اسیدهای آلی مانند سیترات و اگزالات می‌توانند در فرآیندهای ریزوسفر شرکت نموده و بعنوان یک عامل مفید در قابل جذب نمودن عناصر غذایی برای ریشه گیاه عمل نماید.




**شکل 1- نمایی از جریان‌های اصلی اسیدهای آلی و حوضچه‌ها در خاک**

**جدول 1- اسیدهای آلی موجود در ریشه گیاهان به عنوان واکنشی به وضعیت تغذیه .P+، K+، Fe+ و یا P–، K-، Fe- به ترتیب نشان دهنده مقدار کافی و یا کمبود آن عنصر غذایی است. Al– و Al+ نشان‌دهنده سطح صفر و یا سطوح سمی Al (200-20 ماکرومولار) است. nut + نشاندهنده سطح بالای عنصر غذایی و nut– نشان‌دهنده رویش گیاه بدون P و عناصر ریزمغذی است. $nmolg^{-1}$ FW root تقریباً معادل است با غلظت ریشه به ماکرومولار، SEM نشان‌دهنده Standard error و ـ یعنی اندازه‌گیری نشده است**

| گونه‌های گیاهی | تیمار | موقعیت در ریشه | مقدار موجود در گیاه ($n\ molg^{-1}$ FW root) | | منبع |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | مالات (malate) | سیترات (citrate) | |
| Brasica napus | P+ و -P | نوک | 3350-21700 | 1100-8100 | Hoffland., (1992) |
| Brasica napus | P+ و -P | پایه | 3150-10400 | 2700-5450 | Hoffland., (1992) |
| Sisymbrium officinale | P+ و -P | نوک | 9700-4700 | 8500-6700 | Hoffland *et al.*, (1992) |
| Sisymbrium officinale | P+ و -P | پایه | 2500-3600 | 1000-2500 | Hoffland *et al.*, (1992) |
| Sorghum bicolor | P+ و -P | تمام سیستم ریشه | 930-1910 | 1260-1860 | Schwab *et al.*, (1983) |
| Sorghum bicolor | Al- و Al+ | تمام سیستم ریشه | 7200-18000 | 1500-4830 | Cambraia *et al.*, (1983) |
| Triticum aestivum | Al- و Al+ | نوک ریشه | 493-525 | - | - |
| Hordeum vulgare | Al- و Al+ | تمام سیستم ریشه | 2686-8358 | 1888-1666 | Delhaze *et al.*, (1993) |
| Zea mays | Al- و Al+ | تمام سیستم ریشه | 145-1043 | 15-24 | Fox *et al.*, (1996) |
| Zea mays | nut+ و - nut | تمام سیستم ریشه | 1430-2240 | 1090-1560 | Pell *et al.*, (1995) |
| Zea mays | K- و + K | تمام سیستم ریشه | 23000-33000 | 12000-19700 | Jones , Darrah (1995) |
| Phaseolus vulgaris | Fe+ و -Fe | تمام سیستم ریشه | 18000-68000 | 800-5100 | Schwab *et al.*, (1983) |
| دامنه | | | 150-58000 | 15-19700 | |
| Mean ± SEM | | | 10250 ± 3000 | 4060 ± 1000 | |

**جدول 2- غلظت اسیدهای آلی محلول خاک**

| خاک | غلظت اسیدهای آلی (ماکرومولار) | | | | | References |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | استات (acetate) | فرمات (Formate) | سیترات (citrate) | مالات (malate) | اگزالات (oxalate) | |
| Lupinus albus proteoid root mate | - | - | 4700 | - | - | Dinkelaker *et al.*, (1989) |
| Banksia rhizosphere soil | - | - | 70 | 35 | bdl | Grierson (1992) |
| Bulk soil from near Banksia | - | - | 0/8 | 0/7 | bdl | Grierson (1992) |
| Forest floor | 10 | 0/7 | <0/001 | - | 3/3 | Krzysowska *et al.*, (1996) |
| Beech forest soil[b] | 14 | 5 | 0/8 | 1/5 | 2 | Shen *et al.*, (1996) |
| Eutric cambisol | 8/5 | 5 | 0/8 | 0/7 | 2/4 | Strom (1997) |
| Rendizc leptosols (calcareous) | 10 | 5/1 | 4/1 | 2/5 | 7/1 | Strom (1997) |
| Forest Soil | - | bdl-90 | bdl-12 | 118 | 10 | Hue *et al.*, (1986) |
| Cultivated soil | - | bdl-8 | bdl | 4 | 5 | Hue *et al.*, (1986) |
| Ultichopludalf cultivated soil[c] | 2373 | 9 | 61 | - | - | Elkhatib (1990) |
| Typic hopludull[d] | 786 | 579 | 122 | - | - | Elkhatib (1990) |
| Trifolinom rhizosphere soil[a] | 1430 | bdl | bdl | 1472 | bdl | Bolan, (1994) |
| Elytrgia rhizosphere soil[a,e] | 630 | 563 | bdl-22 | bdl-4 | bdl-198 | Baziramakenga *et al.*, (1995) |
| Soil containing Elytrigia residues [a,e] | 3151 | 2277 | bdl-110 | bdl-26 | bdl-417 | Baziramakenga *et al.*, (1995) |
| Oak leaf litter leachate | - | - | - | Bdl | bdl | Pohlman and Mccoll (1988) |
| Douglas fir litter leachates | - | - | - | bdl-68 | bdl-190 | Pohlman and Mccoll (1988) |
| Decomposing yellow pine wood | - | - | - | - | - | Micales (1997) |
| Picea abies podzlic top soil | bdl-1829 | -117bdl | 160-370 | 60-165 | - | Van Hees *et al.*, (1996) |
| Picea abies podzlic sub soil | bdl | bdl | bdl-40 | bdl-25 | - | Van Hees *et al.*, (1996) |

