نشریه مدیریت خاک و تولید پایدار
جلد ششم، شماره دوم، ۱۳۹۵
http://ejsms.gau.ac.ir

تأثیر مقدار رطوبت و خاک فسفات بر فسفر محلول در حضور قارچ‌های حل‌کننده فسفر در طی زمان

نجیبه جهانگیرزاده[۱]، *ابراهیم ادهمی[۲]، علی‌اصغر نقی‌ها[۳] و حمیدرضا اولیایی[۲]

[۱]دانشجوی کارشناسی‌ارشد گروه علوم خاک، دانشگاه یاسوج، [۲]دانشیار گروه علوم خاک، دانشگاه یاسوج،
[۳]استادیار گروه علوم دام، دانشگاه یاسوج

تاریخ دریافت: ۹۳/٤/۲ ؛ تاریخ پذیرش: ۹٤/۲/۸

چکیده

سابقه و هدف: استفاده مستقیم از خاک فسفات می‌تواند جایگزین مناسبی برای کودهای شیمیایی فسفر باشد، ولی در خاک‌های آهکی به دلایل متعدد استفاده از خاک فسفات کارایی لازم را نداشته و رضایت‌بخش نیست. یکی از راهکارهای افزایش قابلیت جذب فسفر خاک فسفات استفاده از ریزجاندازان حل‌کننده فسفر است. در اثر فعالیت ریزجانداران خاک، مقداری از ترکیبات معدنی نامحلول فسفر، به‌شکل محلول و قابل جذب در می‌آیند. انحلال فسفر توسط ریزموجودات حل‌کننده فسفر بستگی زیادی به شرایط محیط و ترکیب بستر کشت دارد. مقدار رطوبت یکی از عوامل مهم در تولید کودهای زیستی فسفر است که با تأثیر بر خاک فسفات و مواد آلی و فعالیت‌های بیولوژیکی می‌تواند بر حل شدن فسفر نامحلول اثر بگذارد. از دیگر فاکتورهای مؤثر در حل شدن فسفر نسبت خاک فسفات است و حضور بیش از حد خاک فسفات در محیط می‌تواند سبب کاهش فسفر محلول شود. مطالعه حاضر به‌منظور بررسی تأثیر دو گونه قارچی، مقدار رطوبت و مقدار خاک فسفات بر فسفر محلول در آب، pH و تغییرات وزن محیط کشت در بستر پوسته شلتوک برنج در طی زمان انجام شد.

مواد و روش‌ها: قارچ‌های مورد استفاده *Aspergillus niger* و یک جدایه از معدن فسفات کوه لار یاسوج بودند. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه عامل خاک فسفات از معدن اسفوردی یزد در سه سطح (صفر، یک: هشت و یک: چهار خاک فسفات: پوسته شلتوک)، رطوبت در دو سطح (۱۰۰ و ۲۰۰ درصد وزنی) و قارچ در سه سطح (شاهد، جدایه و *A. niger*) با سه تکرار به‌صورت بسته‌ای در لوله آزمایش در یک دوره ٦۰ روزه انجام شد. در طول مدت انکوباسیون رطوبت نمونه‌ها در شرایط استریل با توزین هر سه روز یک بار با آب مقطر استریل شده تنظیم شد. در زمان‌های ۱۰، ۳۰ و ٦۰ روز سه لوله از هر تیمار برداشته شد. پس از خشک نمودن نمونه‌ها در دمای ۷۰ درجه سلسیوس، نمونه‌ها توزین شده و به لوله‌های پلی‌اتیلینی مناسب برای عصاره‌گیری انتقال یافتند. عصاره‌گیری با محلول کلرید کلسیم یک صدم مولار انجام شد و فسفر به روش رنگ‌سنجی آبی اندازه‌گیری شد. pH و کاهش وزن محیط کشت در طول زمان نیز اندازه‌گیری و محاسبه شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که حضور خاک فسفات نه‌تنها فسفر محلول را افزایش نداد بلکه حتی با کاهش آن همراه بود و افزایش سطح خاک فسفات با کاهش هر چه بیش‌تر فسفر محلول همراه شد. به‌صورت کلی در رطوبت ۲۰۰ درصد

* مسئول مکاتبه: eadhami@gmail.com

وزنی فسفر محلول بیش‌تری آزاد شد. بیش‌ترین فسفر محلول در تیمار *A. niger* در رطوبت ٢٠٠ درصد و سطح یک: هشت خاک فسفات در روز شصت به‌دست آمد. فسفر محلول در حضور قارچ جدایه بیش‌تر روند کاهشی داشت هر چند این قارچ رشد بیش‌تری نسبت به *A. niger* نشان داد. روند تغییرات pH با فسفر محلول معکوس بود و با کاهش pH فسفر محلول افزایش یافت. کاهش وزن نمونه‌ها در حضور قارچ نسبت به شاهد بیش‌تر بود و کاهش وزن در محیط حاوی جدایه نسبت به *A. niger* بیش‌تر بود که می‌تواند نشان‌دهنده رشد بهتر جدایه در بستر پوسته برنج باشد.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که ترکیب محیط کشت برای تهیه کودهای زیستی فسفر اهمیت به‌سزایی داشته و پژوهش‌های بیش‌تری را می‌طلبد.

واژه‌های کلیدی: pH، نسبت خاک فسفات، کلرید کلسیم

مقدمه

فسفر از عناصر غذایی ضروری و دومین عنصر پرمصرف بعد از نیتروژن در کشاورزی است که گیاه برای رشد و نمو به آن نیاز دارد و مهم‌ترین عنصر در تولید محصول به‌شمار می‌رود (١٩). بنابراین کاربرد کودهای صنعتی می‌تواند تأثیر به‌سزایی در افزایش عملکرد داشته باشد ولی هزینه تولید این کودها بالا بوده و در طولانی‌مدت منجربه کاهش حاصل‌خیزی خاک و تخریب محیط زیست خواهد شد (٢). استفاده مستقیم از خاک فسفات می‌تواند جایگزین مناسبی برای کودهای شیمیایی فسفر باشد (٨)، ولی در خاک‌های آهکی به دلایل متعدد استفاده از خاک فسفات کارایی لازم را نداشته و رضایت‌بخش نیست (٢). هر چند با اعمال روش‌های خاص می‌توان قابلیت جذب فسفر خاک فسفات را افزایش داد.

خاک فسفات‌ها معمولاً دارای منشأ آذرین و رسوبی می‌باشد (٣٥). فسفات‌های آذرین تنها ١٥ درصد کل تولید فسفات جهان را به خود اختصاص می‌دهند. خاک فسفات آسفوردی یزد دارای منشأ آذرین است. پژوهشگران زیادی از خاک فسفات برای غنی‌سازی بقایای آلی و استفاده این بقایا در تولید محصول استفاده و نتایج متناقضی را گزارش نموده‌اند (٢٣، ٨). قلی‌زاده و همکاران (٢٠٠٩) گزارش نمودند که خاک فسفات اسفوردی یزد حاوی آهن و دارای حلالیت پایین‌تری نسبت به نوع رسوبی است و غیرواکنش‌پذیر بوده و به‌صورت مستقیم در کشاورزی قابل استفاده نیست، هر چند به‌دلیل عیار و ذخیره قابل‌توجه و سهولت بهره‌برداری و کانه‌آرایی، بسیار مورد توجه می‌باشد (٨). مهم‌ترین کانی فسفاتی تشکیل‌دهنده سنگ‌های آذرین، آپاتیت است (١٥).

