

Determining bioavailable phosphorus in some paddy soils by algal assay method

Ali Gholamalizadeh¹, Nasrin Ghorbanzadeh^{*2}, Mohammad Bagher Farhangi³,
Maryam Khalili Rad⁴

1. M.Sc. Graduate of Soil Science, Dept. of Soil Science, University of Guilan, Iran. E-mail: alighz20120@gmail.com
2. Corresponding Author, Associate Prof., Dept. of Soil Science, University of Guilan, Iran. E-mail: nghorbanzadeh@guilan.ac.ir
3. Assistant Prof., Dept. of Soil Science, University of Guilan, Iran. E-mail: m.farhangi@guilan.ac.ir
4. Assistant Prof., Dept. of Soil Science, University of Guilan, Iran. E-mail: m_khalilrad@guilan.ac.ir

Article Info

Article type:

Full Length Research Paper

Article history:

Received: 05.29.2022

Revised: 04.29.2023

Accepted: 05.02.2023

Keywords:

Dissolved phosphorus,
Eutrophication,
Inorganic phosphorus,
Sequential extraction

ABSTRACT

Background and Objectives: The loss of phosphorus (P) from agricultural lands and its entry into water resources has caused the algal bloom and eutrophication phenomena, and has marked the control of P entrance to aquatic ecosystems as an important challenge for the management of these resources. The algal assay is considered as the most reliable method for quantifying the potential of P bioavailability. The aim of this study was to investigate the bioavailability of P in three paddy soils and its relationship with the growth of *Chlorella* sp. microalgae.

Materials and Methods: Soil samples were taken from a depth of 0-10 cm of paddy fields located in five regions of Pasikhan, Pirbazar, Siahdarvishan, Fakhhab, and Lakan, which had annually received phosphorus fertilizer for a long time. At first, different P fractions were determined by Hedley sequential extraction method in 5 soils, and 3 soils (Psikhan, Pirbazar, and Lakan) based on the total P content, P in different fractions and clay content were selected and added to the *Chlorella* sp. culture medium as the only P supply source. The experiment was performed as repeated measures in a completely randomized design with three replications. Chlorophyll *a* content, microalga cell number, total dissolved P (TDP), and particulate P (PP) concentrations were measured at days 0, 7, 14, 21, and 28 of incubation.

Results: Phosphorus fractions of Pirbazar and Fakhhab soils were similar as followed in oxide >residual >carbonate> solution-exchangeable. In the other three soils, the phosphorus fractions followed the trend of residual >oxide >carbonate> solution- exchangeable. The chlorophyll *a* content showed an increasing trend in all samples and reached its maximum on the 14th day and was then almost constant. The number of microalgae cells in Pirbazar treatment showed an increasing trend until the 14th day of incubation, while it remained increasing in Lakan and Pesikhan treatments until the end of the incubation period. TDP concentration increased during the incubation period in all treatments until the 7th day and then decreased. Particulate phosphorus decreased sharply on the 7th day of incubation and then increased. The chlorophyll *a* content and the number of microalgae cells showed a significant positive correlation with TDP at the first two weeks of incubation, while the microalga growth was affected by particulate P in the next two weeks of incubation.

Conclusion: Since soil as the only source of P can accelerate the microalgae growth in aquatic ecosystems, considering P originated from agricultural lands along rivers to manage the eutrophication phenomenon is necessary, especially in wetlands catchment.

Cite this article: Gholamalizadeh, Ali, Ghorbanzadeh, Nasrin, Farhangi, Mohammad Bagher, Khalili Rad, Maryam. 2023. Determining bioavailable phosphorus in some paddy soils by algal assay method. *Journal of Soil Management and Sustainable Production*, 13 (2), 95-114.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/EJSMS.2023.20269.2063

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

تعیین فسفر زیست‌فراهم در برخی از خاک‌های شالیزاری به روش آزمون جلبکی

علی غلامعلی‌زاده^۱، نسرین قربان‌زاده^{۲*}، محمد باقر فرهنگی^۳، مریم خلیلی‌راد^۴

۱. دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد علوم خاک، گروه علوم خاک، دانشگاه گیلان، ایران. رایانامه: alighz20120@gmail.com

۲. نویسنده مسئول، دانشیار گروه علوم خاک، دانشگاه گیلان، ایران. رایانامه: nghorbanzadeh@guilan.ac.ir

۳. استادیار گروه علوم خاک، دانشگاه گیلان، ایران. رایانامه: m.farhangi@guilan.ac.ir

۴. استادیار گروه علوم خاک، دانشگاه گیلان، ایران. رایانامه: m_khalilirad@guilan.ac.ir

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی- پژوهشی	سابقه و هدف: هدررفت فسفر از اراضی کشاورزی و ورود آن به منابع آبی سبب پدیده سرشارسازی و شکوفایی جلبکی شده و کنترل فسفر ورودی به زیست‌بوم‌های آبی را به چالشی مهم برای مدیریت این منابع تبدیل کرده است. آزمون جلبکی به عنوان قابل اعتمادترین روش برای کمی‌سازی پتانسیل زیست‌فراهمی فسفر محسوب می‌شود. این پژوهش با هدف بررسی زیست‌فراهمی فسفر در سه نمونه خاک شالیزاری و ارتباط آن با رشد ریزجلبک کلرلا انجام گرفت.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۰۸	
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۰۲/۰۹	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۲/۱۲	
واژه‌های کلیدی: سرشارسازی، عصاره‌گیری پی در پی، فسفر غیرآلی، فسفر محلول	مواد و روش‌ها: نمونه‌برداری خاک از عمق ۱۰-۰ سانتی‌متری اراضی شالیزاری واقع در پنج منطقه پسیخان، پیربازار، سیاه درویشان، فخب و لاکان انجام شد. این اراضی برای مدت طولانی و به صورت سالانه کود فسفوری دریافت کرده بودند. ابتدا با عصاره‌گیری پی در پی به روش هدلی بخش‌های مختلف فسفر در ۵ نمونه خاک تعیین شد و سپس با توجه به مقدار فسفر کل، فسفر در بخش‌های مختلف و درصد رس، سه نمونه از خاک‌ها (پسیخان، پیربازار و لاکان) به‌عنوان تنها منبع فسفر به محیط کشت ریزجلبک کلرلا اضافه شدند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی به روش اندازه‌های تکرار شده در زمان با سه تکرار انجام شد. مقدار کلروفیل a تعداد سلول‌های ریزجلبک، فسفر کل محلول و فسفر ذره‌ای در روزهای صفر، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ انکوباسیون اندازه‌گیری شد.
	یافته‌ها: دو خاک پیربازار و فخب از نظر بخش‌بندی فسفر مشابه و ترتیب بخش‌ها به صورت اکسیدی < باقی‌مانده < کربناتی < محلول-تبادلی بود. در حالی که در سه خاک دیگر بخش‌بندی فسفر به صورت باقی‌مانده < اکسیدی < کربناتی < محلول-تبادلی بود. مقدار کلروفیل a ریزجلبک در هر سه نمونه خاک روند افزایشی نشان داد و در روز چهاردهم به بیش‌ترین مقدار رسید و

پس از آن ثابت شد. تعداد سلول‌های ریزجلبک در تیمار خاک پیربازار تا روز چهاردهم انکوباسیون و در خاک‌های لاکان و پسیخان تا پایان دوره انکوباسیون روند افزایشی نشان داد. فسفر کل محلول در تمامی تیمارها در طول دوره انکوباسیون تا روز هفتم روند افزایشی داشت و پس از آن کاهش یافت. فسفر ذره‌ای در روز هفتم انکوباسیون به شدت کاهش و سپس در ادامه انکوباسیون افزایش نشان داد. مقدار کلروفیل a و تعداد سلول‌های ریزجلبک در دو هفته اول انکوباسیون همبستگی مثبت و معناداری با فسفر کل محلول نشان دادند و در دو هفته بعد رشد ریزجلبک تحت تأثیر فسفر ذره‌ای قرار گرفت.

نتیجه‌گیری: از آن‌جا که خاک می‌تواند به عنوان منبع فسفر امکان رشد ریزجلبک را فراهم نماید، بنابراین توجه به فسفر ورودی به زیست‌بوم‌های آبی از طریق اراضی کشاورزی حاشیه رودخانه‌ها برای مدیریت پدیده سرشارسازی در تالاب انزلی ضروری است.

استناد: غلامعلی‌زاده، علی، قربان‌زاده، نسرین، فرهنگی، محمد باقر، خلیلی‌راد، مریم (۱۴۰۲). تعیین فسفر زیست‌فراهم در برخی از خاک‌های شالیزار به روش آزمون جلبکی. نشریه مدیریت خاک و تولید پایدار، ۱۳ (۲)، ۹۵-۱۱۴.