ـ یعنی اندازه‌گیری نشده است. bdl به معنای کمتر از حد استخراج است

[a] فاکتور تبدیل 4/3 برای تبدیل $\mu\ molg^{-1}$ soil به $\mu\ molcm^{-3}$محلول خاک استفاده شده است.

[b] میانگین تنش خاک زیر پوشش‌های مختلف گیاهی [c] خاک پادزولیک قهوه‌ای خاکستری

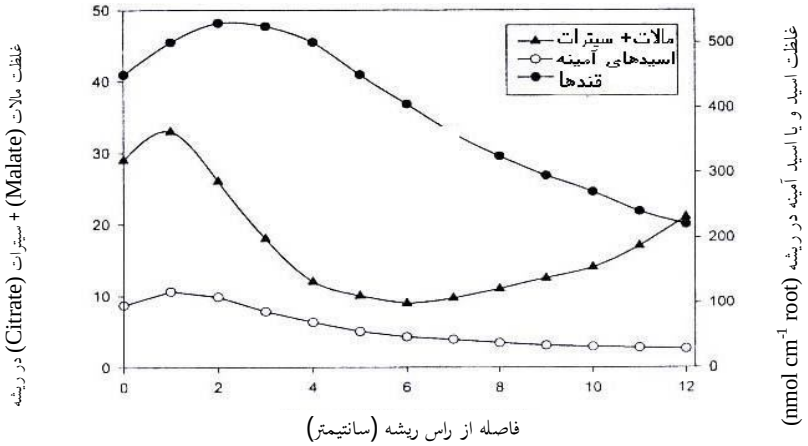
[d] خاک پادزولیک فریک زرد ـ قرمز [e] خاک پادزولیک فریک ـ هومو

**جدول 3- خلاصه‌ای از مقادیر ترشح اسیدهای آلی ریشه**

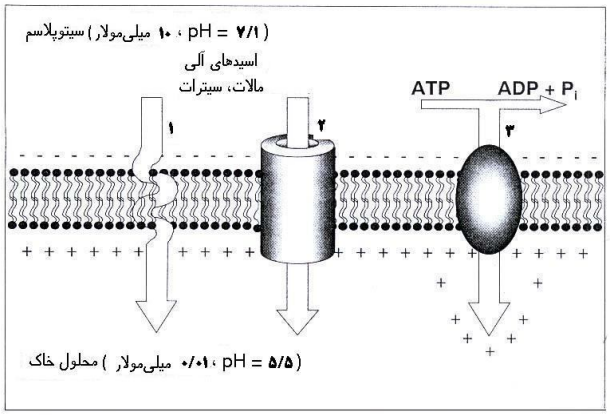
| منبع | غلظت اسیدهای آلی (ماکرومولار) | | | تیمار [b] | مکان ترشح [a] | گیاه |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | اگزالات | سیترات | مالات | | | |
| | ($pmolg^{-1}$ root FW $s^{-1}$) | | | | | |
| Hoffland (1992) | - | 4-18 | 10-59 | P+ و P- | راس | کلزا |
| Hoffland (1982) | - | 0/5-9 | 2-14 | P+ و P- | پایه | کلزا |
| a) Johnson *et al.*, (1996 | - | 6-158 | 8-141 | P+ و P- | Proteoid | لوپن |
| Lipton et al., (1987) | - | 0/2-0/8 | 0/8-1/7 | P+ و P- | کل ریشه | یونجه |
| Schwab et al., (1983) | - | 0/5-5/8 | — | P+ و P- | کل ریشه | سورگوم |
| Pellet et al., (1995) | - | 0/1-36 | 1-8 | Al+ و Al- | راس | ذرت |
| Delhaize et al., (1993) | - | 1/3-3/1*** | 14-338* | Al+ و Al- | راس/ ریشه | گندم |
| Jones et al., (1995) | - | 3/3-38 | 5 -165 | ns, nd | کل ریشه | ذرت |
| Fan et al., (1997) | - | - | 1-40 | Fe+ و Fe- | کل ریشه | جو |
| Kraffezyk et al., (1984) | - | 0/02-0/04 | 0/25-0/42 | K+ و K– | کل ریشه | ذرت |
| Strom et al., (1994) | 0/44 | 0/06 | 0/08 | (ns) | کل ریشه | گیاهان اسید دوست |
| Strom et al., (1994) | 1/22 | 0/38 | 0/08 | (ns) | کل ریشه | گیاهان اسید دوست |