از سوی دیگر با افزایش توجهات به کشاورزی پایدار، روش‌های زیستی مورد توجه بسیاری قرار گرفته است. یکی از روش‌های زیستی، افزایش قابلیت جذب فسفر خاک فسفات استفاده از ریزجانداران حل‌کننده فسفات است (٩). توانایی ریزجانداران در انحلال فسفر نامحلول و افزایش قابلیت جذب آن به شرایط محیطی و ترکیب بستر کشت ریزموجود بستگی زیادی دارد (٣٠). در واقع حلالیت خاک فسفات یک فرآیند ساده نیست و به عوامل زیادی مانند عوامل فیزیولوژیکی، شرایط رشد در محیط کشت و فاکتورهای مربوط به تغذیه بستگی دارد (٥). مشاهدات نشان داده‌اند که نوع بستر کشت طبیعی مانند کاه گندم و کاه برنج اثر زیادی بر مقدار انحلال سنگ فسفات داشته‌اند (٣٢، ٢٦). همچنین عواملی

مانند مقدار رطوبت محیط (۱۱)، مقدار خاک فسفات (۱٤)، دما و pH (۱۳، ۱۷) و اندازه ذرات کاه (۳) سبب تغییر در مقدار انحلال فسفات‌های نامحلول شده‌اند (۳، ۱۱، ۱۳، ۱٤، ۱۷). همچنین افزودنی‌های مختلف مانند کود دامی، ملاس و پیریت می‌توانند بر فعالیت ریزموجودات و انحلال فسفات‌های نامحلول اثر داشته باشند (۲۷، ۲۸، ۳۲).

برنج از اصلی‌ترین تولیدات زراعی جهان است. پوسته شلتوک برنج بازمانده بلااستفاده محصول کشاورزی است که به‌جرأت می‌توان گفت که استفاده اقتصادی و مطلوبی از آن به‌عمل نمی‌آید. معمولاً این ماده در بسیاری از کشورها به‌عنوان ماده زائد سوزانده می‌شود و سوزاندن آن پیامدهای مخرب زیست‌محیطی را به‌همراه دارد (۷)، تبدیل کاه برنج به کمپوست می‌تواند باروری محصولات را بهبود ببخشد و آلودگی‌های زیست‌محیطی را کاهش دهد (۲۱). ولی پوسته برنج از جمله موادی است که در برابر تجزیه میکروبی مقاوم است و حتی در شرایط بهینه نیز به‌آرامی تجزیه می‌شود. نسبت کربن به نیتروژن پوسته برنج و ترکیبات لیگنوسلولوزی آن زیاد است (٦). آسیاب کردن این مواد و یا غنی‌سازی آن‌ها با موادی مانند کود دامی ممکن است سبب افزایش آهنگ پوسیدگی آن‌ها شود (۲۵، ۳٤). استفاده از قارچ‌های حل‌کننده فسفر در تولید کمپوست از پوسته برنج می‌تواند هزینه‌های تهیه کود صنعتی را کاهش دهد و رشد گیاه را در خاک‌های قلیایی با فراهم کردن فسفر بهبود بخشد و استفاده بیش از حد کشاورزان از کودهای صنعتی را در خاک‌های قلیایی کاهش دهد (۳).

شناخت مقدار رطوبت مؤثر مهم‌ترین فاکتور در تولید کودهای زیستی است (۳۹). تأثیر رطوبت در تولید کودهای زیستی فسفر از جهت تأثیر مستقیم روی خاک فسفات و مواد آلی و همچنین به‌علت تأثیر روی فعالیت‌های بیولوژیکی می‌تواند اهمیت داشته باشد. از دیگر فاکتورهای مؤثر در حل شدن فسفر نسبت خاک فسفات است. یاداو و همکاران (۲۰۱۳) با مقایسه داده‌های گزارش شده توسط سایر پژوهشگران نشان دادند که مقدار خاک فسفات کافی در محیط تا حد زیادی به‌نوع ریزجاندار بستگی دارد با این حال حضور بیش از حد خاک فسفات در محیط در همه ریزجانداران می‌تواند باعث کاهش فسفر محلول در کمپوست شود (۳۸).

مطالعات مختلفی درباره انحلال خاک فسفات از منابع مختلف در بستر کمپوست و ورمی‌کمپوست همراه با گوگرد (۲۳) و نیز کمپوست غنی‌شده با خاک فسفات و گوگرد در حضور باکتری‌های اکسیدکننده گوگرد برای تأمین فسفر گیاه (۱، ۳۲) انجام شده است. ولی تا آن‌جا که نگارندگان اطلاع دارند پژوهش‌های پایه‌ای کمی درباره اثر مقدار خاک فسفات در بستر کشت و مقدار رطوبت بر انحلال فسفر انجام شده است (۲۳، ۳۱، ۱). به همین علت پژوهش حاضر به‌منظور ارزیابی عوامل مختلف شامل نوع قارچ حل‌کننده فسفر، مقدار خاک فسفات و مقدار رطوبت بر تغییرات فسفر محلول در آب، pH و جرم ماده خشک بستر کشت انجام شد.

مواد و روش‌ها

آزمایش به‌صورت فاکتوریل ۳×۳×۲ در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. عوامل آزمایش شامل قارچ در سه سطح (شاهد، *A. niger* و جدایه)، خاک فسفات در سه سطح (صفر، یک: هشت و یک: چهار خاک فسفات: پوسته برنج) و رطوبت در دو سطح (۱۰۰ و ۲۰۰ درصد وزنی) بودند.

از پوسته برنج به‌عنوان بستر کشت قارچ استفاده شد. ابتدا پوسته برنج به اندازه کوچک‌تر از یک میلی‌متر آسیاب و الک شد. بر اساس وزن خشک پوسته برنج ٢ درصد نیتروژن از منبع نیترات آمونیوم و ١/٥ درصد ملاس به‌صورت محلول به‌عنوان محرک رشد به کاه‌ها اضافه گردید و در آون در دمای ٧٠ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ٢٤ ساعت خشک شد.

قارچ‌های مورد استفاده شامل *A. niger* از کلکسیون قارچی گروه علوم دام دانشکده کشاورزی دانشگاه یاسوج و *Cladosporium cloduspriodis* جداسازی شده از خاک‌های جنگلی اطراف معدن خاک فسفات کوه سپید لار استان کهگیلویه و بویراحمد بود. در آزمایش‌های مقدماتی در محیط کشت مایع و جامد توانایی این قارچ‌ها در انحلال خاک فسفات مشخص شده بود. کنسانتره خاک فسفات مورد استفاده از معدن سنگ فسفات آسفوردی یزد تهیه شد. این خاک فسفات از نوع آذرین و دارای ١±٣٧/٥ درصد P_2O_5، ١±٣/٥ درصد Fe_2O_3، ١±٣/٥ درصد Si_2O_5 است و فسفر محلول آن به روش آبی (٢٤) قابل اندازه‌گیری نبود.

