

ارزیابی فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی و قابلیت استفاده شکل‌های مختلف فسفر برای گیاه لوبیا (*Phaseolus vulgaris*) در تعدادی از خاک‌های آهکی تیمار شده با لجن فاضلاب شهری

طاهره رئیسی^{۱*} و علیرضا حسین پور^۱

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۵/۲۷؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۵/۷)

چکیده

برای ارزیابی ارتباط بین اجزای مختلف فسفر و آنزیم فسفاتاز قلیایی با شاخص‌های گیاه لوبیا در ۱۰ نوع خاک آهکی تیمار شده با لجن فاضلاب شهری از استان چهارمحال و بختیاری، پژوهشی در گلخانه اجرا شد. در ابتدا، نمونه‌های خاک تهیه شده یک ماه با لجن فاضلاب شهری در نرخ معادل با ۱٪ وزنی/وزنی خوابانیده شدند. سپس، شکل‌های مختلف فسفر که شامل فسفر پیوند شده به اکسیدهای آهن و آلومینیوم $[\text{NaOH}+\text{CB}]-\text{P}$ ، فسفر مسدود شده در اکسیدهای آهن $(\text{CBD}-\text{P})$ و فسفر در ارتباط با کلسیم $(\text{HCl}-\text{P})$ ، به روش عصاره‌گیری مرحله‌ای اولسن و سامرز تعیین شد. هم‌چنین، فسفر کل، فسفر آلی (OP) و فسفر باقی‌مانده $(\text{Residual}-\text{P})$ نیز تعیین شدند. فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی نیز مورد ارزیابی قرار گرفت. سپس، به منظور بررسی شاخص‌های گیاه لوبیا، یک کشت گلدانی در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در ده نوع خاک اجرا شد. نتایج نشان داد که فراوانی اجزای فسفر عمدتاً به صورت زیر کاهش یافت: $\text{CBD}-\text{P} < \text{OP} < [\text{NaOH}+\text{CB}]-\text{P} < \text{Residual}-\text{P} < \text{HCl}-\text{P}$. هم‌چنین، همبستگی معنی‌داری بین فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی با جزء $\text{CBD}-\text{P}$ ، فسفر آلی و فسفر کل وجود داشت. به علاوه، اجزای $[\text{NaOH}+\text{CB}]-\text{P}$ و $\text{HCl}-\text{P}$ همبستگی معنی‌داری با فسفر جذب شده توسط بخش هوایی لوبیا داشتند. به طور کلی، نتایج این تحقیق نشان داد که روش جزء‌بندی مرحله‌ای فسفر می‌تواند ابزار ارزشمندی در تعیین وضعیت فسفر خاک‌ها و قابلیت دسترسی این عنصر برای گیاهان در خاک‌های تیمار شده با لجن فاضلاب شهری فراهم کند.

واژه‌های کلیدی: لجن فاضلاب، جزء‌بندی فسفر، فسفاتاز قلیایی

مقدمه

معدنی است، این مطلب می‌تواند تا حدودی درست باشد (۳۱). قابلیت دسترسی فسفر برای گیاه به شکل‌های فسفر و مقدار فسفر در خاک بستگی دارد. واکنش کود فسفره در خاک‌های آهکی شامل واکنش‌های پیچیده‌ای است که فرآیندهای جذب و رسوب را در بر می‌گیرند. جذب می‌تواند فرآیند غالب در مقادیر کاربرد کم فسفر و رسوب فرآیند غالب در مقادیر زیاد کاربرد فسفر باشد. اطلاع از شکل‌های غالب فسفر ناشی از

کاربرد لجن فاضلاب شهری نه تنها فسفر قابل دسترس را افزایش می‌دهد، بلکه تثبیت شدن فسفر در خاک را کاهش داده و ظرفیت واجدبندی فسفر را افزایش می‌دهد (۸ و ۳۳). هم‌چنین، لجن فاضلاب می‌تواند به عنوان یک منبع کودی فسفردار معادل با کودهای شیمیایی معدنی برای گیاه حائز اهمیت تلقی گردد (۱۸). نظر به این‌که بخش عمده فسفر لجن فاضلاب به شکل

۱. گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: taraiesi@gmail.com

همکاران (۱) گزارش کردند که مصرف لجن فاضلاب، غلظت فسفر در همه اجزای فسفر را افزایش داد. سو و همکاران (۳۱) گزارش کردند که فسفر معدنی (فسفر پیوند شده به کلسیم، آهن و آلومینیوم) و فسفر باقی‌مانده، شکل‌های غالب فسفر بعد از کاربرد طولانی مدت بیوسالیدها در یک خاک جنگلی بودند. ارشاد و همکاران (۱۷) به جزءبندی مرحله‌ای فسفر در خاک‌های غرقاب بعد از کاربرد طولانی مدت دو نوع کود آلی و یک کود شیمیایی پرداختند. شکل‌های مطالعه شده فسفر در این مطالعه عبارت بودند از: فسفر محلول در آب، فسفر محلول در بی‌کربنات سدیم، فسفر محلول در هیدروکسید سدیم و فسفر محلول در اسید. خاک تیمار شده با کود آلی نسبت به خاک‌های تیمار شده با کود شیمیایی، تجمع بیشتری از همه شکل‌های فسفر را نشان داد. نتایج برتون و همکاران (۳) نشان داد که عملکرد خشک و مقدار فسفر جذب شده توسط ذرت همبستگی معنی‌داری با فعالیت فسفاتاز اسیدی پس از تیمار خاک‌ها با کود مرغی داشت. همچنین، این محققین همبستگی معنی‌داری بین شاخص‌های گیاه ذرت و فعالیت این آنزیم در خاک‌های تیمار شده با لجن فاضلاب مشاهده نکردند.

