نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد 29، شماره 4، مهر – آبان 1394، ص. 1045-1033

Journal of Water and Soil
Vol. 29, No. 4, Sept.-Oct. 2015, p. 1033-1045

اثرات ریزوسفری لوبیا بر برخی از ویژگی‌های میکروبیولوژیکی و شیمیایی در خاک‌های تیمار شده با لجن فاضلاب شهری

طاهره رئیسی[1*] - علیرضا حسین‌پور[2] - فایز رئیسی[3]

تاریخ دریافت: 1392/10/04
تاریخ پذیرش: 1394/05/24

چکیده

این پژوهش با هدف ارزیابی اثرات ریزوسفر لوبیا بر بعضی از ویژگی‌های میکروبیولوژیکی و شیمیایی در 10 خاک آهکی تیمار نشده و تیمار شده با لجن فاضلاب شهری در ریزوباکس اجرا شد. بدین منظور در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار، لوبیا در ریزوباکس‌های تهیه شده کشت شد. در پایان دوره کشت، گیاه برداشت، ریزوباکس‌ها باز، خاک‌های ریزوسفری و غیرریزوسفری جدا، و فسفاتاز قلیایی، فسفاتاز اسیدی، کربن آلی محلول، کربن زیست توده میکروبی، فسفر زیست توده میکروبی و فسفر محلول (قابل استخراج با کلرید کلسیم رقیق) تعیین گردید. نتایج نشان داد عموماً در هر دو تیمار (با و بدون کاربرد لجن فاضلاب شهری) مقادیر فسفاتازهای اسیدی و قلیایی، کربن آلی محلول، کربن و فسفر زیست‌توده میکروبی در خاک ریزوسفری به طور معنی‌داری بالاتر از خاک غیرریزوسفری بود. با این وجود، مقدار فسفر محلول در خاک‌های ریزوسفر هر دو تیمار کمتر از خاک‌های غیرریزوسفری بود که با افزایش میزان فسفر زیست‌توده میکروبی مطابقت دارد. علاوه براین، افزودن لجن فاضلاب چه در خاک‌های ریزوسفری و چه در خاک‌های غیرریزوسفری منجر به افزایش معنی‌دار کربن آلی محلول، کربن و فسفر زیست‌توده میکروبی، فسفر محلول ولی کاهش معنی‌دار فسفاتاز اسیدی و قلیایی شد.

واژه‌های کلیدی: زیست توده میکروبی، فسفاتازها، فسفر محلول، خاک آهکی

مقدمه

ریشه گیاه به‌طور مستقیم از طریق فعالیت خود یا به‌طور غیرمستقیم از طریق تحریک جمعیت و فعالیت ریزجانداران، می‌تواند شرایط شیمیایی و بیولوژیکی متفاوتی در محیط پیرامون خود ایجاد کند (2، 10، 16، 27، 42 و 45). گیاهان و ریزجانداران سازوکارهای مشابهی را برای متحرک‌سازی و جذب فسفر به کار می‌گیرند. گیاهان و ریزجانداران می‌توانند حلالیت ترکیبات معدنی فسفر با حلالیت پایین را از طریق آزادسازی پروتون، هیدروکسیل، دی‌اکسید کربن و آنیون‌های آلی (28) افزایش داده و هم‌چنین آنها می‌توانند فسفر آلی را از طریق آزادسازی آنزیم‌های فسفاتاز مختلف معدنی کنند (12 و 31). بنابراین، در ریزوسفر، فسفر توسط ترکیبات منشا گرفته از گیاه و یا ریزجانداران متحرک می‌شود و رقابت شدیدی برای جذب فسفر بین گیاه و ریزجانداران وجود دارد.

رشد و فعالیت ریزجانداران عمدتاً به دلیل طبیعت پیچیده و قابلیت تجزیه ضعیف ماده آلی خاک توسط قابلیت دسترسی کربن محدود می‌شود (8). برعکس، ترشحات ریشه عمدتاً وزن ملکولی پایینی داشته و به سهولت قابل تجزیه هستند. معمولاً حدود 19% کل تولیدات فتوسنتزی گیاهان به صورت ترکیبات آلی در خاک آزاد که بخش عمده آن به دی‌اکسید کربن تبدیل و بخشی از آن نیز در خاک باقی می‌ماند (6). به‌طور کلی، ورودی کربن آلی توسط ریشه‌ی گیاهان در حال رشد به خاک به دو بخش تقسیم می‌شود: الف- کربنی که توسط جمعیت ریزجانداران هتروترف معدنی می‌شود، ب- کربنی که در خاک به صورت بقایای ریشه، سلول‌های میکروبی و متابولیت‌های آنها باقی می‌ماند (15). از این رو برای ریزجانداران در خاک‌های ریزوسفری احتمالاً محدودیتی از لحاظ کربن وجود ندارد (6). به هر حال مصرف کربن توسط ریزجانداران ممکن است توسط عناصر غذایی دیگر محدود شود. نیتروژن و فسفر از جمله عناصر غذایی می‌باشند که افزودن آنها منجر به افزایش معنی‌دار زیست‌توده میکروبی می‌گردد (26). طبق گزارش لیو و همکاران (24) افزودن

1- مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه‌گرمسیری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رامسر، ایران
(*-نویسنده مسئول: (Email: taraiesi@gmail.com
2 و3 - استادان گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد

فسفر منجر به افزایش معنی‌دار زیست‌توده میکروبی و تغییر ترکیب جمعیت میکروبی شد. نیاز فسفره جامعه میکروبی برای مثال در سلول‌های قارچی از 0/05 تا 0/5 و گاهی تا یک درصد و در باکتری‌ها از 1/5 تا 2/5 درصد گزارش کرده‌اند (35).

لجن فاضلاب حاوی مقادیری بالایی از کربن آلی، فسفر و عناصر غذایی دیگر است، به همین دلیل کاربرد این منبع آلی در زمین‌های کشاورزی رو به گسترش می‌باشد (33). لجن فاضلاب حاوی فلزات سنگین نیز می‌باشد. ریزجانداران وآنزیم‌های خاک نقش مهمی در معدنی کردن مواد آلی و افزایش قابلیت دسترسی عناصر غذایی ایفا می‌کنند. اطلاعات نسبتاً جامعی در مورد اثر کاربرد لجن فاضلاب و فلزات سنگین روی فعالیت ریزجانداران و فعالیت آنزیم‌های خاک در دسترس می‌باشد (18 و 33). در مطالعات زیادی نیز اثرات ریزوسفری روی فعالیت ریزجانداران و فعالیت آنزیم‌های خاک بررسی شده است (27، 28 و 31). اما اطلاعات کمی در مورد اثر لجن فاضلاب بر فعالیت ریزجانداران و فعالیت آنزیم‌ها در خاک‌های ریزوسفری موجود می‌باشد. بررسی منابع نشان می‌دهد خصوصیات خاک، ترکیب کود آلی و فرایندهای ریزوسفری بر خصوصیات شیمیایی فسفر به دنبال کاربرد کودهای آلی موثر هستند (42). بررسی و درک اثر متقابل میان ریشه گیاه، کود های آلی حاوی فسفر و خصوصیات بیولوژیکی از جمله تحقیقات جدید و مورد ملاحظه بسیاری از محققان در سال‌های اخیر می‌باشد.

با توجه به مباحث عنوان شده، ریزوسفر محیطی با ویژگی‌های بیوشیمیایی متفاوت از خاک غیرریزوسفری است، کربن زیست‌توده، فسفر زیست‌توده و فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز از مهمترین مشخصه‌های هستند که تحت‌تاثیر فعالیت ریشه قرار می‌گیرند. علیرغم تحقیقات فراوان صورت گرفته پیرامون فسفر قابل استفاده و ویژگی‌های میکروبیولوژیک، در زمینه تأثیر ریزوسفر لوبیا بر این ویژگی‌ها در خاک‌های آهکی تیمار شده با لجن فاضلاب شهری مطالعات اندکی انجام گرفته است. بنابراین، این تحقیق با هدف بررسی اثر ریزوسفر لوبیا و نیز اثر متقابل ریزوسفر و سطح لجن بر کربن آلی محلول، کربن زیست توده میکروبی، فسفر زیست‌توده، فعالیت فسفاتاز قلیایی، فسفاتاز اسیدی، فسفر آلی و فسفر استخراجی با روش کلرید کلسیم رقیق در خاک‌های آهکی تیمار شده و تیمار نشده با لجن فاضلاب شهری با استفاده از ریزوباکس 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 جمع-آوری شدند. پس از هوا خشک کردن و عبور از الک 2 میلی‌متری، 10 نمونه خاک بر اساس مقادیر درصد رس، کربنات کلسیم معادل و غلظت فسفر به روش اولسن (32) انتخاب شدند. سپس برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی از جمله پ. هاش در سوسپانسیون 2 به 1 محلول به خاک (40)، قابلیت هدایت الکتریکی در عصاره‌های صاف شده با نسبت 2 به 1 محلول به خاک (34)، کربنات کلسیم معادل خاک به روش تیتراسیون برگشتی با هیدروکسید سدیم (27)، درصد کربن آلی خاک به روش اکسیداسیون تر (30)، گنجایش تبادل کاتیونی به روش استات سدیم یک مولار در pH=8/2 (7) و بافت خاک به روش هیدرومتر (13) تعیین شدند.

