19th Iranian Soil Science Congress
16-18 September, 2025

نوزدهمین کنگره علوم خاک ایران
۲۵ تا ۲۷ شهریور ۱۴۰۴

مدیریت جامع‌نگر و هوشمند خاک و آب
Holistic and Smart Soil and Water Management
دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran

۰۴۲۵۰-۳۲۰۳۱

تصویرسازی دوبعدی فعالیت فسفاتاز در ریزوسفر ذرت با زیموگرافی درجا: واکاوی تاثیر همزمان منابع فسفر و قارچ مایکوریزا

ستایش سمیعی[1*]، اکرم حلاج‌نیا[1]، امیر لکزیان[1]، سیدسجاد حسینی[1]

۱- گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

*ایمیل نویسنده مسئول: **setayesh77291@gmail.com**

چکیده

این پژوهش با هدف بررسی اثر منابع مختلف فسفر (معدنی، آلی و بدون فسفر) و تلقیح با قارچ مایکوریزا آربوسکولار بر الگوهای مکانی فعالیت فسفاتاز اسیدی و قلیایی در ریزوسفر ذرت انجام شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل و سه تکرار در ریزوباکس و با استفاده از روش زیموگرافی درجا صورت گرفت. نتایج نشان داد که هات‌اسپات‌های فسفاتاز اسیدی عمدتاً در مجاورت ریشه‌ها تشکیل شدند، در حالی که فسفاتاز قلیایی علاوه بر ریزوسفر در خاک غیرریزوسفری نیز پراکنده بود. درصد هات‌اسپات‌های فسفاتاز قلیایی تقریباً دو برابر فسفاتاز اسیدی بود. در تیمار بدون فسفر، تلقیح با قارچ مایکوریزا موجب افزایش ۶۸ درصدی هات‌اسپات‌های فسفاتاز اسیدی و ۳۸ درصدی فسفاتاز قلیایی نسبت به تیمار بدون تلقیح شد. در مقابل، در تیمارهای دارای فسفر معدنی و آلی، تلقیح مایکوریزا به ترتیب موجب کاهش ۲۷ و ۱۳ درصدی هات‌اسپات‌های فسفاتاز قلیایی گردید. همچنین، در شرایط بدون تلقیح، کاربرد فسفر معدنی و آلی باعث افزایش هات‌اسپات‌های فسفاتاز اسیدی ولی کاهش هات‌اسپات‌های فسفاتاز قلیایی نسبت به شاهد شد. این نتایج بیانگر آن است که منبع فسفر و حضور مایکوریزا به طور چشمگیری الگوی مکانی فعالیت فسفاتاز را تغییر داده و می‌تواند فراهمی فسفر برای گیاه را تحت تاثیر قرار دهد.

واژگان کلیدی: هات‌اسپات‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی، فسفر معدنی و آلی، زیموگرام، فعالیت آنزیمی

مقدمه

فسفر یکی از عناصر پرمصرف و ضروری برای رشد و نمو گیاهان است که کمبود آن در بسیاری از خاک‌های زراعی جهان، از جمله خاک‌های مناطق نیمه‌خشک، یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده عملکرد و پایداری تولید محسوب می‌شود. بخش عمده‌ای از فسفر موجود در خاک به شکل‌های آلی پیچیده یا ترکیبات معدنی نامحلول حضور دارد و تنها کسری ناچیز از آن به صورت محلول و قابل جذب توسط ریشه در دسترس قرار می‌گیرد (Schachtman et al., 1998). این موضوع سبب وابستگی شدید سیستم‌های کشاورزی به مصرف کودهای فسفری شیمیایی شده است که خود پیامدهایی چون هزینه‌های اقتصادی بالا و مشکلات زیست‌محیطی را در پی دارد.