از آنجایی که منابع آلی نقش مهمی در تأمین فسفر قابل استفاده گیاه ایفا می‌کنند، لذا مدیریت سیستم‌کشاورزی پایدار از یکطرف نیازمند تأمین مقادیر کافی از عناصر غذایی مورد نیاز گیاه شامل فسفر است و از سوی دیگر نیازمند توجه به خطرات زیست محیطی ناشی از افزایش بی‌رویه این عناصر غذایی می‌باشد. کاربرد لجن فاضلاب در مقادیر کم از نقطه نظر تغذیه گیاه، اکولوژی و اقتصادی مهم است. ولی این کار نیازمند بررسی دقیق شکل‌های فسفر در خاک تیمار شده با لجن فاضلاب است. اطلاعات در مورد ارتباط بین فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز و اجزای مختلف فسفر با شاخص‌های گیاه لوبیا در خاک‌های تیمار شده با لجن فاضلاب شهری محدود است. بنابراین، این پژوهش با هدف بررسی توزیع فسفر میان اجزای مختلف، ارزیابی ارتباط فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی با اجزای معدنی فسفر و همچنین بررسی ارتباط اجزای مختلف فسفر و

جذب و رسوب می‌تواند یک شاخص خوب از کارایی کود و پتانسیل آلودگی خاک‌های کودداده شده فراهم نماید (۹). شکل‌های مختلف فسفر خاک اغلب به کمک روش جزءبندی مرحله‌ای بررسی و مطالعه می‌شوند (۱۲). بنابراین، استفاده از روش جزءبندی به منظور تخمین شکل‌هایی از فسفر که برای گیاه قابل دسترس‌تر می‌باشند، حائز اهمیت است.

روش جزءبندی فسفر معدنی در سال ۱۹۵۷ توسط چنگ و جکسون (۵) به کار گرفته شد. این روش به مرور زمان توسط محققین دیگر تصحیح شد. از طرف دیگر، به علت وجود آنزیم فسفاتاز که توسط ریشه گیاهان و ریزجانداران ترشح می‌شود، فسفر آلی می‌تواند در تغذیه فسفوری گیاهان حائز اهمیت باشد (۱۳). فعالیت فسفاتاز ریشه عامل مهمی در کارایی فسفر آلی تحت شرایط تأمین محدود فسفر معدنی می‌باشد (۱۴). لازم به ذکر است که فسفاتاز اسیدی توسط ریشه گیاه و ریزجانداران تولید می‌شود؛ این در حالی است که فسفاتاز قلیایی عمدتاً توسط ریزجانداران تولید می‌شود (۲۲). آنزیم فسفاتاز نقشی کلیدی در قابلیت دسترسی فسفر از بقایای کودهای آلی ایفا می‌کند. در حقیقت، آنزیم فسفاتاز پلی است بین اجزای غیرقابل دسترس گیاه و فسفر محلول. نام کلی فسفاتاز به گروه وسیعی از آنزیم‌ها که هیدولیز گروه‌های استری فسفر آلی را کاتالیز می‌کنند، اطلاق می‌شود (۳۵). در گذشته، همبستگی فعالیت آنزیم فسفاتاز با فسفر قابل استفاده گیاه، فسفر کل، فسفر آلی و اجزای معدنی فسفر بررسی شده است (۶، ۷، ۱۰، ۱۳، ۱۹، ۲۵، ۲۷ و ۴۰). نتایج یو و همکاران (۴۰) حاکی از وجود همبستگی مثبت و معنی‌دار فعالیت فسفاتاز قلیایی با فسفر کل، جزء فسفر باقی‌مانده و فسفر قابل استخراج توسط اسید بود.

شواهدی مبنی بر این که برخی اجزای فسفر ممکن است بر اثر کاربرد کود آلی، از جمله لجن فاضلاب، در خاک کاهش (۳۲) و یا افزایش یابند (۱، ۲، ۱۵، ۱۶ و ۳۱)، وجود دارد. سوی و تامسون (۳۲) گزارش کردند که با کاربرد بیوسالیدها، غلظت نسبی فسفر محلول در اسید کاهش و به دنبال آن فسفر محلول در بی‌کربنات بعد از کاربرد بیوسالیدها افزایش یافت. اختر و

و آلومینیوم (NaOH-P)، فسفر دوباره جذب سطحی شده طی مرحله اول عصاره‌گیری (CB-P)، فسفر مسدود شده در اکسیدهای آهن (CBD-P) و فسفر در ارتباط با کلسیم (HCl-P) تفکیک شدند. همچنین، فسفر کل با روش هضم با اسید نیتریک و اسید پرکلریک (۲۰) و فسفر آلی به روش سوزاندن (۲۰) اندازه‌گیری شدند. فسفر باقی‌مانده از اختلاف بین مجموع اجزای معدنی فسفر و مقدار فسفر آلی (OP) از فسفر کل (TP) محاسبه شد. غلظت فسفر نمونه‌ها به روش رنگ‌سنجی (۲۳) تعیین شد. همچنین، فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی با روش طباطبائی و برمنز (۳۵) اندازه‌گیری شد.

به منظور ارزیابی اثر نوع خاک بر شاخص‌های گیاه لوبیا، یک آزمایش گلدانی در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۱۰ نوع خاک و در سه تکرار انجام شد. گلدان‌ها با خاک‌های یک ماه انکوبه شده با لجن فاضلاب پر شدند. برای کشت گیاه، بذره‌های لوبیا رقم صیاد (*Phaseolus vulgaris*) پس از ضدعفونی با هیپوکلرید سدیم و تلقیح با باکتری ریزوبیوم به تعداد شش بذر در قسمت مرکزی گلدان‌ها کشت شد. در پایان هفته اول تعداد بذرها در هرگلدان به چهار عدد تقلیل یافت. در طول مدت رشد، مراقبت‌های لازم انجام و سعی شد رطوبت خاک‌ها با آب شرب در حد ظرفیت مزرعه ثابت بماند. بخش هوایی گیاهان ۸ هفته بعد از کاشت برداشت شدند. بخش‌های هوایی گیاهان با آب مقطر شسته شده و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سلیسیوس خشک و وزن خشک اندام هوایی تعیین شدند. نمونه‌های خشک شده در آون به روش خاکستر خشک هضم و مقدار فسفر موجود در نمونه‌های هضم شده به روش مورفی و رایلی (۲۳) تعیین شدند. در نهایت اثر نوع خاک بر اجزاء مختلف فسفر و نیز اثر نوع خاک بر شاخص‌های گیاه توسط آنالیز واریانس یک طرفه با استفاده از نرم‌افزار Statistica 10 بررسی شد. معنی‌دار بودن تفاوت‌ها توسط آزمون حداقل اختلافات معنی‌دار (LSD) و در سطح احتمال ۰/۵ مورد سنجش قرار گرفت. در پایان، همبستگی اجزای مختلف فسفر با یکدیگر و با فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی و همچنین همبستگی اجزای

فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی با شاخص‌های گیاه لوبیا در تعدادی از خاک‌های آهکی تیمار شده با لجن فاضلاب در استان چهارمحال و بختیاری انجام شد.