[a] **راس یعنی ترشح در راس ریشه اندازه‌گیری شده است، پایه یعنی ترشح در پایه ریشه اندازه‌گیری شده است، کل ریشه یعنی اندازه‌گیری از تمام سیستم ریشه، Proteoid یعنی ترشح فقط در ریشه‌های Proteoid اندازه‌گیری شده است.**

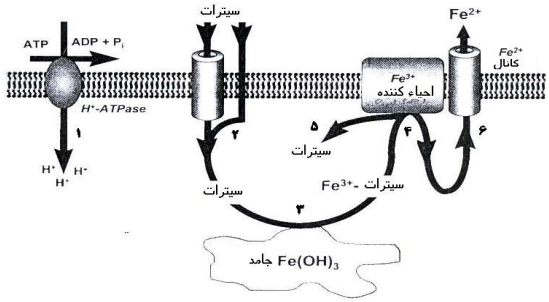
**+ یعنی در حضور، و – یعنی شرایط کمبود ، ns + یعنی کفایت عنصر غذایی، و nd – به معنی کمبود عنصر غذایی.**



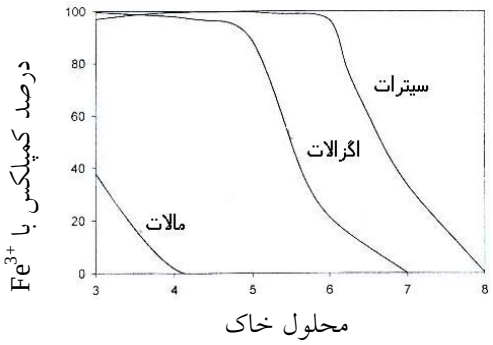

**شکل 2- توزیع مواد آلی با وزن مولکولی کم در ریشه‌های ذرت. فقط مالات (malate) و سیترات (citrate) نشان داده شده است. اگرچه اسیدهای آلی دیگر مانند اکونیتات (aconitate) در مقادیر قابل ملاحظه‌ای وجود دارد. (Jones و Darrah، 1994a، 1995، 1996)**




**شکل 3- نمایی از دو مسیر اصلی اسید آلی خروجی از سیتوپلاسم ریشه به محلول خاک (شماره 1: انتشار غیر فعال را از میان لایه لیپیدی نشان می‌دهند. شماره 2: خروجی را از میان کانال پروتئینه غشای پلاسمایی نشان می‌دهد). انتقال هر دو مکانیزیم توسط شیب پتانسیل الکتروشیمیایی (بار و غلظت) از میان غشاء که بعضاً توسط $H^+$-$ATP_{ase}$ تولید می‌شود، کنترل می‌گردد (Jones و Darrah، 1995)**




**شکل 4- نقش اسیدهای آلی در جذب آهن (Fe) به وسیله ریشه گیاهان دو لپه‌ای**




**شکل 5- توانایی سه اسید آلی در تشکیل کمپلکس‌های پایدار با $Fe^{3+}$ به عنوان تابعی از pH که با استفاده از نرم‌افزار Geo chem پیش‌بینی شده است. غلظت $Fe^{3+}$ و اسید آلی 100 میکرومولار است (Parker و همکاران 1995)**

**جدول 4- ثابت پایداری کمپلکس‌های فلز-اسیدهای آلی به ثابت‌های پایداری نشان‌دهنده شرایط 25 درجه سانتی‌گراد و قدرت یونی صفر هستند. نسبت M:H:L نشان‌دهنده M برای فلز، L برای لیگاند و H برای پروتون است**