در چنین شرایطی، ریزجانداران خاک و ریشه گیاهان نقش تعیین‌کننده‌ای در افزایش فراهمی فسفر ایفا می‌کنند. ترشح آنزیم‌های خارج‌سلولی به‌ویژه فسفاتازهای اسیدی و قلیایی، یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های زیستی برای معدنی‌سازی ترکیبات فسفر آلی و آزادسازی آن به شکل قابل جذب است (Nannipieri et al., 2011). با این حال، این فعالیت‌های آنزیمی در ریزوسفر به صورت همگن رخ نمی‌دهند، بلکه در قالب نواحی با فعالیت بالا یا «هات‌اسپات‌ها» توزیع می‌شوند (Kuzyakov & Blagodatskaya, 2015)؛ الگویی که بازتابی از برهم‌کنش‌های پیچیده بین ریشه، جوامع میکروبی و شرایط تغذیه‌ای خاک است.

قارچ‌های مایکوریزا آربوسکولار به‌عنوان همزیست‌های کلیدی گیاهان زراعی، با ایجاد شبکه گسترده‌ای از هیف‌های خارج‌ریشه‌ای، سطح دسترسی به فسفر تثبیت شده در خاک را افزایش می‌دهند (Allen, 2007). علاوه بر نقش مستقیم در بهبود جذب فسفر، این قارچ‌ها می‌توانند فعالیت و الگوی مکانی فسفاتازها را نیز تحت تأثیر قرار دهند (Hoang et al., 2022). از سوی دیگر، نوع و منبع فسفر مصرفی (معدنی یا آلی) عاملی مهم در شدت و پراکنش این فعالیت‌های آنزیمی است و می‌تواند تعاملات گیاه و ریزجانداران را به شیوه‌ای متفاوت شکل دهد (Ma et al., 2021).

با وجود اهمیت بالای این فرآیندها، هنوز درک محدودی از تغییرات مکانی فعالیت فسفاتاز در مقیاس ریزوسفر و در پاسخ به منابع مختلف فسفر و حضور مایکوریزا وجود دارد. روش زیموگرافی درجا، به‌عنوان روشی نوین و غیرمخرب، این امکان را فراهم می‌آورد که توزیع مکانی و شدت فعالیت آنزیم‌ها به صورت تصویری و کمی در محیط خاک آشکار شود (Razavi et al., 2019). بر همین اساس، هدف پژوهش حاضر بررسی همزمان اثر منابع مختلف فسفر (معدنی، آلی و شاهد بدون فسفر) و تلقیح با قارچ‌های مایکوریزا آربوسکولار بر الگوهای مکانی فعالیت فسفاتاز اسیدی و قلیایی در ریزوسفر ذرت با استفاده از روش زیموگرافی درجا بود.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی توزیع مکانی فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز در ریزوسفر ذرت در حضور منابع مختلف فسفر و قارچ مایکوریزا، آزمایشی در قالب طرح کاملا تصادفی با آرایش فاکتوریل و با ۳ تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل سه شکل کاربرد فسفر (فسفر آلی از منبع اسید فیتیک یا فیتات سدیم، فسفر معدنی از منبع سوپر فسفات تریپل و بدون کاربرد فسفر یا شاهد) و فاکتور دوم تلقیح و عدم تلقیح با قارچ مایکوریزا بود.

خاک مورد مطالعه از عمق ۰ تا ۲۰ سانتی‌متری از محل پردیس دانشگاه فردوسی مشهد جمع‌آوری شد و پس از عبور از الک ۲ میلی‌متری با نسبت ۱:۱ با ماسه بادی مخلوط شد. برای آماده‌سازی ریزوباکس‌ها، ابتدا سه دسته خاک با تیمارهای متفاوت از نظر منبع فسفر تهیه شد. در دو دسته از خاک‌ها، به ترتیب سوپرفسفات تریپل و اسید فیتیک به میزان معادل ۱۰۰ میلی‌گرم فسفر در هر کیلوگرم خاک اضافه شد. در حالی که به دسته سوم خاک، هیچ نوع کود فسفری داده نشد. تعداد ۱۸ ریزوباکس با ابعاد ۲۱(طول)× ۱۸(عرض) ×۲(عمق) سانتی‌متر به صورت افقی با خاک پر شدند تا سطح خاک یکنواخت حاصل شود.