مواد و روش‌ها

برای انجام این پژوهش، ۳۰ نمونه خاک از نقاط مختلف زمین‌های زراعی دشت شهرکرد، از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متر، جمع‌آوری شد. پس از هواخشک کردن، نمونه‌های خاک از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شدند. سپس ۱۰ نمونه خاک براساس مقادیر درصد رس، کربنات کلسیم معادل و مقدار فسفر قابل دسترس (۲۶) انتخاب شدند. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک‌های منتخب به روش‌های معمول آزمایشگاهی تعیین شدند. pH نمونه‌های خاک در سوسپانسیون ۲ به ۱ آب به خاک (۳۶)، قابلیت هدایت الکتریکی در عصاره صاف شده با نسبت ۲ به ۱ محلول به خاک (۲۸)، کربنات کلسیم معادل خاک به روش تیتراسیون برگشتی با اسید کلریدریک یک نرمال (۲۱)، کربن آلی خاک به روش اکسیداسیون تر (۲۴) و بافت خاک به روش هیدرومتر (۱۱) اندازه‌گیری شد.

جهت انجام این پژوهش از لجن فاضلاب شهری تصفیه‌خانه فاضلاب شهرکرد استفاده شد. لجن فاضلاب، هواخشک شد و از الک ۰/۵ میلی‌متری عبور داده و برخی از ویژگی‌های لجن فاضلاب از جمله pH، قابلیت هدایت الکتریکی، کربن آلی و همچنین فسفر کل به روش کو (۲۰)، نیتروژن کل به روش کجلدال (۴) و روی، مس، کادمیوم، نیکل و سرب کل (۳۰) اندازه‌گیری شدند. به منظور تیمار خاک‌ها با لجن فاضلاب، معادل ۱٪ وزنی (حدوداً ۳۹ تن بر هکتار) لجن فاضلاب عبور داده شده از الک ۰/۵ میلی‌متری به خاک اضافه و رطوبت آن به حد ظرفیت مزرعه رسانده و به مدت یک ماه خوابانیده شد.

به منظور جداسازی و تعیین شکل‌های مختلف فسفر معدنی از روش اولسن و سامرز (۲۶) استفاده شد. در این روش، فسفر به چهار شکل معدنی شامل: فسفر در ارتباط با اکسیدهای آهن

جدول ۱. برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی اولیه خاک‌های مطالعه شده

شماره خاک	واکنش خاک	هدایت الکتریکی (دسی‌زیمنس بر متر)	گنجایش تبادل کاتیونی (ساتی مول بار + بر کیلوگرم خاک)	سیلت (%)	رس (%)	کربنات کلسیم معادل (گرم بر کیلوگرم)	کربن آلی (گرم بر کیلوگرم)	فسفر
۱	۸/۰	۰/۳۶	۱۴/۲	۳۵	۳۷	۴۲۱	۳/۱	۲۴/۷
۲	۸/۰	۰/۳۸	۲۳/۷	۴۰	۴۸	۱۶۲	۵/۰	۱۵/۹
۳	۸/۰	۰/۴۶	۱۰/۳	۳۳	۲۵	۴۱۰	۴/۳	۱۷/۵
۴	۸/۰	۰/۴۲	۱۲/۴	۳۶	۴۹	۴۷۵	۴/۱	۱۹/۱
۵	۸/۰	۰/۴۶	۲۹/۴	۴۳	۵۲	۳۸۸	۵/۴	۱۸/۱
۶	۷/۹	۰/۵۹	۳۳/۳	۳۰	۵۵	۲۶۷	۸/۴	۲۲/۴
۷	۸/۱	۰/۳۶	۱۶/۳	۴۴	۳۷	۳۲۵	۵/۱	۴۰/۱
۸	۸/۱	۰/۵۹	۲۵/۹	۳۹	۴۹	۲۶۶	۱۳/۹	۳۲/۰
۹	۸/۰	۰/۶۱	۱۸/۹	۴۷	۳۷	۲۱۰	۱۰/۴	۷۱/۹
۱۰	۸/۰	۰/۲۶	۱۰/۳	۲۵	۱۳	۱۹۰	۷/۰	۱۶/۸

مختلف فسفر و فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی با شاخص‌های گیاه لوبیا توسط نرم‌افزار Statistica 10 بررسی شد.

خصوصیات لجن فاضلاب شهری

لجن فاضلاب مورد استفاده دارای pH کمی قلیایی (۷/۵) و شوری نسبتاً زیاد (۲/۲۵ دسی‌زیمنس بر متر) بود. مقدار کربن آلی این ترکیب ۲۰٪ بود که می‌تواند اثر مطلوبی بر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک داشته باشد. مقدار نیتروژن کل و فسفر کل در لجن مورد استفاده به ترتیب ۵/۷ و ۱/۸۵ درصد بود. هم‌چنین، مقدار روی و مس کل آن به ترتیب ۱۳۲۱ و ۷۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. بنابراین، انتظار می‌رود استفاده از لجن فاضلاب شهری می‌تواند حداقل بخشی از نیاز گیاه به این عناصر کم نیاز را تأمین کند. مقدار کل کادمیم، نیکل و سرب موجود در این منبع آلی به ترتیب ۰/۹۱، ۷۸ و ۲۶۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. مقایسه مقادیر عناصر سنگین موجود در لجن فاضلاب مورد استفاده با استانداردهای آژانس حفاظت محیط زیست آمریکا (USEPA) 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 به ترتیب ۷۵۰۰، ۴۳۰۰، ۸۵، ۴۲۰ و ۸۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بود.

نتایج و بحث

خصوصیات خاک

نتایج برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مطالعه شده در جدول ۱ آورده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود، دامنه مقدار رس و سیلت در خاک‌های مورد مطالعه به ترتیب از ۱۳ تا ۵۵ و از ۲۵ تا ۴۷ درصد، دامنه کربنات کلسیم معادل از ۱۶۲ تا ۴۷۵ گرم بر کیلوگرم خاک و مقدار کربن آلی از ۳/۱ تا ۱۳/۹ گرم بر کیلوگرم خاک می‌باشد. خاک‌های مورد مطالعه قلیایی (دامنه pH از ۷/۹ تا ۸/۱) و غیرشور (دامنه هدایت الکتریکی از ۰/۲۶ تا ۰/۶۱ دسی‌زیمنس بر متر) بودند. بنابراین، می‌توان گفت خاک‌های بررسی شده دارای دامنه وسیعی از نظر فسفر استخراجی با روش اولسن، درصد رس و مقدار کربنات کلسیم معادل می‌باشند.