DOI: 10.22069/EJSMS.2023.20269.2063



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

فسفر از اجزای اصلی کشاورزی مدرن به شمار می‌رود و استفاده طولانی‌مدت از کودهای فسفر و کود حیوانی سبب انباشت آن در خاک می‌شود (۱). فسفر می‌تواند از طریق فرسایش، رواناب سطحی و آبشویی در خاک‌ها متحرک شود و پیامدهایی ماندگار و پیچیده بر عملکرد زیست‌بوم‌های آبی پایین‌دست داشته باشد (۲). یکی از این پیامدها پدیده سرشارسازی^۱ در منابع آب سطحی است و گفته شده که کاربرد کودهای فسفوری محلول در آب در زمین‌های کشاورزی ارتباط مستقیم با پدیده سرشارسازی در آب‌های سطحی دارد (۱). سرشارسازی یک مشکل جهانی است که پیامدهای منفی بی‌شماری شامل شکوفایی جلبکی، کمبود اکسیژن و مرگ ماهی‌ها را به دنبال دارد. هم‌چنین سبب تغییر طعم و بو در منابع آب آشامیدنی و ورود ترکیب‌های سمی به آن‌ها می‌شود (۳). اگرچه تنها برخی از شکل‌های فسفر برای جلبک‌ها زیست‌فراهم هستند (۴ و ۵)، اما در پژوهش‌ها از فسفر کل به طور گسترده‌ای به عنوان یک معیار برای ارزیابی پتانسیل سرشارسازی استفاده شده است که شاید دلیل آن گونه‌بندی بسیار پیچیده فسفر باشد. فسفر زیست‌فراهم^۲ (BAP) منتقل شده به رواناب‌ها می‌تواند سبب تشدید سرشارسازی زیست‌بوم‌های آبی شود و ارتباط مستقیمی با شکوفایی جلبکی دارد (۶). بار فسفر ناشی از تولید محصولات زراعی و دامی سهم عمده‌ای در سرشارسازی دریاچه‌ها، رودخانه‌ها و آب‌های ساحلی دارد. با این حال، هدررفت فسفر به آب‌های سطحی بسته به نوع سیستم‌های اعمال شده برای تولید محصولات کشاورزی متفاوت است. کشاورزی مدرن به حداکثر فراهمی فسفر در خاک‌ها از طریق کاربرد مقادیر زیادی از کودهای دارای فسفر تکیه کرده است

تا حاصلخیزی خاک را تامین کند و موانع تولید را به حداقل برساند (۷) اما هم‌زمان هزینه‌های زیست‌محیطی زیادی را نیز به همراه داشته است. بنابراین، برای ارزیابی مشکلات سیستم‌های مختلف کشاورزی نیاز به اطلاعاتی در رابطه با بارگذاری فسفر از طریق آن‌ها می‌باشد (۸). منابع نقطه‌ای آلودگی^۳ مانند فاضلاب‌های صنعتی و شهری نسبت به منابع غیرنقطه‌ای مانند رواناب کشاورزی بیش‌تر قابل کنترل هستند، اما می‌توانند سبب بارگذاری زیاد عناصر غذایی در رودخانه‌ها و جریان‌های آبی شوند. اما بیش‌تر بارگذاری نیتروژن و فسفر در زیست‌بوم‌های آبی به ویژه در حوضه‌های آبریز کشاورزی از منابع غیرنقطه‌ای ناشی می‌شوند که کنترل آن‌ها مشکل است. در نتیجه کنترل کردن سرشارسازی در مخازنی که در حوضه‌های آبریز تحت‌تأثیر کشاورزی هستند، چالشی مهم برای مدیریت منابع آبی محسوب می‌شود (۹). از آن‌جا که خاک‌ها تنها منابع غذایی چندگانه هستند که بر زیست‌بوم‌های آب شیرین و شور اثر می‌گذارند، مدیریت وضعیت فسفر خاک می‌تواند راه‌کار مهمی برای کاهش پدیده سرشارسازی باشد (۱۰). بنابراین بحث‌های مرتبط با بخش‌بندی شیمیایی فسفر، اثربخشی زیستی و تبادل فسفر بین رسوبات و آب مورد توجه قرار گرفته است. با این وجود، تمامی بخش‌های فسفر نمی‌توانند از خاک و رسوبات آزاد و سبب سرشارسازی شوند (۱۱). روش‌های استخراج زیادی برای بخش‌بندی فسفر وجود دارد که اغلب آن‌ها فسفر را به دو بخش، فسفر معدنی^۴ (Pi) و فسفر آلی^۵ (Po) تقسیم می‌کنند (۱۲). بخش Pi شامل فسفر محلول-تبادلی، فسفر پیوندی با اکسیدهای آهن، آلومینیوم و منگنز و فسفر پیوندی با کلسیم است. Po ترکیب‌های مختلف فسفر شامل اسیدهای نوکلئیک،

3- Point source pollution
4- Inorganic phosphorus
5- Organic phosphorus

1- Eutrophication
2- Bioavailable phosphorus

(۱۶). تلاش‌های فراوانی نیز برای ایجاد ارتباط بین مقدار فسفر عصاره‌گیری شده با تک عصاره‌گیرهای شیمیایی و رشد جلبک در محیط‌های آبی صورت گرفته است. هیدروکسید سدیم ۰/۱ مولار یکی از اولین عصاره‌گیرهایی بود که برای ارتباط بین فسفر رسوبات با رشد جلبک پیشنهاد شد (۱۷). وانگ و همکاران (۲۰۱۰) مشاهده کردند که در رسوبات آلوده، فسفر زیست‌فراهم رابطه معناداری با فسفر قابل استخراج با هیدروکسید سدیم دارد (۱۸). هوفمن و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که BAP رسوبات اغلب به صورت محلول و متصل به ذرات رسوب در رودخانه‌ها جا به جا می‌شود (۱۹). ارفع‌نیا و همکاران (۲۰۱۷) در آزمون جلبکی به روشی نشان دادند که فسفر پیوند یافته با آهن و آلومینیوم دارای ارتباط معناداری با جمعیت جلبک *Senedesmus obliquus* بود و پس از آن، فسفر تبادل و فسفر باقی‌مانده همبستگی معناداری با جمعیت جلبک نشان دادند (۲۰). مسأله سرشارسازی در استان گیلان نیز مشکلات عمده‌ای را به ویژه در تالاب انزلی ایجاد نموده است؛ به‌طوری‌که رسوبات آبرفتی، آلاینده‌های صنعتی، کشاورزی و خانگی با افزایش مواد غذایی و هم‌چنین وجود شرایط بسیار مناسب حرارتی و رطوبتی سبب خفگی بخشی از تالاب شده است. بنابراین کنترل مقدار فسفات ورودی و جلوگیری از ورود آن‌ها به تالاب می‌تواند بار آلودگی ناشی از مواد غذایی ورودی به تالاب را کاهش دهد (۲۱). سطح گسترده اراضی کشاورزی منطقه، استفاده ناکارآمد از منابع آب و کاربرد مقادیر زیاد نهاده‌های کشاورزی از جمله سموم دفع آفات و کودها، به‌رغم وجود مقادیر کافی فسفر در خاک، از نظر کمی و کیفی منابع آبی منطقه مورد مطالعه را در معرض تهدید جدی قرار داده است. با توجه به این‌که بخش عظیمی از ترکیب‌های فسفر را رواناب و زهکش‌های کشاورزی وارد تالاب

فسفولپیده‌ها، فسفات‌های اینوزیتول، فسفات‌های قندی و ... را شامل می‌شود (۱۳). BAP بخشی از فسفر کل^۱ (TP) است که رشد جلبک‌ها را در زیست‌بوم‌های آبی شتاب می‌دهد. BAP از فسفر محلول^۲ (DP) و فسفر ذره‌ای^۳ (PP) تشکیل شده است که PP بخش غالب TP است و بین ۵ تا ۵۴ درصد از PP به عنوان فسفر زیست‌فراهم برآورد می‌شود (۳). هدررفت فسفر از خاک‌های کشاورزی به هر دو شکل DP و PP رخ می‌دهد و مدیریت آن به سبب وابستگی به نوع خاک، مقدار انباشت فسفر و فرسایش‌پذیری خاک دشوار است (۱۴). پتانسیل زیست‌فراهمی فسفر برای رشد سیانوباکتر *Microcystis aeruginosa* در خاک‌های جمع‌آوری شده از باغ مرکبات به عنوان تنها منبع فسفر، بررسی و مشخص شد که این سیانوباکتر می‌تواند بخشی از فسفر موجود در خاک را که به شکل ذره‌ای است مصرف کند، اما این شکل از فسفر برای رشد مطلوب آن کافی نیست (۱۵).

تعیین کمی BAP در رسوبات رودخانه‌ای از طریق آزمون جلبکی^۴ یا پتانسیل رشد جلبک^۵ (AGP) امکان‌پذیر است. هر چند آزمون جلبکی به‌عنوان یک آزمایش دشوار و وقت‌گیر محسوب می‌شود، اما مقدار BAP به دست آمده از آزمون جلبکی بهترین روش برای برآورد پتانسیل ایجاد شکوفایی جلبکی توسط رسوبات است و به عنوان قابل‌اعتمادترین روش برای کمی‌سازی پتانسیل زیست‌فراهمی فسفر محسوب می‌شود (۱۶). این روش با وجود زمان‌بر بودن، در سراسر جهان استفاده می‌شود و به شدت به منبع ورودی فسفر و گونه‌های جلبک استفاده شده در آزمون زیستی وابسته است

- 1- Total phosphorus
- 2- Dissolved phosphorus
- 3- Particulate phosphorus
- 4- Algal assay
- 5- Algal growth potential

چهار نقطه در فواصل تقریبی ۱۰ متری انجام و از اختلاط آن‌ها یک نمونه مرکب حاصل شد. نمونه‌برداری از عمق ۱۰-۰ سانتی‌متری انجام شد زیرا انتقال فسفر از اغلب خاک‌های کشاورزی به وسیله جریان سطحی و فرسایش خاک از لایه سطحی است (۲۳).

نمونه‌های خاک پس از انتقال به آزمایشگاه هوا خشک و از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شدند و ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی در نمونه‌های خاک شامل بافت، pH، قابلیت هدایت الکتریکی (هر دو در عصاره ۱:۲/۵)، درصد کربنات کلسیم معادل^۱ و کربن آلی در آن‌ها اندازه‌گیری شد (۲۴). مقدار فسفر کل و قابل دسترس (۲۵) و فسفر آلی (۲۶) نیز در نمونه‌های خاک اندازه‌گیری شد.