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 کل به روش کو (20)، فسفرآلی به روش سوزاندن (20)، نیتروژن کل به روش کجلدال (3)، روی، مس، کادمیم، نیکل و سرب کل (37) اندازه‌گیری شدند.

یک آزمایش گلخانه‌ای در قالب طرح کاملاً تصادفی در 10 نوع خاک، در دو سطح لجن (صفر و یک درصد وزنی/وزنی) و در سه تکرار با استفاده از گیاه لوبیا قرمز انجام و پس از برداشت گیاه، خاک‌های ریزوسفری و غیرریزوسفری جدا شد. برای مطالعه ریزوسفر لوبیا 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؛ 43) و بخش غیرریزوسفری (به طول 50 میلی‌متر در دو طرف خاک ریزوسفری؛ 43) تقسیم شد. دو قسمت خاک غیرریزوسفری (توده خاک) از بخش خاک ریزوسفری توسط یک پوشش نایلونی با اندازه منافذ معین به گونه ای که به ریشه‌ها 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 اسپاتول انجام شد. رطوبت خاک‌ها به حد ظرفیت مزرعه رسانده و یک ماه پس از انکوباسیون، خاک‌ها به ریزوباکس‌ها منتقل شدند. نظر به اینکه خاک رایزوباکس‌ها نباید از لحاظ سایر عناصر غذایی کمبودی داشته باشند، به هر رایزوباکس در خاک‌های تیمار نشده با لجن فاضلاب100 میلی‌گرم پتاسیم از منبع سولفات پتاسیم و 5 میلی‌گرم آهن به صورت سکوسترین 138 در کیلوگرم خاک و 2 میلی‌گرم روی در کیلوگرم خاک از منبع سولفات روی اضافه شد. هم‌چنین، به هر ریزوباکس مقدار 20 میلی‌گرم نیتروژن درکیلوگرم خاک از منبع اوره اضافه شد (44). برای کشت گیاه، بذرهای لوبیا قرمز، رقم صیاد (*Phaseolus vulgaris*)، پس از ضدعفونی کردن با

هیپوکلریت سدیم و جوانه زدن و تلقیح با باکتری ریزوبیوم به تعداد شش عدد بذر در قسمت مرکزی ریزوباکس‌ها کشت شدند. در پایان هفته اول تعداد بذرها در هرریزوباکس به چهار عدد کاهش یافت. در طول مدت رشد، مراقبت‌های زراعی لازم انجام گردید و سعی شد گیاهان دچار تنش خشکی نشوند. 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 فعالیت فسفاتازهای قلیایی و اسیدی، کربن آلی محلول، فسفر و کربن زیست توده میکروبی نگه‌داری شدند. باقیمانده خاک ریزوباکس‌ها هوا خشک شد و برای اندازه‌گیری فسفر استخراجی با روش کلرید کلسیم رقیق (20) و فسفر آلی (20) استفاده گردید. کربن آلی محلول یا روش اکسیداسیون تر (30) تعیین شد. کربن زیست‌توده میکروبی به روش جنکینسون و پائولسون (17) و فسفر زیست‌توده میکروبی به روش بروکس و همکاران (4) اندازه‌گیری شدند. هم‌چنین برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی از روش طباطبائی و برمنر (39) استفاده شد. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی نیز از روش طباطبائی و برمنر (39) استفاده شد به استثناء اینکه پ-هاش خاک در 11/5 تنظیم گردید (10).

در نهایت در هر تیمار، اثر ریزوسفر بر ویژگی‌های اندازه‌گیری شده توسط آزمون تی تست جفت شده و بدون در نظر گرفتن نوع خاک اثر ریزوسفر و لجن بر ویژگی‌های اندازه‌گیری شده توسط تجزیه واریانس دو طرفه با استفاده از نرم‌افزار استاتیستیکا 10 (38) بررسی شد. معنی‌دار بودن تفاوت‌ها توسط آزمون دانکن و در سطح احتمال 5 درصد مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج و بحث

نتایج برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مطالعه شده در جدول 1 ارائه 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 متغیر 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. دامنه فسفر استخراجی با روش اولسن از 15/9 تا 71/9 میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. بنابراین، می‌توان گفت خاک‌های بررسی شده دارای دامنه وسیعی از نظر مقدار کربنات کلسیم معادل، رس و فسفر قابل استفاده می‌باشند.

لجن فاضلاب مورد استفاده داری پ-هاش کمی قلیایی (7/5) و شوری نسبتاًزیادی (2/25 دسی‌زیمنس بر متر) بود. مقدار کربن آلی این ترکیب 20 درصد بود که می‌تواند اثر مطلوبی بر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک داشته باشد. مقدار نیتروژن کل و فسفرکل درلجن فاضلاب شهری مورد استفاده به ترتیب 5/7 و 1/85 درصد بود. هم‌چنین مقدار کل روی و مس آن به ترتیب 1321 و 78 میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. مقدار کل کادمیم، نیکل و سرب موجود در این منبع آلی به‌ترتیب 0/91، 78 و 267 میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. مقایسه مقادیر عناصر سنگین موجود در لجن فاضلاب مورد استفاده با استانداردهای آژانس حفاظت محیط زیست آمریکا نشان داد که غلظت این عناصر در لجن فاضلاب کمتر از حداکثر غلظت استاندارد این عناصر (حداکثر غلظت استاندارد عناصر روی، مس، کادمیم، نیکل و سرب به‌ترتیب 7500، 4300، 85، 420، و 840 میلی‌گرم بر کیلوگرم؛ 41) بود.

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

Table 1- Physicochemical properties of the studied soils

خاک (Soil)	پ-اچ (pH)	هدایت الکتریکی (EC)	ظرفیت تبادل کاتیونی (CEC)	رس (Clay)	سیلت (Silt)		کربنات کلسیم ($CaCO_3$)	کربن آلی (O.C)	سفر اولسن (P_{olsen})
		$dS\ m^{-1}$	$cmol_+\ kg^{-1}$	%			$g\ kg^{-1}$		$mg\ kg^{-1}$
1	8.0	0.36	14.2	37	35	35	421	3.1	24.7
2	8.0	0.38	23.7	48	40	40	162	5.0	15.9
3	8.0	0.46	10.3	45	33	33	410	4.3	17.5
4	8.0	0.42	12.4	49	56	56	475	4.1	19.1
5	8.0	0.46	29.4	52	43	43	388	5.4	18.1
6	7.9	0.59	33.3	55	30	30	267	8.4	22.4
7	8.1	0.36	16.3	37	44	44	325	5.1	40.1
8	8.1	0.59	25.9	49	39	39	266	13.9	32.0
9	8.0	0.61	18.9	37	47	47	210	10.4	71.9
10	8.0	0.26	10.3	13	25	25	190	7.0	16.8