در هر ریزوباکس یک بذر جوانه‌دار شده ذرت (*Zea mays* L.) کاشته شد. برای تیمارهای تلقیح با قارچ مایکوریزا، از مخلوطی پودری شامل سه گونه قارچی *Rhizophagus irregularis*، *Funneliformis mosseae* و *Claroideoglomus etunicatum* استفاده شد. بلافاصله پیش از کشت، بذرهای جوانه‌دار شده ذرت به آرامی در سوسپانسیون حاصل از مایه تلقیح قارچی غلتانده شدند تا سطح ریشه‌ها به قارچ آغشته شود. همچنین برای اطمینان از آلودگی موثر ریشه، یک گرم از مایه تلقیح

قارچی در زیر محل کاشت بذر قرار داده شد. در تیمارهای بدون قارچ، تمام مراحل به همان شکل اما با مایه تلقیح استریل شده انجام شد تا اثر تیمار به‌طور دقیق بررسی شود. در طول دوره رشد، ریزوباکس‌ها به صورت مایل با زاویه ۴۵ درجه در گلخانه قرار گرفتند تا ریشه‌ها در امتداد دیواره پایین ریزوباکس‌ها رشد کنند. در طول دوره رشد، رطوبت خاک تمام ریزوباکس‌ها با توزین در سطح ۷۰ درصد ظرفیت نگهداشت آب در خاک حفظ شد. بعد از ۴۰ روز از کشت، دیواره پایینی ریزوباکس‌ها برای تعیین توزیع مکانی فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز باز شدند.

برای تعیین توزیع مکانی فعالیت فسفاتار اسیدی و قلیایی در ریزوسفر از روش رضوی و همکاران (Razavi et al., 2019) استفاده شد. ابتدا یک فیلتر غشایی پلی آمید با قطر ۲۰ سانتی‌متر و اندازه منافذ ۰/۴۵ میکرومتر در محلولی از سوبسترا هر آنزیم خیسانده شد. سپس فیلتر غشایی آغشته با سوبسترا آنزیم روی سطح خاک قرار داده شد و درب ریزوباکس بسته شد. غشاها به مدت یک ساعت در این شرایط در دمای محیط انکوباسیون شدند. پس از یک ساعت، فیلترهای غشایی از سطح خاک برداشته شده و خاک‌های چسبیده به آنها به آرامی با قلمو پاک شدند. سپس غشاها در زیر نور UV با طول موج ۳۵۵ نانومتر در یک اتاق تاریک عکاسی شدند. برای پردازش تصویر، از نرم افزار متن باز Image-J استفاده شد. درصد هات‌اسپات‌های فعالیت آنزیمی با استفاده از روش پیشنهاد شده توسط (Bilyera et al., 2020) محاسبه شد.

تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس دو طرفه (two-ways ANOVA) با استفاده از نرم افزار JUMP 8 انجام گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها بین تیمارهای مختلف با استفاده از آزمون توکی HSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