عصاره‌گیری پی در پی فسفر در نمونه‌های خاک: تعیین بخش‌های مختلف فسفر در نمونه‌های خاک با استفاده از روش عصاره‌گیری پی در پی به روش هدلی و همکاران انجام شد (۲۷). با استفاده از این روش فسفر محلول-تبادلی (KCl-P)، فسفر اکسیدی (NaOH-P)، فسفر کربناتی (HCl-P) و فسفر باقی‌مانده (HNO₃+H₂SO₄-P) در خاک‌ها تعیین شد. سپس با توجه به مقادیر اندازه‌گیری شده فسفر در بخش‌های مختلف نمونه‌های خاک و همچنین ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آن‌ها از پنج نمونه خاک، سه نمونه برای انجام آزمایش آزمون جلبکی انتخاب شدند.

آزمون جلبکی: ارتباط بین فسفر موجود در نمونه‌های خاک و رشد ریزجلبک کلرلا با استفاده از آزمون جلبکی بررسی شد. مقدار دو گرم از نمونه‌های خاک سترون شده به ارلن‌های دارای ۱۰۰ میلی‌لیتر از محیط کشت ریزجلبک بدون فسفر (حاوی ۱۰ درصد حجمی سلول‌های آماده شده در بخش اول) اضافه شد

می‌کنند، از این‌رو برآورد زیست‌فراهمی فسفر خاک‌های اراضی شالیزاری حاشیه رودخانه‌های ورودی به تالاب انزلی و تأثیر آن بر رشد جلبکی اهمیت دارد. با وجود پیشرفت‌های زیاد در عصاره‌گیری پی در پی که به درک بخش‌های مختلف فسفر خاک کمک کرده است، شواهد کمی در رابطه با تعیین زیست‌فراهمی هر بخش وجود دارد. بنابراین این پژوهش با هدف بررسی فراهمی فسفر خاک‌های شالیزاری حاشیه رودخانه‌هایی که وارد تالاب انزلی می‌شود و ارتباط آن‌ها با رشد ریزجلبک کلرلا به‌عنوان شناساگر زیستی و بومی رودخانه‌های استان صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه و بازکشت ریزجلبک کلرلا: ریزجلبک کلرلا از بخش زیست‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه گیلان تهیه و بازکشت جلبک در محیط کشت BG11 انجام و ذخیره اولیه ریزجلبک برای آزمایش تهیه شد (۳). دوره نوری برای کشت ریزجلبک ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی بود. در مرحله تثبیت رشد ریزجلبک یعنی فاز رشد نهایی لگاریتمی، ریزجلبک موردنظر به محیط کشت بدون فسفر وارد و به مدت یک ماه در این شرایط قرار داده شد تا علائم ظاهری کمبود و زرد شدن رنگ محیط ظاهر شود. سپس محیط کشت حاوی ریزجلبک سانتریفیوژ شد و برای حذف کامل فسفر، سلول‌های ریزجلبک سه بار با محلول بی‌کربنات سترون (۱۵ میلی‌گرم در لیتر) شسته شدند (۲۳).

نمونه‌برداری و تعیین ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک‌ها: نمونه‌های خاک از اراضی شالیزاری واقع در پنج منطقه پسیخان، پیربازار، سیاه درویشان، فخب و لاکان که برای مدت طولانی و به صورت سالانه کود فسفوری دریافت کرده بودند انجام شد. نمونه‌برداری از

بین متغیرهای مختلف از ضریب همبستگی پیرسون ($P < 0/05$) استفاده شد.

نتایج و بحث

بخش بندی فسفر در خاک‌ها: ویژگی‌های خاک‌های مورد مطالعه در جدول ۱ نشان داده شده است. میانگین مقدار فسفر کل در خاک‌های مورد مطالعه ۲۸۳۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. مقدار فسفر کل در خاک پیربازار بیش‌ترین و در خاک سیاه‌درویشان کم‌ترین بود. سهم مجموع فسفر غیرآلی از فسفر کل در خاک‌های سیاه‌درویشان، پیربازار، فخب، لاکان و پسیخان به ترتیب ۹۶/۲، ۹۳/۶، ۹۴، ۷۷ و ۷۷/۶ درصد بود (جدول ۱). کم‌تر بودن فسفر کل در خاک سیاه‌درویشان و بیش‌تر بودن سهم فسفر غیرآلی در این خاک در مقایسه با سایر خاک‌های مورد مطالعه می‌تواند به بافت شنی و کم بودن ماده آلی در این خاک مرتبط باشد (۳۱).

تغییرات مقدار فسفر آلی نیز در خاک‌های مورد مطالعه متفاوت بود و ۳/۷ تا ۲۸/۵ درصد از فسفر کل خاک را شامل شد (جدول ۱). به طور کلی نگاه‌داشت فسفر در خاک ارتباط مثبتی با مقدار مواد آلی خاک دارد (۳۲). زیرا مواد آلی خاک می‌تواند مکان‌های جذب و نگاه‌داشت فسفر را از طریق تشکیل کمپلکس با ترکیب‌های هیومیک - Al/Fe ایجاد کند (۳۲). کانگ و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند با افزایش مقدار ماده آلی خاک ظرفیت جذب و نگاه‌داشت فسفر افزایش می‌یابد (۳۳). بنابراین در خاک‌های لاکان و پسیخان که مقدار ماده آلی خاک بالا است (به ترتیب ۴/۵۷ و ۴/۷۷ گرم در صد گرم خاک)، فسفر بخش آلی نسبت به سایر خاک‌ها بیش‌تر بود.

تا فسفر خاک به عنوان تنها منبع فسفر برای رشد ریزجلبک مورد استفاده قرار گیرد. ارلن‌های بدون خاک که در آن‌ها فسفر مورد نیاز برای رشد ریزجلبک از طریق نمک فسفات موجود در محیط کشت تامین می‌شد نیز به عنوان تیمار شاهد در نظر گرفته شدند. در طول زمان ۳۰ روز، برای مقایسه رشد ریزجلبک در محیط‌های مختلف مقدار کلروفیل a اندازه‌گیری و تعداد سلول‌ها نیز شمارش شد. کلروفیل a پس از استخراج با ۱۰ میلی‌لیتر متانول در دمای ۴ درجه سلسیوس در تاریکی به روش رنگ‌سنجی اندازه‌گیری شد (۲۸). تعداد سلول‌ها نیز پس از رقیق‌سازی با لام هموسایتومتر در زیر میکروسکوپ نوری شمارش شد. مقدار فسفر کل محلول^۱ (DP) اندازه‌گیری و فسفر ذره‌ای^۲ (PP) نیز تعیین شد. برای تعیین فسفر کل ذره‌ای ابتدا مقدار فسفر کل (TP) اندازه‌گیری شد. به این منظور نمونه‌ها ابتدا به روش اسید پرسولفات پتاسیم هضم و سپس مقدار فسفر با روش مولیدن-آبی اندازه‌گیری شد (۲۹). اندازه‌گیری فسفر محلول نیز مانند فسفر کل انجام گرفت با این تفاوت که نمونه‌ها ابتدا از کاغذ صافی واتمن شماره ۴۴ عبور داده شدند. فسفر کل ذره‌ای از اختلاف بین فسفر کل و فسفر کل محلول محاسبه شد (۳۰). تمام آنالیزها در روزهای صفر، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ در نمونه‌ها انجام شد. **آنالیز آماری:** آزمایش در بخش آزمون جلبکی در قالب طرح کاملاً تصادفی به روش اندازه‌های تکرار شده در زمان با سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل خاک (۳ سطح) و زمان (۵ سطح) بود. نتایج به دست آمده از تمامی آزمایش‌ها در بخش‌های مختلف با استفاده از نرم‌افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی ($P < 0/05$) انجام شد و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد. برای بررسی همبستگی

1- Total dissolved phosphorus

2- Particulate phosphorus

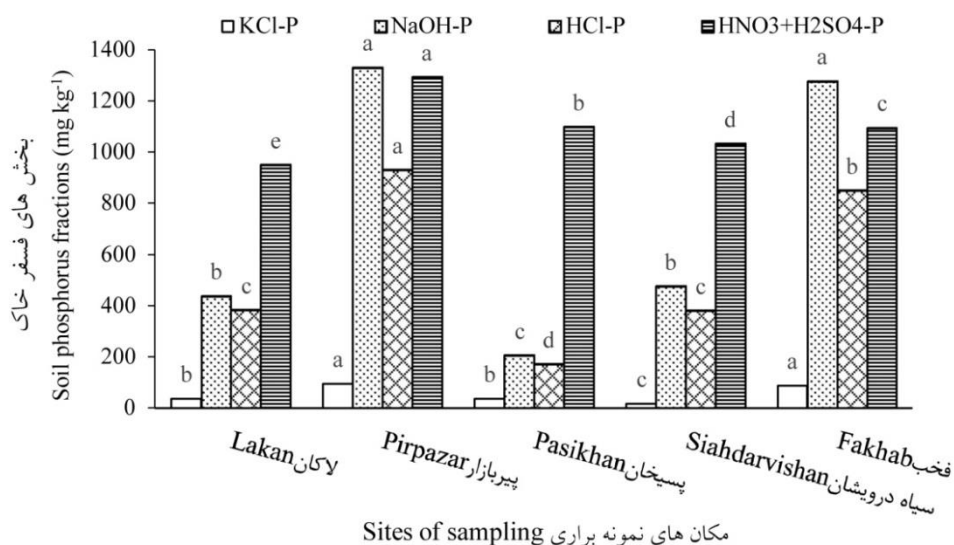
جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک‌های مورد مطالعه.

Table 1. Physicochemical properties of the studied soils.