| فلز | نسبت | مالات | سیترات | اگزالات |
|---|---|---|---|---|
| $H^{+}$ | ۱:۱ | ۵/۱۰ | ۶/۴۰ | ۴/۲۷ |
| | ۲:۱ | ۳/۴۶ | ۴/۷۶ | ۱/۲۵ |
| | ۳:۱ | - | ۳/۱۳ | - |
| | ۱:۱ | ۰/۴۰ | ۰/۵۶ | ۰/۹۰ |
| $K^{+}$ | ۱:۱ | ۱/۵۵ | ۴/۸۴ | ۰/۴۳ |
| $Mg^{2+}$ | ۱:۲ | - | - | ۴/۲۴ |
| | ۱:۱:۱ | ۰/۷۷ | ۲/۵۹ | - |
| $Ca^{2+}$ | ۱:۱ | ۲/۷۲ | ۴/۸۵ | ۳/۱۹ |
| | $H_2O_{(s)}$ ۱:۱ | - | - | -۸/۸۰ |
| | ۱:۲ | - | - | ۲/۶۲ |
| | ۱:۱:۱ | ۱/۳۶ | ۲/۹۳ | ۱/۳۸ |
| $Mn^{2+}$ | ۱:۱ | ۲/۲۴ | ۳/۷۰ | ۳/۹۵ |
| | ۱:۲ | - | - | ۴/۴۰ |
| $Zn^{2+}$ | ۱:۱ | ۳/۳۲ | ۴/۷۰ | ۴/۸۷ |
| | ۱:۲ | ۵/۹۰ | ۷/۶۵ | |
| | ۱:۱:۱ | ۲/۰۰ | ۲/۹۶ | ۱/۷۲ |
| $Cu^{2+}$ | ۱:۱ | ۳/۳۳ | ۵/۹۰ | ۶/۲۳ |
| | ۱:۲ | ۸/۴۰ | - | ۴/۰۰ |
| | ۱:۱:۱ | ۱/۹۶ | ۳/۷۰ | |
| | ۲:۲ | ۸/۰ | ۱۳/۲ | |
| $Fe^{3+}$ | ۱:۱ | ۷/۱ | ۱۱/۵۰ | ۷/۷۴ |
| | ۱:۲ | - | - | ۱۳/۶۴ |
| | ۱:۳ | - | - | ۱۸/۴۶ |
| | ۲:۲ | ۱۲/۸۵ | - | - |
| $Al^{3+}$ | ۱:۱ | ۶/۰۰ | ۷/۸۷ | ۶/۱ |
| | ۱:۲ | - | ۱۱/۷ | ۱۱/۱ |
| | ۱:۳ | - | - | ۱۵/۱۲ |

## فهرست منابع:


1. Banik, S., Dey, B. K., (1983). Alluvial soil microorganisms capable of utilizing in soluble aluminum phosphate as a sole source of phosphorus. Zentralbatt fur Mikrobiologie 138, 437-442.
2. Baziramakenga, R. Simard, R. R., and Leroux, G. D. (1995). Determination of organic acids in soil extraets by ion chromatography. Soil Biol. Biochen. 27:349-356.
3. Bolan, N. S., Naidu, R., Mahimairaja, S., Baskaran, S., (1994). Influence of low-molecular wieght organic- acids on the solubilization of phosphates. Biology and Fertility of Soils 18, 311-319.
4. Bolan, N. S., R. Naidu, S. Mahimairaja, and S. Baskaran. (1994). Influence of low-molecular-weight organic-acids on the solubilization of phosphates. Biol. Fert. Soils 18: 311-319.
5. Bowers, J. H., Nameth, S. T., Riedel, R. M. and Rowe, R. C. (1996). Infection and colonization of potato roots by *Vericillium dahliae* as affected by *Pratylenchus penetrans* and *P. crenatus*. Phytopathol. 86: 614 - 621.
6. Braum S. M., Helmke, P. A. (1995). White lupin utilizes soil phosphorus that is unavailable to soybean. Plant and Soil, 176:95-100.
7. Cakmak, I. and H. Marschner. (1988). Increase in membrane-permeability and exudation in roots of zinc deficient plants. J. Plant Physiol., 132: 356-361.

