

Fosfors omsättningstid i jord med metoden ^{33}P inkubationsexperiment kombination med isotop utbytes kinetik (IEK) med ^{33}P

Lina Löfqvist

Degree of Master of Science (120 credits)
with a major in Earth Sciences
45 hec

Department of Earth Sciences
University of Gothenburg
2020 B1079

Faculty of Science



UNIVERSITY OF GOTHENBURG

Fosfors omsättningstid i jord med metoden ^{33}P inkubationsexperiment kombination med isotop utbytes kinetik (IEK) med ^{33}P

Lina Löfqvist

ISSN 1400-3821

B1079
Master of Science (120 credits) thesis
Göteborg 2020

Mailing address
Geovetarcentrum
S 405 30 Göteborg

Address
Geovetarcentrum
Guldhedsgatan 5A

Telephone
031-786 19 56

Geovetarcentrum
Göteborg University
S-405 30 Göteborg
SWEDEN

Sammanfattning

Fosfor är en begränsad resurs på jorden, i vissa länder går det att finna fosfor naturligt i fosfat rikt berg. För att utnyttja den mängd fosfor som finns på jorden på bästa möjliga vis, är det viktigt att få en djupare förståelse för fosfor dynamiken i jord- och växtsystem. Jordbruken har problem med att det inte är tillräckligt med fosfor i marken för grödorna, därför gödslar dem med fosfor. Nackdelen är att endast en liten del av fosfor är lösligt i marken av den totala mark fosfor, och det krävs att det är lösligt för att växterna ska kunna ta upp det. Då endast en liten del är tillgängligt för växterna så lakas resterande del av fosfor ut till vattendrag och det kan leda till eutrofiering. Då fördjupning av fosfor dynamiken utförs kan man använda sig av två radioaktiva P-isotoper nämligen ^{32}P och ^{33}P .

Laborationsexperimenten som har utförts i projektet är total organisk P och oorganisk P bestämning, extraherbart P i vatten, mikrobiell P och isotop utbytes kinetik (isotopic exchange kinetics) (IEK). Samt ett kombinerat experiment med IEK och inkubationsexperiment båda dessa med ^{33}P märkning. Utifrån det kombinerade experimentet som pågick under 21 dagar kan brutto organisk fosfor mineraliseringshastigheter beräknas, vilket innebär hastigheten av den mikrobiella aktiviteten i jorden. Detta var syftet med projektet samt att jämföra olika jordar med varierande egenskaper genom att få en ökad förståelse för fosfor dynamiken. I den här studien har två jordar använts från Sverige (Skogaryd och Flakaliden) samt en jord från Australien (västra Sydney).

Flakalidens jordprovtagningssytor 2A (gallring 60 % 2003, gödsling med fast gödsel), 5A (gallring 60 % 2003, gödsling med fast gödsel) och 15A (gödsling med fast gödsel) med diverse olika behandlingar. Dessa provtagningssytor ansågs som mest lämpliga att utföra det kombinerade experimentet med ^{33}P märkning. Jord 5A visade på resultatet att den dagliga brutto organiska mineraliseringshastigheten är mellan 0,6-7,9 mg P kg⁻¹.

Nyckelord:

Fosfor, isotop ^{33}P , Flakaliden, Skogaryd, Västra Sydney

Geovetenskapligt examensarbete, 45 hp, Göteborgs universitet

Innehållsförteckning

1. Inledning	1
1.1 Syfte.....	2
2. Bakgrund och studieområde.....	2
2.1 Bakgrund om P förekomster i naturen och P-cykeln.....	2
2.2 Teoretisk bakgrund till experiment med radioaktiva fosfor isotoper	3
2.3 Vetenskaplig bakgrund	4
2.4 Studieområden i detta projekt.....	5
3. Material och metoder	6
3.1 Tidslinje.....	7
3.2 Total organisk P och oorganisk P bestämning.....	8
3.3 Extraherbart P i vatten (K_p =koncentration fosfat)	9
3.4 Mikrobiell P med anjon membran	9
3.5 IEK metod med ^{33}P märkning	10
3.6 ^{33}P inkubationsexperiment.....	11
3.7 Uträkningar	13
3.8 Skyddsutrustning och säkerhetsåtgärder	14
4. Resultat.....	14
4.1 Totalt organisk och oorganisk P bestämning samt extraherbart P i vatten.....	14
4.1.1 Skogaryd.....	14
4.1.2 Västra Sydney.....	15
4.1.3 Flakaliden	16
4.2 Mikrobiell P.....	18
4.2.1 Skogaryd.....	18
4.2.2 Flakaliden	18
4.3 ^{33}P inkubationsexperiment i kombination med IEK.....	19
4.3.1 Extraherbart P i vatten under 21 dagar	19
4.3.2 Specifik aktivitet (SA).....	20
4.3.3 Växttillgängligt P.....	21
4.3.4 Mikrobiell P.....	23
4.3.5 Experimentet mineraliseringshastigheter	23
5. Diskussion.....	24
6. Slutsats	26