جدول ۲. مقادیر اجزای مختلف فسفر و فعالیت فسفاتاز قلیایی در خاک های مطالعه شده

شماره خاک	[NaOH+CB] ^a -P	CBD-P ^b	HCl-P ^c	OP ^d	TP ^e	Residual -P ^f	Al-PME ^g (µg PNP/ 1g soil 1h)
۱	۸۴/۲	۴۷/۲	۴۳۴	۸۳/۸	۶۸۶	۳۷/۳	۳۴
۲	۸۴/۷	۶۲/۸	۵۱۴	۹۸/۱	۸۱۷	۵۸/۲	۵۶
۳	۹۲/۶	۵۸/۸	۵۴۳	۷۱/۳	۹۰۶	۱۴۰/۷	۴۱
۴	۱۰۰/۶	۴۷/۲	۳۶۶	۷۷/۵	۵۹۱	۱/۳	۶۷
۵	۸۳/۵	۴۸/۸	۵۴۴	۸۸/۸	۸۸۱	۱۱۶/۲	۶۲
۶	۷۸/۲	۱۰۷/۸	۴۲۴	۸۹/۴	۷۵۲	۵۲/۷	۶۰
۷	۱۲۰/۱	۱۰۹/۳	۸۲۶	۱۲۰/۰	۱۲۸۲	۱۰۶/۶	۱۰۹
۸	۶۹/۰	۱۰۹/۶	۴۱۰	۱۰۴/۴	۱۰۹۲	۳۹۹/۲	۸۱
۹	۱۷۰/۲	۱۳۰/۶	۶۴۶	۸۵/۶	۱۲۳۷	۲۰۴/۶	۷۴
۱۰	۱۱۰/۶	۸۹/۴	۵۳۸	۶۸/۸	۸۹۱	۸۳/۸	۷۳
میانگین	۹۹/۴	۸۱/۱	۵۲۴	۸۸/۸	۹۱۴	۱۲۰/۰	۶۶
LSD	۱۵	۱۴	۳۳	-	۸۴	۷۹	۷
F	۳۳**	۴۴**	۱۳۱**	۱/۶ ^{NS}	۵۹**	۱۸**	۷۷**

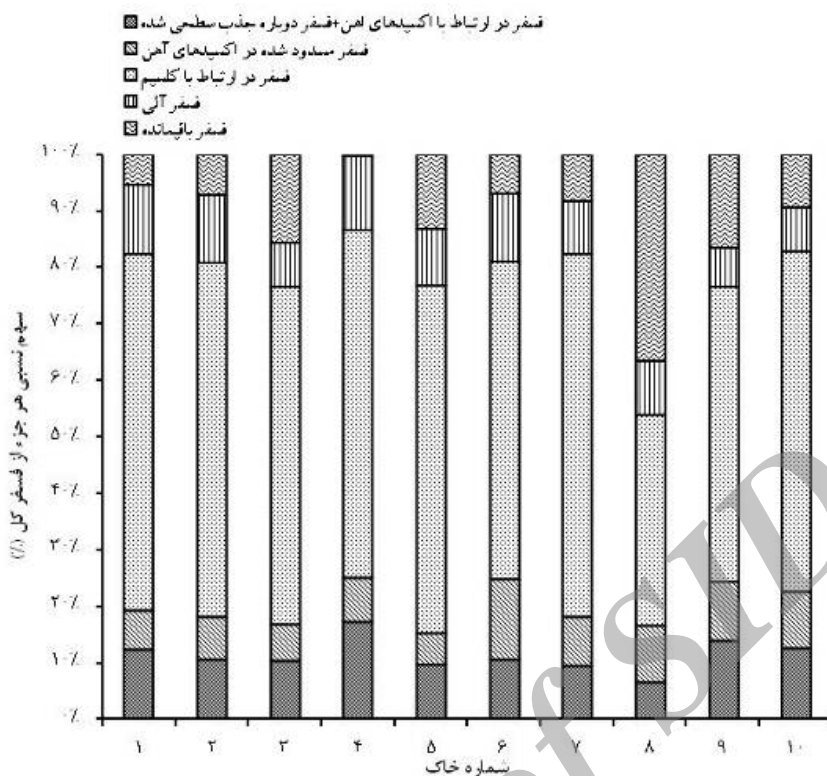
** و ns: به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۱٪ و بدون اختلاف معنی دار؛ ^a مجموع فسفر در ارتباط با اکسیدهای آهن و آلومینیوم و فسفر دوباره جذب سطحی شده طی مرحله اول عصاره گیری؛ ^b فسفر مسدود شده در اکسیدهای آهن؛ ^c فسفر در ارتباط با کلسیم؛ ^d فسفر باقی مانده؛ ^e فسفر کل؛ ^f فسفر آلی؛ ^g فعالیت فسفاتاز قلیایی

جزء بندی مرحله ای فسفر

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر نوع خاک بر کلیه شکل های معدنی فسفر، کل فسفر و فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی معنی دار بود ($p \leq 0/01$). نتایج شکل های معدنی، فسفر آلی و فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در جدول ۲ آورده شده است. سهم نسبی هر جزء فسفر از فسفر کل نیز در شکل ۱ نشان داده شده است. همان طور که در این جدول مشاهده می شود، مقدار هر جزء فسفر در میان ۱۰ خاک آهکی مورد مطالعه متفاوت بود. مقدار فسفر کل از تنوع بالایی در میان خاک های مطالعه شده برخوردار بود. دامنه مقدار فسفر کل در خاک های مطالعه شده از ۵۹۱ تا ۱۲۸۲ میلی گرم بر کیلوگرم بود. بیشترین فسفر کل در خاک شماره ۷ و کمترین آن در خاک شماره ۴ مشاهده شد. بررسی نتایج نشان داد که مقدار فسفر کل همبستگی

معنی داری با درصد کربن آلی ($r=0/55$) و pH ($r=0/62$) خاک ها داشت.