نتایج اثر ریشه لوبیا (خاک‌های ریزوسفر) بر پ-هاش، کربن آلی محلول، فسفر استخراجی با عصاره‌گیر کلرید کلسیم و فسفر آلی در خاک‌های تیمار نشده و تیمار شده با لجن فاضلاب شهری در جدول 2 گزارش شده است. در خاک‌های تیمار نشده، مقادیر پ-هاش و فسفر آلی در خاک‌های ریزوسفری و غیرریزوسفری تفاوت معنی‌داری (P>0/05) نداشتند. یک دلیل محتمل برای عدم مشاهده کاهش پ-هاش قابل ملاحظه در خاک‌های ریزوسفری مطالعه شده به دلیل وجود مقدار قابل ملاحظه کانی‌های کربناتی در خاک‌های مطالعه شده می‌باشد. به هر حال برای نتیجه‌گیری قطعی در این رابطه آزمایشات بیشتر و تکمیلی و اندازه‌گیری پ-هاش درجا مورد نیاز است. لیکن، مقدار کربن آلی محلول و فسفر استخراجی با عصاره‌گیر کلرید کلسیم در خاک‌های ریزوسفری بدون توجه به نوع خاک‌ها با مقادیر این ویژگی‌ها در خاک‌های غیرریزوسفری متفاوت بود (P≤0/05). دامنه تغییرات کربن آلی محلول در خاک‌های ریزوسفری از 47 تا 214 و در خاک‌های غیرریزوسفری از 44 تا 142 میلی‌گرم بر کیلوگرم متغیر و در خاک‌های ریزوسفری به‌طور معنی‌دار بیشتر از خاک‌های غیرریزوسفری بود (P≤0/05). دامنه تغییر مقدار فسفر استخراجی توسط عصاره‌گیر کلرید کلسیم 0/01 مولار در خاک‌های ریزوسفری از 0/81 تا 2/17 و در خاک‌های غیرریزوسفری از 0/85 تا 3/15 میلی-گرم بر کیلوگرم متغیر و در خاک‌های ریزوسفری کمتر از خاک‌های غیرریزوسفری بود (P≤ 0/05). دامنه مقدار فسفر آلی در خاک‌های ریزوسفری از 36 تا 98 و در خاک‌های غیرریزوسفری از 26 تا 95 میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. داده‌ها نشان داد که اثر ریزوسفر لوبیا بدون توجه به نوع خاک بر این جزء معنی‌دار نبود (P>0/05).

در خاک‌های تیمار شده با لجن فاضلاب شهری صرف‌نظر از نوع خاک مقدار پ-هاش بین خاک‌های ریزوسفری و غیرریزوسفری تفاوت معنی‌دار نداشت (P>0/05). مقادیر کربن آلی محلول و فسفر آلی در خاک‌های ریزوسفری افزایش یافتند، درحالی‌که مقدار فسفر استخراجی با عصاره‌گیر کلرید کلسیم در خاک‌های ریزوسفری کاهش یافت (P≤0/05). در تیمار لجن فاضلاب، دامنه تغییرات کربن آلی محلول در خاک‌های ریزوسفری از 67 تا 115 و در خاک‌های غیرریزوسفری از 56 تا 107 میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. دامنه مقدار فسفر استخراجی به روش کلرید کلسیم رقیق در خاک‌های ریزوسفری از 1/58 تا 3/41 و در خاک‌های غیرریزوسفری از 1/58 تا 7/17 میلی‌گرم بر کیلوگرم متغیر بود. دامنه مقدار فسفر آلی در خاک‌های ریزوسفری از 63 تا 153 و در خاک‌های غیرریزوسفری از 39 تا 98 میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. اثر ریزوسفری لوبیا بر پ-هاش،کربن آلی محلول و فسفر استخراجی با عصاره‌گیر کلرید کلسیم در خاک‌های تیمار شده مشابه خاک‌های تیمار نشده بود.

نتایج اثر ریشه لوبیا (خاک‌های ریزوسفر) بر زیست‌توده میکروبی (فسفر و کربن) و فعالیت فسفاتاز قلیایی و اسیدی در خاک‌های تیمار نشده و تیمار شده با لجن فاضلاب شهری در جدول 3 نشان داده شده است. نتایج جدول 3 نشان داد ویژگی‌های خاک‌های ریزوسفری بدون توجه به نوع خاک‌ها و سطح لجن فاضلاب با ویژگی‌های خاک‌های غیرریزوسفری متفاوت بود. در خاک‌های تیمار نشده دامنه تغییرات کربن زیست‌توده میکروبی در خاک‌های ریزوسفری از 58 تا 129 و در خاک‌های غیرریزوسفری از 48 تا 98 میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک و در خاک‌های ریزوسفری به‌طور معنی‌داری بیشتر از خاک‌های غیرریزوسفری بود (P≤0/05). دامنه فسفر زیست‌توده میکروبی در خاک‌های ریزوسفری از 3/2 تا 31/3 میلی‌گرم بر کیلوگرم و در خاک‌های غیرریزوسفری از 1/5 تا 17/5 متغیر و در خاک‌های ریزوسفری به‌طور معنی‌داری بیشتر از خاک‌های غیرریزوسفری بود (P≤0/05). دامنه فعالیت فسفاتاز قلیایی در خاک‌های ریزوسفری از 80 تا 233 و در خاک‌های غیرریزوسفری از 64 تا 218 میکروگرم پی-نیترو فنل فسفات بر گرم خاک در ساعت متغیر بود. دامنه فعالیت فسفاتاز اسیدی در خاک‌های ریزوسفری از 73 تا 107 و در خاک‌های غیرریزوسفری از 53 تا 95 میکروگرم پی-نیترو فنل فسفات بر گرم خاک در ساعت متغیر بود. فعالیت فسفاتازها در خاک‌های ریزوسفری بیشتر از خاک‌های غیرریزوسفری بود (P≤0/05).

در خاک‌های تیمار شده با لجن فاضلاب شهری دامنه تغییرات کربن زیست‌توده میکروبی در خاک‌های ریزوسفری از 76 تا 145 و در خاک‌های غیرریزوسفری از 61 تا 108 میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک متغیر و در خاک‌های ریزوسفر بیشتر از خاک‌های غیرریزوسفری بود (P≤0/05). دامنه تغییرات فسفر زیست‌توده میکروبی در خاک‌های ریزوسفری از 9 تا 39 و در خاک‌های غیرریزوسفری از 4 تا 17 میلی-گرم بر کیلوگرم خاک بود. مقدار فسفر زیست‌توده میکروبی نیز در خاک‌های ریزوسفر بیشتر از خاک‌های غیرریزوسفری بود (P≤0/05). دامنه مقدار فعالیت فسفاتاز قلیایی در خاک‌های ریزوسفر از 83 تا 148 میکروگرم پی نیترو فنل فسفات بر گرم خاک در ساعت و در خاک‌های غیرریزوسفری از 44 تا 107 میکروگرم پی نیترو فنل فسفات بر گرم خاک در ساعت بود. دامنه تغییرات فسفاتاز اسیدی در خاک‌های ریزوسفری از 52 تا 121 و در خاک‌های غیرریزوسفری از 38 تا 105 میکروگرم پی-نیترو فنل فسفات بر گرم خاک در ساعت بود. فعالیت فسفاتازها در خاک‌های ریزوسفر بیشتر از خاک‌های غیرریزوسفری بود (P≤0/05). اثر ریزوسفری بر کربن و فسفر زیست‌توده میکروبی، و بر فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز در خاک‌های تیمار شده مشابه خاک‌های تیمار نشده بود.

بررسی نتایج نشان داد کربن آلی محلول در خاک‌های ریزوسفری خاک‌های تیمار نشده و تیمار شده بیشتر از خاک‌های غیرریزوسفری بود. تولید و مصرف کربن آلی محلول عمدتاً به فعالیت میکروبی،

فعالیت ریشه و تعادل با فازجامد بستگی دارد. در ریزوسفر، ورودی کربن آلی محلول شامل مواد حاصل از فرایندهای متابولیکی ریزجانداران و ترشحات گیاه است و غلظت کربن آلی محلول در فاز محلول توسط ویژگی‌های جذب خاک و تأمین و مصرف کربن آلی محلول کنترل می‌شود. طبق گزارش خوشگفتار منش (19) رها شدن مقدار زیادی اسیدهای آلی به داخل ریزوسفر نه تنها رشد باکتری‌های موجود در ریزوسفر را افزایش می‌دهد بلکه یک ماده شیمیایی جذاب بوده که سبب حرکت ریزجانداران پویا نظیر باکتری‌های تاژک‌دار و هیف قارچها به‌سمت ریشه می‌شود.

نتایج نشان داد که در خاک‌های تیمار نشده و تیمار شده زیست‌توده میکروبی (کربن و فسفر) نیز در خاک‌های ریزوسفری بیشتر از خاک‌های غیرریزوسفری بود ($P\leq0/05$) که با افزایش کربن آلی محلول در خاک‌های ریزوسفری هم‌خوانی دارد. افزایش فعالیت فسفاتاز اسیدی در خاک ریزوسفری هر خاک نسبت به خاک غیرریزوسفری، با کاهش فسفر محلول در خاک ریزوسفری منطبق است. کاهش فسفر محلول، افزایش ریزجانداران و تجمع ترشحات ترکیبات آلی محلول قابل تجزیه و با پخشیدگی محدود احتمالاً دلیل افزایش فعالیت فسفاتاز قلیایی در خاک‌های ریزوسفری می‌باشد.