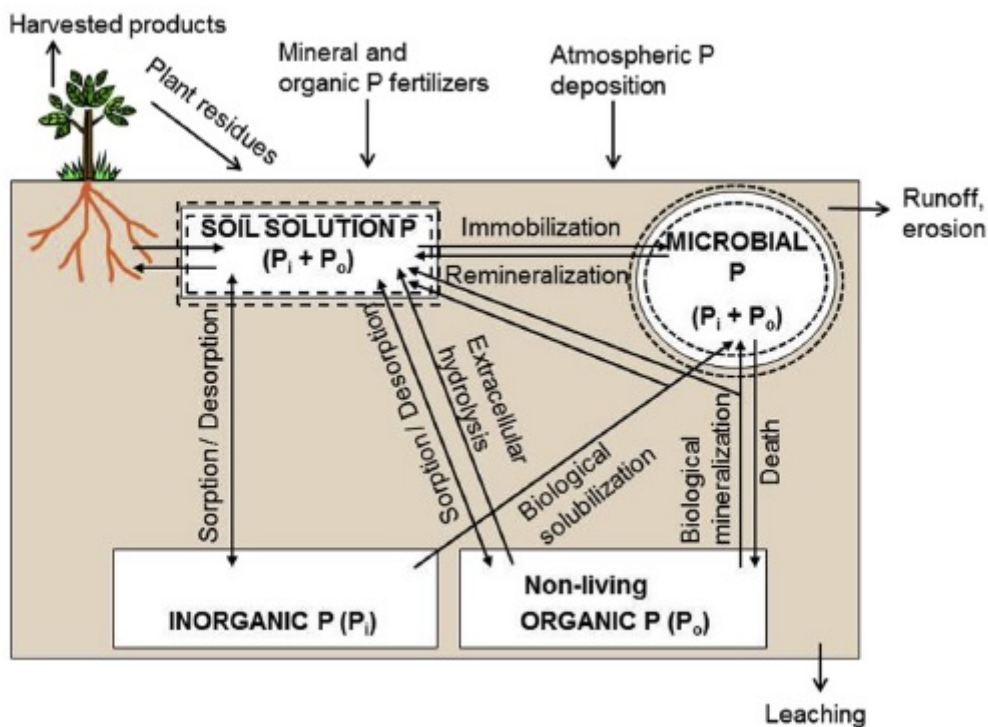
7. Tackord.....	26
8. Referenser.....	26
9. Bilagor.....	28

1. Inledning

Alla organismer kräver grundämnet fosfor eftersom att det ingår i DNA och RNA samt att adenosintrifosfat är den huvudsakliga biokemiska energin (Bünemann & Condron, 2007). Fosfor finns både i oorganiskt (Pi) (Di, Condron, & Frossard, 1995) och organiskt (Po) form. Poolen av Po består bland annat av fosfatmonoestrar, inositolfosfater, fosfonater, fosfatdestrar och organiska polyfosfater. Poolen av Pi består av primära mineral huvudsakligen apatit ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{F}, \text{Cl}, \text{OH})$) och sekundära mineraler såsom kalcium, aluminium och järnfosfater. Växter och mikroorganismer tar upp P i form av jonisk fosfat (H_2PO_4^- eller HPO_4^{2-}) från poolen i markvätskan P som består av både Po och Pi (Helfenstein, Jegminat, McLaren, & Frossard, 2018). Fosfordynamiken i jord- och växtsystem består av fyra huvudpooler:

- markvätska P (soil solution P)
- mikrobiell P (microbial P)
- Po (organic P)
- Pi (inorganic P)(Figur 1)

Markvätska P och mikrobiell P varierar i storlek medan Pi och Po är konstanta i storlek. Flödet mellan poolerna transporteras genom olika processer som fysikalisk-kemisk (adsorption/desorption och utfällning/upplösning) och biologiska/biokemiska processer (mineralisering/immobilisering).



Figur 1. Fosforcykel i jord- och växtsystem, hur flödet är mellan de fyra olika poolerna markvätska P, mikrobiell P, Po och Pi (Bünemann, 2015).

Mineralisering innebär omvandlingen från organisk P till oorganiskt P i form av fosfat. Medan immobilisering sker i mikroorganismerna då från oorganiskt P till organiskt P (Bünemann, 2015). Fokus i detta projekt innefattar P i jord- och växtsystemet.

Av alla grundämnen på jorden finns det endast 0,12 % av P, samtidigt är det väldigt viktigt för alla organismer att ha tillgång till P (Tiessen, Ballester, & Salcedo, 2011). Den största delen av P har sitt ursprung från fosfat rikt berg, vilket bara är möjligt att hitta i vissa länder och det är inte en förnybar resurs (Helfenstein et al., 2018). Ofta inom jordbruket är det begränsat med P vilket bland annat beror på att det är endast i poolen markvätska P som det är tillgängligt för växterna. För att lösa det problemet tillsätter ofta jordbruken gödselmedel med P till marken, vilket i sin tur kan leda till eutrofiering i ytvatten då det tillsatta gödselmedlet lakas ut till ytvatten eftersom att det endast är en liten mängd som stannar i markvätska P (Helfenstein et al., 2018). Det finns endast en stabil isotop av P vilken är ^{31}P . För att utnyttja den mängd P som finns på jorden på bästa möjliga sätt är det viktigt att få en djupare förståelse i P dynamiken genom att studera två radioaktiva P-isotoper nämligen ^{32}P och ^{33}P (Di et al., 1995).

1.1 Syfte

Huvudsyftet med detta projekt är att bestämma brutto P_o mineraliseringshastigheter, genom kombination av isotop utbytes kinetik (isotopic exchange kinetics) (IEK) med ^{33}P märkning och ^{33}P inkubationsexperiment. Ett ytterligare syfte är att få en bättre förståelse för P-dynamiken i jordar med olika egenskaper, därför jämförs jord från tre olika platser nämligen Skogaryd (Sverige), Flakaliden (Sverige) och Västra Sydney (Australien). För att uppnå huvudsyftet måste den jord som är mest lämplig för de ovannämnda experimenten hittas.

Forskningsfrågor:

- Vilken jord samt studieområde har högst total P ($P_i + P_o$) innehåll?
- Vilken jord är mest lämplig för både IEK experiment och ^{33}P inkubationsexperiment?
- Vad är brutto P_o mineraliseringshastigheter? Är det möjligt att mäta det på någon jord som ingår i projektet?