فسفر قابل دسترس Available phosphorus	فسفر آلی Organic phosphorus	فسفر کل Total phosphorus	بافت Texture	رس Clay	سیلت Silt	شن Sand	کربنات کلسیم معادل Calcium carbonate equivalent	ماده آلی Organic matter	قابلیت هدایت الکتریکی Electrical conductivity	واکنش خاک pH	ویژگی‌های خاک Soil Characteristics
-----mg kg ⁻¹ -----			-	-----g 100g ⁻¹ -----					dS m ⁻¹	-	
29.11	625	2193.98	لوم رسی Clay Loam	29.2	44.6	26.2	1.50	4.77	0.14	7.53	پسیخان Pasikhan
69.32	249	3906.25	لوم رسی Clay Loam	34.2	39.6	26.2	2.25	2.15	0.30	7.29	پیربازار Pirbazar
26.82	75.0	2006.25	لوم شنی Sandy Loam	14.2	27.6	58.2	1.50	1.59	0.15	7.57	سیاه‌درویشان Siahdarvishan
75.04	222	3710.25	لوم رسی شنی Sandy Clay Loam	24.2	27.6	48.2	2.25	2.29	0.19	6.93	فخر Fakhr
42.31	525	2343.75	رسی سیلتی Silty Clay	44.2	43.6	12.2	1.25	4.57	0.18	6.67	لاکان Lakan

یک پارامتر مناسب برای توصیف آلاینده‌گی فسفر به کار برده می‌شود (۳۴). دو خاک پیربازار و فخب از نظر بخش‌بندی فسفر مشابه و ترتیب بخش‌ها به صورت اکسیدی < باقی‌مانده > کربناتی < محلول - تبدالی بود. در حالی که در سه خاک دیگر بخش‌بندی فسفر به صورت باقی‌مانده < اکسیدی > کربناتی < محلول - تبدالی بود. وجود شرایط اکسایش و کاهش در شالیزارها می‌تواند سبب هوادیدگی شیمیایی این خاک‌ها شود و فسفر را در بخش اکسیدی افزایش دهد (۳۵).

نتایج بخش‌بندی فسفر نمونه‌های خاک در شکل ۱ نشان داده شده است. بین مقدار فسفر در بخش‌های محلول-تبدالی و اکسیدی دو خاک پیربازار و فخب اختلاف آماری معناداری مشاهده نشد ($P > 0.05$). بیش‌ترین مقدار فسفر در بخش اکسیدی دو خاک پیربازار و فخب مشاهده شد که به ترتیب ۳۶/۵ و ۳۸/۵ درصد از مجموع فسفر غیرآلی این دو نمونه خاک را شامل می‌شد. این بخش از فسفر عمدتاً شامل فسفر پیوندیافته با اکسیدهای آهن و آلومینیوم است که می‌تواند از رسوبات آزاد و پس از ورود به منابع آبی سبب رشد فیتوپلانکتون‌ها شود. بنابراین، به عنوان



شکل ۱- بخش بندی فسفر پنج نمونه خاک. KCl-P (بخش محلول-تبادلی)، NaOH-P (بخش اکسیدی)، HCl-P (بخش کربناتی) و HNO₃+H₂SO₄-P (بخش باقی مانده). حروف مشابه روی ستون‌ها نشان دهنده معنادار نبودن تفاوت میانگین‌هاست (P<0/05). بخش‌های مختلف فسفر در خاک‌های متفاوت به صورت جداگانه آنالیز شده‌اند.

Figure 1. Phosphorus fractionation of five soil samples. KCl-P (soluble-exchangeable fraction), NaOH (oxide fraction), HCl-P (carbonate fraction) and HNO₃+H₂SO₄ (residual fraction). Same letters on the columns indicate not significant difference (P<0.05). Different fractions of phosphorus in different soils have been analyzed separately.

بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار فسفر محلول-تبادلی به‌ترتیب در خاک‌های پیربازار و سیاه‌درویشان مشاهده شد. شرایط محیطی و بیوژئوشیمیایی نقش مهمی در بخش‌بندی فسفر در رسوبات و خاک دارند (۳۶). فسفر تبادلی یکی از مهم‌ترین اشکال ضروری فسفر غیرآلی است که می‌تواند به راحتی از طریق تجزیه مواد آلی، تجزیه سلول‌های زیست توده باکتریایی (۳۷) و واجذب از سطوح اکسی هیدروکسیدهای آهن فریک (۳۸) ایجاد شود. شوری، pH (۳۹) و رقابت برخی آنیون‌ها (OH⁻, Cl⁻, Br⁻ و SO₄²⁻) با فسفر برای مکان‌های جذب سطحی بر روی سطوح رس‌ها و مواد آلی خاک نیز ممکن است در تغییر توزیع فسفر تبادلی خاک مؤثر باشد (۴۰). در این پژوهش، فسفر بخش محلول-تبادلی کم‌ترین سهم را از مقدار فسفر کل غیرآلی خاک‌ها داشت (میانگین ۲/۱ درصد از فسفر کل) که با یافته‌های گزارش شده در رابطه با

فسفر محلول-تبادلی خاک‌ها هم‌سو است (۳۹، ۴۱، ۴۲). مک‌کاری و همکاران (۲۰۱۲) نیز گزارش کردند که فسفر محلول-تبادلی قابل استخراج با KCl سهم اندکی از فسفر کل غیرآلی خاک (میانگین ۱/۱ درصد) را داراست (۴۴). به‌طورکلی بخش‌های محلول-تبادلی و اکسیدی فسفر ارتباط مثبت با مقدار رس خاک دارند (۴۵). در این پژوهش نیز کم‌ترین مقدار فسفر در بخش محلول-تبادلی در خاک سیاه‌درویشان به دست آمد که کم‌ترین مقدار رس (۱۴/۲ درصد) را داشت. سهم فسفر کربناتی از کل فسفر غیرآلی در خاک‌های مورد مطالعه بین ۱۱/۳ تا ۲۵/۷ بود. این بخش از فسفر شامل فسفر همراه شده با کلسیم است که بخش نسبتاً پایدار فسفر غیرآلی خاک محسوب می‌شود (۴۶). در دو خاک پیربازار و فخب نیز که مقدار کربنات کلسیم ۲/۲۵ گرم در صد گرم خاک بود، بیش‌ترین مقدار فسفر کربناتی مشاهده شد.

مشکل مواجه می‌شود. هم‌چنین قرار گرفتن در معرض تنش‌های محیطی (مانند کمبود فسفر در این آزمایش) مانع رشد ریزجلبک شده و سبب تغییر متابولیسم کلروفیل می‌شود (۴۷). ثابت شدن مقدار کلروفیل a با گذشت زمان، ممکن است به دلیل کاهش مواد غذایی در دسترس ریزجلبک باشد. از طرفی عامل زنده‌ای که به‌طور قابل‌توجه بر رشد ریزجلبک تأثیر می‌گذارد، تراکم ریزجلبک است. انتظار می‌رود که با افزایش زیست‌توده ریزجلبک، راندمان حذف مواد غذایی نیز افزایش یابد. فراهمی مواد غذایی بر غلظت کلروفیل در سلول‌های ریزجلبک مؤثر است که البته بسته به گونه جلبک متفاوت است (۴۸). هم‌چنین افزایش تراکم ریزجلبک در محیط سبب کاهش شدت نور و نرسیدن نور کافی به سلول‌های دیگر ریزجلبک شده و در نهایت سبب مهار رشد و کاهش راندمان فتوسنتزی می‌شود (۴۹). مارتینز و همکاران (۲۰۰۰) نیز گزارش کردند که افزایش تعداد سلول‌های جلبکی در محیط کشت، سبب کاهش شدت نور شده و مانع از رشد و فتوسنتز سلول‌ها می‌شود (۵۰). در این پژوهش نیز با مصرف مواد غذایی و افزایش زیست‌توده، مقدار کلروفیل a تحت تأثیر قرار گرفت و در دو هفته پایانی انکوباسیون ثابت شد. ارتباط بین افزایش زیست‌توده و کاهش کلروفیل در کلرلا و لگاریس گزارش شده است (۵۱). مقدار کلروفیل a در تیمار شاهد نسبت به تیمارهایی که از خاک در آن‌ها به عنوان منبع فسفر استفاده شده بود در تمامی زمان‌ها بیش‌تر بود. فسفر یک عنصر ضروری است که برای بسیاری از وقایع وابسته به فسفوریلاسیون، سنتز ATP، و چرخه کلوین مهم است، بنابراین کمبود آن نه تنها بر سنتز کلروفیل اثرگذار است بلکه بر متابولیسم و رشد سلول نیز مؤثر است (۵۲). چن و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند مقدار کلروفیل a در ریزجلبک سبز *S. obliquus* و سیانوباکتر *Microcystis aeruginosa*

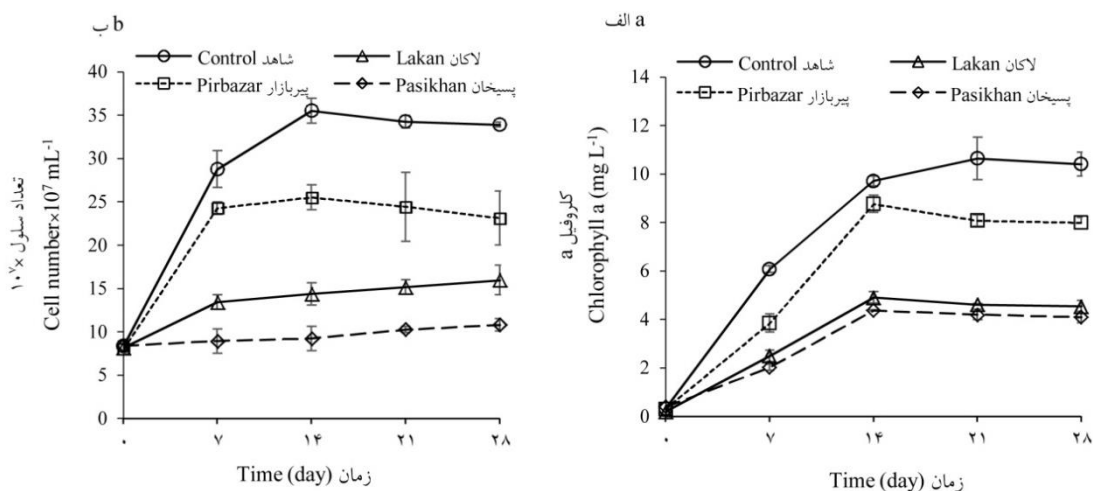
ارزیابی فراهمی فسفر برای ریزجلبک: برای انجام آزمون جلبکی از میان پنج خاک مورد مطالعه، سعی شد سه خاک به گونه‌ای انتخاب شوند که دارای مقادیر متفاوت فسفر در بخش‌های مختلف باشند. بنابراین، با توجه به نزدیک بودن مقدار فسفر در بخش‌های مختلف دو خاک پیربازار و فخب و هم‌چنین نزدیک بودن مقدار فسفر در بخش‌های مختلف دو خاک لاکان و سیاه‌درویشان، از هر گروه یک خاک یعنی خاک‌های پیربازار و لاکان برای ادامه آزمایش انتخاب شدند. علاوه بر این، در انتخاب خاک‌ها به بافت یا در واقع درصد رس نیز توجه شد. به همین دلیل خاک پسیخان با توجه به دارا بودن مقادیر متفاوت فسفر در دو بخش اکسیدی و کربناتی نسبت به دو خاک پیربازار و لاکان و مشابهت نسبی بافت آن با این دو خاک برای انجام آزمون جلبکی انتخاب شد.