جدول 2- اثرریزوسفر لوبیا بر پ-هاش، کربن آلی محلول، فسفر محلول و فسفر آلی در خاک‌های تیمار نشده و تیمار شده با لجن فاضلاب شهری

Table 2- The rhizosphere effects of bean over pH, dissolved organic carbon (DOC), solution phosphorus (P_{CaCl2}) and organic phosphorus (OP) in the soils un-amended and amended with sewage sludge

خاک	فسفر آلی (OP)		فسفر محلول* (P_{CaCl2})		کربن آلی محلول (DOC)		پ-هاش (pH)	
	mg-P kg_{-1}		mg-P kg^{-1}		mg-C kg^{-1}			
(soil)	ریزوسفر rhizosphere	غیرریزوسفر bulk	ریزوسفر rhizosphere	غیرریزوسفر bulk	ریزوسفر rhizosphere	غیرریزوسفر bulk	ریزوسفر rhizosphere	غیرریزوسفر bulk
تیمارنشده(un-amended)								
1	39	39	1.08	1.13	51	44	8.0	8.0
2	54	39	1.11	1.12	67	64	8.0	8.0
3	41	51	1.14	`.34	57	45	8.0	8.0
4	58	51	1.21	1.27	69	52	8.1	8.1
5	65	53	1.22	1.26	88	52	7.9	8.0
6	96	71	1.11	1.22	84	80	7.9	8.0
7	88	61	1.13	1.30	91	79	8.1	8.1
8	63	95	1.11	1.34	214	142	8.2	8.2
9	98	92	2.17	3.15	110	71	7.9	8.1
10	36	26	0.81	0.85	47	48	8.1	8.0
میانگین (mean)	64A	59A	1.2B	1.48A	88A	68B	8.0A	8.1A
تیمارشده (amended)								
1	86	44	2.21	2.65	87	56	7.9	8.0
2	72	39	2.28	2.46	105	78	8.0	8.1
3	84	49	1.72	2.24	78	68	7.9	8.0
4	63	58	1.68	2.20	105	88	7.9	8.2
5	63	48	1.66	1.94	115	107	7.9	8.1
6	108	71	1.59	1.93	104	95	8.0	8.2
7	93	77	1.63	2.43	114	91	7.9	8.1
8	153	98	1.58	1.58	110	82	8.3	8.3
9	152	86	3.41	7.17	106	86	8.2	8.2
10	51	41	1.90	3.00	67	56	8.0	8.0
میانگین (mean)	92A	61B	2.0B	2.7A	99A	81B	8.1A	8.0A

حروف مشابه برای هر خصوصیت نشان می‌دهد میانگین‌ها به‌طور معنی‌داری در سطح احتمال 95 درصد بین خاک ریزوسفری و غیرریزوسفری متفاوت نمی‌باشند.

Means followed by the same letter are not different ($P\leq0.05$) between environment types (rhizosphere, bulk)

OP: organic P; DOC: dissolved organic C.

جدول 3- اثرریزوسفر لوبیا بر برخی از ویژگی‌های میکروبیولوژیکی در خاک‌های تیمار نشده و تیمار شده با لجن فاضلاب شهری

Table 3- The rhizosphere effects of bean over some biological properties in the soils un-amended and amended with sewage sludge

خاک	فسفاتاز قلیایی (AlP)		فسفاتاز اسیدی (AcP)		فسفر زیست‌توده میکروبی (MBP)		کربن زیست‌توده میکروبی (MBC)	
	μg PNP (g_{soil} h)$^{-1}$				mg-P kg^{-1}		mg-C kg^{-1}	
(soil)	ریزوسفر rhizosphere	غیرریزوسفر bulk	ریزوسفر rhizosphere	غیرریزوسفر bulk	ریزوسفر rhizosphere	غیرریزوسفر bulk	ریزوسفر rhizosphere	غیرریزوسفر bulk
				تیمارنشده(un-amended)				
1	80	64	73	53	3.2	2.8	64	52
2	144	97	85	56	5.3	5.0	84	68
3	109	74	102	75	7.6	5.5	75	48
4	92	68	75	77	7.3	6.5	73	63
5	116	124	83	67	10.1	9.2	97	63
6	163	147	93	83	3.5	1.5	58	56
7	154	107	76	60	11.5	6.3	129	81
8	213	140	99	93	13.9	13.5	82	85
9	233	218	107	95	31.3	17.5	117	98
10	165	114	95	100	8.4	5.0	72	68
میانگین (mean)	147A	115B	89A	76B	10.2A	7.3B	85A	68B
				تیمارشده (amended)				
1	99	44	57	38	18	4	76	61
2	84	70	52	46	17	7	120	74
3	95	49	78	52	25	6	91	63
4	83	65	65	58	9	7	91	77
5	109	81	66	50	13	9	98	81
6	114	107	91	55	11	6	106	94
7	136	105	66	46	9	6	137	90
8	148	102	121	105	20	13	127	100
9	137	89	88	80	39	17	145	108
10	99	94	89	66	12	8	96	71
میانگین (mean)	110A	81B	77A	60B	17A	8B	109A	82B

حروف مشابه برای هر خصوصیت نشان‌دهنده میانگین‌ها به‌طور معنی‌داری در سطح احتمال 95 درصد بین خاک ریزوسفری و غیرریزوسفری متفاوت نمی‌باشند.

means followed by the same letter are not different (P≤0.05) between environment types (rhizosphere, bulk)

OP: organic P; AlP: alkaline phosphatase; AcP: acid phosphatase; MBP: microbial biomass P; MBC: microbial biomass C; DOC: dissolved organic C.

تأثیر مثبت ریزوسفر بر ویژگی‌های میکروبیولوژیکی خاک توسط محققان دیگر گزارش شده است (6؛ 9؛ 15؛ 27 و 45). مارشنر و همکاران (27) گزارش کردند که مقدار فسفر زیست‌توده میکروبی در خاک‌های با دامنه نسبتاً وسیعی از پ-هاش (4/4 تا 8/7) در ریزوسفر گندم بیشتر از خاک‌های غیرریزوسفری بود. چنگ و همکاران (6) گزارش کردند که غلظت کربن محلول در آب در خاک‌های ریزوسفری ذرت نسبت به خاک‌های غیرریزوسفری بالاتر بود. همچین افزایش کربن زیست‌توده میکروبی تشخیص داده شده در خاک‌های ریزوسفری این تحقیق در توافق با نتایج گزارش شده توسط محققان دیگر در خاک‌های ریزوسفری ذرت (15) و چاودار (9) بود. مازاد براین، زائو و همکاران (45) مقدار کربن زیست‌توده میکروبی و کربن آلی محلول بیشتری در خاک‌های ریزوسفر سه درخت بومی چین نسبت به خاک‌های غیرریزوسفری مشاهده کردند.

نسبت کربن زیست‌توده میکروبی به فسفر زیست‌توده میکروبی می‌تواند یک شاخصی از طبیعت جامعه میکروبی (1) و نیاز فسفره جامعه میکروبی باشد و یا می‌تواند نشان‌دهنده کنترل فسفر قابل دسترس گیاه در این خاک‌ها از طریق چرخه میکروبی باشد (1). فسفر معدنی و قابل دسترس خاک در فرایند غیر متحرک‌سازی (ایموبیلیزاسیون) جذب گیاهان و ریزجانداران شده و به شکل آلی در می‌آید. بنابراین، مقادیر ویژگی‌های ذکر شده در خاک‌های مورد

مطالعه محاسبه شد. مقادیر درصد فسفر زیست‌توده میکروبی از فسفر آلی و نسبت کربن زیست‌توده میکروبی به فسفر زیست‌توده میکروبی در خاک‌های تیمار نشده و تیمار شده در جدول 4 آورده شده است. در خاک‌های تیمار نشده درصد فسفر زیست‌توده میکروبی از فسفر آلی بدون توجه به نوع خاک در خاک‌های ریزوسفری بیشتر از خاک‌های غیرریزوسفری بود ($P\leq0/05$)، در حالی‌که مقدار نسبت کربن به فسفر زیست‌توده بین خاک ریزوسفری و غیرریزوسفری اختلاف معنی‌داری ($P>0/05$) نداشت. فسفر زیست‌توده میکروبی 4 تا 33 (با متوسط 16) درصد فسفر آلی را در خاک‌های ریزوسفر و 2 تا 19 (با متوسط 13) درصد فسفر آلی را در خاک‌های غیرریزوسفری شامل شد. بنابراین، از یک‌سو با توجه به مشاهده نکردن تفاوت معنی‌دار بین فسفر آلی در خاک‌های ریزوسفری و غیرریزوسفری لوبیا و از سوی دیگر وجود تفاوت معنی‌دار بین فسفر زیست‌توده و درصد فسفر زیست‌توده از فسفر آلی در خاک‌های ریزوسفری و غیرریزوسفری لوبیا به نظر می‌رسد.