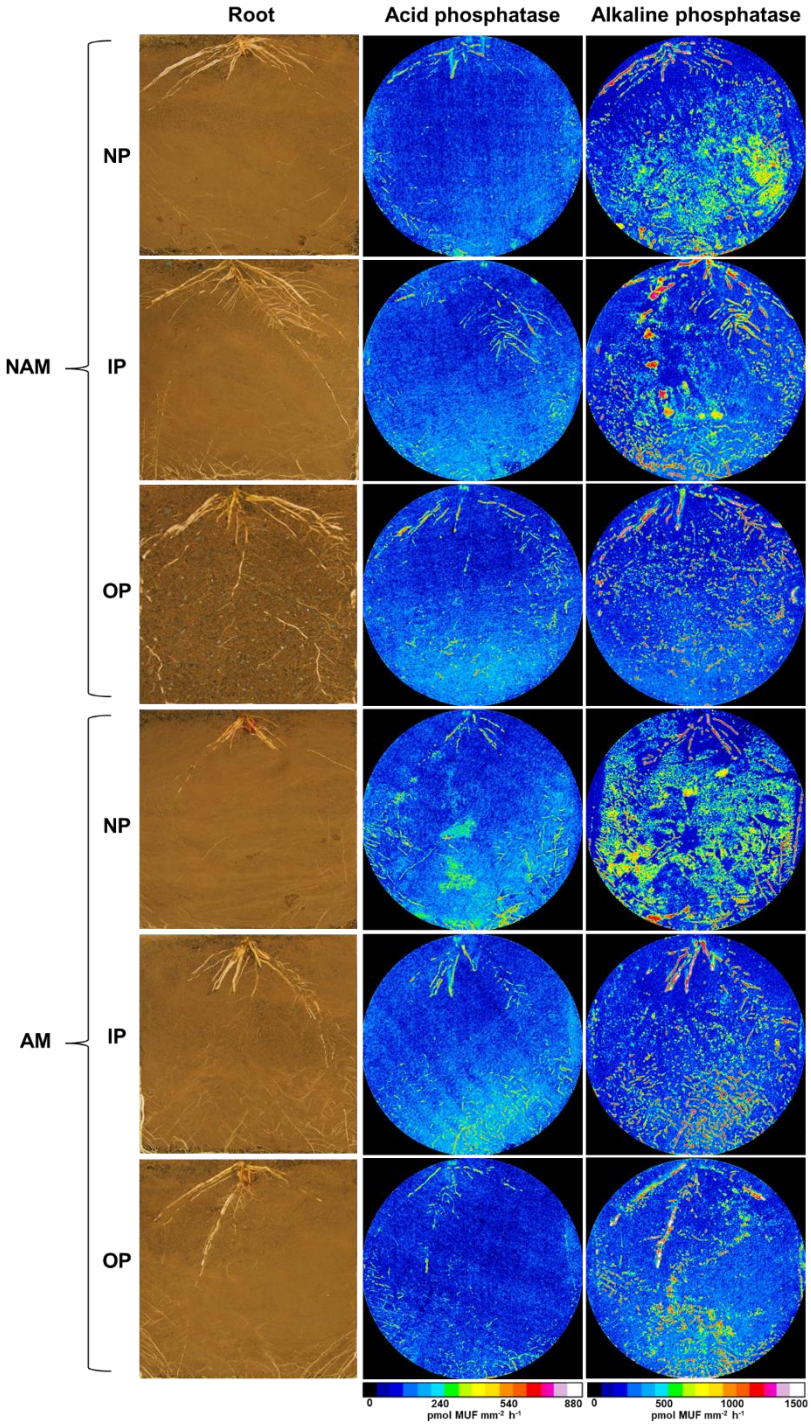
نتایج و بحث

تصاویر زیموگرام نشان دادند که در تمام تیمارها، هات‌اسپات‌های فعالیت فسفاتاز (با رنگ قرمز و سفید) عمدتاً در کنار ریشه‌های فعال قرار دارند (شکل ۱). به‌طور کلی، تجمع زیست‌توده میکروبی در ریزوسفر و همچنین سرعت پایین انتشار فسفاتازهای ترشح شده توسط ریشه در خاک، از عوامل اصلی شکل‌گیری بیشتر هات‌اسپات‌های فعالیت فسفاتاز در اطراف ریشه محسوب می‌شوند (Spohn et al., 2015). توزیع فعالیت فسفاتاز اسیدی و قلیایی بین ریزوسفر و خاک غیرریزوسفری الگوهای متفاوتی نشان دادند (شکل ۱). در تمامی تیمارها، هات‌اسپات‌های فسفاتاز اسیدی بیشتر و متمرکزتر در ناحیه ریشه و ریزوسفر مشاهده شدند و حضور آنها در خاک غیرریزوسفری به مراتب کمتر بود. در مقابل، هات‌اسپات‌های فسفاتاز قلیایی هم در مجاورت ریشه و هم در خاک غیرریزوسفری پراکندگی داشتند. فسفاتازهای اسیدی توسط ریشه گیاه و ریزجانداران خاک تولید می‌شوند و در محیط‌های اسیدی‌تر، مانند ناحیه ریزوسفر، فعالیت بهینه داشته و غالب هستند. در مقابل، فسفاتازهای قلیایی که صرفاً توسط ریزجانداران خاک تولید می‌شوند، در محیط‌های خنثی تا قلیایی غالبیت بیشتری دارند و به همین دلیل توزیع آنها در مقایسه با فسفاتازهای اسیدی پراکنده‌تر است (Nannipieri et al., 2011).