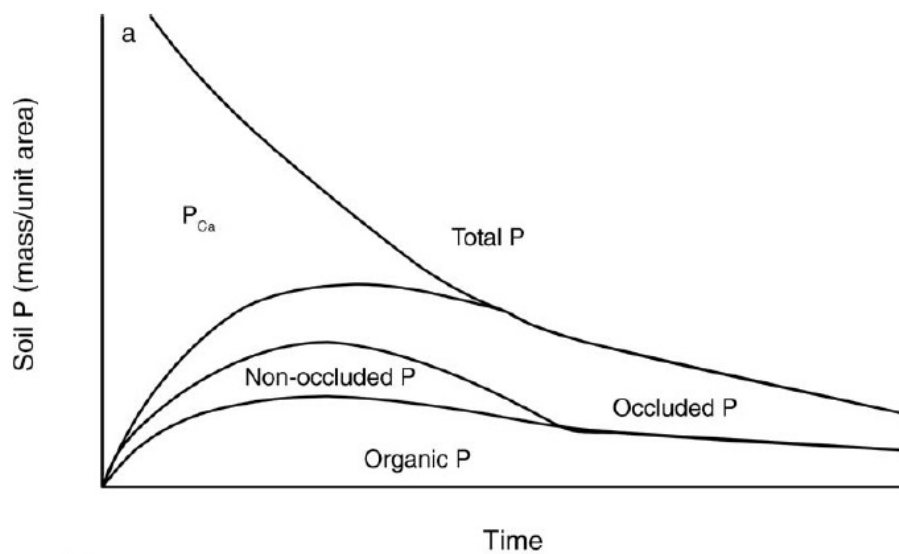
2. Bakgrund och studieområde

I detta kapitel är det en noggrannare förklaring om P och historien bakom P-isotopernas användning inom forskning. Därefter om de studieområden som har använts i denna studie, som är Skogaryd, Flakaliden och västra Sydney.

2.1 Bakgrund om P förekomster i naturen och P-cykeln

Fosfor i marken har sitt ursprung i kalciumfosfat som primära mineraler, kalciumfosfat förekommer naturligt i mineralet apatit. Apatit har en snabb vittringsprocess vilket leder till olika former av fosfat. De olika formerna är icke-bundet fosfat och bundet fosfat. När det är icke-bundet är fosfatjonerna tillgängliga för växterna eftersom att de sorberar vid ytan av andra oxider såsom aluminium och järn, det är då sekundära mineraler. Bundet är när fosfatjonerna binder till andra mineral, vilket resulterar i att det inte är tillgängligt för växterna (Walker & Syers, 1976). Den största delen av P kan hittas i kalciumfosfat i primärmineral vid jordskorpan, men under jordutveckling kan P mestadels hittas i bundet P och P_o -former (Figur 2). Figur 2 representerar ett fuktigt ekosystem, när det är ett semitorrt/torrt ekosystem skiljer det sig lite. Skillnaden är vegetationen eftersom att i ett torrt ekosystem lagras alla näringsämnen som P och N samt organiskt material under träd och buskar. Medan i ett fuktigt ekosystem är det mera vegetation vilket leder till att näringsämnen och organiskt material är

mera utspritt över hela området (Selmants Paul & Hart Stephen, 2010).



Figur 2. Jord utveckling av P under pedogenesis med tiden i ett fuktigt ekosystem. P_{Ca} representerar kalciumfosfater från primära mineraler, huvudsakligen apatit. Occluded innebär bundet fosfat det vill säga när fosfatjonerna binder till andra mineral, vilket resulterar i att det inte är tillgängligt för växterna (Walker & Syers, 1976).

Nedan är en mer ingående beskrivning av processerna i figur 1. De fysikalisk-kemiska sorptions/desorptionsprocesserna inkluderar adsorption/desorption och utfällning/upplösningsprocesser (Figur 1). Växterna och mikroorganismerna använder också de fysikaliska-kemiska processerna: desorption och upplösning, det vill säga den biologiska solubiliseringen mellan P_i och mikrobiell P. Det är viktigt att förstå flödet mellan poolerna när man studerar P dynamik (Bünemann, 2015). Markvätskans P är den viktigaste fasen för växter och mikroorganismer eftersom där kan de ta upp fosfat ($H_2PO_4^-$ eller HPO_4^{2-}). Problemet är att endast en liten mängd fylls på till markvätskans P från P_i och P_o . Orsaken till den lilla mängden tillgängligt P för växter beror bland annat på pH i jorden, eftersom att det tillgängliga P för växterna binder ofta till andra jord mineral. När $pH < 7$ sur jord, faller P ut med aluminium (Al) och järn medan $pH > 7$ alkalisk jord, faller P ut med kalciummineraler (Helfenstein et al., 2018). När pH i jorden är cirka 7 är det mest tillgängligt P för växter (Schlesinger & Bernhardt, 2013).

Sorptionskapaciteten för en jord bestäms genom typ, koncentration och yta av järn och aluminiumoxider (Bünemann, 2015). Fosfat har en stark sorptionsprocess eftersom inositolhexakisfosfat (IHP) är en organisk P-förening, hälften av fosfatgrupperna för IHP är aluminium och järnoxider som leror sorberas till (Bünemann & Condron, 2007).

På molekylär nivå representeras P_i i jord som ortofosfat ($H_2PO_4^-$ eller HPO_4^{2-}) och består av jonbindningar till närliggande atomer och styrkan i jonbindningarna är en orsak till att P skiljer sig från nitrat och sulfat. Medan P_o i jord har en kovalent bindning till kol vanligen genom en esterbindning (Doolette & Smernik, 2011).