جزءبندی فسفر آلی در خاک‌های ریزوسفری تغییر کرده و بخش بیشتری از فسفر آلی در در جزءهای لبایل (لازم به ذکر است که فسفر آلی استخراجی با روش بی‌کربنات سدیم به عنوان بخشی از فسفر آلی لبایل در نظرگرفته می‌شود) تجمع یافته و چرخه فسفر از طریق زیست‌توده میکروبی در خاک‌های ریزوسفری مطالعه شده می‌تواند به‌عنوان یک مکانیسم حفاظتی فسفر لبایل عمل کرده و احتمالاً در تأمین فسفر مورد نیاز گیاه دخیل باشد. دامنه نسبت کربن زیست‌توده به فسفر زیست‌توده میکروبی در خاک‌های تیمار نشده ریزوسفری از 4 تا 20 (با متوسط 11) و در خاک‌های تیمار نشده غیرریزوسفری از 6 تا 38 (با متوسط 14) متغیر بود (جدول 4). چااوهان و همکاران (8) گزارش کردند که دامنه کربن زیست‌توده میکروبی به فسفر زیست‌توده میکروبی در خاک‌های با قابلیت دسترسی پایین فسفر 45-1 می‌باشد.

جدول 4- اثر ریزوسفر لوبیا بر درصد فسفر زیست‌توده میکروبی از فسفر آلی و نسبت کربن زیست‌توده به فسفر زیست‌توده میکروبی در خاک‌های تیمار نشده و تیمار شده با لجن فاضلاب شهری

Table 4- The rhizosphere effects of bean over the ratio of microbial biomass phosphorus to organic phosphorus (MBP/OP) and ratio of microbial biomass carbon to microbial biomass phosphorus (MBC/MBP) in the soils un-amended and amended with sewage sludge

خاک	کربن زیست‌توده میکروبی به فسفر زیست‌توده میکروبی (MBC/MBP)		فسفر زیست‌توده میکروبی از فسفر آلی (%) (MBP/OP)	
(soil)	ریزوسفر rhizosphere	غیرریزوسفر bulk	ریزوسفر rhizosphere	غیرریزوسفر bulk
تیمار نشده (un-amended)				
1	20	19	8	7
2	16	14	10	10
3	10	9	18	12
4	11	10	13	13
5	10	7	16	18
6	17	38	4	2
7	11	13	13	10
8	6	7	22	14
9	4	6	33	19
10	9	15	23	19
میانگین (mean)	11A	14A	16B	13A
تیمار شده(amended)				
1	4	16	22	10
2	7	11	25	17
3	4	11	31	12
4	10	12	14	12
5	8	9	20	20
6	10	15	10	9
7	15	15	10	8
8	6	8	13	14
9	4	6	26	20
10	8	9	24	21
میانگین (mean)	8B	11A	19A	14B

حروف مشابه برای هر خصوصیت نشان‌دهنده میانگین‌ها به‌طور معنی‌داری در سطح احتمال 95 درصد بین خاک ریزوسفری و غیرریزوسفری متفاوت نمی‌باشند.

Means followed by the same letter are not different ($P\leq0.05$) between environment types (rhizosphere, bulk).

در خاک‌های تیمار شده نتایج نشان داد که درصد فسفر زیست‌توده میکروبی از فسفر آلی در خاک‌های ریزوسفری لوبیا به‌طور معنی‌داری افزایش ($P\leq0/05$) و نسبت کربن زیست‌توده میکروبی به فسفر زیست‌توده میکروبی در خاک‌های تیمار شده ریزوسفری لوبیا به‌طور معنی‌داری کاهش ($P\leq0/05$) یافتند. فسفر زیست‌توده میکروبی 10 تا 31 درصد فسفر آلی را در خاک‌های ریزوسفر و 9 تا 21 درصد فسفر آلی را در خاک‌های غیرریزوسفری شامل شد.

در خاک‌های تیمار شده، دامنه نسبت کربن زیست‌توده به فسفر زیست‌توده میکروبی در خاک‌های ریزوسفری از 4 تا 15 متغیر بود. هم‌چنین، دامنه نسبت کربن زیست‌توده به فسفر زیست‌توده میکروبی در خاک‌های غیرریزوسفری از 6 تا 16 متغیر بود (جدول 4). فسفر زیست‌توده میکروبی در تیمار لجن فاضلاب به‌طور متوسط 19 درصد فسفر آلی را در خاک‌های ریزوسفر و 14 درصد فسفر آلی را در خاک‌های غیرریزوسفری شامل شد. نسبت کربن زیست‌توده به فسفر زیست‌توده میکروبی در تیمار لجن فاضلاب به‌طور متوسط در خاک‌های ریزوسفر 8 و در خاک‌های غیرریزوسفری 11 بود. چااوهان و همکاران (5) گزارش کردند که دامنه کربن زیست‌توده میکروبی به فسفر زیست‌توده میکروبی در خاک‌های با قابلیت دسترسی بالای فسفر 12-1 بود. نسبت کربن زیست‌توده میکروبی به فسفر زیست‌توده میکروبی می‌تواند یک شاخصی از طبیعت جامعه میکروبی در خاک‌های ریزوسفری و غیرریزوسفری باشد که در مطالعه حاضر احتمالاً مقدار نیاز جامعه میکروبی در خاک‌های ریزوسفری به فسفر بیشتر از جامعه میکروبی در خاک غیرریزوسفری بوده است. بنابراین، با توجه به وجود تفاوت معنی‌دار بین فسفر آلی در خاک‌های ریزوسفری و غیرریزوسفری لوبیا و کوچکتر بودن نسبت کربن به فسفر زیست‌توده در خاک‌های ریزوسفری نسبت به خاک‌های غیرریزوسفری، رشد و مرگ ریزجانداران غنی از فسفر در خاک‌های ریزوسفری منجر به تولید بیشتر فسفر آلی در این محیط شده است (14). هم‌چنین، هر چه نسبت کربن به فسفر زیست‌توده کوچکتر باشد در درازمدت منجر به تجمع مواد آلی و در کوتاه مدت منجر به افزایش قابلیت دسترسی فسفر می‌گردد (20).

نتایج تجزیه واریانس اثر لجن، محیط (ریزوسفر و غیرریزوسفر) و اثرات متقابل عوامل ذکر شده بر ویژگی‌های میکروبیولوژیکی و شیمیایی مطالعه شده و نیز فسفر عصاره‌گیری شده توسط کلرید کلسیم در جدول 5 آورده شده است. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که از میان ویژگی‌های میکروبیولوژیکی و شیمیایی بررسی شده، تنها اثر لجن روی فسفر زیست‌توده به نوع محیط بستگی دارد.

یا به‌عبارت دیگر، اثر ریزوسفری تنها روی فسفر زیست‌توده به مصرف یا عدم مصرف لجن بستگی دارد. صرف‌نظر از نوع محیط (ریزوسفر و غیرریزوسفر) افزودن لجن فاضلاب منجر به افزایش معنی‌دار کربن آلی محلول، کربن زیست‌توده، فسفر زیست‌توده میکروبی، فسفر استخراجی با کلرید کلسیم و منجر به کاهش معنی‌دار فعالیت فسفاتازها شد (جدول 6).

در مطالعه حاضر به دنبال کاربرد لجن فاضلاب زیست‌توده میکروبی به دلیل افزایش ماده آلی و افزایش کربن قابل استفاده و تأمین عناصر غذایی دیگر (نیتروژن، فسفر و گوگرد) در خاک‌های ریزوسفری و غیریزوسفری افزایش یافته بود.