8. Chairidchai, P., Ritchie, G. S. P., (1993). Zinc adsorption by sterilized and non sterilized soil in the presence of citrate and catechol. Communications in Soil Science and Plant Analysis 24, 261-275.
9. Chang, K. J., and Roberts, J. K. M. (1991). Cytoplasmic malate levels in maize root-tips during K+ ion uptake determined by $^{13}$C-NMR spectroscopy. Biochim. Biophys. Acta. 1092: 29-34.
10. Chang, K. J., and Roberts, J. K. M., (1989). Observation of cytoplasmic of cytoplasmic and vacuolar malate in maize root-tips by $^{13}$C-NMR spectroscopy. Plant Physiol. 89: 97-203.
11. Cline, G. R., P. E. Powell, P. J. Szaniszlo, C. P. P. Reid. (1982). Comparison of the abilities of hydroxamic, synthetic, and other natural organic acids to chelate iron and other ions in nutrient solution. Soil Sci. Soc. Am. J., 46: 1158-1164.
12. Darrah, P. R., (1991a). Measuring the diffusion- coefficient of rhizosphere exudates in 2. The diffusion of compounds. J. Soil Sei. 42:421-434.
13. Darrah, P. R., (1994b). Measuring the diffusion- coefficient of rhizosphere exudates in soil1. The diffusion of non-sorbing compounds. J. Soil Sei. 42: 413-420.
14. Delhaize, E. P. R. Ryan, P. J. Randall. (1993). Aluminum tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.) 2. Aluminum stimulated excretion of malic acid from root apices. Plant Physiol., 103: 695-702.
15. Devos, C.R., Lubberding H. J., and Bienfait, H. F., (1986). Rhizosphere acid-infcation as a response to iron-deficiency in bean plants. Plant Physiol. 81:842-846.
16. Dinkelaker, B. Hengeler, C. and Marschner, H. (1989). Citrit-acid excretion and precipitation of calcium citrate in the rhizosphere of whitc lupin (*Lupums albus* L.) Plant Cell Environ. 12:285-292.
17. Dinkelaker, B., Hengele, C., Marschner, H., (1995). Distribution and function of proteoid roots and other root cluster. Bot Acta 108, 183-200.
18. Dinkelaker, B., Marschner, H., (1992). In vivo demonstration of acid phosphatase activity in the rhizosohere of soil- grown plants. Plant and Soil 144, 199-205.
19. Dutton M. V., and Evans C. S. (1996). Oxalate production by fungi-its role in pathogenicity and ecology in the soil enviroment. Can. J. Microbiol. 42: 881-895.
20. Elkhatib, E. A., (1990). Simultaneous determination of low molecular-weight organic-acids in soil solution by ion chromatography. Z. Plfanzenernahr. Bodenk. 153:201-205.
21. Evans, A., (1991). Influence of low- molecular- weight organic- acids on zinc distribution within micronutrient pools and zinc uptake by wheat. Journal of Plant Nutrition 14, 1307-1318.
22. Fan, T. W. M., A. N. Lane, J. Pedler, D. Crowley, and R. M. Higashi. (1997). Comprehensive analysis of organic ligands in whole root exudates using nuclear magnetic resonance and gas chromatography mass spectrometry. Anal. Biochem., 251: 57-68.
23. Fohse, D., Jungk, A., (1983). Influence of phosphate and nitrate supply on root hair formation of rape, spinach and tomato plants. Plant and soil 74, 359-368.
24. Fox, T. C., J. E. Shaff, M. A. Grusak,, W.A. Norvell, Y. Chen, R. L. Chaney. (1996). Direct measurement of $Fe^{59}$-labeled $Fe^{2+}$ influx in roots of pea using a chelator buffer system to control free $Fe^{2+}$ in solution. Plant Physiol. 111: 93-100.
25. Gardner W. K., Parbery D. G., Barber D. A. (1981). Proteoid root morphology and function in Lupinus albus. Plant and Soil, 60:143-47.
26. Gerke, J., (1994). Kinetics of soil phosphate desorption as affected by citric acid. Zeitschrift fur Pflanzenernahrung and Bodenkunde 157, 17-22.

27. Greke, J. (1992). Phosphate, aluminum and iron in the soil solution of three different soils in relation to varying concentrations of citric acid. Z. Phanzenernahr. Bodenk. 155: 339-343.
28. Greke, J. (1994). Kinetcs of soil phosphate desorption as affected by citric acid Z. Pflanzenernahr. Bodenk. 157:17-22.
29. Grierson, P. F. (1992). Organic-acid in the rhizosphere of *Banksiaintegrifolia* L. Plant Soil. 144:256-265.
30. Guerinot, M. L., and Yi, Y. (1994). Iron: nutritious, noxions, and not readily available. Plant Physiol. 104-815-820.
31. Hoffland, E. Van Den Boogaard, R., Nelemans J. Findenegg, G. (1992). Biosynthesis and root exudation of citric and malic acids in phosphate-starved rape plants. New Phytol. 122:675-680.
32. Hoffland, E., (1992). Quantitatove evaluation of the role of organic-acid exudation in the mobilization of rock phosphate by rape. Plant and Soil, 140: 279-289.
33. Hoffland, E., Findenegg, G. R., Nelemans, J. A., (1989). Solubilization of rock phosphate by rape. II. Local root exudation of organic acid as a response to P starvation. Plant and Soil 113, 161-165.
34. Hoffland, E., Findenegg. G. R., and Nelemans J. A. (1989). Solubilization of rock phosphate by rape. 2. Local root exudation of organic acid as a response to P starvation. Plant and Soil, 113: 161-165.
35. Hoffland, E., Vanden Boogaard, R., Nelemans, J., Findenegg, G., (1992). Biosynthesis and root exduation of citric and malic acids in phosphate- starved rape plants. New Phytologist 122, 675-680.
36. Hue, N. V., Craddock, G. R., Adams, F. (1986). Effect of organic acids on aluminum toxicity in subsoils. Soil Sci. Am. J. 50:28-34.
37. Imas, P., B. BarYosef, U. Kafkafi, and R. Ganmore-Neumann. (1997a). Phosphate induced carboxylate and proton release by tomato roots. Plant and Soil, 191: 35-39.
38. Imas, P., B. BarYosef, U., and Ganmore-Neumann. (1997b). Release of carboxylic anions and protons by tomato roots in response to ammonium nitrate ratio and pH in nutrient solution. Plant and Soil, 191: 27-34.
39. Johnson J. F., Vance C. P., Allen, D. L. (1996). Phosphorus deficiency in Lupinus albus. Altered lateral root development and enhanced expression of phosphoenolpyruvate carboxylase. Plant Physiol. 112:31-41.
40. Johnson, D. L. and Brassington D. S. (1998). Sorption of organic acids in acid soils and its implications in the rhizosphere. Eur. J. Soil Sci. 49:447-455.
41. Johnson, J. F., D. L. Allan, C. P. Vance, and G. Weiblen. (1996a). Root carbon dioxide fixation by phosphorus-deficient *Lupinus albus:* Contribution to organic-acid exudation by proteoid roots. Plant Physiol., 112: 19-30.
42. Jones, D. L. and P. R. Darrah. (1996). Re-sorption of organic-compounds by roots of *Zea mays* L. and its consequences in the rhizosphere. 3. Characteristics of sugar influx and efflux. Plant and Soil, 178: 153-160.
43. Jones, D. L., and Darrah P. R. (1994a). Amino-acid influx at the soil-root interface of *Zea mays* L. and its implications in the rhizosphere. Plant and Soil, 163: 1-12.
44. Jones, D. L., and Darrah. P. R. (1995). Influx and efflux of organic-acids across the soil-root interface of *Zea mays* L. and its implications in rhizosphere C flow. Plant and Soil, 173: 103-109.
45. Jones, D. L., and Darrah. P. R. (1995). Influx and efflux of organic-acids across the soil-root interface of *Zea mays* L. and its implications in rhizosphere C flow. Plant Soil. 173: 103-109.
46. Jones, D. L., Brassington DS. (1998). Sorption of organic acids in acid soils and its implications in the rhizosphere. Eur. J. Soil Sci. 49:447-55.