فسفر محلول در اسید کلریدریک (HCl-P)، جزء فسفر حساس به pH های کم است و فرض می شود عمدتاً شامل آپاتیت و فسفر پیوند شده به کربنات ها است (۳۹). دامنه غلظت HCl-P در خاک های مطالعه شده از ۳۶۶ تا ۸۲۶ و متوسط آن ۵۲۴ میلی گرم بر کیلوگرم خاک بود. بیشترین غلظت HCl-P در خاک شماره ۷ و کمترین آن در خاک شماره ۴ مشاهده شد. این بخش، جزء غالب فسفر در خاک های مطالعه شده بود. به گونه ای که خاک های شماره ۸ و ۷ به ترتیب ۳۸ و ۶۴ درصد از فسفر کل را به خود اختصاص دادند (شکل ۱). فراوانی HCl-P به علت غالب بودن یون کلسیم در خاک های قلیایی می باشد. این نتیجه با نتایج عادل و همکاران (۲)،



شکل ۱. سهم نسبی هر جزء فسفر از فسفر کل (n=3)

تخمین دقیق‌تری از فسفات‌های آهن و آلومینیوم ارائه می‌دهد. بنابراین، مجموع جزء‌های NaOH-P و CB-P در جدول ۲ آورده شده است. این جزء عمدتاً شامل فسفر پیوند شده به اکسیدهای آهن و آلومینیوم است که قابل تبادل با هیدروکسیل و آنیون‌های حاصل از تجزیه لیگاندهای آلی و ترکیبات فسفر محلول در قلیا می‌باشد (۲۹). دامنه این جزء در خاک‌های مطالعه شده از ۶۹ در خاک شماره ۸ تا ۱۷۰/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم در خاک شماره ۹ متغیر بود. سهم نسبی این جزء از فسفر کل ۶/۳ (خاک شماره ۸) تا ۱۷ درصد (خاک شماره ۴) متغیر بود.

دامنه تغییرات فسفر آلی در خاک‌های مطالعه شده نسبت به سایر جزء‌های فسفر محدودتر بود (به استثنای فسفر در ارتباط با کلسیم). به طوری که کمترین مقدار فسفر آلی در میان ۱۰ خاک مطالعه شده ۶۸/۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم (خاک شماره ۱۰) و بیشترین مقدار فسفر آلی ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (خاک

ایپولیتو و همکاران (۱۶)، هوانگ و همکاران (۱۵) و ارشاد و همکاران (۱۷) هم‌خوانی دارد. فسفر باقی‌مانده (Residual-P) از تنوع وسیعی در خاک‌های مطالعه شده برخوردار بود. به طوری که دامنه این جزء در خاک‌های مطالعه شده از ۱/۳ (خاک شماره ۴) تا ۳۹۹/۲ (خاک شماره ۸) میلی‌گرم بر کیلوگرم متغیر بود. سهم نسبی این جزء از فسفر کل از ۰/۲ درصد در خاک شماره ۴ تا ۳۶/۶ درصد در خاک شماره ۸ متغیر بود. مجموع فسفر در ارتباط با اکسیدهای آهن و آلومینیوم و فسفر دواره جذب سطحی شده طی مرحله اول عصاره‌گیری ([NaOH+CB]-P) عمدتاً سومین جزء غالب در خاک‌های مطالعه شده را تشکیل می‌داد. با توجه به این‌که سیترات- بی‌کربنات عمدتاً فسفات‌های حاصل از هیدرولیز فسفات‌های آهن و آلومینیوم را که روی سطح کربنات‌ها طی مرحله عصاره‌گیری با هیدروکسید سدیم جذب مجدد شده‌اند (۳۴)، استخراج می‌کند. به نظر می‌رسد مجموع این دو بخش

فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی از ۳۴ تا ۱۰۹ میکروگرم پی‌نیترو فنول فسفات بر گرم خاک در ساعت بود.

همبستگی اجزای مختلف فسفر با یکدیگر و با فسفاتاز قلیایی

نتایج همبستگی اجزای مختلف فسفر با یکدیگر و با فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در جدول ۳ آورده شده است. نتایج نشان داد که در میان اجزای مختلف فسفر فقط ضریب همبستگی بین فسفر در ارتباط با کلسیم، جزء فسفر در ارتباط با اکسیدهای آهن و آلومینیوم و فسفر دوباره جذب سطحی شده معنی‌دار بود و سایر ضرایب همبستگی بین اجزای مختلف فسفر معنی‌دار نبود (جدول ۳). همچنین، بررسی نتایج نشان داد که فسفر آلی، فسفر معدنی محلول در سیترات بی‌کربنات دیتیونات و فسفر باقی‌مانده از همبستگی بالایی با فسفر کل برخوردار بودند. بررسی نتایج ضریب همبستگی حاکی از وجود همبستگی مثبت و معنی‌دار بین فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی با جزء فسفر معدنی محلول در سیترات بی‌کربنات دیتیونایت، فسفر آلی و فسفر کل بود. رابطه مثبت بین فعالیت آنزیم فسفاتاز و فسفر آلی ممکن است حاکی از این امر باشد که تولیدات حاصل از تخریب میکروبی می‌توانند منجر به واجد فی فسفر جذب شده سطحی گشته و در نتیجه حلالیت فسفر غیرقابل دسترس گیاه را افزایش داده و منجر به تجمع فسفر آلی در خاک گردند (۲۷). در مورد رابطه بین فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی و اسیدی با فسفر قابل استخراج خاک اختلاف وجود دارد (۱۰، ۱۳ و ۴۰). از طرفی، شواهدی مبنی بر وجود رابطه مستقیم بین مقدار فسفر قابل استخراج از خاک و فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی وجود دارد (۷، ۱۰ و ۱۳). همچنین، نتایجی مبنی بر وجود رابطه منفی بین فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی و فسفر قابل استخراج از خاک گزارش شده است (۴۰). طبق گزارش اولاندر و ویتوسک (۲۵) سازوکارهای بازخوردی منفی که منجر به ممانعت از تولید آنزیم‌ها توسط ریزجانداران خاک می‌گردد، یک فرآیند

شماره ۷) بود. سهم نسبی فسفر آلی از فسفر کل در خاک‌های مطالعه شده از ۶/۹ درصد در خاک شماره ۹ تا ۱۳/۱ درصد در خاک شماره ۴ متغیر بود. فسفر محلول در سیترات-بی‌کربنات-دیتیونات (CBD-P) عمدتاً فسفر مسدود شده در اکسیدهای آهن است و کوچک‌ترین جزء فسفر بود و کمتر از ۰/۹٪ فسفر کل را شامل شد. در مجموع، نتایج این آزمایش نشان داد که فراوانی اجزای مختلف فسفر به این صورت کاهش یافت $CBD-P < OP < [NaOH+CB]-P < Residual-P < HCl-P$. طبق گزارش ایرشا و همکاران (۱۷) در خاک‌های غرقاب بعد از کاربرد طولانی مدت دو نوع کود آلی و یک کود شیمیایی، صرف‌نظر از نوع تیمار، فسفر استخراج شده به این صورت بود: $HCl-P > NaOH-P > NaHCO_3-P > H_2O-P$.