2.2 Teoretisk bakgrund till experiment med radioaktiva fosfor isotoper

Studier som använder de två radioaktiva P-isotoperna: ^{32}P och ^{33}P kan vara isotop utspädningsmetoder som 1. IEK experiment 2. ^{33}P inkubationsexperiment. IEK-experimentet pågår under 90 minuter och undersöker de fysikalisk-kemiska processerna i jorden som är baslinjen, upprepar IEK experimentet fyra till fem gånger för att skapa baslinjen av

isotoputbytet. Medan ^{33}P inkubationsexperiment pågår under 21 dagar och resulterar i de fysikalisk-kemiska och biologiska/biokemiska processerna i jorden. Det är möjligt att extrapolera resultaten från IEK-experiment till samma antal dagar som ^{33}P inkubationsexperiment. Från de två experimenten kan den specifika aktiviteten (SA) beräknas, vilket innebär den mängd radioaktivitet som återfunnits jämfört med mängden tillsatt radioaktivitet och sedan dividerat med koncentrationen av fosfat i jordlösningen. Den omvända formeln av SA resulterar i utbytbar P (Växttillgängligt P (E-value)), se mer om formler i metod delen 3.7. Innebörden av SA är ett förhållande mellan ^{33}P och ^{31}P , med tiden kommer ^{33}P minska då det sker mineralisering av ^{31}P .

Från ^{33}P inkubationsexperiment fås det uppmätta SA-värdet ut på grund av de biologiska/biokemiska processerna, medan för IEK-experimentet fås ett extrapolerat SA-värde ut. (Oehl, Frossard, Fließbach, Dubois, & Oberson, 2004).

2.3 Vetenskaplig bakgrund

Första experimentet med radioaktiva P isotoper var isotops utbyte av McAuliffe et al. (1947) och Wiklander (1950). Det sker isotop utbyte när den radioaktiva isotopen ^{32}P tillsätts till en jordlösning med ^{31}P i den fasta fasen. McAuliffe et al. (1947) upptäckte att jämvikt är viktig mellan den fasta och lösa fasen för spårämnet ^{32}P och den sökta mängden ^{31}P . I den fasta fasen ökar ^{32}P logaritmiskt initialt i experimentet. Wiklander (1950) noterade att jämvikt i jordlösningen går fortare än i den fasta fasen för fosfat.

Från det ovannämnda angående fasta fasen och jordlösningen är ett antagande att vid experimenten i projektet kommer jämvikt uppnås fortare för IEK experimentet än vid ^{33}P inkubationsexperiment. På grund av att isotopen tillsätts i en jordlösning under IEK experimentet medan under inkubationsexperimentet tillsätts isotopen i jord med väldigt lite vätska.

Det är möjligt att bestämma mineraliserings och immobiliserings hastigheter i en jord med hjälp av isotop utspädnings tekniker för kväve (N), men för P är det mer komplicerat på grund av det abiotiska fasthållandet (icke-levande) såsom fysikalisk-kemiska processer är involverade i flödet av P cykeln i jorden.

Walbridge and Vitousek (1987) försökte utföra isotop utspädnings teknik på P, vilket ledde till att de fysikaliska-kemiska processerna motverkade ett bra resultat. Det är nödvändigt med en baslinje när isotop utspädning utförs med P. Fardeau (1993) visade att i jordar med tillsatt radioaktivitet i lösning så minskar aktiviteten med tiden på grund av radioaktivt sönderfall och utbyte med P i genom formeln:

$$r(t)/R = r_{1\text{min}}/R \times t^{-n}$$

$r(t)$ = den detekterbara radioaktiviteten efter specifik minut av isotop utbyte.

R = tillsatt radioaktivitet (^{32}P eller ^{33}P).

$r_{1\text{min}}/R$ = efter 1 minut av isotop utbyte, mängden av radioaktivitet i lösningen.

n = hastigheten som radioaktiviteten minskar med i jord lösningen.

Detta är IEK experimentet som använder den formeln, genom att en radioaktiv isotop (^{33}P) tillsätts till en jordlösning som är i jämvikt, från det fås baslinjen för isotop utbytet.

Senare försökte också Frossard et al. (1996) och López-Hernández et al. (1998) med isotop utspädningsmetoder men de tog inte hänsyn till adsorption/desorption processerna. Oehl et al. (2004) löste en del av svårigheten med de fysikaliska-kemiska processerna i isotop utspädning i P mineralisering, genom IEK experimentet där endast de fysikaliska-kemiska processerna är involverade (Bünemann, 2015).

Senare har metoden utvecklats för att bli mer korrekt, Bünemann et al. (2007) utförde experimentella test på olika jordar med låg P-sorberande (Bünemann, Marschner, McNeill, & McLaughlin, 2007). Achat et al. (2009), Bünemann et al. (2012) och Spohn et al. (2013) har utfört mera forskning på brutto Po mineraliserings hastighet för att bli säkrare på hur man mäter det.

Metoden har utvecklats ytterligare när man har studerat brutto Po mineraliserings hastighet i hög-P sorberande jordar. Svårigheten med den typ av jordar är att fosfat joner ofta förekommer i låga koncentrationer. Detta problem löstes genom en hexanol koncentration metod (Randriamanantsoa, Frossard, Oberson, & Bünemann, 2015).

Bünemann et al. (2015) sammanfattade forskningen som har utförts med isotop utspädnings metoden för att bestämma brutto och netto mineraliserings hastigheter. Bünemann et al. (2016) använde metoderna på två jordar med väldigt olika jord P status, och även undersöktes hur blandningen påverkar jorden under ^{33}P inkubationsexperiment. Det vill säga har det någon inverkan om jorden blir blandad när ^{33}P tillsätts (mark märkningen), påverkar detta hastigheten av P transformationen (Bünemann, Augstburger, & Frossard, 2016).

De två metoderna som 1. IEK experiment 2. ^{33}P inkubationsexperiment som används i det här projektet. Experiment 1 antas ha fysikaliska-kemiska processer medan experiment 2 antas ha fysikalisk-kemiska processer samt biologiska/biokemiska processer.