ظرفیت نگه‌داری رطوبت پوسته برنج با برداشتن جرم مشخصی از پوسته برنج آسیاب شده و اشباع کردن آن و اجازه برای خارج شدن آب ثقلی در مدت ٢٤ ساعت به روش توزین اندازه‌گیری شد. سطوح رطوبت مورد استفاده شامل رطوبت‌های وزنی ١٠٠ و ٢٠٠ درصد وزن محیط کشت (حدود ٤٠ و ٨٠ درصد ظرفیت نگه‌داری رطوبت پوسته برنج) بود.

آزمایش به‌صورت بسته‌ای[1] انجام شد. هر تیمار شامل ٩ لوله آزمایش (سه تکرار و سه زمان نمونه‌برداری) ٢٥ میلی‌لیتری بود. لوله‌های آزمایشی به‌خوبی شسته شده و پس از خشک شدن وزن شدند. دو گرم از پوسته برنج مخلوط شده با ملاس و نیترات آمونیوم در لوله‌های آزمایش ریخته شد. نمونه‌ها در دمای ١٢١ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ٢٠ دقیقه استریل شدند. براساس طرح آزمایشی مقدار مناسب خاک فسفات به هر تیمار افزوده شد و سپس مقدار یک‌دهم میلی‌لیتر (١٠٠ میکرولیتر) از سوسپانسیون قارچی حاوی محیط کشت پوتیتو دکستروز آگار حاوی $١٠^{٧}\times٥$–١ اسپور به نمونه‌ها افزوده شد. نمونه‌ها به حد رطوبت مورد نظر با آب مقطر استریل شده رسانده شدند و در انکوباتور با دمای ٢٥ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ٦٠ روز نگه‌داری شدند.

در زمان‌های ١٠، ٣٠ و ٦٠ روز، سه نمونه از هر بسته برداشته شد. نمونه‌ها در دمای ٧٠ درجه سانتی‌گراد در آون خشک و وزن شدند. از کسر وزن کل نمونه از وزن لوله آزمایش خالی وزن مواد باقی‌مانده حاصل محاسبه شد. کاهش وزن نمونه‌ها نیز از وزن نمونه به‌دست آمده نسبت به وزن اولیه نمونه‌ها محاسبه گردید.

پس از انتقال نمونه به لوله‌های عصاره‌گیری پلی‌اتیلینی مناسب فسفر محلول نمونه‌ها با ٤٠ میلی‌لیتر کلرید کلسیم ٠/٠١ مولار به‌مدت دو ساعت در شرایط آزمایشگاه عصاره‌گیری شد. قبل از صاف نمودن عصاره‌ها pH عصاره حاصل اندازه‌گیری شد و سپس عصاره با کاغذ صافی واتمن ٤٢ صاف شد و فسفر محلول در عصاره‌ها به روش آسکوربیک اسید اندازه‌گیری شد (٢٠، ٢٤). مقایسه میانگین داده‌ها با روش دانکن در سطح یک درصد انجام شد و تجزیه واریانس داده‌ها و مقایسه میانگین نتایج با آزمون دانکن با نرم‌افزار MSTATC انجام شد.

1- Batch

نتایج و بحث

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که سطوح مختلف خاک فسفات و رطوبت اثر معنی‌داری بر فسفر محلول در زمان‌های مورد مطالعه داشتند (جدول ۱). مقایسه میانگین نشان داد که حضور قارچ به‌صورت معنی‌داری فسفر قابل عصاره‌گیری با کلرید کلسیم را متأثر نمود ولی در کل حضور *A. niger* در بیش‌تر نمونه‌ها باعث افزایش فسفر محلول و حضور قارچ جدایه باعث کاهش فسفر محلول نسبت به تیمار عدم حضور قارچ شد.

جدول ۱- تجزیه واریانس فسفر محلول در زمان‌های مختلف.

Table 1. Analysis of variance of soluble phosphorus in different time.

منابع تغییرات Source Of Variation	درجه آزادی DF	۱۰ روز 10 Day	۳۰ روز 30 Day	۶۰ روز 60 Day
قارچ Fungi	2	11822**	19252**	59452**
خاک فسفات Rock Phosphate	2	15333**	44115*	6049**
رطوبت Moisture	1	2467*	4383**	33207**
قارچ × خاک فسفات Fungi × Rock Phosphate	4	980^{ns}	2128*	9990**
قارچ × رطوبت Fungi×Moisture	2	540^{ns}	205*	2911^{ns}
رطوبت × خاک فسفات Moisture × Rock Phosphate	2	624^{ns}	2034^{ns}	6049**
قارچ × خاک فسفات × رطوبت Fungi × Rock Phosphate×Moisture	4	4471**	2145*	3031*
خطا error	36	487	747	924
ضریب تغییرات CV		7.78	8.33	8.4

**، * و ^{ns} به‌ترتیب معنی‌داری در سطح ۱ درصد، ۵ درصد و عدم معنی‌داری.

**,* and ^{ns} Significant at P<0.01, P<0.05 and Non-significant, respectively.

در روز دهم فسفر محلول در حضور *A. niger* در بیش‌تر تیمارها نسبت به عدم حضور قارچ و قارچ جدایه بیش‌تر بود و بیش‌ترین فسفر محلول در حضور *A. niger* در سطح خاک فسفات صفر و رطوبت ۱۰۰ درصد وزنی (۳۸۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به‌دست آمد (جدول ۲). حضور جدایه در بیش‌تر نمونه‌ها فسفر محلول را نسبت به عدم حضور قارچ کاهش داد ولی در نمونه‌های حاوی خاک فسفات این کاهش کم‌تر بود. به‌طوری‌که در رطوبت ۱۰۰ درصد وزنی در سطح صفر خاک فسفات در حضور جدایه فسفر محلول ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود که نسبت به تیمار عدم حضور قارچ ۳۰۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاهش داشت (جدول ۲). در حالی‌که در همین سطح رطوبت و سطح یک: چهار خاک فسفات فسفر محلول ۲۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به عدم حضور قارچ (۲۳۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم) افزایش اندکی را نیز نشان داد. در همه

تیمارها فسفر محلول با افزایش نسبت خـاک فـسفات کاهش یافت. این کاهش به‌ویژه در عدم حضور قـارچ کاملاً مشخص بود به‌طوری‌که در رطوبت ٢٠٠ درصد وزنی فسفر محلول از ٣٤١ میلی‌گرم بـر کیلـوگرم در تیمار صفر خاک فسفات به ٢٥٤ میلی‌گرم بر کیلوگرم در سطح یک: چهار کاهش یافت. بیسواز و ناریاناسامی (٢٠٠٦) مشاهده نمودند که با افزودن خاک فسفات به کاه برنج در زمان‌های ابتـدایی در حـضور قـارچ‌هـای حل‌کننده فسفات مقدار فسفر محلول نسبت به شـاهد کاهش یافت. طبق تجزیه‌های انجام شده در آزمایشگاه آسفوردی یزد خاک فسفات آسفوردی یزد دارای مقدار زیادی اکسیدهای آهن می‌باشد که احتمـال دارد دلیـل اصلی جذب فسفر توسط خاک فسفات باشد (جدول ٢). میشرا و همکاران (١٩٨٢) با افـزودن نـسبت‌هـای مشخصی از خاک فسفات به محیط کشت قارچ‌ها نشان دادند که در همه تیمارها با افزایش نسبت خاک فسفات فسفر محلول کاهش یافت (٢٢). سـینگ و همکـاران (١٩٨٠) دریافتند که یک گرم خاک فسفات می‌تواند ٢٠ تا ٢٢ میلی‌گرم فسفر محلول را جذب کند (٣٣).