عادلی و همکاران (۲) گزارش کردند که پس از یک دوره ۹۰ روزه انکوباسیون خاک با کود مرغی، همه اجزای فسفر افزایش نشان داد. در خاک آهکی، جزء فسفر همراه با کلسیم بیشترین بود که نشان می‌دهد حضور کربنات‌ها در این قبیل خاک‌ها سرنوشت فسفر ناشی از کاربرد کود آلی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. در جزء بندی فسفر به روش کو (۲۰) در دو لایه سطحی و زیرسطحی یک خاک زیر کشت پس از ۱۰ سال کاربرد سالانه لجن فاضلاب در پنج سطح که توسط ایپولیتو و همکاران (۱۶) اجرا شد، مشاهده گردید که کاربرد لجن فاضلاب منجر به افزایش فسفر در همه بخش‌های قابل استخراج شد. مازاد بر این، ایپولیتو و همکاران (۱۶) گزارش کردند که عمده فسفر در لایه سطحی در بخش همراه با آهن و در لایه زیرسطحی در بخش همراه با کلسیم خاک وجود داشت. لازم به ذکر است که خاک زیرسطحی آهکی و خاک سطحی اسیدی بود. هوانگ و همکاران (۱۵) گزارش کردند که بخش اصلی فسفر موجود در بیوسالید، فسفر قابل استخراج توسط اسید بود که توسط فسفر قابل استخراج با بی‌کربنات سدیم، فسفر محلول در قلیا، فسفر محلول در آب، فسفر باقی‌مانده و فسفر غشا دنبال شد. علاوه بر این، نتایج نشان داد که دامنه تغییر

جدول ۳. همبستگی اجزای مختلف فسفر با یکدیگر و با فسفاتاز قلیایی (n= ۱۰)

AI-PME	TP	residual-P	OP	HCl-P	CBD-P	
۰/۳۷	۰/۵۶	۰/۰۱	-۰/۰۶	۰/۶۱*	۰/۵۰	[NaOH+CB]-P ^a
۰/۶۴*	۰/۷۵*	۰/۵۳	۰/۴۰	۰/۴۳	-	CBD-P ^b
۰/۵۹	۰/۷۹**	۰/۰۶	۰/۴۶	-	-	HCl-P ^c
۰/۶۵*	۰/۵۵	۰/۳۲	-	-	-	OP ^d
۰/۳۳	۰/۶۳*	-	-	-	-	residual-P ^e
۰/۷۰*	-	-	-	-	-	TP ^f
-	-	-	-	-	-	AI-PME ^g

** و *: به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال ۰/۱ و ۰/۵؛ ^a مجموع فسفر در ارتباط با اکسیدهای آهن و آلومینیوم و فسفر دوباره جذب سطحی شده طی مرحله اول عصاره‌گیری؛ ^b فسفر مسدود شده در اکسیدهای آهن؛ ^c فسفر در ارتباط با کلسیم؛ ^d فسفر باقی‌مانده؛ ^e فسفر کل؛ ^f فسفر آلی؛ ^g فعالیت فسفاتاز قلیایی

۴ (۲۵/۵۳ میلی‌گرم در گلدان) و خاک ۹ (۵۷/۴۹ میلی‌گرم در گلدان) بود. بررسی نتایج نشان داد که از میان شاخص‌های بررسی شده از گیاه لوبیا فقط غلظت فسفر در بخش هوایی لوبیا به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر نوع خاک است.

بررسی همبستگی بین اجزای مختلف فسفر با شاخص‌های گیاه لوبیا در جدول ۵ آورده شده است. بررسی نتایج حاکی از وجود همبستگی بالا بین فسفر کل با غلظت فسفر و فسفر جذب شده توسط گیاه لوبیا بود. هم‌چنین، در بین اجزای معدنی فسفر، همبستگی معنی‌داری بین غلظت فسفر در بخش هوایی لوبیا و اجزای فسفر در ارتباط با کلسیم، فسفر در ارتباط با اکسیدهای آهن و آلومینیوم و فسفر مسدود شده و فسفر جذب شده توسط بخش هوایی لوبیا با اجزای فسفر در ارتباط با اکسیدهای آهن و آلومینیوم و فسفر در ارتباط با کلسیم وجود داشت. بررسی نتایج همبستگی نشان داد که هیچ‌یک از شاخص‌های گیاه با فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی همبستگی معنی‌داری نداشتند. هم‌چنین، در این مطالعه، همبستگی معنی‌دار بین عملکرد خشک لوبیا با هیچ‌یک از اجزای فسفر مشاهده نشد (جدول ۵). نتایج والد ریپ و همکاران (۳۸) نیز حاکی از وجود همبستگی معنی‌دار بین فسفر جذب شده توسط چاودار با فسفر کل و فسفر معدنی قابل استخراج توسط اسید در محیط

طولانی مدت است. بنابراین، در طول مطالعه کوتاه‌مدت جاری احتمال وقوع این بازخورد منفی ضعیف می‌باشد.

گزارش‌هایی مبنی بر همبستگی مثبت و معنی‌دار فعالیت فسفاتاز قلیایی با فسفر کل و اجزای معدنی فسفر وجود دارد (۶؛ ۱۹ و ۴۰). نتایج چن (۶) حاکی از وجود همبستگی مثبت و معنی‌دار بین فسفر کل، فسفر آلی و فسفر معدنی با فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی بود. در این تحقیق، همبستگی مثبت و معنی‌داری بین فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی با اجزای معدنی فسفر مسدود شده، فسفر در ارتباط با آهن، فسفر در ارتباط با آلومینیوم و نیز همبستگی منفی و معنی‌داری بین فعالیت این آنزیم با فسفر در ارتباط با کلسیم وجود داشت. طبق گزارش کیزیلکایا و همکاران (۱۹) رابطه مثبت و معنی‌دار بین فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی و فسفر کل و آلی و هم‌چنین اجزای معدنی فسفر در ارتباط با کلسیم و فسفر محلول در خاک‌های کشاورزی مطالعه شده وجود داشت.