تغییرات مقدار کلروفیل a و تعداد سلول ریزجلبک:

تغییرات مقدار کلروفیل a و تعداد سلول ریزجلبک کلرلا در طول دوره انکوباسیون در شکل ۲ نشان داده شده است. مقدار کلروفیل a در هر سه نمونه خاک روند افزایشی نشان داد و در روز چهاردهم به بیش‌ترین مقدار رسید و پس از آن ثابت شد. بیش‌ترین مقدار کلروفیل a در تیمار شاهد که فسفر را از محیط کشت دریافت کرده بود مشاهده شد. در تیمار خاک پیربازار در مقایسه با دو خاک لاکان و پسیخان کلروفیل a بیش‌تری در طول دوره انکوباسیون مشاهده شد. مقدار کلروفیل a در تیمارهای خاک لاکان و پسیخان اختلاف آماری معناداری در طول دوره انکوباسیون نشان نداد ($P > 0/05$) (شکل ۲ الف). ساخت کلروفیل در ریزجلبک، فرایند پیچیده‌ای شامل ۱۶ واکنش کاتالستی است که در صورت حذف یا کامل انجام نشدن هرکدام از این واکنش‌ها فرایند تولید کلروفیل با

کاهش داد (۵۴). زیرا در شرایط کمبود فسفر، ریزجلبک قادر به سنتز ATP ضروری برای چندین فرایند سلولی که شامل بیوسنتز کلروفیل است، نمی‌باشد (۵۵).

که در محیط دارای ۱، ۴ یا ۱۰ میلی‌گرم در لیتر فسفر رشد کرده بودند، با زیاد شدن سطوح فسفر افزایش یافت (۵۳). کشت *Chlorella pyrenoidosa* تحت غلظت پایین فسفر در طول ۷ روز، مقدار کلروفیل سلولی را از ۲۸ به ۱۸ میلی‌گرم بر گرم زیست‌توده



شکل ۲- تغییرات مقدار کلروفیل *a* (الف) و تعداد سلول ریزجلبک کلرلا (ب) در طول دوره انکوباسیون.

Error bars انحراف معیار هستند.

Figure 2. Changes in the amount of chlorophyll *a* (a) and the cell number of *chlorella* sp. microalgae (b) during the incubation period. Error bars are standard deviation.

کل در این دو خاک (۰/۲ درصد) در مقایسه با خاک پیربازار است.

اگرچه فسفر بخش محلول-تبادلی به عنوان فسفر قابل دسترس با زیست‌فراهمی بالا محسوب می‌شود، اما به نظر می‌رسد به دلیل مقدار کم فسفر محلول-تبادلی، ریزجلبک برای تامین فسفر مورد نیاز برای ادامه رشد ناگزیر به استفاده از فسفر موجود در سایر بخش‌ها می‌باشد. معنادار بودن همبستگی بین فسفر کل محلول با تعداد سلول‌ها در روز هفتم و چهاردهم انکوباسیون (جدول ۲) می‌تواند به نوعی تأیید کند که در هفته نخست جلبک بیشتر به فسفر بخش محلول-تبادلی وابسته بوده است و پس از تخلیه احتمالی آن از فسفر اکسیدی بهره‌برداری کرده است.

تعداد سلول‌های ریزجلبک در تیمار شاهد و خاک پیربازار تا روز چهاردهم انکوباسیون روند افزایشی نشان داد و سپس نسبتاً ثابت شد، اما تعداد سلول‌های ریزجلبک در تیمار شاهد در طول دوره انکوباسیون بالاتر بود و در روز چهاردهم ۱/۴ برابر تیمار خاک پیربازار بود (شکل ۲ ب). با توجه به این‌که فسفر در تیمار شاهد دارای محیط کشت، بسیار راحت‌تر در دسترس ریزجلبک قرار می‌گیرد بنابراین، بیش‌تر بودن تعداد سلول‌ها در طول دوره انکوباسیون در این تیمار دور از انتظار نیست. اما تعداد سلول‌ها در خاک پیربازار با فسفر کل ۰/۳۹ درصد با تیمار شاهد قابل مقایسه است. تعداد سلول‌های ریزجلبک در تیمارهای خاک لاکان و پسیخان تا پایان دوره انکوباسیون روند کند افزایشی نشان داد. که به دلیل محتوای کم‌تر فسفر

خاک و ورود به منابع آبی و ایجاد آلودگی است (۵۷). اگرچه در خاک پیربازار مقدار کل فسفر نسبت به دو خاک دیگر بیش‌تر بود (جدول ۱) اما به نظر می‌رسد توزیع فسفر در بخش‌های مختلف خاک نیز در فراهمی آن برای کلرلا دارای اهمیت است. پس از گذشت هفت روز از انکوباسیون، سهم فسفر کل محلول از مجموع بخش‌های فسفر محلول-تبادلی و اکسیدی خاک‌های لاکان، پیربازار و پسیخان به ترتیب ۲۹/۵، ۱۹ و ۳۸ درصد بود. این نتایج نشان می‌دهد که در هفته اول انکوباسیون بخش زیادی از فسفر بالقوه فراهم در خاک‌های لاکان و پسیخان به صورت محلول درآمده است که می‌تواند در ادامه دوره انکوباسیون از رشد جلبک حمایت کند. اگرچه مقدار فسفر بخش‌های محلول-تبادلی و اکسیدی در این دو خاک کم بود، اما با توجه به این‌که رشد قابل‌توجهی از ریزجلبک در هفته نخست در این تیمارها دیده نشد، این یافته می‌تواند روند کند اما روبه افزایش تعداد سلول‌های کلرلا تا هفته‌های پایانی انکوباسیون را توجیه کند (شکل ۲-ب). از سوی دیگر در خاک پیربازار در پایان هفته نخست سهم فسفر کل محلول کم بود و به عبارتی ۸۱ درصد از فسفر زیست‌فراهم اولیه خاک یا جذب زیست‌توده شده و یا هنوز آزاد نشده است که با توجه به منحنی رشد (شکل ۲-ب) به نظر می‌رسد بخش زیادی از آن جذب سلول‌های ریزجلبک شده و رشد انفجاری آن را در پی داشته است.

بخش محلول-تبادلی فسفر خاک برای جامعه میکروبی و گیاهی در کوتاه‌مدت فراهم است، زیرا به سرعت از سطح ذرات خاک واجذب می‌شود. بخش‌های نافراهم فسفر شامل فسفر محبوس شده و محبوس نشده است که این بخش اخیر دربرگیرنده فسفر موجود در بخش اکسیدهای آهن و آلومینیوم است. فراهمی زیستی فسفر محبوس نشده در مقیاس

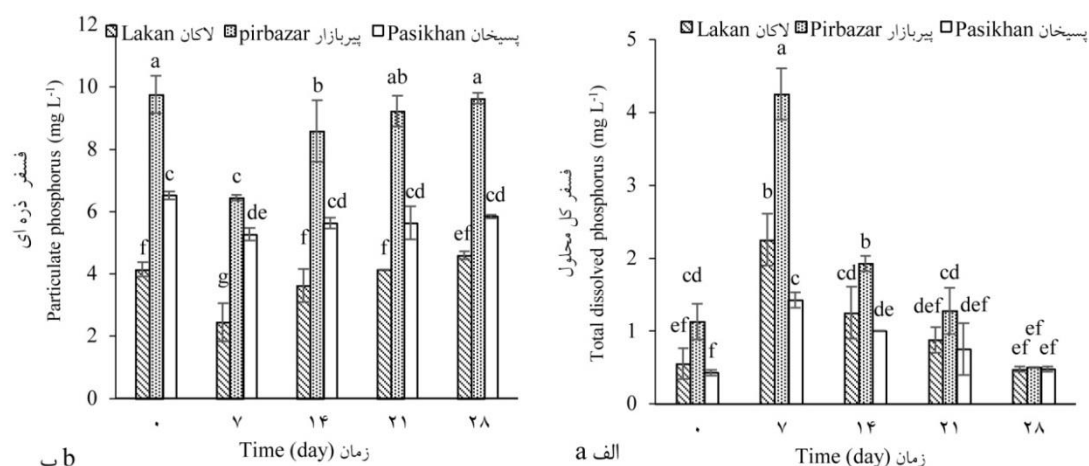
هم‌چنین با توجه به مقادیر بالای فسفر اکسیدی در خاک‌های مورد مطالعه امکان فراهمی فسفر از این بخش دور از انتظار نیست. این نتایج نشان‌دهنده اهمیت این بخش در زیست‌فراهمی فسفر برای ریزجلبک کلرلا است. نتایج مشابهی توسط ارفع‌نیا و همکاران (۲۰۱۷) و لیو و همکاران (۲۰۱۶) در رابطه با زیست‌فراهمی فسفر اکسیدی گزارش شده است (۲۰ و ۵۶).