جدول ٢- مقایسه میانگین مقدار فسفر محلول در آب (میلی‌گرم بر کیلوگرم).

Table 2. Mean comparison of the amount of water soluble phosphorus (mg kg^{-1}).

خاک فسفات	درصد رطوبت	قارچ Fungi		
Rock Phosphate	Moisture%	شاهد Control	*A. niger*	جدایه Isolate
		١٠ روز 10 Day		
0	100%	305^{b-d}	388^{a}	250^{fg}
0	200%	342^{b}	304^{b-e}	297^{c-e}
1:8	100%	273^{d-g}	276^{d-g}	262^{e-g}
1:8	200%	286^{c-f}	324^{bc}	267^{d-g}
1:4	100%	236^{g}	264^{d-g}	240^{g}
1:4	200%	254^{fg}	304^{b-d}	237^{g}
		٣٠ روز 30 Day		
0	100%	348^{cd}	401^{a}	398^{ab}
0	200%	384^{ab}	408^{a}	344^{c-e}
1:8	100%	335^{c-e}	348^{b-d}	250^{gh}
1:8	200%	330^{d-f}	372^{a-d}	288^{fg}
1:4	100%	278^{g}	294^{ef}	217^{h}
1:4	200%	294^{fg}	339^{c-f}	$272g$
		٦٠ روز 60 Day		
0	100%	374^{b-d}	429^{b}	390^{b-d}
0	200%	401^{bc}	431^{b}	384^{b-d}
1:8	100%	348^{c-e}	409^{b}	261^{g}
1:8	200%	351^{c-e}	552^{a}	306^{e-g}
1:4	100%	290^{fg}	313^{e-g}	208^{h}
1:4	200%	341^{d-f}	399^{bc}	302^{e-g}

در هر زمان میانگین‌هایی که دارای یک حرف مشترک هستند در سطح یک درصد آماری تفاوت معنی‌دار ندارند.

Means followed by at least one similar letter are not significantly different (P<0.01) on each time.

در روز دهم به‌صورت کلی افزایش رطوبت فسفر محلول را افزایش داد ولی در سطح صفر خاک فسفات در حضور جدایه و *A. niger* افزایش رطوبت سبب کاهش فسفر محلول شد. که احتمالاً به‌دلیل رشد بیش‌تر قارچ در محیط و تبدیل فسفر محلول به فسفر آلی است. در تیمارهای خاک فسفات، افزایش فسفر محلول با افزایش رطوبت در حضور *A. niger* نسبت به تیمار عدم حضور قارچ بیش‌تر بود. به‌عنوان مثال در تیمارهای یک: هشت خاک فسفات: پوسته برنج با افزایش رطوبت از ۱۰۰ به ۲۰۰ درصد وزنی در عدم حضور قارچ فسفر محلول از ۲۷۳ به ۲۸٦ میلی‌گرم بر کیلوگرم افزایش یافت در حالی‌که در حضور *A. niger* از ۲۷٦ به ۳۲٤ میلی‌گرم بر کیلوگرم افزایش یافت (جدول ۲) که نشان می‌دهد در این زمان نیز فعالیت‌های بیولوژیکی در حل کردن فسفات‌های نامحلول مؤثر بودند. افزایش رطوبت در تیمارهای شاهد حاوی خاک فسفات نیز سبب افزایش فسفر محلول در محیط شد. کانابو و جیلکس (۱۹۸۷) نشان دادند بدون حضور ریزجانداران نیز افزایش رطوبت سبب افزایش فسفر محلول حاصل از خاک فسفات می‌شود (۱٤).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات اصلی قارچ، خاک فسفات و رطوبت و برهمکنش قارچ و خاک فسفات و قارچ با رطوبت بر فسفر محلول در روز سی‌ام معنی‌دار است (جدول ۱). در این زمان اثرات قارچ به تیمار خاک فسفات وابسته بود به‌نحوی‌که در عدم حضور خاک فسفات بیش‌ترین فسفر محلول در هر دو سطح رطوبتی در حضور *A. niger* مشاهده شد. در سطح یک: هشت خاک فسفات و تیمار رطوبتی ۲۰۰ درصد وزنی نیز بیش‌ترین فسفر محلول در تیمار *A. niger* مشاهده شد. در سطح یک: چهار خاک فسفات باز هم حضور *A. niger* با افزایش فسفر محلول همراه بود ولی در این نسبت خاک فسفات تغییرات فسفر محلول از عدم حضور و سطح یک: هشت خاک فسفات کم‌تر بود. حضور جدایه مورد استفاده در این پژوهش در اکثر موارد سبب کاهش فسفر محلول گردید و کم‌ترین فسفر محلول در نسبت یک: هشت و نسبت یک: چهار خاک فسفات از آن این تیمار بود (جدول ۲). در کل فسفر محلول در روز سی‌ام نسبت به زمان ده روز در هر سه سطح قارچ افزایش داشت و به‌طور میانگین از ۲٦۵ به ۳۲۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم یعنی حدود ٦۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم افزایش یافت. افزایش رطوبت در بیش‌تر تیمارها فسفر محلول را افزایش داد (جدول ۲). کریم و همکاران (۲۰۱۰) مشاهده کردند که با افزایش رطوبت محیط تولید اسید توسط قارچ افزایش یافت (۱٦). واسیلو و همکاران (۲۰۰۷) و هانگ و همکاران (۱۹۸۷) نشان دادند که با افزایش درصد رطوبت تولید آنزیم فیتاز توسط ریزجانداران و مقدار فسفر محلول در محیط افزایش یافت. ولی این افزایش در عدم حضور قارچ در تیمارهای حاوی خاک فسفات ناچیز بود (۳٦، ۱۰).

در روز شصتم نیز فسفر محلول نسبت به مرحله قبل افزایش یافت. این افزایش بیش‌تر مربوط به حضور *A. niger* در محیط بود که سبب افزایش زیاد فسفر محلول نسبت به مرحله قبل شد (جدول ۲). کاراواکا و همکاران (۲۰۰٤) نشان دادند با اضافه کردن *A. niger* به بستر پسماندهای چغندر غنی‌شده با خاک فسفات فسفر محلول در محیط تا حد زیادی

افزایش یافت. افزایش رطوبت نیز تا حد زیادی سبب افزایش فسفر محلول در حضور این قارچ خصوصاً در تیمارهای حاوی خاک فسفات شد (٤). کریم و همکاران (٢٠١٠) مشاهده کردند با افزایش رطوبت محیط تولید اسید توسط قارچ افزایش یافت. واسیلو و همکاران (٢٠٠٧) و هانگ و همکاران (١٩٨٨) نشان دادند با افزایش درصد رطوبت تولید آنزیم فیتاز توسط ریزجانداران و مقدار فسفر محلول در محیط افزایش یافت (٣٦، ١٠). بیش‌ترین فسفر محلول در این مرحله مربوط به تیمار یک: هشت خاک فسفات با رطوبت ٢٠٠ درصد وزنی در حضور *A. niger* بود. فسفر محلول در این تیمار معادل ٥٥٢ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود که نسبت به زمان قبلی ١٨٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم افزایش یافت. که توانایی *A. niger* را در حل کردن فسفات‌های نامحلول نشان می‌دهد. به‌صورت کلی افزایش نسبت خاک فسفات به یک: چهار سبب کاهش فسفر محلول گردید. سینگ و آمبرگر (١٩٩٧) با اضافه کردن اسیدهای آلی مختلف به بستر کاه گندم غنی‌شده با خاک فسفات نشان دادند با افزایش نسبت خاک فسفات تا نسبت یک: چهار فسفر محلول در نمونه‌ها افزایش یافت افزایش بیش‌تر خاک فسفات باعث کاهش فسفر محلول در محیط شد و در نسبت ١:٥٠ فسفر محلول به صفر رسید (٣٢).