جدول 5- تجزیه واریانس اثر تیمارها بر برخی از ویژگی‌های میکروبیولوژیکی و شیمیایی

Table 5- variance analysis of the treatment effects over some biological and chemical properties

منبع تغییر (Source of variations)	درجه آزادی (Degree of freedem)	میانگین مربعات (mean squeres)						
		فسفر محلول (P_{CaCl2})	فسفر آلی (OP)	فسفاتاز قلیایی (AlP)	فسفاتاز اسیدی (AcP)	فسفر زیست‌توده میکروبی (MBP)	کربن زیست‌توده میکروبی (MBC)	کربن آلی محلول (DOC)
لجن (sewage sludge)	1	11.5**	6954**	2.56**	5820**	6.09**	1.55**	1.50**
محیط (environment)	1	1.30**	9552**	2.60**	6970**	7.94**	1.77**	1.41**
لجن×محیط (sludge*environment)	1	0.13 n.s	5078**	0.06 n.s	152n.s	1.04*	0.04 n.s	0.001 n.s
خطا (error)	116	0.12	707	0.11	340	0.33	0.06	0.13

** و * : F محاسبه شده در سطح احتمال 99، 95 درصد معنی‌دار هست و n.s: F محاسبه شده در سطح احتمال 95 درصد معنی‌دار نیست

**, *: calculated F is Significant at $P\leq0.05$ and $P\leq0.01$ respectively, n.s= Non-significant

OP: organic P; AlP: alkaline phosphatase; AcP: acid phosphatase; MBP: microbial biomass P; MBC: microbial biomass C; DOC: dissolved organic C.

جدول 6- اثر متقابل سطح لجن و محیط (ریزوسفر و غیرریزوسفر) بر ویژگی‌های بیولوژیکی مطالعه شده

Table 6- Intraction effects of sewage sludge and environment over biological properties studied

		فسفاتاز قلیایی (AlP)	فسفاتاز اسیدی (AcP)	فسفر محلول (P_{CaCl2})	فسفر آلی OP	فسفر زیست‌توده میکروبی MBP	کربن زیست‌توده میکروبی MBC	کربن آلی محلول DOC
		$h)^{-1}$ µg PNP (g_{soil}			mg-P kg^{-1}		mg-C kg^{-1}	
تیمار شده (un-amended)	ریزوسفر (rhizosphere)	110(-25)b	77(-13)b	1.97(63)b	92(44)a	17.3(70)a	109(28)a	99(14)a
	غیرریزوسفر (bulk)	81(-30)c	60(-21)c	2.72(97)a	61(6)b	8.4(10)b	82(20)b	81(19)b
میانگین (mean)		96(-27)A	68(-17)A	2.34(81)A	77(26)A	12.8(47)A	95(24)A	90(16)A
تیمار نشده (amended)	ریزوسفر (rhizosphere)	147a	89a	1.21c	64b	10.2b	85b	88b
	غیرریزوسفر (bulk)	115b	76b	1.40c	59b	7.3b	68c	68c
میانگین (mean)		131B	82B	1.30B	61B	8.7B	77B	78B

حروف بزرگ مشابه برای هر شاخص نشان می‌دهند کاربرد لجن فاضلاب بر مقدار آن شاخص تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال 95 درصد نداشته است؛ در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک کوچک باشند بر اساس آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال 95 درصد ندارند. اعداد داخل پرانتز درصد نسبی تغییر هر ویژگی بر اثر افزودن لجن فاضلاب را نشان می‌دهد.

Means followed by the same uppercase letter are not different (P≤0.05) between treatments (un-amended, amended) within columns; means followed by the same lowercase letter are not different (P≤0.05) between environment types (rhizosphere, bulk) within columns and treatments. Number in () showed relative changes in the value of indicies following application of sewage sludge. OP: organic P; AlP: alkaline phosphatase; AcP: acid phosphatase; MBP: microbial biomass P; MBC: microbial biomass C; DOC: dissolved organic C.

با کاربرد لجن فاضلاب شهری، مقدار افزایش کربن زیست‌توده در خاک‌های ریزوسفری بیشتر از خاک‌های غیرریزوسفری است، اما مقدار افزایش کربن آلی محلول در خاک‌های ریزوسفری کمتر از خاک‌های غیرریزوسفری است. بنابراین ریزوسفر لوبیا اثر تشدیدی بر تأثیر کاربرد لجن فاضلاب بر زیست‌توده میکروبی داشته است ولی مقدار ترکیبات آزاد شده در اثر فرایندهای متابولیکی ریزجانداران را کاهش داده است (جدول 6).

کاربرد لجن فاضلاب منجر به کاهش فعالیت فسفاتاز قلیایی و فسفاتاز اسیدی در خاک‌های ریزوسفری و غیرریزوسفری شد اما مقدار این اثر کاهشی در خاک‌های ریزوسفری کمتر از خاک‌های غیرریزوسفری بود. بنابراین، محیط ریزوسفر اثر اصلاح کننده بر اثر منفی کاربرد لجن فاضلاب بر فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز داشته است. بررسی نتایج نشان داد که صرف‌نظر از نوع محیط (ریزوسفر و غیرریزسفر) متوسط فسفر استخراجی با روش کلرید کلسیم در خاک‌های تیمار شده با لجن فاضلاب شهری حدود 2/34 میلی‌گرم بر کیلوگرم بود که در مقایسه با مقدار فسفر استخراجی توسط همین عصاره‌گیر از خاک‌های تیمار نشده (1/30 میلی‌گرم بر کیلوگرم) حدود 1/8 برابر بود. طبق تحقیقات گذشته اثر ممانعت کننده فسفر بر فعالیت فسفاتاز اسیدی بیشتر از طریق ممانعت از سنتز فسفاتاز اسیدی جدید می‌باشد تا ممانعت از فعالیت فسفاتاز اسیدی قدیمی (36). از طرف دیگر یون فسفات بسته به غلظت آن و نوع خاک با درجه¬ی متفاوتی از فعالیت فسفاتازهای اسیدی و قلیایی می¬تواند ممانعت کند (18). بنابراین، به نظر می-رسد این سطح فسفر در خاک‌های تیمار شده می¬تواند حداقل بخشی از کاهش فعالیت آنزیم¬های فسفاتاز در خاک‌های تیمار شده را توجیه نماید. لیما و همکاران (23) گزارش کردند با کاربرد لجن فاضلاب کربن زیست‌توده میکروبی افزایش یافت اما فعالیت فسفاتاز کاهش یافت. هم‌چنین، نتایج ردی وهمکاران (33) حاکی از کاهش فعالیت آنزیم فسفاتاز در خاک‌های ریزوسفری و غیر ریزوسفری کشت سویا در خاک تیمار شده با لجن فاضلاب نسبت به خاک تیمار نشده بود.

به طورکلی در تحقیق حاضر، اگر چه کاربرد لجن فاضلاب ویژگی‌های میکروبیولوژیکی را تحت‌تأثیر قرار داده است اما به نظر می‌رسد اثر منفی روی مسیرهای بیوشیمیایی در ارتباط با چرخه عناصر غذایی از جمله فسفر داشته است. بررسی نتایج نشان داد که مقدار کاهش فعالیت انزیم‌های فسفاتاز در خاک‌های ریزوسفری کمتر از خاک‌های غیرریزوسفری است. بنابراین محیط ریزوسفر اثر اصلاح کننده بر اثر منفی کاربرد لجن فاضلاب بر فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز داشته است.

فعالیت فسفاتاز اسیدی به سطح کمبود فسفر در تغذیه گیاه مربوط می‌باشد (22 و 31). طبق گزارش نیوروزامان و همکاران (31) فعالیت فسفاتاز اسیدی در ریزوسفر گیاهان لگوم و گندم تحت شرایط کمبود فسفر هم در غلات و هم در لگوم‌ها بیشتر بود. طبق گزارش لی و همکاران (22) فعالیت فسفاتازهای اسیدی و قلیایی در ریزوسفر دو ژنوتیپ برنج بررسی شده در این تحقیق در مقایسه با خاک غیر ریزوسفری تحت کمبود فسفر، بیشتر افزایش یافت. بنابراین، در تحقیق حاضر با توجه به سطح پایین‌تر فسفر در خاک‌های ریزوسفری

نسبت به خاک‌های غیرریزوسفری بخشی از اثر منفی کاربرد لجن فاضلاب بر فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز در خاک‌های ریزوسفری جبران شده است.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج نشان داد که در خاک‌های تیمار نشده و تیمار شده در کشت لوبیا زیست‌توده میکروبی (کربن و فسفر) در خاک‌های ریزوسفری بیشتر از خاک‌های غیرریزوسفری بود ($P\leq 0/05$). افزایش فسفر محلول به دنبال کاربرد لجن فاضلاب می‌تواند از فعالیت فسفاتاز اسیدی از طریق ممانعت از تولید آنزیم جدید جلوگیری کند. کاهش فسفر محلول و تجمع ترشحات ترکیبات آلی محلول قابل تجزیه و با پخشیدگی محدود احتمالاً دلیل افزایش فعالیت فسفاتاز قلیایی در خاک‌های ریزوسفری می‌باشد. در مطالعه حاضر در کشت لوبیا، کربن زیست‌توده میکروبی و فسفر زیست‌توده میکروبی در خاک‌های ریزوسفری و غیرریزوسفری تیمار شده با لجن فاضلاب افزایش یافته بود. هم‌چنین، مقدار افزایش فسفر زیست‌توده در خاک‌های ریزوسفری بیشتر از خاک‌های غیرریزوسفری بود. نتایج نشان داد که در کشت لوبیا فعالیت فسفاتاز قلیایی و اسیدی در خاک‌های تیمار شده با لجن فاضلاب کمتر از خاک‌های تیمار نشده بود. بنابراین، اگر چه کاربرد لجن فاضلاب ویژگی‌های بیولوژیکی را تحت‌تأثیر قرار داده است اما به نظر می‌رسد اثر منفی روی مسیرهای بیوشیمیایی در ارتباط با سیکل عناصر غذایی از جمله فسفر در خاک‌های ریزوسفری و غیرریزوسفری داشته است.