همچنین در تیمارهای بدون فسفر، به ویژه برای آنزیم فسفاتاز قلیایی، پراکنش هات‌اسپات‌ها در خاک غیرریزوسفری به طور قابل توجهی بیشتر از تیمارهای دارای فسفر بود (شکل ۲a). این امر بیانگر نقش جمعیت میکروبی خاک در افزایش فراهمی فسفر از طریق تولید آنزیم تحت شرایط کمبود فسفر است (Ma et al., 2019). در مقابل، کاربرد کودهای فسفره، به‌ویژه زمانی که با خاک مخلوط می‌شوند، تولید فسفاتازهای قلیایی توسط جمعیت میکروبی را مهار می‌کند (Xie et al., 2024).

تلقیح با قارچ مایکوریزا در تمامی تیمارها موجب افزایش سهم هات‌اسپات‌های فعالیت فسفاتاز اسیدی شد، اما این افزایش تنها در تیمار بدون فسفر از نظر آماری معنی‌دار بود و بیشترین مقدار را در میان تیمارها به خود اختصاص داد (شکل ۲a). گسترش میسلیوم خارجی معمولاً با تولید آنزیم فسفاتاز اسیدی توسط قارچ‌ها همراه است که علاوه بر گسترش هات‌اسپات‌های فسفاتاز اسیدی در ریزوسفر، دسترسی گیاه به فسفر را نیز تسهیل می‌کند (Hoang et al., 2022). با این حال، اثر مثبت مایکوریزا در تشکیل هات‌اسپات‌های فسفاتاز اسیدی در خاک‌های تیمار شده با فسفر آلی و معدنی کمتر بود، که نشان می‌دهد در شرایط فراهمی بالای فسفر، نیاز گیاه و ریزجانداران به تولید آنزیم کاهش می‌یابد.

در شرایط عدم تلقیح، کاربرد فسفر معدنی و فسفر آلی به ترتیب موجب افزایش ۲۶/۶ و ۳۱/۳ درصدی هات‌اسپات‌های فعالیت فسفاتاز اسیدی نسبت به تیمار بدون فسفر شد، هر چند این افزایش از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (شکل ۲a). این افزایش ممکن است به گسترش رشد گیاه و به تبع آن افزایش سطح ریشه نسبت داده شود؛ عاملی که می‌تواند بستر وسیع‌تری برای القای فعالیت آنزیمی و در نتیجه تشکیل هات‌اسپات‌های آنزیمی بیشتر فراهم آورد (Ma et al., 2025).