تغییرات فسفر کل محلول و فسفر ذره‌ای: تغییرات فسفر کل محلول و فسفر ذره‌ای در شکل ۳ نشان داده شده است. مقدار فسفر محلول در تمامی تیمارها در طول دوره انکوباسیون تا روز هفتم روند افزایشی داشت و پس از آن کاهش یافت که بیانگر استفاده فسفر کل محلول توسط کلرلا است (شکل ۳ الف). در روز هفتم انکوباسیون، سهم فسفر کل محلول از فسفر کل موجود در محیط کشت کلرلا در خاک‌های لاکان، پیربازار و پسیخان به ترتیب ۴۸، ۴۰ و ۲۱/۳ درصد بود. مقدار فسفر کل محلول در تیمار خاک پیربازار بیش‌تر از دو تیمار دیگر بود و در روز هفتم انکوباسیون در خاک پیربازار به ترتیب به ۲ و ۳ برابر خاک لاکان و پسیخان رسید. نتایج حاصل از بخش‌بندی فسفر در خاک‌های مورد مطالعه نشان داد که مقدار فسفر محلول-تبادلی در خاک پیربازار ۲/۵ برابر خاک‌های لاکان و پسیخان و مقدار فسفر اکسیدی نیز در خاک پیربازار به ترتیب ۳ و ۶/۵ برابر خاک‌های لاکان و پسیخان بود (شکل ۱). بنابراین، به نظر می‌رسد فسفر کل محلول که بیانگر فسفر زیست‌فراهم برای رشد کلرلا است به شدت تحت تأثیر دو بخش محلول-تبادلی و اکسیدی خاک می‌باشد. در پژوهشی که پیامد افزودن کود فسفوری بر مخازن فسفر خاک، زیست‌فراهمی و خطرات زیست‌محیطی آن انجام گرفت، مشخص شد که بخش فسفر محلول-تبادلی یک مخزن بالقوه برای آبشویی از

زمانی متوسط و فراهمی زیستی فسفر محبوس شده در بلندمدت اتفاق می‌افتد (۳۵). کرال و همکاران (۲۰۱۵) نیز گزارش کردند که فسفر پیوندی با آهن (Fe-P)، حساس به رداکس، فراهم‌ترین شکل فسفر برای جلبک‌ها است (۵۸). ارزیابی‌های زیستی نشان داده‌اند که فسفر باقی‌مانده و کربناتی در اغلب شرایط فیزیکوشیمیایی نسبتاً نامحلول هستند (۴۲ و ۵۹). فسفر کربناتی که فسفر پیوند شده با بخش کربنات کلسیم است، تنها از طریق انحلال نسبی تحت شرایط اسیدی آزاد می‌شود. به همین دلیل فسفر پیوند شده با کربنات کلسیم فراهمی کم‌تری برای موجودات زنده دارد (۶۰). به‌طور کلی فسفر تبدلی، فسفر اکسیدی (پیوندی با آهن) و فسفر آلی می‌توانند از طریق فرایندهای فیزیکوشیمیایی و یا فرایندهای زیستی در سیستم‌های آبی به آسانی آزاد شوند (۶۱). اگرچه اکولم و کروگروس (۲۰۰۳) گزارش کردند که فراهمی فسفر کل محلول برای ریزجلبک در آزمون جلبکی عمدتاً در آزمایشگاه کم‌تر از مقدار واقعی برآورد می‌شود زیرا در مقایسه با زمان ماندگاری فسفر در سیستم‌های آبی، زمان انکوباسیون در محیط‌های کشت بسیار کوتاه‌تر است (۵). این پژوهش‌گران همچنین بیان کردند که تقریباً ۳۱ درصد از فسفر موجود در رواناب اراضی کشاورزی برای جلبک فراهم است که دلیل آن مقادیر زیاد کاربرد کود در حوضه‌های کشاورزی است (۵). بنابراین با توجه به این‌که اراضی شالیزاری مورد مطالعه مقادیر زیادی کود فسفر دریافت می‌کنند، رواناب حاصل از آن‌ها می‌تواند سبب افزایش فراهمی فسفر در محیط‌های آبی و به‌دنبال آن افزایش رشد جلبکی شود.

فسفر ذره‌ای در روز هفتم انکوباسیون به شدت کاهش و سپس در ادامه انکوباسیون افزایش نشان داد (شکل ۳ ب). با توجه به این‌که فسفر ذره‌ای از تفاوت

فسفر کل و فسفر کل محلول حاصل می‌شود (۱۴)، بنابراین با توجه به ثبات فسفر کل در محیط، با افزایش فسفر کل محلول، فسفر ذره‌ای کم‌تر می‌شود و فراهمی فسفر برای کلرلا افزایش می‌یابد. با توجه به این‌که در زمان‌های ابتدایی انکوباسیون، فسفر کل محلول از بخش‌های فراهم‌تر فسفر خاک آزاد می‌شود، به همین دلیل مقدار فسفر ذره‌ای کاهش می‌یابد. با گذشت زمان انکوباسیون و مصرف فسفر محلول توسط ریزجلبک، رهاسازی فسفر باید از بخش‌های کم‌تر فراهم خاک مانند کربناتی و باقی‌مانده صورت گیرد که سبب کاهش فراهمی فسفر برای ریزجلبک می‌شود. بنابراین با وجود ثابت بودن فسفر کل، فسفر در بخش ذره‌ای با گذشت زمان انکوباسیون افزایش می‌یابد. باستریمی و همکاران (۱۹۸۸) عنوان کردند که تمام فسفر ذره‌ای می‌تواند به شکل ارتوفسفات محلول تغییر شکل یابد و تحت شرایط طبیعی به عنوان فسفر بالقوه زیست‌فراهم مورد توجه قرار گیرد (۹). بنابراین حضور فسفر در بخش ذره‌ای به معنی کاهش خطر آلودگی ناشی از فسفر در محیط‌های آبی نمی‌باشد زیرا فسفر ذره‌ای می‌تواند در رشد جلبک مؤثر باشد (۹). در پژوهشی که با هدف مقایسه شکل‌های مختلف فسفر در رواناب سطحی و زیرسطحی از دو خاک رسی و ارزیابی پتانسیل فراهمی فسفر ذره‌ای برای جلبک در رواناب‌ها انجام گرفت، گزارش شد که فسفر ذره‌ای موجود در رواناب خاک سطحی در تامین فسفر بالقوه فراهم برای جلبک مشارکت دارد. در واقع بخش بزرگی از فسفر در رواناب سطحی و زیرسطحی خاک‌های رسی توسط مواد معلق خاک منتقل می‌شود (۵۵). نتایج همبستگی بین پارامترها در روزهای مختلف انکوباسیون نشان داد که بین مقدار کلروفیل a و تعداد سلول‌ها ارتباط مثبت و معناداری وجود دارد (جدول ۲).



شکل ۳- تغییرات فسفر کل محلول (الف) و فسفر کل ذره‌ای (ب) در طول دوره انکوباسیون.

حروف مشابه روی ستون‌ها نشان‌دهنده معنادار نبودن تفاوت میانگین‌هاست ($P < 0.05$). Error bars انحراف معیار هستند.

Figure 3. Changes in total dissolved phosphorus (a) and particulate phosphorus (b) during the incubation period. Same letters on the columns indicate not significant difference ($P < 0.05$). Error bars are standard deviation.

شد. در خاک‌های مورد مطالعه سهم فسفر غیرآلی از فسفر کل قابل توجه بود و غلظت فسفر در بخش‌های مختلف خاک تحت تأثیر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک‌ها متفاوت بود. در خاک پیربازار با مقدار فسفر بیشتر در بخش‌های محلول-تبادلی و اکسیدی در مقایسه با دو خاک لاکان و پسیخان کلروفیل *a*، تعداد سلول‌های ریزجلبک و هم‌چنین فسفر کل محلول در تمام دوره انکوباسیون بالاتر بود. در آزمون جلبکی، مقدار کلروفیل *a* و تعداد سلول‌های ریزجلبک در دو هفته اول انکوباسیون همبستگی مثبت و معناداری با فسفر کل محلول نشان دادند و در دو هفته بعد رشد ریزجلبک تحت تأثیر فسفر کل ذره‌ای قرار گرفت. از آن‌جا که خاک به عنوان تنها منبع فسفر می‌تواند امکان رشد ریزجلبک را فراهم نماید، بنابراین توجه به فسفر ورودی به زیست‌بوم‌های آبی از طریق اراضی کشاورزی حاشیه رودخانه‌ها برای مدیریت پدیده سرشارسازی در تالاب انزلی ضروری است.

هم‌چنین بین این دو پارامتر و فسفر محلول در روزهای هفتم و چهاردهم انکوباسیون همبستگی مثبت و معناداری مشاهده شد. در حالی که بین مقدار کلروفیل *a* و فسفر کل ذره‌ای در روزهای ۱۴، ۲۱ و ۲۸ انکوباسیون و بین تعداد سلول و فسفر کل ذره‌ای در روزهای ۲۱ و ۲۸ انکوباسیون ارتباط معناداری مشاهده شد. بنابراین به نظر می‌رسد مقدار کلروفیل *a* و تعداد سلول در دو هفته اول انکوباسیون تحت تأثیر فسفر کل محلول می‌باشند و پس از گذشت زمان انکوباسیون و مصرف شدن فسفر محلول توسط ریزجلبک، این دو پارامتر تحت تأثیر فسفر کل ذره‌ای قرار می‌گیرند. ماسلوکا و همکاران (۲۰۲۰) نیز گزارش کردند که موجودات زنده تمایل زیادی برای مصرف فسفر غیرآلی محلول دارند و فسفر غیرآلی محلول و ذره‌ای هر دو بر مقدار کلروفیل *a* مؤثر هستند (۳۴).