زیائو و همکاران (٢٠٠٨) نشان داد که افزایش غلظت خاک فسفات تا ٢/٥ گرم بر لیتر سبب افزایش فسفر محلول در محیط شد افزایش بیش‌تر غلظت خاک فسفات سبب کاهش فسفر محلول در محیط شد. با وجود این‌که در حضور جدایه نیز افزایش رطوبت باعث افزایش فسفر محلول شد ولی در کل حضور جدایه تأثیر ناچیزی در افزایش فسفر محلول نسبت به عدم حضور قارچ داشت (٣٧). افزایش فسفر محلول در حضور جدایه در روز شصتم به‌صورت میانگین تنها ١٣ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود که نسبت به عدم حضور قارچ (٢٨ میلی‌گرم بر کیلوگرم) خیلی کم‌تر بود و می‌تواند نشان‌دهنده تبدیل فسفر محلول به شکل آلی در حضور جدایه باشد. کاهش فسفر محلول با افزایش نسبت خاک فسفات نیز در حضور این قارچ خیلی کم‌تر بود. مثلاً در رطوبت ٢٠٠ درصد با افزایش نسبت خاک فسفات از یک: هشت به یک: چهار تغییر چندانی در فسفر محلول مشاهده نشد. زید و عبدالمتال (٢٠٠٥) نشان دادند که اضافه کردن ریزجاندان حل‌کننده فسفات در بستر کاه برنج در طول یک دوره ١٠٥ روزه فسفر محلول نسبت به نمونه‌های شاهد بدون باکتری به مقدار معنی‌داری افزایش یافت (٤٠).

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که سطوح مختلف خاک فسفات و رطوبت اثر معنی‌داری بر pH محیط در زمان‌های مورد مطالعه داشتند و سطوح مختلف قارچ بیش‌ترین تأثیر را بر pH نمونه‌ها داشت (جدول ٣).

جدول ۳- جدول تجزیه واریانس pH.

Table 3. Analysis of variance of pH.

منابع تغییرات Source of Variation	درجه آزادی DF	۱۰ روز 10 Day	۳۰ روز 30 Day	٦۰ روز 60 Day
قارچ Fungi	2	1.1**	0.6**	1.7**
خاک فسفات Rock Phosphate	2	3.7^{ns}	4*	2.4**
رطوبت Moisture	1	0.12**	0.1**	0.02**
قارچ × خاک فسفات Fungi × Rock Phosphate	4	1.1^{ns}	0.1*	0.3^{ns}
قارچ × رطوبت Fungi × Moisture	2	2.4^{ns}	0.1*	4.1**
رطوبت × خاک فسفات Moisture × Rock Phosphate	2	6.8**	0.01^{ns}	0.2**
قارچ × خاک فسفات × رطوبت Fungi × Rock Phosphate × Moisture	4	4.4**	1.3^{ns}	0.2**
خطا error	36	0.04	0.02	0.01
ضریب تغییرات CV		3.8	2.8	1.7

**، * و ^{ns} به‌ترتیب معنی‌داری در سطح ۱ درصد، ۵ درصد و عدم معنی‌داری.

**,* and ^{ns} Significant at P<0.01, P<0.05 and Non-significant, respectively.

جدول مقایسه میانگین تغییرات pH (جدول ٤) نشان داد که در روز دهم حضور هر دو قارچ pH محلول را تحت‌تأثیر قرار دادند. این تغییرات در تیمارهای مربوط به قارچ جدایه مشهودتر بود و حضور این قارچ سبب افزایش pH محیط شد. در حالی‌که *A. niger* سبب کاهش pH محیط شد. قارچ‌ها در محیط‌های مختلف می‌توانند فعالیت‌های کاملاً متفاوتی از خود نشان دهند و حتی مرحله رشدی یک نوع قارچ در محیط‌های متفاوت می‌تواند کاملاً متغیر باشد. ایلمر و شینر (۱۹۹۵) نشان دادند که برخی از ریزجانداران حل‌کننده فسفات با وجود حل کردن مقادیر فسفر نامحلول در محیط سبب افزایش pH آن می‌شوند (۱۲). در تیمارهای مربوط به سطح صفر خاک فسفات نسبت به تیمارهای با تغییر سطح قارچ، تغییرات pH بیش‌تر بود. مثلاً در سطح خاک فسفات صفر با رطوبت ۱۰۰ درصد pH محیط از ٤/٥ در نمونه شاهد به ٤/۱ در تیمار *A. niger* کاهش و به ٤/۸ در تیمار جدایه افزایش یافت. با افزایش مقدار خاک فسفات در همه تیمارها pH محیط در حد معنی‌داری افزایش یافت. سینگ و آمبرگر (۱۹۹۷) نشان دادند با افزایش نسبت خاک فسفات به بستر کاه گندم pH محیط تا حد زیادی افزایش یافت و از ٤/٤۳ در سطح شاهد به ۷/۳٥ در سطح ۱:٥۰ رسید (۳۲). در سطح صفر خاک فسفات، افزایش رطوبت باعث کاهش pH محیط شد، در حالی‌که در حضور خاک فسفات افزایش رطوبت تأثیری زیادی بر pH

نداشت. در کل در حضور قارچ *A. niger* افزایش رطوبت در نمونه‌های حاوی خاک فسفات باعث کاهش pH محیط شد و فعالیت جدایه در همه نمونه‌ها سبب افزایش pH محیط شد که این فعالیت متفاوت همان‌طور که قبلاً اشاره شد احتمالاً به‌دلیل فعالیت‌های متفاوت قارچ‌ها در محیط می‌باشد.

در روز سی‌ام در نمونه‌های با رطوبت ١٠٠ درصد وزنی افزایش pH مشاهده شد ولی در تیمارهای حاوی رطوبت ٢٠٠ درصد وزنی در سطح صفر خاک فسفات pH کاهش یافت و در تیمارهای حاوی خاک فسفات تغییر معنی‌داری در pH محیط مشاهده نشد. pH محیط در هیچ‌کدام از سطوح *A. niger* و جدایه تغییری معنی‌داری نسبت به روز دهم نداشت. در بیش‌تر تیمارهای شاهد و *A. niger* افزایش رطوبت سبب کاهش pH محیط شد در حضور جدایه رطوبت تأثیری در pH محیط نداشت.