2.4 Studieområden i detta projekt

Tre olika jordar har blivit undersökta, syftet var att finna den mest lämpliga jord av praktiska skäl för att utföra längre experiment på, det vill säga under flera dagar. En lämplig jord för experimentet:

1. bör innehålla minst 300-400 mg P kg^{-1} av totala P
2. Åtminstone 10 % av det bör vara Po
3. Jorden måste ha en relevant koncentration av extraherbart P i vatten minst 0,5 mg P kg^{-1} , eftersom att det är nödvändigt för IEK experimentet.
4. Använda en lämplig jord som är filtrerbar för IEK experimentet.

Jordarna i den här studien är från Skogaryd, Flakaliden och västra Sydney, nedan beskrivs studieområdena mer ingående.

Skogaryd är i närheten av Vänersborg i sydvästra Sverige (58°23'N, 12°09'E). Det är ett forskningsområde med granskog (*Picea abies* (L.) Karst.) som planterades där 1951 och innan det på 1870-talet grävdes och dränerades området ut, så det är en före detta träskmark. År 2006 blev några försöksytor behandlade med 3,3 t ha^{-1} and 6,6 t ha^{-1} av träaska. Årsmedel temperaturen är 6,4 °C i Vänersborg och 709 mm är årsmedel nederbörden. Försöksytor som har använts från Skogaryd i den här studien var behandlade med träaska (6,6 t ha^{-1}) och från jorddjupet 0-5 cm och 5-20 cm, ett mer exakt värde är att träaskan innehöll 13 mgP/g aska (Klemedtsson et al., 2010).

Flakaliden ligger nära Vindeln i Norra Sverige (64°12'N, 19°44'E) det är ett försöksområde sedan år 1986. Redan år 1963 förberedes området med att alla träd fälldes, marken brändes och markberedning utfördes. Sedan planterades gran (*Picea abies* L. Karst.) på området, träden hade en ålder på fyra år. Sedan år 1986 skapades 33 försöksytor på området, med olika behandlingar: kontroll, gödsling med fast gödselmedel, bevattning med näringslösning samt aska och kvävegödsling. Försöksytan med fast gödselmedel har totalt fått 1125 kg N ha⁻¹ år 2004. Kontroll jorden på området består av tunn sand post-glacial och järn podsol morän som har sitt ursprung av gnejs och är ungefär 120 cm djup, sedan är det ett tunt humus lager. Medelårs temperaturen är 2,4 °C och medelårs nederbörden är 600 mm, på grund av det kalla klimatet är en tredje del av de 600 mm snö. Från oktober till maj kan det vara fruset i marken (Ryan, 2013). Nio olika försöksytor användes från Flakaliden: tre kontroller, tre jordar som blivit behandlade med aska och kvävegödsling samt gallring 30 % och tre jordar som behandlas med fast gödsel varav två av dessa 60 % gallring, se försöksområde (bilaga 1). Alla prover samlades under humus ned till 5 cm djup. Gallring innebär att 30 % av träden avverkas, exempelvis att man hugger ned 3 av 10 träd. Detta för att de kvarvarande träden ska få mer utrymme och kunna växa bättre. Då de får mer näring och ljus, detta leder till att träden blir grövre och stabilare (Agestam, 2015).

Västra Sydney i Australien (33°61'S, 150°74'E), försöksområdet ligger väster om Sydney i staten New South Wales. Där utförs det ett experiment med fri luft CO₂ berikning (Free Air CO₂ Enrichment, FACE) där det bland annat utförs en studie om hur växterna reagerar när det är förhöjd CO₂ halt. Även studier med P och N dynamiken i jordar när det är förhöjd CO₂ halt. Det var år 2012 som FACE experiment började på området. Det är en subtropisk/tropisk plats där trädet Eucalyptus växer. Det är Cumberland slätt skogslandskap vilket innebär att vegetationen är unik och ett känsligt ekologiskt samhälle. Den årliga minimum temperaturen var 10,5 °C och 11,1 °C år 2012 och 2013 och årliga max temperaturen för dess år var 24,0 °C och 25,2 °C. Den årliga nederbörden var 878 mm år 2012 och 838 mm år 2013 (Hasegawa, Macdonald, & Power, 2016). Nio olika försöksytor har använts från västra Sydney, alla prover hade jorddjupet 0-10 cm. Proverna är inte från CO₂ behandlingen direkt men i nära anslutning till detta försök.