نتیجه‌گیری

در این پژوهش از نمونه‌های خاک شالیزاری به‌عنوان منبع فسفر برای رشد ریزجلبک کلرلا استفاده

جدول ۲- همبستگی بین پارامترها در روزهای مختلف انکوباسیون.

Table 2. Correlation between parameters on different incubation days.

روز ۱۴ Day 14				روز ۷ Day 7			
فسفر ذره‌ای Particulate phosphorus	فسفر کل محلول Total dissolved phosphorus	تعداد سلول Cell number	کلروفیل a Chlorophyll a	فسفر ذره‌ای Particulate phosphorus	فسفر کل محلول Total dissolved phosphorus	تعداد سلول Cell number	کلروفیل a Chlorophyll a
			1.0				1.0
		1.0	0.98**			1.0	0.99**
	1.0	0.94**	0.93**		1.0	0.98**	0.98**
1.0	0.65	0.73	0.85*	1.0	0.5	0.47	0.51
روز ۲۸ Day 28				روز ۲۱ Day 21			
			1.0				1.0
		1.0	0.94**			1.0	0.96**
	1.0	0.43	0.49		1.0	0.68	0.7
1.0	0.48	0.77*	0.94**	1.0	0.54	0.8*	0.92**

** و * به ترتیب نشان‌دهنده معنادار بودن همبستگی در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد است

** and * indicate the significance of the correlation at the probability level of 1 and 5%, respectively

منابع

1. Haque, S. E. (2021). How effective are existing phosphorus management strategies in mitigating surface water quality problems in the U.S? *Sustainability*, 13, 6565. doi.org/10.3390/su13126565.
2. Kleinman, P. J. (2017). The persistent environmental relevance of soil phosphorus sorption saturation. *Current Pollution Reports*, 3, 141-150. doi:10.1007/s40726-017-0058-4.
3. Mbabazi, J., Inoue, T., Yokota, K., & Saga, M. (2019). Phosphorus bioavailability in rivers flowing through contrasting land uses. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 7 (2), 102960. doi:10.1016/j.jece.2019.102960.
4. Dijkstra, M. L., Corcoran, M. J., Sloan, J. J., & Lutz, B. L. (2020). Assessing phosphorus distribution and bioavailability in Lake Decatur, IL. *Lake and Reservoir Management*, 36, 376-390. doi.org/10.1080/10402381.2020.1744775.
5. Ekholm, P., & Krogerus, K. (2003). Determining algal-available phosphorus of differing origin: routine phosphorus analyses versus algal assays. *Hydrobiologia*, 492 (1-3), 29-42. doi:10.1023/A:1024857626784.
6. Baker, D. B., Confesor, R., Ewing, D. E., Johnson, L. T., Kramer, J. W., & Merryfield, B. J. (2014). Phosphorus loading to Lake Erie from the Maumee, Sandusky and Cuyahoga rivers: the importance of bioavailability. *Journal of*

- Great Lakes Research*, 40 (3), 502-517. doi.org/10.1016/j.jglr.2014.05.001.
7. Withers, P. J. A., Sylvester-Bradley, R., Jones, D. L., Healey, J. R., & Talboys, P. J. (2014). Feed the crop not the soil: Rethinking phosphorus management in the food chain. *Environmental Science and Technology*, 48, 6523-6530. doi: 10.1021/es501670j.
 8. Ekholm, P., Turtola, E., Gro'nroos, J., Seuri, P., & Ylivainio, K. (2005). Phosphorus loss from different farming systems estimated from soil surface phosphorus balance. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 110, 266-278. doi.org/10.1016/j.agee.2005.04.014.
 9. Puchongkawarin, C., Gomez-Mont, C., Stuckey, D. C., & Chachuat, B. (2015). Optimization-based methodology for the development of wastewater facilities for energy and nutrient recovery. *Chemosphere*, 140, 150-158. doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.08.061.
 10. Withers, P. J. A., Vadas, P. A., Uusitalo, R., Forber, K. J., Hart, M., Foy, R. H., Delgado, A., Dougherty, W., Lilja, H., Burkitt, L. L., Rubæk, G. H., Pote, D., Barlow, K., Rothwell, S., & Owens, P. R. (2019). A global perspective on integrated strategies to manage soil phosphorus status for eutrophication control without limiting land productivity. *Journal of Environmental Quality*, 48: 1234-1246. doi.org/10.2134/jeq2019.03.0131.
 11. Zhang, H. Y., Tian, Y. L., Cui, S. B., Zhang, L. Y., Zhong, X., & Xiong, Y. W. (2016). Influence of macrophytes on phosphorus fractionation in surface sediments in a constructed wetland: Insight from sediment compositions. *Ecological Engineering*, 97, 400-412. doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.10.043.
 12. Wang, C. Y., Zhang, Y., Li, H. L., & Morrison, R. J. (2013). Sequential extraction procedures for the determination of phosphorus forms in sediment. *Limnology*, 14, 147-157. doi:10.1007/s10201-012-0397-1.
 13. Worsfold, P. J., Monbet, P., Tappin, A. D., Fitzsimons, M. F., Stiles, D. A., & McKelvie, I. D. (2008). Characterization and quantification of organic phosphorus and organic nitrogen components in aquatic systems: A Review. *Analytica Chimica Acta*, 624, 37-58. doi.org/10.1016/j.aca.2008.06.016.
 14. Withers, P. J. A., & Bowes, M. J. (2018). Phosphorus the pollutant. In: C. Schaum, editor, Phosphorus: Polluter and resource of the future: Removal and recovery from wastewater. IWA Publishing, London. Pp: 3-34.
 15. Okubo, Y., Inoue, T., Yokota, K., & Tsushima, K. (2011). Potential bioavailability of phosphorus in citrus orchard soil to *Microcystis aeruginosa*. *Water Science and Technology*, 63(6), 1298-302. doi:10.2166/wst.2011.374.
 16. Anderson, B. H., & Magdoff, F. R. (2005). Autoclaving soil samples affects algal-available phosphorus. *Journal of Environmental Quality*, 34(6), 1958-1963. doi:10.2134/jeq2005.0024.
 17. Li, B., & Brett, M. T. (2015). The relationship between operational and bioavailable phosphorous fractions in effluents from advance nutrient removal systems. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 12, 3317-3328. doi:10.1007/s13762-015-0760-y.
 18. Wang, C., Kong, H., He, S., Zheng, X., & Li, C. (2010). The inverse correlation between growth rate and cell carbohydrate content of *Microcystis aeruginosa*. *Journal of Applied Phycology*, 22, 105-107. doi:10.1007/s10811-009-9421-1.
 19. Hoffman, A. R., Armstrong, D. E., Lathrop, R. C., & Penn, M. R. (2009). Characteristics and influence of phosphorus accumulated in the bed sediments of a stream located in an agricultural watershed. *Aquatic Geochemistry*, 15, 371-389. doi:10.1007/s10498-008-9043-2.
 20. Arfania, H., Samadi, A., Asadzadeh, F., Sepehr, E., & Asal Pisgeh, Z. (2017). Phosphorus fractionation in relation to algal growth (*Scenedesmus Obliquus*) in western river sediment of Urmia

- Lake basin. *Journal of Water and Soil Conservation*, 24 (3), 95-112. doi: 10.22069/jwfs.2017.12481.2713. [In Persian]
21. Mirroshandel, A. S., & Khavandkar, O. (2015). Investigation of nitrogen and phosphorus in Anzali wetland in causing algal bloom. *Journal of Environmental Science and Engineering*, 1, 11-18. http://www.jesb.ir/article_10699.html. [In Persian]
 22. Andersen, R. A. (2005). *Algal culturing techniques*, Elsevier. Academic Press, New York, 578p.
 23. Okubo, Y., Inoue, T., & Yokota, K. (2012). Estimating bioavailability of soil particulate phosphorus to *Microcystis aeruginosa*. *Journal of Applied Phycology*, 24, 1503-1507. doi:10.1007/s10811-012-9809-1.
 24. Sparks, D. L. (1996). *Methods of Soil Analysis Part 3 Chemical Methods*. Soil Science Society of America, American Society of Agronomy, Madison.
 25. Olsen, S. R., & Sommers, L. E. (1982). Phosphorus. In: Page, A.L., Ed., *Methods of Soil Analysis Part 2 Chemical and Microbiological Properties*, American Society of Agronomy, Soil Science Society of America, Madison, 403-430.
 26. Kuo, S. (1996). Phosphorus. p. 869-919. In: R. L. Sparks (ed.), *Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods*, SSSA, Madison, WI., USA.
 27. Hedley, M. J., Stewart, J. W. B., & Chauhan, B. S. (1982). Changes in inorganic and organic soil phosphorus fractions induced by cultivation practices and by laboratory incubations. *Soil Science Society of America Journal*, 46(5), 970-976. doi.org/10.2136/sssaj1982.03615995004600050017x.
 28. Pancha, I., Chokshi, K., Maurya, R., Trivedi, K., Patidar, S. K., Ghosh, A., & Mishra, S. (2015). Salinity induced oxidative stress enhanced biofuel production potential of microalgae *Scenedesmus* sp. CCNM 1077. *Bioresource Technology*, 189, 341-348. doi.org/10.1016/j.biortech.2015.04.017.
 29. Murphy, J., & Riley, J. P. (1962). A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta*, 27, 31-36. doi.org/10.1016/S0003-2670(00)88444-5.
 30. de Jonge, L.W., Moldrup, P., Rubæk, G.H., Schelde, K., & Djurhuus, J. (2004). Particle leaching and particle-facilitated transport of phosphorus at field scale. *Vadose Zone Journal*, 3, 462-470. doi.org/10.2136/vzj2004.0462.
 31. Nishigaki, T., Sugihara, S., Kobayashi, K., Hashimoto, Y., Kilasara, M., Tanaka, H., Watanabe, T., & Funakawa, S. (2018). Fractionation of phosphorus in soils with different geological and soil physicochemical properties in southern Tanzania. *Soil Science and Plant Nutrition*, 64 (3), 291-299. doi.org/10.1080/00380768.2018.1436406.
 32. Yang, X. Y., Chen, X. W., & Yang, X. T. (2019). Effect of organic matter on phosphorus adsorption and desorption in a black soil from Northeast China. *Soil and Tillage Research*, 187, 85-91. doi: 10.1016/j.still.2018.11.016.
 33. Kang, J., Hesterberg, D., & Osmond, D.L. (2009). Soil organic matter effects on phosphorus sorption: A path analysis. *Soil Science Society of America Journal*, 73, 360-366. doi: 10.2136/sssaj2008.0113.
 34. Bo, L., Wang, D., Zhang, G., & Wang, C. (2014). Evaluating the relationship between phosphorus bioavailability and phosphorus speciation in sediments from rural rivers in the Taihu Lake Area, China. *Polish Journal of Environmental Studies*, 23 (6), 1933-1940. doi.org/10.15244/pjoes/24924.
 35. Cross, A. F., & Schlesinger, W. H. (1995). A literature review and evaluation of the Hedley fractionation: Applications to the biogeochemical cycle of soil phosphorus in natural ecosystems. *Geoderma*, 64, 197-214. doi.org/10.1016/0016-7061(94)00023-4.
 36. Lu, C. D., Guo, P., Ji, J., Liu, L., & Yang, P. (2016). Evaluation of phosphorus distribution and bioavailability in