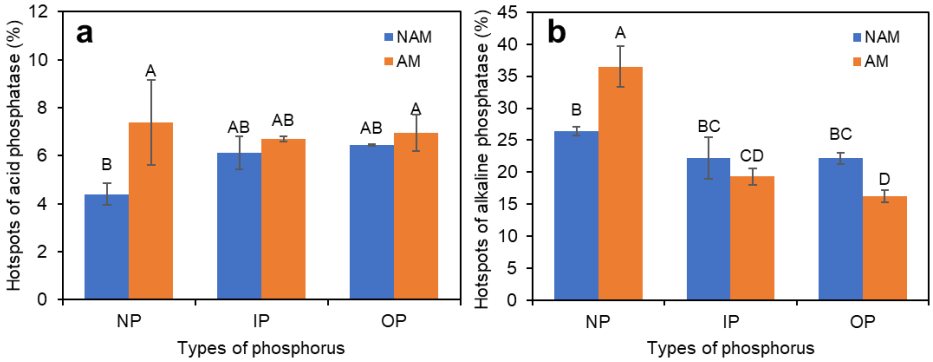
شکل ۱. توزیع مکانی فعالیت فسفاتاز اسیدی و قلیایی در ریزوسفر ذرت تحت تاثیر تیمارهای مختلف. شدت رنگ متناسب با فعالیت آنزیم است. NAM و AM به ترتیب نشان دهنده عدم تلقیح و تلقیح با قارچ مایکوریزا است. NP، IP و OP به ترتیب نشان دهنده بدون فسفر، فسفر معدنی و فسفر آلی است.

به طورکلی درصد هات‌اسپات‌های فعالیت فسفاتاز قلیایی تقریبا دو برابر بیشتر از هات‌اسپات‌های فسفاتاز اسیدی بود (شکل b۲)، که می‌تواند ناشی از غالبیت فسفاتازهای قلیایی در خاک‌های خنثی و قلیایی - نظیر خاک مورد استفاده در این پژوهش - نسبت به فسفاتازهای اسیدی باشد (Nannipieri et al., 2011).

نتایج نشان داد که در تیمار بدون فسفر، تلقیح با قارچ مایکوریزا موجب افزایش ۳۸ درصدی تشکیل هات‌اسپات‌های فعالیت فسفاتاز قلیایی شد (شکل b۲، $P<0.05$). قارچ‌های مایکوریزا در واکنش محدودیت فسفر، بخشی از کربن فتوسنتزی گیاه به سنتز و ترشح ترکیبات آلی با وزن مولکولی کم در ریزوسفر و همچنین تولید آنزیم‌های خارج سلولی نظیر فسفاتازهای قلیایی

اختصاص می‌یابد (Zhou et al., 2022) که می‌تواند موجب گسترش بیشتر هات‌اسپات‌های فسفاتاز قلیایی در تیمارهای تلقیح شده با قارچ مایکوریزا تحت شرایط کمبود فسفر شود. با این حال، در تیمارهای دارای فسفر آلی و معدنی تلقیح با قارچ مایکوریزا به ترتیب موجب کاهش ۲۷ و ۱۳ درصدی هات‌اسپات‌های فعالیت فسفاتاز قلیایی گردید (شکل b۲، $P<0.05$). این یافته نشان می‌دهد در حضور منابع آلی و معدنی فسفر، هیف‌های قارچی ترجیح می‌دهند فسفر قابل دسترس را جذب کنند که این باعث می‌شود که گیاه کربن فتوسنتزی کمتری را به ترشح ترکیبات آلی در ریزوسفر اختصاص دهد که موجب کاهش کربن و انرژی برای ریزجانداران خاک و در نتیجه کاهش تولید آنزیم فسفاتاز قلیایی می‌شود.

برخلاف نتایج به دست آمده برای هات‌اسپات‌های فعالیت فسفاتاز اسیدی، کاربرد فسفر معدنی و آلی در حضور و عدم حضور قارچ مایکوریزا موجب کاهش تشکیل هات‌اسپات‌های فعالیت فسفاتاز قلیایی نسبت به تیمار بدون فسفر شد که این کاهش تنها در تیمارهای تلقیح با قارچ مایکوریزا معنی‌دار و به طور قابل توجهی بیشتر بود (شکل b۲). به طورکلی، افزایش فسفر قابل دسترس خاک ناشی از افزودن کود سوپرفسفات تریپل باعث مهار تولید آنزیم‌های فسفاتاز قلیایی می‌شود (Xie et al., 2024) چرا که ریزجانداران می‌توانند فسفر را مستقیماً بدون صرف انرژی برای تولید آنزیم جذب کنند. کاهش هات‌اسپات‌های فسفاتاز قلیایی در حضور فسفر آلی احتمالاً به دلیل وجود آنزیم‌های فیتاز است که در ابتدا توسط ریشه و ریزجانداران فعال در ریزوسفر ترشح می‌شوند و قادرند اسید فیتیک را هیدرولیز کنند. احتمالاً این مقدار فسفر آزاد شده برای رشد گیاه کافی بوده و بنابراین تحریک ریزجانداران برای تولید فسفاتاز قلیایی بیشتر، ضرورتی نداشته است (Ma et al., 2021).