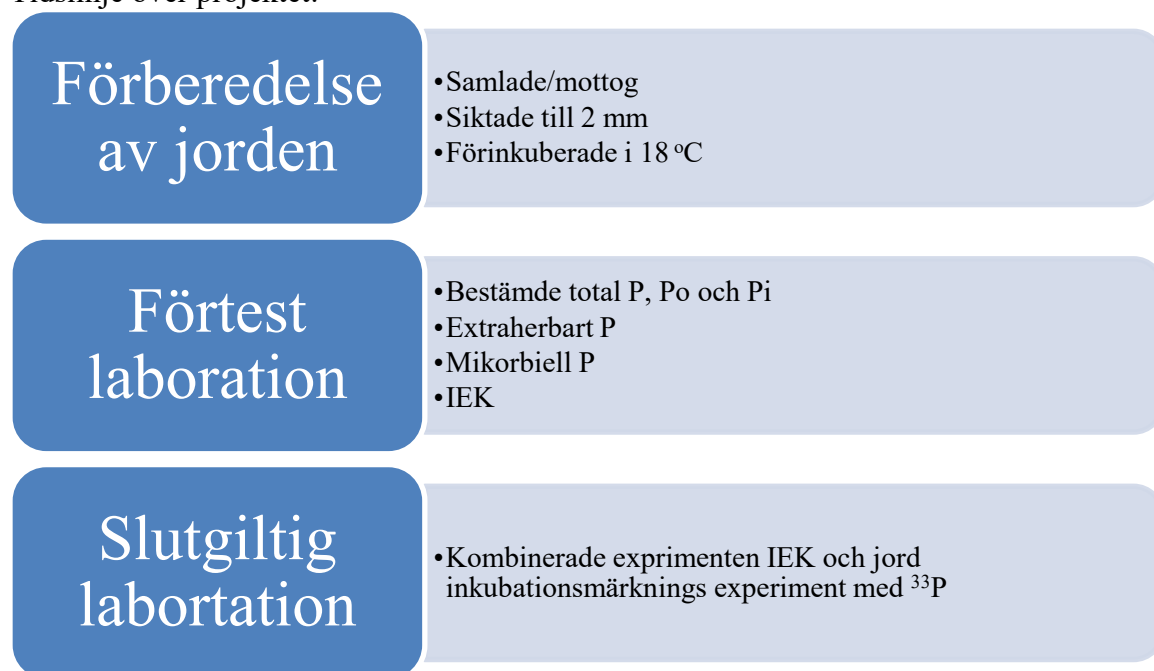
3. Material och metoder

För att få en djupare förståelse i P dynamiken kan två radioaktiva P-isotoper användas nämligen ³²P och ³³P. Den sistnämnda har en halveringstid på 24,4 dagar och ³²P-halveringstid är 14,3 dagar. När halveringstiden är längre är det möjligt att utföra experiment under flera dagar, vilket är anledningen till att använda ³³P istället för ³²P. Strålningen från ³²P och ³³P är β-strålning, den senare har energin (0,248 MeV) och ³²P har högre energi (1,71 MeV), mindre strålning är mindre skadlig (Di et al., 1995).

Det är möjligt att mäta brutto Po mineraliserings hastighet genom IEK experimentet i kombination med jord inkubationsmärknings experiment. Båda dessa experiment använder isotopen ³³P, i slutet av experimenten är radioaktiviteten i proverna uppmätta genom att använda en scintillationsräknare (Scintillation counter) på Medicinargatan 9A (Institutet för biomedicin, Avdelning för medicinsk biokemi och cellbiologi)(Figur 3 och 4). Scintillationsräknaren använder enheten CPM (counts per minute) av radioaktiviteten. SmartChem mäter PO₄³⁻ koncentrationen i proverna. Utav detta är det möjligt att beräkna utbytbar P vilket är det tillgängliga P för växterna (växttillgängligt P). Genom formeln: Växttillgängligt P (utbytbar P, det P som är tillgängligt för växter) = 1/SA.

Första laborationsmetoden var att bestämma total P, Po och Pi, vilket utfördes på alla försöksytter och typer av jordar. Nästa metod var extraherbart P i vatten. Mikrobiell P och IEK experimentet utfördes som ett förtest på några jordar för att se om det var en rimlig koncentration av P i jorden. Laborationsarbetet ägnades mest till att finna en lämplig jord till det kombinerade experimentet IEK och ^{33}P inkubationsexperiment. Nedan beskrivs de använda metoderna mer ingående.

Tidslinje över projektet:



3.2 Total organisk P och oorganisk P bestämning

Den här metoden är första steget i laborationsarbetet då det avgörs om jorden har tillräckligt med P. Metoden bestämmer total P ($P_i + P_o$) och oorganiskt P (P_i) i jorden, eftersom att både förbränd och icke förbränd jord har används. Detta gör det möjligt att beräkna organiskt P (P_o) i jorden (Saunders & Williams, 1955).

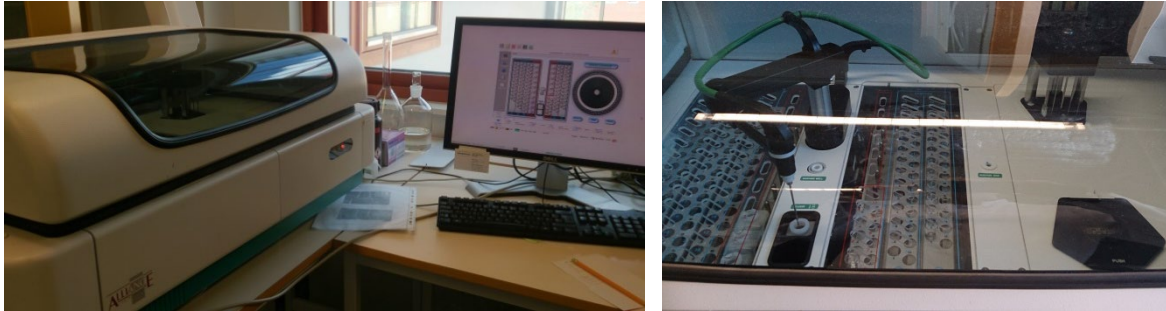
Jorden mortlades och sedan torkades i 100 °C. 1 gram jord vägdes upp, ett prov i en porslin bägare och ett annat prov i en plastburk. Provet i porslinsbägaren placerades i ugnen på 550 °C under ungefär en timme, det är den förbrända jorden. Den förbrända jorden respektive icke förbrända jorden blandades med 20 ml svavelsyra (0,5 M H_2SO_4) för extraktion. Alla prover skakades i ungefär 16 timmar på ett horisontellt skakningsbord. Sedan filtrerades proverna genom 0,2 μm milliporfilter. PO_4^{3-} koncentrationen i proverna analyserades med SmartChem och då användes 0,5 ml av provet, 0,5 ml NaOH och 1 ml H_2O (Milli-Q vatten) till varje kyvett. Proverna späddes ut med natriumhydroxid för att undvika för sura prover i SmartChem, det justerade pH-värdet. Standard kurvan som användes var 0-20 mg $\text{PO}_4 \text{L}^{-1}$. För att få rätt koncentration (20 mg $\text{PO}_4 \text{L}^{-1}$) användes formeln:

$$C_1 * V_1 = C_2 * V_2$$

Där C står för koncentration och V står för volym. C_1 är koncentrationen stamlösning (50 mg $\text{PO}_4 \text{L}^{-1}$) medan C_2 är den önskade koncentrationen stamlösning (20 mg $\text{PO}_4 \text{L}^{-1}$). Därav vill

man räkna ut V_1 (nödvändig volym), då V_2 är 2 ml, för att späda ut C_1 till önskad koncentration av C_2 .