- sediments of a subtropical wetland reserve in southeast China. *Ecological Indicators*, 66, 556-563. doi.org/ 10.1016/j.ecolind.2016.02.015.
37. Petterson, K. (2001). Phosphorus characteristics of settling and suspended particles in Lake Erken. *Science of the Total Environment*, 266 (1-3), 79-83. doi: 10.1016/S0048-9697(00)00737-3.
38. Meng, J., Yao, P., Yu, Z. G., Bianchi, T. S., Zhao, B., Pan, H. H., & Li, D. (2014). Speciation, bioavailability and preservation of phosphorus in surface sediments of the Changjiang Estuary and adjacent East China Sea inner shelf. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 144, 27-38. doi.org/10.1016/j.ecss.2014.04.015.
39. Bastami, K. D., Neyestani, M. R., Raeisi, H., Shafeian, E., Baniamamd, M., Shirzadi, A., Esmaeilzade, M., Mozaffari, S., & Shahrokhi, B. (2018). Bioavailability and geochemical speciation of phosphorus in surface sediments of the Southern Caspian Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 126, 51-57. doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.10.095.
40. Yang, B., Lan, R. Z., Lu, D. L., Dan, S. F., Keng, Z. J., Jiang, Q. C., Lan, W. L., & Zhong, Q. P. (2019). Phosphorus biogeochemical cycling in intertidal surface sediments from the Maowei Sea in the northern Beibu Gulf. *Regional Studies in Marine Science*, 28, 100624. doi.org/10.1016/j.rsma.2019.100624.
41. Acharya, S. S., Panigrahi, M. K., Kurian, J., Gupta, A. K., & Tripathy, S. (2016). Speciation of phosphorus in the continental shelf sediments in the Eastern Arabian Sea. *Continental Shelf Research*, 115, 65-75. doi.org/10.1016/j.csr.2016.01.005.
42. Dan, S. F., Liu, S. M., & Yang, B. (2020). Geochemical fractionation, potential bioavailability and ecological risk of phosphorus in surface sediments of the Cross River estuary system and adjacent shelf, South East Nigeria (West Africa). *Journal of Marine Systems*, 201, 103244. doi: 10.1016/j.jmarsys.2019.103244.
43. Sudheesh, V., Movitha, M., Hatha, A. A. M., Renjith, K. R., Resmi, P., Rahiman, M., & Nair, S. M. (2017). Effects of seasonal anoxia on the distribution of phosphorus fractions in the surface sediments of southeastern Arabian Sea shelf. *Continental Shelf Research*, 150, 57-64. doi.org/10.1016/j.csr.2017.09.011.
44. McCray, J. M., Wright, A. L., Luo, Y., & Ji, S. (2012). Soil phosphorus forms related to extractable phosphorus in the everglades agricultural area. *Soil Science*, 177(1), 31-38. doi: 10.1097/SS.0b013e31823782da.
45. Jalali, M., & Ranjbar, F. (2010). Aging effects on phosphorus transformation rate and fractionation in some calcareous soils. *Geoderma*, 155, 101-106. doi.org/10.1016/j.geoderma.2009.11.030.
46. Ruban, V., Lopez-Sanchez, J. F., Pardo, P., Rauret, G., Muntau, H., & Quevauviller, P. (2001). Harmonized protocol and certified reference material for the determination of extractable contents of phosphorus in freshwater sediments: A synthesis of recent works. Fresenius. *Journal of Analytical Chemistry*, 370 (2-3), 224. doi: 10.1007/s002160100753.
47. Nie, X., Xiang, W., Chen, J., Vladimirov, Z., & An, T. (2008). Response of the freshwater alga *Chlorella vulgaris* to trichloroisocyanuric acid and ciprofloxacin. *Journal of Environmental Toxicology and Chemistry*, 27, 168-173. doi: 10.1897/07-028.1.
48. Ratomski, P., & Hawrot-Paw, M. (2021). Influence of nutrient-stress conditions on *Chlorella vulgaris* biomass production and lipid content. *Catalysts*, 11 (5), 573. doi.org/ 10.3390/catal11050573.
49. Abdel-Raouf, N., Al-Homaidan, A. A., & Ibraheem, I. B. M. (2012). Microalgae and wastewater treatment. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 19, 257-275. doi.org/10.1016/j.sjbs.2012.04.005.
50. Martinez, M., Sánchez, S., Jimenez, J., El Yousfi, F., & Munoz, L. (2000). Nitrogen and phosphorus removal from urban wastewater by the microalga

- Scenedesmus obliquus*. *Bioresource Technology*, 73 (3), 263-72. doi.org/10.1016/S0960-8524(99)00121-2.
51. Mohsenpour, S. F., Richards, B., & Willoughby, N. (2012). Spectral conversion of light for enhanced microalgae growth rates and photosynthetic pigment production. *Bioresource Technology*, 125, 75-81. doi.org/10.1016/j.biortech.2012.08.072.
52. Liang, K., Zhang, Q., Gu, M., & Cong, W. (2013). Effect of phosphorus on lipid accumulation in freshwater microalga *Chlorella* sp. *Journal of Applied Phycology*, 25, 311-318. doi: 10.1007/s10811-012-9865-6.
53. Chen, M., Li, J., Dai, X., Sun, Y., & Chen, F. (2011). Effect of phosphorus and temperature on chlorophyll a contents and cell sizes of *Scenedesmus obliquus* and *Microcystis aeruginosa*. *Limnology*, 12, 187-192. doi: 10.1007/s10201-010-0336-y.
54. Fan, J., Cui, Y., Wan, M., Wang, W., & Li, Y. (2014). Lipid accumulation and biosynthesis genes response of the oleaginous *Chlorella pyrenoidosa* under three nutrition stressors. *Biotechnology for Biofuels*, 7, 17. doi: 10.1186/1754-6834-7-17.
55. Roopnarain, A., Gray, V. M., & Sym, S. D. (2014). Phosphorus limitation and starvation effects on cell growth and lipid accumulation in *Isochrysis galbana* U4 for biodiesel production. *Bioresource Technology*, 156, 408-411. doi: 10.1016/j.biortech.2014.01.092.
56. Liu, J., Luo, X., Zhang, N., & Wu, Y. (2016). Phosphorus released from sediment of Dianchi Lake and its effect on growth of *Microcystis aeruginosa*. *Environmental Science and Pollution Research*, 23 (16), 16321-8. doi: 10.1007/s11356-016-6816-9.
57. Yan, X., Yang, W., Chen, X., Wang, M., Wang, W., Ye, D., & Wu, L. (2020). Soil phosphorus pools, bioavailability and environmental risk in response to the phosphorus supply in the red soil of southern China. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17, 7384. doi: 10.3390/ijerph17207384.
58. Kraal, P., Bostick, B. C., Behrends, T., Reichart, G. J., & Slomp, C. P. (2015). Characterization of phosphorus species in sediments from the Arabian Sea oxygen minimum zone: combining sequential extractions and X-ray spectroscopy. *Marine Chemistry*, 168, 1-8. doi: 10.1016/j.marchem.2014.10.009.
59. Kraal, P., & Slomp, C. P. (2014). Rapid and extensive alteration of phosphorus speciation during oxic storage and wet sediment sampling. *PLoS One*, 9 (5), 96859. doi: 10.1371/journal.pone.0096859.
60. Coelho, J. P., Flindt, M. R., Jensen, H. S., Lillebø, A. I., & Pardal, M. A. (2004). Phosphorus speciation and availability in intertidal sediments of a temperate estuary: relation to eutrophication and annual P-fluxes. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 61, 583-590. doi:10.1016/J.ECSS.2004.07.001.
61. Meng, J., Yu, Z. G., Yao, Q. Z., Bianchi, T. S., Paytan, A., Zhao, B., Pan, H. H., & Yao, P. (2015). Distribution, mixing behavior, and transformation of dissolved inorganic phosphorus and suspended particulate phosphorus along a salinity gradient in the Changjiang Estuary. *Marine Chemistry*, 168, 124-134. doi.org/10.1016/j.marchem.2014.09.016.