شکل ۲. اثر متقابل تلقیح با قارچ مایکوریزا و منبع فسفر بر درصد هات‌اسپات‌های فعالیت فسفاتاز اسیدی (a) و قلیایی (b). NAM و AM به ترتیب نشان دهنده عدم تلقیح و تلقیح با قارچ مایکوریزا است. NP، IP و OP به ترتیب نشان دهنده بدون فسفر، فسفر معدنی و فسفر آلی است. حروف مختلف نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

نتیجه‌گیری

به طورکلی نتایج نشان داد که توزیع مکانی فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز در ریزوسفر ذرت براساس نوع آنزیم، منبع فسفر و حضور یا عدم حضور قارچ مایکوریزا متفاوت بود. هات‌اسپات‌های فسفاتاز اسیدی عمدتاً در ناحیه ریزوسفر و در مجاورت ریشه‌ها تشکیل شدند، در حالی که هات‌اسپات‌های فسفاتاز قلیایی علاوه بر ریزوسفر در خاک غیرریزوسفری نیز پراکنده بودند. تلقیح با قارچ مایکوریزا توانست در شرایط کمبود فسفر نقش مهمی در افزایش تشکیل هات‌اسپات‌های فسفاتاز ایفا کند، اما در حضور فسفر معدنی و آلی این اثر کمرنگ یا حتی منفی شد. اثر افزودن فسفر آلی و معدنی بر تشکیل هات‌اسپات‌های آنزیمی براساس نوع آنزیم متفاوت بود. در مجموع، این نتایج نشان می‌دهد که تعامل بین منابع فسفر، ریزجانداران و مایکوریزا تعیین‌کننده الگوی مکانی فعالیت فسفاتاز در خاک است و می‌تواند نقش کلیدی در دسترسی گیاه به فسفر و کارایی استفاده از این عنصر ایفا کند.

منابع

Allen, M. F. (2007). Mycorrhizal fungi: highways for water and nutrients in arid soils. *Vadose Zone Journal*, *6*(2), 291–297.

Bilyera, N., Kuzyakova, I., Guber, A., Razavi, B. S., & Kuzyakov, Y. (2020). How “hot” are hotspots: Statistically localizing the high-activity areas on soil and rhizosphere images. *Rhizosphere*, *16*, 100259. https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2020.100259

Hoang, D. T. T., Rashtbari, M., Anh, L. T., Wang, S., Tu, D. T., Hiep, N. V., & Razavi, B. S. (2022). Mutualistic interaction between arbuscular mycorrhiza fungi and soybean roots enhances drought resistant

through regulating glucose exudation and rhizosphere expansion. *Soil Biology and Biochemistry*, *171*(May), 108728. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2022.108728

Kuzyakov, Y., & Blagodatskaya, E. (2015). Microbial hotspots and hot moments in soil: Concept & review. *Soil Biology and Biochemistry*, *83*, 184–199. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.01.025

Ma, X., Liu, Y., Shen, W., & Kuzyakov, Y. (2021). Phosphatase activity and acidification in lupine and maize rhizosphere depend on phosphorus availability and root properties: Coupling zymography with planar optodes. *Applied Soil Ecology*, *167*(April 2020), 104029. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.104029

Ma, X., Mason-Jones, K., Liu, Y., Blagodatskaya, E., Kuzyakov, Y., Guber, A., Dippold, M. A., & Razavi, B. S. (2019). Coupling zymography with pH mapping reveals a shift in lupine phosphorus acquisition strategy driven by cluster roots. *Soil Biology and Biochemistry*, *135*, 420–428. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2019.06.001

Ma, X., Zeng, L., Wang, J., Zhou, Y., Zhang, Y., Chen, J., & Kuzyakov, Y. (2025). The adaptability of plants to phosphorus deficiency shapes the bacterial community and the spatial patterns of enzyme activities in the rhizosphere. *Journal of Integrative Agriculture*.