تغییرات pH در زمان ٦٠ روز از زمان‌های ١٠ و ٣٠ روز بیش‌تر بود. ولی در این زمان نیز تغییر چندانی در حضور قارچ جدایه مشاهده نشد. در تیمارهای شاهد و در حضور *A. niger*، pH محیط کاهش یافت. حضور *A. niger* بیش‌ترین تأثیر را در کاهش pH محیط داشت. در طول این دوره افزایش درصد رطوبت تأثیر چندانی در pH محیط در حضور قارچ جدایه و شاهد نداشت اما در حضور *A. niger* در تیمارهای حاوی خاک فسفات با کاهش معنی‌داری در مقادیر pH همراه بود به‌طوری‌که در سطح یک: هشت خاک فسفات pH محیط از ٥/٣ در رطوبت ١٠٠ درصد وزنی به ٤/٦ در رطوبت ٢٠٠ درصد وزنی کاهش یافت. بیش‌ترین تغییرات pH نیز در همین سطح مشاهده شد. افزایش خاک فسفات در این مرحله نیز سبب افزایش pH محیط شد. واسیلو و همکاران (٢٠٠٧) و هانگ و همکاران (١٩٨٨) مشاهده نمودند که مقدار اسید سیتریک محیط کشت با افزایش رطوبت در حضور *A. niger* افزایش یافت (٣٦، ١٠). ریس و همکاران (٢٠٠٦) نیز نشان دادند که با فعالیت ریزجانداران در محیط pH کاهش یافت و این کاهش توأم با افزایش فسفر محلول در محیط بود (٢٩).

در همه نمونه‌ها در هر سه زمان افزایش خاک فسفات سبب افزایش pH محیط شد.

اندازه‌گیری وزن تیمارها در طول آزمایش نشان داد که در هر سه سطح قارچ، وزن نمونه‌ها در طول زمان کاهش یافت که نشان‌دهنده تجزیه و کمپوست شدن کاه می‌باشد. در کل جدایه بیش‌ترین تأثیر را در کاهش وزن نمونه‌ها داشت و بیش‌ترین کاهش وزن در طول آزمایش در حضور جدایه در سطح یک: هشت خاک فسفات و رطوبت ٢٠٠ درصد وزنی به‌دست آمد. که نشان می‌دهد فعالیت تجزیه بستر کشت در حضور جدایه بیش‌تر از دو محیط دیگر بود. افزایش رطوبت نیز تأثیر زیادی در کاهش وزن بستر کشت داشت و در بیش‌تر تیمارها سبب کاهش بیش‌تر وزن بستر کشت شد. در حضور هر دو قارچ کاهش وزن بیش‌تر از شاهد بود. با افزایش نسبت خاک فسفات کاهش وزن تیمارها کاهش یافت (جدول ٥). کاسار و همکاران (٢٠١٠) با مطالعه گونه‌های مختلف قارچی نشان داد که در حضور برخی از قارچ‌ها با تولید آنزیم سلولولیتیک تجزیه کاه برنج نسبت به شاهد تا حد زیادی افزایش یافت (١٨). پژوهش‌های چندانی برای مطالعه کاهش وزن مواد آلی در حین کمپوست شدن انجام نگرفته است.

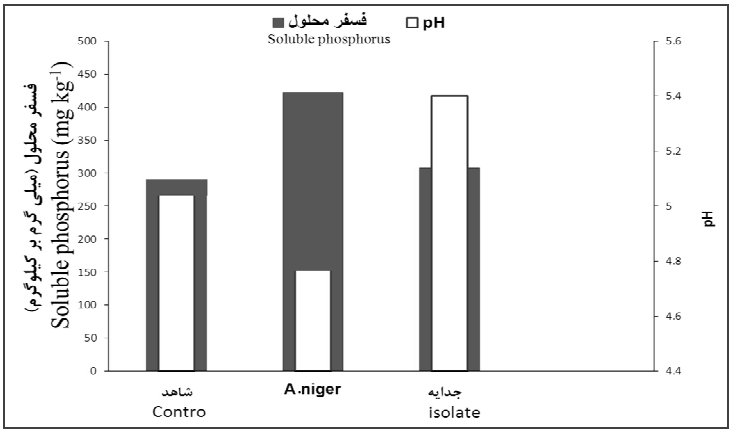
جدول ٤- جدول مقایسه میانگین pH.

Table 4. Mean comparison of pH.

خاک فسفات	درصد رطوبت	قارچ Fungi		
Rock Phosphate	Moisture%	شاهد Control	*A. niger*	جدایه Isolate
		۱۰ روز 10 Days		
0	100%	4.5f^{g}	4.1^{g}	4.8^{ef}
0	200%	4.8^{ef}	4.7^{ef}	5d^{e}
1:8	100%	5.3^{b-d}	5.2^{c-e}	5.6^{a-c}
1:8	200%	5.3^{b-d}	4.8^{ef}	5.8^{ab}
1:4	100%	5.5^{a-c}	5.5^{a-c}	5.5^{a-c}
1:4	200%	5.5^{a-c}	5.2^{c-e}	5.9^{a}
		۳۰ روز 30 Days		
0	100%	4.7^{d}	4.5^{d}	5.0^{c}
0	200%	4.4^{d}	4.6^{d}	5.0^{c}
1:8	100%	5.5^{ab}	5.3b^{c}	5.5^{ab}
1:8	200%	5.3^{bc}	5.0^{c}	5.6^{ab}
1:4	100%	5.7^{ab}	5.5^{ab}	5.8^{a}
1:4	200%	5.5^{ab}	5.5^{ab}	5.8^{a}
		٦٠ روز 60 Days		
0	100%	4.6f^{g}	4.0^{h}	5.0^{de}
0	200%	4.5f^{g}	4.4^{g}	4.9^{de}
1:8	100%	5.3^{bc}	5.3^{bc}	5.5^{a-c}
1:8	200%	5.2^{cd}	4.6^{g}	5.5^{a-c}
1:4	100%	5.5^{ab}	5.4^{a-c}	5.8^{a}
1:4	200%	5.5^{a-c}	4.8^{ef}	5.8^{a}

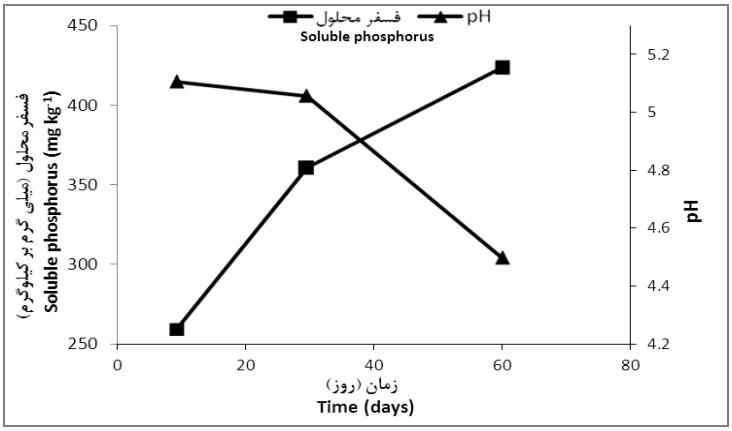
در هر زمان میانگین‌هایی که دارای یک حرف مشترک هستند در سطح یک درصد آماری تفاوت معنی‌دار ندارند.

Means followed by at least one similar letter are not significantly different (P<0.01) on each time.



شکل ۱- تغییرات pH و فسفر محلول در روز شصتم.

Figure 1. Changes in pH and soluble phosphorus on the 60th day.



شکل ٢- تغییرات pH و فسفر محلول در حضور *A. niger* در طول زمان.

Figure 2. Changes in pH and soluble phosphorus in the presence of *A. niger* in during the time.