Anledningen till att man använder svavelsyra (H_2SO_4) i experimentet för de prover som inte förbränns är att en syrenedbrytning, med H_2SO_4 , frigör P_i från jorden i form av PO_4^{3-} . För den förbrända jorden (1 timme vid $550\text{ }^\circ\text{C}$) innebär det att den Po omvandlas till ytterligare PO_4^{3-} i den brända jorden, som också extraheras med H_2SO_4 . Efter att koncentrationen av PO_4^{3-} har uppmätts med SmartChem är det möjligt att uppskatta Po genom att subtrahera P_i från den totala P (Figur 5) (Condrón, Moir, Tiessen, & Stewart, 1990). Formeln som användes:
$$P_{\text{total}} - P_{\text{oorganisk}} = P_{\text{organisk}}$$



Figur 5. Maskinen SmartChem som mäter PO_4^{3-} koncentrationerna i proverna.

3.3 Extraherbart P i vatten (K_p =koncentration fosfat)

Denna metod avgör jordens koncentration av fosfat i en vattenlösning.

4 g torr jord vägdes upp med 40 ml vatten, där ration mellan gram jord och milliliter vatten hölls konstant. Sedan skakades jordlösningen i ca 16 timmar. Därefter fick de stå och sedimentera, innan prover togs (några ml) från vattenextraktet med en plastspruta och cellulosafilter (0,45 μm) (Figur 6). 1 ml från varje prov för att mäta i SmartChem. Förvarade proven (vattenextrakten) i kylskåpet.



Figur 6. Proverna filtreras från jordlösningen med en plastspruta och cellulosafilter.

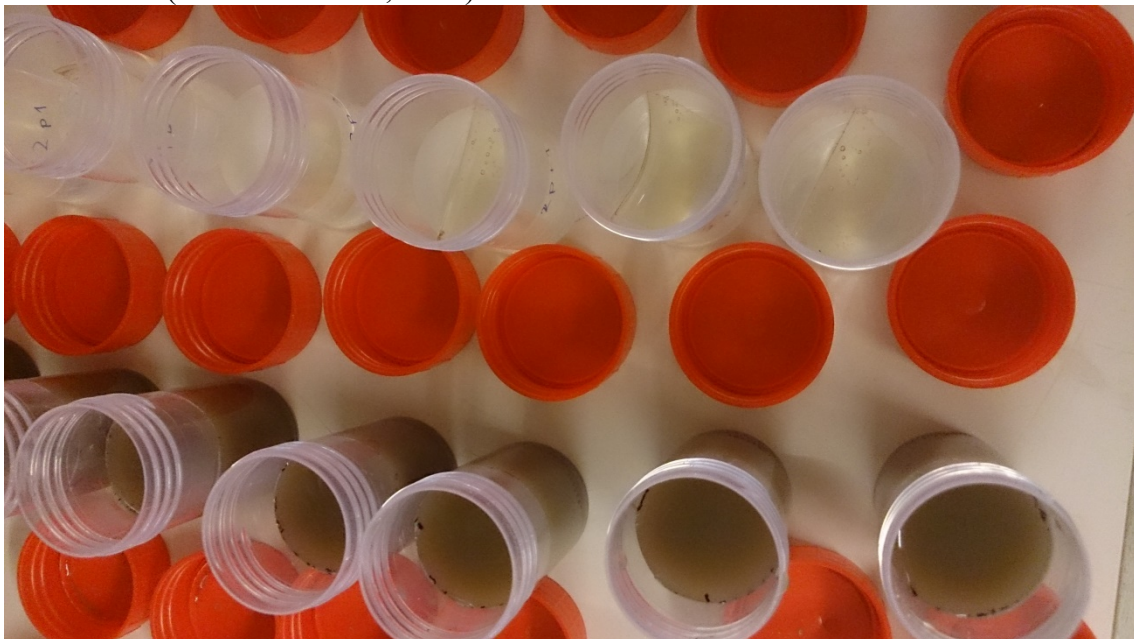
3.4 Mikrobiell P med anjon membran

I detta experiment används hexanol rökgasutvinningsmetod för att bestämma mikrobiella biomassans mängd av PO_4^{3-} (Kouno, Tuchiya, & Ando, 1995).

Laborationsarbetet kräver två dagar: först vägdes fuktig jord upp som motsvarade ungefär 2 g torr jord i plastburkar, det är viktigt att fuktig jord används i experimentet, om jorden hade torkats minskar mikrobiell P. Detta innebär att 2 g torr jord i experimentet är en mängd som måste räknas ut med hjälp av gravimetrisk vattenhalt (GWC) för jorden, där mängden fuktig jord som krävs fås ut. Experimentet innehöll tre replikat samt tre olika behandlingar för varje jord, vilket resulterade i nio olika plastburkar per jord.

30 ml Milli-Q vatten tillsattes till alla jordprover. Sedan tillsattes även en resin remsa (anjon utbytbar resin membran) till varje prov. Innan resin remsan tillsattes till jordlösningen är det viktigt att resin remsan har förberetts. Genom att blivit skakade i 0,5 M HCl under en timme, sedan tvättad med Milli-Q vatten, och skakad i 0,5 M NaHCO₃ som har förberetts nyligen, och återigen tvättad med Milli-Q vatten och skakad i 0,5 M NaHCO₃ (Kouno, Tuchiya, & Ando, 1995).