منابع

1- Agbenin J.O., and Adeniyi T. 2005. The microbial biomass properties of a savanna soil under improved grass and legume pastures in northern Nigeria. Agriculture, Ecosystems and Environment, 109: 245–254.
2- Balík J., Pavlíková D., Vaněk V., Kulhánek M., and Kotková B. 2007. The influence of long-term sewage sludge application on the activity of phosphatases in the rhizosphere of plants. Plant and Soil Environment, 53: 375–381.
3- Bremner J.M. 1996. Nitrogen-total. p. 1085-1121. In: D.L. Sparks (ed.) Methods of Soil Analysis. Part 3 chemical methods. SSSA, Madison, WI.
4- Brookes P.C., Powlson D.S., and Jenkinson D.S. 1982. Measurement of microbial biomass phosphorus in soil. Soil Biology and Biochemistry, 14: 319-329.
5- Chauhan B.S., Stewart J.W.B., and Paul E.A. 1981. Effect of labile inorganic phosphate status and organic carbon additions on the microbial uptake of phosphorus in soil. Canadian Journal of Soil Science, 61 373–385.
6- Cheng W., Zhang Q., and Coleman D.C. 1996. Is available carbon limiting microbial respiration in the rhizosphere?. Soil Biology and Biochemistry, 28: 1283-1288.
7- Chpman H.D. 1965. Cation exchange capacity. p. 891-901. In: C.A. Black (ed.) Methods of Soil Analysis. Part 2 chemical methods. SSSA, Madison, WI.
8- Demoling, F., Figueroa, D., and Baath, E., 2007. Comparison of factors limiting bacterial growth in different soils. Soil Biology and Biochemistry, 39: 2485-2495.
9- De Neergaard A., and Magid J. 2001. Influence of the rhizosphere on microbial biomass and recently formed organic matter. Europian Journal of Soil Science, 52: 377-384.
10- Eivazi F., and Tahatahai M.A. 1977. Phosphatase in soils. Soil Biology and Biochemistry, 9: 167-172.
11- Fernandes S.A.P., Bettiol W., and Cerri C.C. 2005. Effect of sewage sludge on microbial biomass basal respiration metabolic quotient and soil enzymatic activity. Applied Soil Ecology, 30: 65–77.
12- George T.S., Gregory P.J., Wood M., Read D., and Buresh R.J. 2002. Phosphatase activity and organic acids in the rhizosphere of potential agroforestry species and maize. Soil Biology and Biochemistry, 34: 1487-1494.
13- Gee G.H., and Bauder J.W. 1986. Particle size analysis. p. 383-409. In: A. Klute (ed.) Methods of Soil Analysis. Part 2 physical properties. SSSA, Madison, WI.
14- Hedley M.J., Stewart J.W.B., and Chauhan B.S. 1982. Changes in inorganic and organic soil phosphorus fractions by cultivation practice and by laboratory incubations. Soil Science Society of America Journal, 46:970–976.
15- Helal H.M., and Sauerbeck D. 1989. Carbon Turnover in the Rhizosphere. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 152: 211-216.
16- Hinsinger P. 1998: How do plant roots acquire mineral nutrients? Chemical processes involved in the rhizosphere. Advances in Agronomy, 64: 225-26.
17- Jenkinson D.S., and Ladd J. N. 1981. Microbial biomass in soil: measurement and turnover. p. 415-471. In: E.A. Paul and J.N. Ladd (eds.) Soil Biochemistry. Vol. 5 Marcel Dekker, New York.
18- Juma N.G., and Tabatabai M.A. 1977. Effects of trace elements on phosphatase activity in soils. Soil Science Society of America Journal, 41: 343–346.
19- Khoshgoftarmanesh A.H. Advanced Topics in plant nutrition. Isfahan University of Technology Publisher, Isfahan. (in Persian)

20- Kuo S. 1996. Phosphorus. p. 869-920. In: D.L. Sparks (ed.) Methods of Soil Analysis. Part 3 chemical methods. SSSA, Madison, WI.
21- Kwabiah A.B., Palm C.A., Stoskopf N.C., and Voroney R.P. 2003. Response of soil microbial biomass dynamics to quality of plant materials with emphasis on P availability. Soil Biology and Biochemistry, 35: 207–216.
22- Li Y.F., Luo A.C., Wei X.H., and Yao X.G. 2008. Changes in phosphorus fractions pH and phosphatase activity in rhizosphere of two rice genotypes. Pedosphere, 18: 785-794.
23- Lima J.A., Nahas E., and Gomes A.C. 1996. Microbial populations and activities in sewage sludge and phosphate fertilizer-amended soil. Applies Soil Ecology, 4: 75-82.
24- Liu L., Gundersen P., Zhang T., andMo J.M. 2012. Effects of phosphorus addition on soil microbial biomass and community composition in three forest types in tropical China. Soil Biology and Biochemistry, 44:31-38.
25- Loeppert R.H., and Sparks D.L. 1996. Carbonate and gypsum. p. 437-474. In: D.L. Sparks (ed.) Methods of Soil Analysis. Part 3 chemical methods. SSSA, Madison, WI.
26- Lukito H.P., Kouno K., and Ando T. 1998. Phosphorus requirement of microbial biomass in a regosol and an andosol. Soil Biology and Biochemistry, 30: 865-872.
27- Marschner P., Solaiman Z.M., and Rengel Z. 2005. Growth phosphorus uptake and rhizosphere microbial community composition of a phosphorus-efficient wheat cultivar in soils differing in pH. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 168: 343-351.
28- Marschner P., Crowley D., and Rengel Z. 2011. Rhizosphere interactions between microorganisms and plants govern iron and phosphorus acquisition along the root axis e model and research methods. Soil Biology and Biochemistry, 43: 883-894.
29- Murphy J., and Riley J.P. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. Analytical Chemical Acta, 27: 31-36.
30- Nelson D.W., and Summers L.E. 1996. Total carbon organic carbon and organic matter. p. 961-1011. In: D.L. Sparks (ed.) Methods of Soil Analysis. Part 3 chemical methods. SSSA, Madison, WI.
31- Nuruzzaman M., Lambers H., Bolland M.D.A., and Veneklaas E.J. 2006. Distribution of carboxylates and acid phosphatase and depletion of different phosphorus fractions in the rhizosphere of a cereal and three grain legumes. Plant and Soil, 281: 109-12.
32- Olsen S.R., and L.E. Sommers. 1982. Phosphorus. p. 4013-430. In: A. Klute (ed.) Methods of Soil Analysis. Part1 chemical and biological properties. SSSA, Madison, WI.
33- Reddy G.B., Faza A., and Benneit R. 1987. Activity of enzymes in rhizosphere and non-rhizosphere soils amended with sludge. Soil Biology and Biochemistry, 19: 203-205.
34- Rhoades J.D. 1996. Salinity Electerical conductivity and total dissolved solids. p. 417-437. In: D.L. Sparks (ed.) Methods of Soil Analysis. Part 3 chemical methods. SSSA, Madison, WI.
35- Safari Senjani. 2003. Soil Biology and Biochemistry. Bu Ali Sina Univ. Press, Hamedan. in Persian)
36- Spiers G.A., and McGill W.B. 1979. Effects of phosphorus addition and energy supply on acid phosphatase production and activity in soils. Soil Biology and Biochemistry, 11: 3–8.
37- Sposito G., Lund L.J., and Chang A.C. 1982. Trace Metal chemistry in aird-zone field soils amended sewage sludge: I. Fractionation of Ni Cu Zn Cd Pb in solid phases. Soil Science Society of America Journal, 46: 260-264.
38- StatSoft, Inc. 2010. STATISTICA (data analysis software system), Version 10. www. Statsoft.com.
39- Tabatabai M.A., and Bremner J.M. 1969. Use of *p*-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. Soil Biology and Biochemistry, 1: 301-307.
40- Thomas G.W. 1996. Soil pH and soil acidity. p. 475-491. In: D.L. Sparks (ed.) Methods of Soil Analysis. Part 3 chemical methods. SSSA, Madison, WI.
41- USEPA. 1995. Land application of sewage sludge and domestic septage. Section 503. EPA/625/R-95/001 USEPA. Washington.
42- Waldrip H., He M.Z., and Erich M.S. 2011. Effects of poultry manure amendment on phosphorus uptake by ryegrass soil phosphorus fractions and phosphatase activity. Biology and Fertility of Soils, 47: 407-418.
43- Youssef R.A., and Chino M. 1988. Development of a new rhizobox system to study the nutrient status in the rhizosphere. Soil Science of Plant Nutrition, 34: 461–465.
44- Zarenia M. 2011. Evaluation of different extractants for the determination of Pinto bean (*Phaseolus vulgaris* Var. Chiti) available potassium in some chaharmahal va Bakhtiari province. MS. Thesis, Shahrekord Univ. Shahrekord, Iran. (in Persian with English abstract)
45- Zhao Q., Zeng D., and Fan Z. 2010. Nitrogen and phosphorus transformations in the rhizospheres of three tree species in a nutrient-poor