جدول ٥- جدول مقایسه میانگین کاهش وزن بستر کشت (میلی‌گرم).

Table 5. Mean comparison of mass reduction of medium culture (mg).

قارچ Fungi			درصد رطوبت	خاک فسفات
جدایه Isolate	*A. niger*	شاهد Control	Moisture%	Rock Phosphate
		١٠ روز 10 Day		
23^{b-d}	22^{b-d}	5^{de}	100%	0
5^{de}	24^{b-d}	11^{c-e}	200%	0
12^{c-e}	24^{b-d}	7^{c-e}	100%	1:8
24^{bcd}	16^{b-e}	12^{c-e}	200%	1:8
17^{b-e}	10^{c-e}	3^{e}	100%	1:4
16^{b-e}	50^{a}	14^{b-e}	200%	1:4
		٣٠ روز 30 Day		
77^{ab}	50^{c-e}	50^{c-e}	100%	0
74^{ab}	45^{d-g}	20^{h}	200%	0
44^{d-g}	45^{d-g}	30^{f-h}	100%	1:8
87^{a}	30^{f-h}	32^{f-h}	200%	1:8
80^{ab}	47^{def}	28^{gh}	100%	1:4
55^{cd}	68^{bc}	32^{fgh}	200%	1:4
		٦٠ روز 60 Day		
93^{a}	40^{c}	57^{bc}	100%	0
80^{ab}	51^{c}	47^{c}	200%	0
64^{a-c}	50^{c}	40^{c}	100%	1:8
97^{a}	44^{c}	58^{bc}	200%	1:8
69^{a-c}	42^{c}	52^{c}	100%	1:4
74^{a-c}	87^{a}	52^{c}	200%	1:4

در هر زمان میانگین‌هایی که دارای یک حرف مشترک هستند در سطح یک درصد آماری تفاوت معنی‌دار ندارند.

Means followed by at least one similar letter are not significantly different (P<0.01) on each time.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج آزمایش حاضر نشان می‌دهد که استفاده از خاک فسفات معدن آسفوردی یزد به‌صورت مستقیم در اراضی کشاورزی و یا اختلاط آن دقیقاً قبل از مصرف کودهای آلی نه تنها ممکن است به بهبود وضعیت فسفر منجر نشود بلکه احتمال کاهش فسفر قابل‌جذب نیز وجود دارد. به همین علت پس از افزوده شدن این خاک فسفات به بقایای آلی مدت زمانی برای انجام واکنش‌های زیستی و رهاسازی فسفر مورد نیاز است. نتایج همچنین نشان می‌دهد که شرایط محیطی از جمله نسبت خاک فسفات و رطوبت محیط می‌تواند بر مقدار انحلال فسفر اثر بگذارد و پژوهش‌های بیش‌تری برای مشخص نمودن شرایط بهینه و کسب نتایج مناسب ضروری است.

منابع

1.Bhatti, T.M., and Yawar, W. 2010. Bacterial solubilization of phosphorous from phosphate rock containing sulfur-mud. Hydrometallurgy. 103: 54-59.

2.Biswas, D.R., and Narayanasamy, G. 1998. Direct and residual effectiveness of partially acidulated P fertilizers in a cowpea-wheat cropping system. J. Ind. Soc. Soil Sci. 46: 406-411.

3.Biswas, D.R., and Narayanasamy, G. 2006. Rock phosphate enriched compost: an approach to improve low-grade Indian rock phosphate. Bioresour. Technol. 97: 2243-2251.

4.Caravaca, F., Alguacil, M.M., Azcón, R., D´ıaz, G., and Roldán, A. 2004. Comparing the effectiveness of mycorrhizal inoculation and amendment with sugar beet, rock phosphate and *Aspergillus niger* to enhance field performance of the leguminous shrub *Dorycnium pentaphyllum*. Appl. Soil Ecol. 25: 169-180.

5.Cunningham, J.E., and Kuiack, C. 1992. Production of citric and oxalic acids and solubilization of calcium phosphate by *Penicillium bilaii*. Appl. Environ. Microbiol. 58: 1451-1458.

6.Diaz, L.F., Savage, G.M., Eggerth, L.L., and Golueke, C.G. 1993. Composting and recycling municipal solid waste. Leuis Publishers. Bocaraton, 296p.

7.Gadde, B., Bonnet, S., Menke, C., and Garivait, S. 2009. Air pollutant emissions from rice straw open field burning in India, Thailand and the Philippines. Environ. Pollut. 157: 1554-1558.

8.Gholizadeh, A.L., Ardalan, M., Tehrani, M.M., Mirseyedhoseini, S.H., and Karimian, N. 2009. Solubility test in some phosphate rocks and their potential for direct application in soil. World Appl. Sci. J. 6: 182-190.

9.Goldstein, A.H. 1986. Bacterial solubilization of mineral phosphates: historical perspectives and future prospects. Am. J. Altern. Agric. 1: 57-65.

10.Hang, Y.D., and Woodams, E.E. 1987. Effect of substrate moisture content on fungal production of citric acid in a solid state fermentation system. Biotechnol. Lett. 9: 183-186.

11.Hassan, W.A., and Taha, K.H. 2009. Effect of soil moisture, manure and phosphate fertilization on the epiphytotic prediction of tomato grown and root rot caused by *Fusarium oxysporum*. Arab. J. Plant Prot. 27: 127-134.

12.Illmer, E., and Schinner, E. 1995. Phosphate solubilizing microorganisms under non-sterile conditions. Die Bodenkultur. 46: 197-204.

13.Jena, S.K., and Rath, C.C. 2013. Optimization of culture conditions of phosphate solubilizing activity of bacterial sp. isolated from Similipal biosphere Reserve in Solid-State Cultivation by Response Surface Methodology. Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci. 2: 47-59.

14.Kanabo, I., and Gilkes, R.J. 1987. The role of soil pH in the dissolution of phosphate rock fertilizers. Fertilizer Res. 12: 165-173.