47. Jones, D. L., Darrah, P. R. (1994). Role of root derived organic acids in the mobilization of nutrients from the rhizosphere. Plant and Soil, 166:247-57.
48. Jones, D. L., Darrah, P. R., (1994a). Amino acid influx at the soil- root interface of *Zea mays L.* and its implicatons in the rhizosphere. Plant and Soil 163, 1-12.
49. Jones, D. L., Darrah, P. R., (1994b). Role of root derived organic- acids in the mobilization of nutrients from the rhizosphere. Plant and Soil 166, 247-257.
50. Jones, D. L., Edwards, A. C., (1993). Effect of moisture content and preparation technique on the composition of soil slution obtained by centrifugation. Communications in Soil Science and Plant Analysis 24, 171-186.
51. Jones, D. L., Edwards, A. C., (1998). Influence of sorption on the bioligical utilization of two simple carbon substrates. Soil Biology and Biochemistry 30, 1895-1902.
52. Jones, D. L., Edwards, A. C., Donachie, K., Darrah, P. R., (1994). Role of proteinaceous amion acids released in root exudates in nutrient acquisition from the rhizosphere. Plant and Soil 158, 183-192.
53. Jones, D. L., P. R. Darrah, and L. V. Kochian. (1996a). Critical-evaluation of organic-acid mediated iron dissolution in the rhizosophere and its potential role in root iron uptake. Plant and Soil, 180-57-66.
54. Jones, D. L., P. R. Darrah, and L. V. Kochian. (1996a). Critical-evaluation of organic-acid mediated iron dissolution in the rhizosophere and its potential role in root iron uptake. Plant and Soil, 180-57-66.
55. Jones, D. L., Shaff, J. E., and Kochian L. V. (1995). Role of calcium and other ions in directing root hair tip growth in *Limnobium stoloniferum*. 1. Inhibition of tip growth by aluminum. Planta. 197:672-680.
56. Karltun, E. (1998). Modelling $SO_4^{2-}$ surface complexation on varible charge minerals. II. Competition between $SO_4^{2-}$, oxalate and fulvate. Eur. J. Soil Sci. 49:113-120.
57. Khademi, Z., 2006. Organic acids behavior in calcareous soils. PhD thesis. University of Wales, Soil Science and Environment.
58. Kirk, G. J. D., (2002). Modeling root- induced solubilization of nutrients. Palnt and Soil 255, 49-57.
59. Kochian, L. V. and Jones, D. L. (1997). Aluminum toxicity and resistance in plants. In Research Issues in Aluminum Toxicity. Eds. R A Yokel and M S Golub. Taylor and Francis Publishers. Bristol. PA.
60. Kraffezyk, I., G. Trolldenier, H. Beringer. (1984). Soluble root exudates of maize: Influence of potassium supply and rhizophere microorganisms. Soil Biol. Biochem. 16: 315-322.
61. Krzyszowska, A. J., Blaylock M. J., Vance G. F., David M., B. (1996). Ionchromatographic analysis of low molecular weight organic acids in spodsol forest solutions. Soil Sci. Soc. Am. J. 60:1565-1571.
62. Laheurte, F. ad J. Berthelin. (1988). Effect of phosphate solubilizing bacteria on maize growth and root exudation over four levels of labile phosphorus. Plant and Soil, 105: 11-17.
63. Landsberg, E. C. (1981). Organic acid synthesis and release of hy-drogen ions response to Fe deficiency stress of mono and dicotyledonous plant species. J. Plant Nutr. 3:579-591.
64. Lipton, D. S., R. W. Blanchar and D. G. Blevins. (1987). Citrate, malate and succinate concentration in exudates from P-sufficient and P-stressed *Medicago sativa* L. seedlings. Plant Physiol., 85: 315-317.
65. Lundstrom, U. S., Van Breemen, N. and Jongmans. A. G. (1995). Evidence for micorbial decomposition of organic acids during podzolization. Eur. J. Soil Sci., 46: 489-496.