Nannipieri, P., Giagnoni, L., Landi, L., & Renella, G. (2011). *Role of Phosphatase Enzymes in Soil* (E. Bünemann, A. Oberson, & E. Frossard (eds.); pp. 215–243). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-15271-9_9

Razavi, B. S., Zhang, X., Bilyera, N., Guber, A., & Zarebanadkouki, M. (2019). Soil zymography: Simple and reliable? Review of current knowledge and optimization of the method. *Rhizosphere*, *11*(June). https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2019.100161

Schachtman, D. P., Reid, R. J., & Ayling, S. M. (1998). Phosphorus Uptake by Plants: From Soil to Cell. *Plant Physiology*, *116*(2), 447–453. https://doi.org/10.1104/pp.116.2.447

Spohn, M., Treichel, N. S., Cormann, M., Schloter, M., & Fischer, D. (2015). Distribution of phosphatase activity and various bacterial phyla in the rhizosphere of Hordeum vulgare L. depending on P availability. *Soil Biology and Biochemistry*, *89*, 44–51.

Xie, X., Li, H., Chen, X., & Lang, M. (2024). Rhizosphere phosphatase hotspots: microbial-mediated P transformation mechanisms influenced by maize varieties and phosphorus addition. *Plant and Soil*, 1–17.

Zhou, J., Gube, M., Holz, M., Song, B., Shan, I., Shi, L., Kuzyakov, Y., Dippold, M. A., & Pausch, J. (2022). Ectomycorrhizal and non-mycorrhizal rhizosphere fungi increase root-derived C input to soil and modify enzyme activities: A 14C pulse labelling of Picea abies seedlings. In *Plant Cell and Environment* (Vol. 45, Issue 10, pp. 3122–3133). https://doi.org/10.1111/pce.14413

2D visualization of phosphatase activity in the maize rhizosphere via *in-situ* zymography: investigating the interaction effects of phosphorus sources and mycorrhizal inoculation

Setayesh Sameei[1], Akram Halajnia[1], Amir Lakzian[1], Seyed Sajjad Hosseini[1]
[1]Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Abstract

This study aimed to investigate the effects of different phosphorus sources (mineral, organic, and no phosphorus) and inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi on the spatial patterns of acid and alkaline phosphatase activity in the maize rhizosphere. The experiment was conducted in a completely randomized factorial design with three replications using rhizoboxes and *in-situ* zymography. The results showed that acid phosphatase hotspots were mainly formed in close proximity to the roots, whereas alkaline phosphatase hotspots were distributed both in the rhizosphere and in the non-rhizosphere soil. The hotspots of alkaline phosphatase were approximately twice that of acid phosphatase. In the absence of phosphorus, mycorrhizal inoculation increased acid and alkaline phosphatase hotspots by 68% and 38%, respectively, compared with the non-inoculated treatment. In contrast, under mineral and organic phosphorus application, mycorrhizal inoculation decreased alkaline phosphatase hotspots by 27% and 13%, respectively. Moreover, in non-inoculated treatments, the addition of mineral and organic phosphorus increased acid phosphatase hotspots but decreased alkaline phosphatase hotspots compared with the control without phosphorus. These findings indicate that both phosphorus source and mycorrhizal inoculation markedly alter the spatial distribution of phosphatase activity, thereby influencing phosphorus availability to plants.

Keywords: Hotspots of acid and alkaline phosphatase, mineral and organic phosphorus, zymogram, enzyme activity