15. Kansran Counselor Corporation. 1992. Beneficiation and using Possibility stady of Zagross and Lar Mountain phosphate rock. Mine and Metal ministry, Geology Organization Library. No. 80277.
16. Kareem, S.O., Akpan, I., and Alebiowu, O.O. 2010. Production of citric acid by *Aspergillus niger* using pineapple waste Malaysian. J. Microbiol. 6: 161-165.
17. Karpagam, T., and Nagalakshmi, P.K. 2014. Isolation and characterization of phosphate solubilizing microbes from agricultural soil. Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci. 3: 601-614.
18. Kausar, H., Sariah, M., Saud, H.M., Alam, M.Z., and Ismail, M.R. 2010. Development of compatible lignocellulolytic fungal consortium for rapid composting of rice straw. Int. Biodeterior. Biodegr. 64: 594-600.
19. Khan, M.S., Zaidi, A., and Wani, P.A. 2007. Role of phosphate-solubilizing microorganisms in sustainable agriculture-A review. Agron. Sustain. Dev. 27: 29-43.
20. Kuo, S. 1996. Phosphorus. In Methods of Soil Analysis. Part 3, Chemical Methods; SSSA, Madison, WI. Pp: 869-919.
21. Martin, D.L., and Gershuny, G. 1992. The Rodale Book of Composting. Rodale Press: Emmaus. PA, 278p.
22. Mishra, M.M., Kapoor, K.K., and Yadav, K.S. 1982. Preparation of P-enriched compost with rock phosphate and its effects on crop yield. Indian J. Agric. Sci. New Delhi. 52: 674-678.
23. Mohamadi Aria, M., Lakzian, A., Haghnia, G.H., Berenji, A., Besharati, R., and Fotovat, A. 2010. Effect of Thiobacillus, sulfur and vermicompost on the water-soluble phosphorus of hard rock phosphate. Biores. Technol. 101: 551-554.
24. Murphy, J., and Riley, J.P. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. Anal. Chim. Acta. 27: 31-36.
25. Nandi, N., Hajra, J.N., and Sinha, N.B. 1996. Microbial synthesis of humus from rice straw following two-step composting process. J. Ind. Soc. Soil Sci. 44: 416-423.
26. Nishanth, D., and Biswas, D.R. 2008. Kinetics of phosphorus and potassium release from rock phosphate and waste mica enriched compost and their effect on yield and nutrient uptake by wheat (*Triticum aestivum*). Biores. Technol. 99: 3342-3353.
27. Pandey, A.K., Gaind, S., Ali, A., and Nain, L. 2009. Effect of bioaugmentation and nitrogen supplementation on composting of paddy straw. Biodegradation. 20: 293-306.
28. Reddy, D.D. 2007. Phosphorus Solubilization from low-grade rock phosphates in the presence of decomposing soybean leaf litter. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 38: 283-291.
29. Reyes, I., Valery, A., and Valduz, Z. 2006. Phosphate-solubilizing microorganisms isolated from rhizospheric and bulk soils of colonizer plants at an abandoned rock phosphate mine. Plant Soil. 287: 69-75.
30. Sagervanshi, A., Kumari, P., Nagee, A., and Kumar, A. 2012. Media optimization for inorganic phosphate solubilizing bacteria isolated from Anand agriculture soil. Int. J. Lif. Sci. Pharma Res. 2: 245-255.
31. Salimpour, S., Khavazi, K., Nadian, H., and Beshrati, H. 2010. The effect of phosphate soil with Sulfur and microorganisms on yield and chemical composition of Canola. J. Soil Res. 24: 9-19.
32. Singh, C.P., and Amberger, A. 1997. Organic acids and phosphorus solubilization in Straw composted with rock phosphate. Bioresour. Technol. 63: 13-16.
33. Singh, C.P., Mishra, M.M., and Yadava, K.S. 1980. Solubilization of insoluble P by thermophilic fungi. Annals. Microbiol. 131: 289-296.
34. Tengerdy, R.P., and Szakacs, G. 2003. Bioconversion of lignocellulose in solid substrate fermentation. Bioche. Eng. J. 13: 169-179.
35. Van Straaten, P. 2002. Rocks for crops. Agrominerals of sub-Saharan Africa. International Centre for Research in Agroforestry, 11: 338.
36. Vassilev, N., Vassileva, M., Bravo, V., Fernández-Serrano, M., and Nikolaeva, I. 2007. Simultaneous phytase production and rock phosphate solubilization by *Aspergillus niger* grown on dry olive wastes. Industrial Crops and Products. 26: 332-336.

37.Xiao, C.Q., Chi, R.A., Huang, X.H., Zhang, W.X., Qiu, G.Z., and Wang, D.Z. 2008. Optimization for rock phosphate solubilization by phosphate-solubilizing fungi isolated from phosphate mines. Ecol. Eng. 33: 187-193.
38.Yadav, H., Gothwal, R.K., Nigam, V., Sinha-Roy, K.S., and Ghosh, P. 2013. Optimization of culture conditions for phosphate solubilization by a thermo-tolerant phosphate-solubilizing bacterium Brevibacillus sp. BISR-HY65 isolated from phosphate mines. Biocata. Agric. Biotechnol. 2: 217-225.
39.Zavala, M.A.L., and Funamizu, N. 2005. Effect of moisture content on the composting process in a biotoilet system. Compost Sci. Util. 13: 208-216.
40.Zayed, G., and Abdel-Motaal, H. 2005. Bio-active composts from rice straw enriched with rock phosphate and their effect on the phosphorus nutrition and microbial community in rhizosphere of cowpea. Bioresour. Technol. 96: 929-935.

J. of Soil Management and Sustainable Production, Vol. 6(2), 2016
http://ejsms.gau.ac.ir

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Effect of moisture level and rock phosphate on soluble P at the presence of phosphorus solubilizing fungi during time

N. Jahangir Zadeh[1], *E. Adhami[2], A.A. Naghiha[3] and H.R. Owliaie[2]
[1]M.Sc. Student, Dept. of Soil Science, University of Yasouj, [2]Associate Prof., Dept. of Soil Science, University of Yasouj, [3]Assistant Prof., Dept. of Animal Science, University of Yasouj
Received: 06/23/2014; Accepted: 04/28/2015

Abstract
Background and Objectives: Direct application of Rock phosphate (RP) could be a suitable substitution for chemical P fertilizers, but due to many reasons RP application may not show desirable and satisfying efficiency in calcareous soils. A technique to increase RP solubility is the use of phosphorus (P) solubilizing microorganisms. Some of insoluble P compounds will be solubilized and transformed to available form by the activity of P solubilizing microorganisms. Dissolution of phosphate by P solubilizing microorganisms is dependent on the environmental conditions and the composition of the medium culture. Moisture content is one of the crucial factors which could affect RP and organic matter dissolution and microorganisms' activity and finally influence insoluble P compounds. Content of RP in the medium is the other important factor and high content of RP could result in the decrease of soluble P. Present study conducted in order to study the effect of two fungal species, moisture content and rock phosphate content on water soluble phosphate (WSP), pH and changes of medium weight with time.
Materials and Methods: The used fungi in the present study were *Aspergilus niger* and an isolate from Koh sepid Lar Yasouj phosphate mine. The experiment performed as factorial in a completely randomized design with three rock phosphate (RP) levels (zero, 1:8 and 1:4 RP: rice husk), two moisture content (100 and 200% w/w) and fungi at three levels (control, the isolate and *A. niger*) with three replications as batch experiment in test tube for 60 days. Moisture content was adjusted to the specified level in sterile condition and by sterile deionized water by weighing each three days during incubation period. At 10, 30 and 60 days three tubes were removed of each treatment and dried under 70 ºC. Samples were weighed and transferred to suitable polyethylene tubes for extracting soluble P. Soluble P extraction was carried out by 0.01 M $CaCl_2$ and P determined by blue method colorimetry method. pH and mass reduction of culture medium were also measured and calculated.
Results: Results showed that presence of RP not only did not increase but even decreased WSP and the increase of RP content was associated with more reduction of soluble P. Generally, WSP increased with moisture increase to 200%. The highest WSP was achieved in the presence of *A. niger* on 200% moisture level and 1:8 RP on 60d. Water soluble P showed a decreasing trend in the presence of the isolate though it had a higher growth than *A. niger*. The trend of pH changes was reverse to WSP and pH decrease increased WSP. Sample weight reduction was higher in the presence of fungi than control and sample weight reduction was higher in the presence of isolate than *A. niger* which may show better growth of the isolate in rice husk medium.
Conclusion: Results of the present study suggest that medium composition and condition is important on P solubilization and need more attention.

Keywords: Incubation, pH, Changes of weight, Medium

* Corresponding Authors; Email: eadhami@gmail.com