Journal of Water and Soil
Vol. 29, No. 4, Sept.-Oct. 2015, p. 1033-1045

نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد 29، شماره 4، مهر – آبان 1394، ص. 1045-1033

The Influence of Bean Rhizosphere on Some Chemical and Biological Properties in Soils Amended with Municipal Sewage Sludge

T. Raiesi[1*] -A. Hosseinpur[2]-F. Raiesi[3]

Received: 25-12-2013
Accepted: 15-08-2015

Introduction: The biological and chemical conditions of the rhizosphere are known to considerably differ from those of the bulk soil, as a consequence of a range of processes that are induced either directly by the activity of plant roots or by the activity of rhizosphere microflora (16). Municipal sewage sludge (MSS) applied to agricultural soils is a well known reusable source of phosphorus (P), nitrogen (N) and other macro- and micro-nutrients (33). Sludge provides a short-term input of plant-available nutrients and stimulation of microbial activity, and it contributes to long term maintenance of nutrient and organic matter pools (33). Availability of P following application of MSS can be influenced by microbial and chemical properties of the soil, MSS composition, and rhizosphere processes. The specific interrelationships between these components have proven to be complex and, despite continued study, a thorough understanding of the interactions among plant roots, manure P, and P solubility has yet to be achieved (42). Little quantitative information is available about the chemical and biological properties in the rhizosphere of bean plant growing in soils un-amended and amended with MSS. Therefore, the objectives of this research were to evaluate the rhizospheric effects of bean on chemical and biological properties in 10 calcareous soils as amended with municipal sewage sludge (MSS) or unamended (control) under rhizobox conditions.

Materials and Methods: Ten surface soil samples (0–30 cm) were collected from Chaharmahal-Va-Bakhtiari province, in the central Iran. Municipal sewage sludge was used from the refinery of Shahrekord city, central Iran. Air dried and sieved (<2 mm) samples (4 kg) of soils were mixed thoroughly with MSS at rates equivalent to 10 g air-dried sludge kg^{-1} soil, equivalent to an approximate field rate of 39 Mg dried sludge ha^{-1} to a soil depth of 30 cm. In control soils, to ensure a sufficient supply of essential nutrient elements, basal nutrients including nitrogen (20 mg kg^{-1} N as urea), potassium (100 mg kg^{-1} K as K_2SO_4), iron (5 mg kg^{-1} Fe as sequestrine), and zinc (2 mg kg^{-1} Zn as $ZnSO_4$) were added to soils (44). In this study, rhizosphere properties were studied using a rhizobox. The dimensions of the rhizobox were 180 × 132 × 160 (length × width × height, mm). The rhizobox consisted of three compartments, central compartment or rhizosphere zone (32 mm in length), which was surrounded by nylon cloth, and left and right non-rhizosphere zones (50 mm in length). Bean plant was planted in completely randomized design with three replications. After the harvest, rhizoboxes were dismantled. Alkaline phosphatase, acid phosphatase, dissolved organic carbon, microbial biomass carbon, microbial biomass P, organic P, and available P ($CaCl_2$-P) were determined in the rhizosphere and bulk soils. All data are represented as mean of three replicates. In each of the treatments (un-amended or amended soils), the significant differences between the studied properties in the rhizosphere and bulk soils were determined by using paired-samples t-test. The effects of sewage sludge and environment (rhizosphere and bulk) over the chemical and biological properties were evaluated using the two-ways ANOVA. The effects were considered statistically significant at $P \leq 0.05$. The Duncan's new multiple range tests were used to compare treatments means. The statistical analyses were performed using STATISTICA 10.

Results and Discussion: The selected soils were alkaline (pH=7.9-8.1) and non-saline (EC=0.26-0.61 dS m^{-1}). Clay content ranged from 13 to 55 %. The CEC ranged from 10.3 to 33.3 $cmol_c$ kg^{-1}. Organic carbon contents ranged from 3.1 to 13.9 g kg^{-1}. The equivalent $CaCO_3$ ranged from 162 to 475 g kg^{-1} .Olsen P ranged from 15.9 to 71.9 mg kg^{-1} (Table 1). The used MSS were alkaline (pH=7.5) and saline (EC=2.25 dS m^{-1}). Also, the MSS had 15.4 g N kg^{-1} and 18.5 g P kg^{-1}. The amount of total Zn, Cu, Cd and Pb in this organic source were 1370, 77, 0.91 and 267 mg kg^{-1}, respectively. The results of comparison of dissolved organic C, phosphatase enzymes, microbial biomass carbon and microbial biomass P between the rhizosphere soils and the bulk soils illustrated that the mentioned properties in the rhizosphere soils in comparison to the bulk soils were increased significantly (Tables 2 and 3), with and without MSS application. The microbial biomass is a key factor in soil nutrient cycling and in plant nutrition. The overall effect of plant-microbe interaction is an increase in microbial biomass

1- Horticultural Science Research Institute, Citrus and Subtropical Fruit Research Center, Agricultural Research and Education Organization (AREO), Ramsar, Iran
(*- Corresponding Auther Email: taraiesi@gmail.com)
2, 3- Professors of Soil Science Department, Faculty of Agriculturem, Shahrekord University

in the rhizosphere, owing to the high supply of organic carbon by roots and soils (Table 2). Dissolved organic C increase in the rhizosphere could be due to both plant root exudates and microbial populations. It is well known that the root exudates serve as carbon source to heterotrophic microbial populations. The accumulation of dissolved organic C and microbial biomass C in the rhizosphere compared to bulk soil reported in the other studies (44). The contents of $CaCl_2$-P in the rhizosphere were lower than those in the bulk soils due to the P uptake by plant and microorganisms (Table 2). The main effects of sewage sludge and environment over $CaCl_2$-P, dissolved organic C, phosphatase enzymes, microbial biomass carbon and microbial biomass P were significant, while the interaction effects of environment × sewage sludge only over microbial biomass P and organic P were significant (Table 5 and 6).The values of dissolved organic carbon, microbial biomass carbon, and available P significantly increased with the application of MSS, both in the rhizosphere and the bulk soils, while phosphatase enzymes significantly decreased (Tables 6).

Conclusion: The results showed that phosphatase enzymes, dissolved organic carbon, microbial biomass carbon and microbial biomass P strongly increased in the rhizosphere soil compared with the bulk soil, with and without MSS. Also, the amount of P extracted with $CaCl_2$ in the rhizosphere was lower compared to the bulk soils. The values of dissolved organic carbon, microbial biomass P, microbial biomass carbon, and available P significantly increased with the application of MSS, both in the rhizosphere and the bulk soils, while phosphatase enzymes significantly decreased.

Keywords: Available P**,** Calcareous soils, Microbial biomass, Phosphatase enzymes