رابطه بین شاخص‌های گیاه لوبیا با اجزای فسفر معدنی

عملکرد خشک، غلظت فسفر و فسفر جذب شده توسط بخش هوایی لوبیا در ۱۰ خاک مورد مطالعه در جدول ۴ آورده شده است. کمترین و بیشترین جذب فسفر به ترتیب مربوط به خاک

جدول ۴. شاخص های گیاه لوبیا در خاک های مورد مطالعه (n= ۳)

شماره خاک	غلظت (%)	عملکرد خشک (g/pot)	جذب (mg/pot)
۱	۰/۳۳	۱۲/۲۲	۴۰/۸۱
۲	۰/۲۴	۱۲/۷۲	۳۰/۸۶
۳	۰/۲۹	۱۲/۲۵	۳۴/۸۹
۴	۰/۲۴	۱۰/۵۹	۲۵/۵۳
۵	۰/۲۷	۱۳/۹۰	۳۷/۸۶
۶	۰/۲۷	۱۳/۶۴	۳۶/۹۵
۷	۰/۴۰	۱۱/۴۵	۴۶/۴۳
۸	۰/۳۳	۹/۹۹	۳۳/۰۶
۹	۰/۴۱	۱۴/۱۸	۵۷/۴۹
۱۰	۰/۳۴	۱۰/۷۸	۳۶/۲۹
	۰/۱۰	-	-
	LSD		
	F	۲/۳ ^{ns}	۲/۴ ^{ns}

*: معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ns در سطح احتمال ۹۵٪ معنی دار نیست

جدول ۵. ضرایب همبستگی بین شاخص های لوبیا و شکل های مختلف فسفر و فسفاتاز قلیایی (n= ۱۰)

Al-PME ^g	Residual -P ^f	TP ^e	OP ^d	HCl-P ^c	CBD-P ^b	[NaOH+CB] ^a -P	
(μg PNP/ 1g soil 1h)				mg/kg			
۰/۵۴	۰/۸۱**	۰/۳۳	۰/۳۹	۰/۷۰*	۰/۶۷*	۰/۶۷*	غلظت در بخش هوایی (%)
-۰/۳۰	۰/۰۶	-۰/۰۶	-۰/۲۲	۰/۲۲	۰/۰۷	۰/۲۸	عملکرد خشک (g/pot)
۰/۲۹	۰/۷۱*	۰/۲۲	۰/۲۱	۰/۶۸*	۰/۶۲	۰/۷۷**	جذب (mg/pot)

** و *: به ترتیب معنی دار در سطوح احتمال ۱٪ و ۵٪؛ ^a مجموع فسفر در ارتباط با اکسیدهای آهن و آلومینیوم و فسفر دوباره جذب سطحی شده طی مرحله اول عصاره گیری؛ ^b فسفر مسدود شده در اکسیدهای آهن؛ ^c فسفر در ارتباط با کلسیم؛ ^d فسفر باقی مانده؛ ^e فسفر کل؛ ^f فسفر آلی؛ ^g فعالیت فسفاتاز قلیایی

این پژوهش مشاهده نشد. هم چنین، فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی با جزء فسفر معدنی مسدود شده در اکسیدهای آهن، فسفر آلی و کل همبستگی مثبت و معنی داری داشت. بررسی ضرایب همبستگی بین اجزای معدنی فسفر با شاخص های گیاه لوبیا نشان داد که اجزای فسفر محلول در سترات- بی کربنات سدیم+ هیدروکسید سدیم ([NaOH+CB]-P) و جزء فسفر در ارتباط با کلسیم (HCl-P) همبستگی معنی داری با شاخص های بررسی شده در گیاه لوبیا داشتند. هم چنین، نتایج همبستگی نیز

ریزوسفر بود. عدم وجود همبستگی معنی دار بین فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی و شاخص های گیاهی توسط محققین دیگر نیز گزارش شده است (۳).

نتیجه گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که در خاک های مطالعه شده، اجزای معدنی فسفر و جزء آلی فسفر تغییرات زیادی داشتند. علاوه بر این، همبستگی معنی داری بین اجزای مختلف فسفر در

نشان داد که هیچیک از شاخص‌های بررسی شده گیاه با فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی همبستگی معنی‌داری نداشتند. در نهایت، نتایج این پژوهش نشان داد که جزءبندی مرحله‌ای فسفر می‌تواند در ارزیابی قابلیت استفاده فسفر در خاک‌های تیمار شده با لجن فاضلاب مفید باشد.