66. Lunstrom, U. S., Van Breemen, N., Jongmans A. G. (1995). Evidence for microbial decomposition of organic acids during podzolization. Eur. J. Soil Sci. 46:489-96.
67. Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. Academic Press, London.
68. Marschner, H., (1986). Mineral nutrition of Higher Plants. Academic Press, London.
69. Marschner, H., Römheld, V., (1996). Root induced changes in the availability of micronutrients in the rhizosphere. In Plant Roots. The hidden Half, 2 nd edn., ed. Waisel, Y., Eshel, A., Kafkafi, U., Marcel Dekk, New York, 557 pp.
70. Marschner, H., Römheld, V., Cakmak, I., (1987). Root- induced changes of nutrient availability in the rhizosphere. Journa of Plant Nutrition 10, 1175-1184.
71. Marschner, P., Rengel, Z., (2003). Contributions of rhizosphere interactions to soil biological fertility I n: Soil Biological Fertility, A key to Sustainable Land use in Agriculture. Edited by Lynette K, Abbott and Daniel V Murphy, Kluwer Academic publishers.
72. Mawdsley J. L., Burns R.G. (1994). Root colonization by a Flavobacterium species and the influence of percolating water. Soil Biol. Biochem. 26:861-70.
73. Mench, M. and E. Martin. (1991). Mobilization of cadmium and other metals form two soils by root exudates of *Zea mays* L. *Nicotiana tabacum* L and *Nicotiana rustica* L. Plant and Soil, 132: 187-196.
74. Merbach, W., Mirus, E., Knof, G., Remus, R., Ruppel, S., Russow, R., Gransee, A., Schulze, J., (1999). Release of carbon and nitrogen compounds by plant roots and their possible ecological importance. Journal of Plant Nutrition and Soil Science 162, 373-383.
75. Micales, J. A. (1997). Location and induction of oxalate decarboxylase in the brown-rot wood decay fungus *postia planceta*. Int. Biodeterioration Biodegrad. 39, 125-132.
76. Millet, M., Wortham, H., Sanusi and Mirabel, P. (1997). Low molecular weight organic acids in fogwater in an urban area: Strabourg (France). Sci. Tot. Environ. 206:57-65.
77. Neumann, G., Massonneau, A., Martinoia, A. Römheld, V., (1999). Physiological adaptations to phosphorus deficiency during proteoid root development in white lupin. Planta 208, 373-82.
78. Nobel, P. S. (1991). Physiochemical and Enviromental Plant Physiology. Academic Press. London.
79. Ohwaki, Y. and Sugahara, K. (1997). Active extrusion of protons and exudation of carboxylic acid in response to iron deficiency by roots of carboxylic acids in response to iron deficiency by roots of chicpea (*Cicer arietinum* L.). Plant and Soil, 189:49-55.
80. Osmond, C. B. (1976). Ion absorption and carbon metabilism in cells of higher plants. In Encyclopedia of Plant Physiology, New Series, Vol. 2, Part A. Eds. U Luttge and M G Pitman. pp. 347-372. Springer-Verlag, Berlin.
81. Osmond, C. B. and Laties, G. G. (1969). Compartmentation of malate in relation to ion absorption in beet. Plant Physiol. 44:7-14.
82. Papernik, L. A. and Kochian, L. V. 1997. Possible involvement of Alinduced electrical signals in Al tolerance in wheat. Plant Physiol. 115:657-667.
83. Parker, D. R., Chaney, R. L. and Norvell, W. A. (1995). Chemical equilibria models: Applications to plant research. In Chemical Equilibria and Reaction Models, Special Publication 42. Ede. R H Loeppert, A P Schwab and S Goldberg. pp. 163-200. SSSA-ASA, Madison, WI.
84. Patel, D. D., Barlow, P. W., Lee, R. B. (1990). Development of vacuolor volume in the root- tips of pea. Ann. Bot. 65, 159-169.
85. Pell, D. M., Grunes, D. L., Kochian, L. V. (1995). Organic acid exudation as an aluminum-tolerance mechanism in maize (Zea mays L.). Planta 196:788-95.

86. Pohlman, A. A. and J. G. McColl. (1986). Kinetics of metal dissolution from forest soils by soluble organic acids. J. Environ. Qual., 15: 86-92.
87. Pohlman, A. A. and J. G. McColl. (1988). Soluble organies from forest litter and their role in metal dissolution. Soil Sci. Soc. Am. J. 52: 265-271.
88. Römheld, V., (1991). The role of phytosicerophores in acquisition of iron and other micronutrients in graminaceous species: and ecologiacl approach. Plant and Soil 130, 127-134.
89. Rózycki, H. (1985). Production of organic acids by bacteria isolated from soil, rhizosphere and mycorrhizosphere of pine (*Pinus sylvestris* L.). Acta Microbiol. Polon. 34:301-308.
90. Rózycki, H. and Strzelezyk, E. (1986). Organic acids production by *Streptomyces* spp isolated from soil, rhizosphere and mycorrhizosphere of pine (*Pinus sylvestris* L.). Plant and Soil, 96:337-345.
91. Ryan, P. R., Delhaize, E. Randall, P. J. (1995). Malate efflux from root apices and tolerance to aluminium are highly correlated in wheat. Aust. J. Plant Physiol. 122: 531-536.
92. Samuels, A. L., M. Fernando, and A. D. Glass. (1992). Immunoflorescent localization of plasma membrane $H^+$-ATPase in barley roots and effects of K nutrition. Plant Physiol., 99: 1509-1514.
93. Schachtman DP, -Reid RJ, -Ayling SM. -(1998). Phosphorus uptake by plants: from soil to cell. Plant Physiol. 116:447-53.
94. Schwab, S. M., J. A. Menge, and R. T. Leonard. (1983). Quantitative and qualitative effects of phosphorus on extracts and exudates of sudangrass roots in relation to vesicular-arbuscular mycorrhiza formation. Plant Physiol. 73: 761-765.
95. Shen, Y., L. Strom, J. A. Jonsson, G. Tyler. (1996). Low-molecular organic-acids in the rhizosphere soil solution of beech forest (*Fagus sylvatical* L.) cambisols determined by ion chromatography using supported liquid membrane enrichment technique. Soil Biol. Biochem., 28: 1163-1169.
96. Ström, L. (1997). Root exudation of organic acids: importance to nutrient availability and the califuge and calcicole behavior of plants. Oikos 80:459-466.
97. Ström, L., (1997). Root exudation of organic acids: importance to nutrient availability and the calcifuge and calciocle behavior of plants. Oikos 80, 459-466.
98. Ström, L., Olsson, T., Tyler, G., (1994). Differences between calcifuge and acidifuge plants in root exduation of low molecular organic acids. Plant and Soil 167, 239-45.
99. Ström, L., T. Olsson, and G. Tyler. (1994). Differences between calcifuge and acidifuge plants in root exudation of low molecular organic-acids. Plant and Soil, 167: 239-245.
100. Stumpf, D. K., and Burris, R. H. (1981). Organic-acid contents of soybean: Age and source of nitrigen. Plant Physiol. 68: 989-991.
101. Tyler, G., Ström, L., (1995). Differeing organic- acid exduation pattern explain calcifuge and acidifuge behavior of plants. Annals of Botany 75, 75-78.
102. Uren, N. C., Reiscanuer, H. M., (1988). The role of root exduates in nutrient acquisition. Advances in Plant Nutrition 3, 79-114.
103. Van Hees, P. A. W., Andersson, A. M. T., Lundström, U. S. (1996). Separation of organic low-molecular-weight aluminum complexes in soil solution by liquid-chromatography. Chemosphere. 33:1951-66.
104. Watt, M., Evans J. R. (1999). Linking development and determinacy with organic acid efflux from proteoid roots of white lupin grown with low phosphorus and ambient or elevated atmospheric $CO_2$ concentration. Plant Physiol. 120:705-16.

105. Welch, R. M. Norvell, W. A. Schaefer, S. C. Shaff, J. E. and Kochian, L. V. (1993). Induction of iron (III) and copper (II) reduction in pea *(Pisum sativum* L.) roots by Fe and Cu status-does the root-cell plasmalemma Fe(III)-chelate reductase perform a general role in regulating cation uptake? Plants. 190:555-561.
106. Wiehe, W., C. Hechtbuchholz, and G. Hoflich. (1994). Electronmicroscopic investigations on root colonization of *Lupinus albus* and *Pisum sativum* with two associative plant-growth promoting rhizobacteria, *Pseudomonas fluorescnes* and *Rhizobium leguminsarum* bv *trifolii*. Symbiosis, 17: 15-31.
107. Yang, C. H., Crowley, D. E., (2000). Rhizosphere microbial community structure in relation to root location and plant iron nutritional status. Applied and Environmental Microbiology 66, 345-351.