منابع مورد استفاده

1. Akhtar, M., D.L. McCallister and K.M. Eskridge. 2002. Availability and fractionation of phosphorus in sewage sludge-amended soils. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 33: 2057-2068.
2. Adeli, A., K.R. Sistani, M.F. Bal and D.E. Rowe. 2005. Phosphorus dynamics in broiler litter-amended soils. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 36: 1099-1115.
3. Berton, R.S., P.F. Pratt and W.T. Frankenberger Jr. 1997. Phosphorus availability in soils amended with organic materials, estimated by three chemical methods and two enzyme activities. *R. Bras. Ci. Solo, Viçosa.* 21: 617-624.
4. Bremner, J.M. 1996. Nitrogen-total. PP. 1085-1121. *In: Sparks, D.L. (Ed.), Methods of Soil Analysis, Part 3, Chemical Methods, SSSA, Madison, WI.*
5. Chang, S.C. and M.L. Jackson. 1957. Fractionation of soil phosphorus. *Soil Sci.* 84: 133-144.
6. Chen, H. 2003. Phosphatase activity and P fractions in soils of an 18-year-old Chinese fir (*Cunninghamia lanceolata*) plantation. *Forest Ecol. Manage.* 178: 301-310.
7. Colvan, S.R., J.K. Syers and A.G. O'Donnell. 2001. Effect of long-term fertilizer use on acid and alkaline phosphomonoesterase and phosphodiesterase activities in managed grassland. *Biol. Fert. Soil* 34: 258-263.
8. Coker, E.G. and C.H. Carlton-Smith. 1986. Phosphorus in sewage sludge as fertilizer. *Waste Manage. Res.* 4: 303-319.
9. Delgado, A., J.R. Ruiz, M.C. Del Campillo, S. Kassem and L. Andreu. 2000. Calcium- and iron-related phosphorus in calcareous and calcareous marsh soils: Sequential chemical fractionation and P-31 nuclear magnetic resonance study. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 31: 2483-2499.
10. Garg, Sh. and G.S. Bahl. 2008. Phosphorus availability to maize as influenced by organic manures and fertilizer P associated phosphates activity in soils. *Bioresour. Technol.* 99: 5773-5777.
11. Gee, G.H. and J.W. Bauder. 1986. Particle size analysis. PP. 383-409. *In: Klute, A. (Ed.), Methods of Soil Analysis, Part 2, Physical Properties, SSSA, Madison, WI.*
12. Harrell, D.L. and J.J. Wang. 2006. Fractionation and sorption of inorganic phosphorus in Louisiana calcareous soils. *J. Soil Sci.* 171: 39-51.
13. Harrison, A.F. 1983. Relationship between intensity of phosphates activity and physico-chemical properties in woodland soils. *Soil Biol. Biochem.* 15: 93-99.
14. Helal, H.M. and A. Dressler. 1989. Mobilization and turnover of soil phosphorus in the rhizosphere. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 152: 175-180.
15. Huang, X.L., Y. Chen and M. Shenker. 2008. Chemical fractionation of phosphorus in stabilized biosolids. *J. Environ. Qual.* 37: 1949-1958.
16. Ippolito, J.A., K.A. Barbarick and K.L. Norvell. 2007. Biosolids impact soil phosphorus accountability, fractionation, and potential environmental risk. *J. Environ. Qual.* 36: 764-772.
17. Irshad, M., M. Inoue, R.A. Khattak, S. Yamamoto and T. Honna. 2008. Phosphorus and metal fractions in paddy soils under different fertilizer management. *J. Sustain. Agric.* 32: 255-268.
18. Frossard, E., S. Sinaj, L.M. Zhang and J.L. Morel. 1996. The fate of sludge phosphorus in soil-plant systems. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 60: 1248-1253.
19. Kizilkaya, R., F. Bayrakli and A. Surucu. 2007. Relationship between phosphatase activity and phosphorus fractions in agricultural soils. *Int. J. Soil Sci.* 2: 107-118.
20. Kuo, S. 1996. Phosphorus. PP. 869-920. *In: Sparks, D.L. (Ed.), Methods of Soil Analysis, Part 3, Chemical Methods, SSSA, Madison, WI.*
21. Loeppert, R.H. and D.L. Sparks. 1996. Carbonate and gypsum. PP. 437-474. *In: Sparks, D.L. (Ed.), Methods of Soil Analysis, Part 3, Chemical Methods, SSSA Madison WI.*
22. Marschner, P., Z.M. Solaiman and Z. Rengel. 2005. Growth phosphorus uptake and rhizosphere microbial community composition of a phosphorus-efficient wheat cultivar in soils differing in pH. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 168: 343-351.
23. Murphy, J. and J.P. Riley. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chem. Acta* 27: 31-36.

24. Nelson, D.W. and L.E. Summers. 1996. Total carbon organic carbon and organic matter. PP. 961-1011. *In*: Sparks, D.L. (Ed.), Methods of Soil Analysis, Part 3, Chemical Methods, SSSA Madison WI.
25. Olander, L.P. and P.M. Vitousek. 2000. Regulation of soil phosphatase and chitinase activity by N and P availability. *Biogeochem.* 49:175-190.
26. Olsen, S.R. and L.E. Sommers. 1982. Phosphorus. PP. 403-430. *In*: Klute, A. (Ed.), Methods of Soil Analysis, Part 1, Chemical and Biological Properties, SSSA, Madison, WI.
27. Reddy, D.D., S.A. Rao and M. Singh. 2005. Changes in P fractions and sorption in an Alfisol following crop residues application. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 168: 241-247.
28. Rhoades, J.D. 1996. Salinity, electrical conductivity and total dissolved solids. PP. 417-437. *In*: Sparks, D.L. (Ed.), Methods of Soil Analysis, SSSA, Madison, WI.
29. Rydin, E. 2000. Potentially mobile phosphorus in Lake Erken sediment. *J. Water Res.* 34: 2037-2042.
30. Sposito, G., L.J. Lund and A.C. Chang. 1982. Trace metal chemistry in arid-zone field soils amended with sewage sludge: I. Fractionation of Ni, Cu, Zn, Cd, Pb in solid phases. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 46: 260-264.
31. Su, J., H. Wang, M.O. Kimberley, K. Beecroft, G.N. Magesan and C. Hu. 2007. Fractionation and mobility of phosphorus in a sandy forest soil amended with biosolids. *Environ. Sci. Pollut. Res. Intl.* 14: 529-535.
32. Sui, Y. and M.L. Thompson. 1999. Fractionation of phosphorus in a Mollisol amended with biosolids. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 63: 1174-1180.
33. Sui, Y.B. and M.L. Thompson. 2000. Phosphorus sorption desorption and buffering capacity in a biosolids-amended Mollisol. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64: 164-169.
34. Syers, J.K., G.W. Smillie and J.D.H. Williams. 1972. Calcium fluoride formation during extraction of calcareous soils fluoride: I. Implication to inorganic phosphorus fractionation schemes. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 36: 20-24.
35. Tabatabai, M.A. and J.M. Bremner. 1969. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biol. Biochem.* 1: 301-307.
36. Thomas, G.W. 1996. Soil pH and soil acidity. PP. 475-491. *In*: Sparks, D.L. (Ed.), Methods of Soil Analysis, Part 3, Chemical Methods, SSSA, Madison, WI.
37. USEPA. 1995. Land application of sewage sludge and domestic septage. Section 503, EPA/625/R-95/001 USEPA, Washington DC, 290 p.
38. Waldrip, H.M., Z. He and M.S. Erich. 2011. Effects of poultry manure amendment on phosphorus uptake by ryegrass, soil phosphorus fractions and phosphatase activity. *Biol. Fert. Soils* 47: 407-418.
39. Wang, J., W.Z. Liu, H.F. Mu and T.H. Dang. 2010. Inorganic phosphorus fractions and phosphorus availability in a calcareous soil receiving 21-year superphosphate application. *Pedosphere* 20(3): 304-310.
40. Yu, S., Z.L. Hea, P.J. Stoffella, D.V. Calvert, X.E. Yang, D.J. Banks and V.C. Baligar. 2006. Surface runoff phosphorus (P) loss in relation to phosphatase activity and soil P fractions in Florida sandy soils under citrus production. *Soil Biol. Biochem.* 38:619-628.