De olika behandlingarna som har använts är icke-fumigerad, fumigerad (fumigated) och P-spetsning (P-spike). För fumigerade proverna tillsattes 1 ml hexanol, till P-spetsningen tillsattes 1 ml från stamlösningen 50 mg PO₄ L⁻¹, till proverna icke-cellyserade tillsattes inget ytterligare. I experimentet användes också blanka prover utan jord, som blev behandlade med de tre olika behandlingarna. Sedan skakades alla prover i 16 timmar. Nästa dag sköljdes resin remsorna med Milli-Q vatten för att få bort jord från dem, sedan placerades resinerna i rena plastburkar som innehöll 30 ml 0,1 M NaCl+HCl (Figur 7). Skakade proverna mellan 1-2 timmar för att eluera P från resin remsorna. Mätte PO₄³⁻ koncentration i NaCl/HCl eluat med SmartChem (Bünemann et al., 2007).



Figur 7. Prov från dag 2 i mikrobiella P-experimentet, proven med jordlösning är där resin remsorna var när proverna skakades och nu är resin remsorna i 0,1 M NaCl + HCl-lösning.

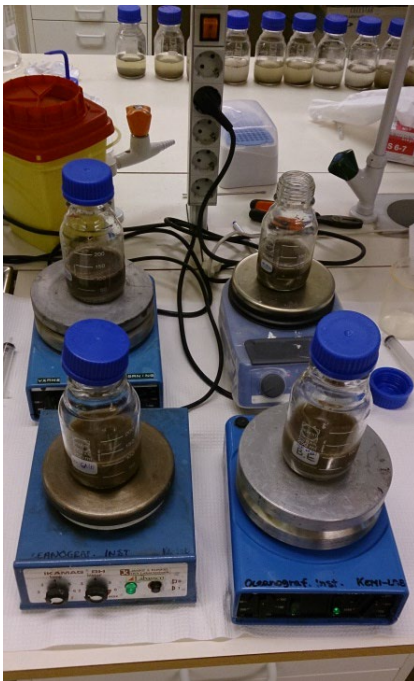
3.5 IEK metod med ³³P märkning

Det är en isotoputspädningsmetod (pool-dilution) som resulterar i det extrapolerade Växttillgängligt P som är fysikalisk-kemiska PO₄³⁻ frisättningshastighet.

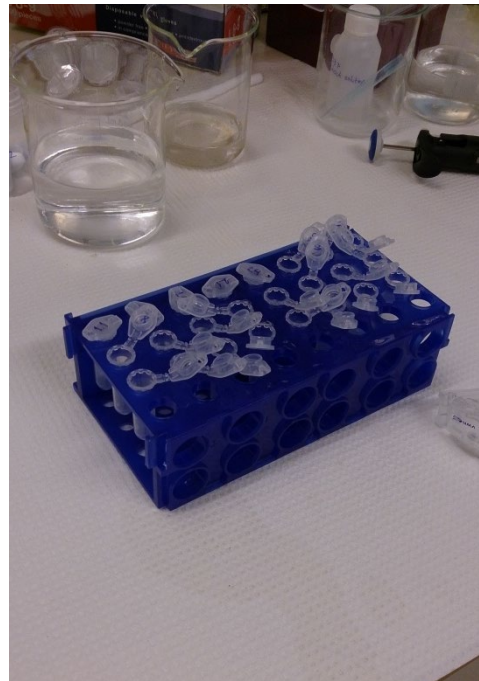
Vägde upp fuktig jord som motsvarar 10 g torr jord till en flaska och blandade jorden med 97 ml Milli-Q vatten, sedan skakades alla prov i ungefär 16 timmar. Det är viktigt att fast:vätska formatet är 1:10, normalt 10 g torr mark + 99 ml vatten + 1 ml spårämne (³³P), jorden som

använts har redan lite vatten, hur mycket det är kan beräknas utifrån GWC. Exempel om GWC är 0,2 gram/1 gram jord, krävs 12 gram jord totalt blanda detta med 97 ml vatten (97 ml eftersom senare 1 ml ^{33}P tillsätts och från den fuktiga jorden är det 2 ml vatten så fullständigt 100 ml vatten).

Nästa dag tillsattes en magnet i varje flaska och dessa placerades på enskilda omröringsplattor, i ungefär 30 minuter omrördes proverna innan startpunkten (Figur 8). Förberedde Eppendorf-rör för varje tidpunkt (Figur 9). Tiden började när 1 ml ^{33}P tillsattes i flaskan med jordlösning, det är ett tidsschema (bilaga 2 och bilaga 3). Enligt tidsplanen extraherades 5-10 ml från suspensionen med en plastspruta, började ca 15 sekunder före tidpunkten, filtrera det genom cellulosafilter (0,45 μm) ned i Eppendorf-rören. Filtrering ska utföras vid exakt rätt tidpunkt, för att uppnå det startade att filtrera - 5 sekunder före till + 5 sekunder efter tidpunkten och det är anledningen till att extrahera från suspensionen ca 15 sekunder innan tidpunkten. Fortsatte med det under 90 minuter. För att slutligen förbereda proverna mättes 1 ml från varje Eppendorf-rör upp och 5 ml scintillationscocktail till varje scintillationsflaska. Prov- och scintillationscocktailen ska ha förhållandet 1:5, de första experimenten som utfördes användes 1 ml prov och 5 ml scintillationcocktail, senare experiment användes 0,1 ml prov och 0,5 ml scintillationscocktail till varje scintillationsflaska (Bünemann et al., 2016; Bünemann, 2015). Mätte ^{33}P i scintillationsflaskorna med scintillationsräknaren. Använde SmartChem för att mäta PO_4^{3-} koncentrationen (bilaga 4).



Figur 8. IEK experimentet med fyra replikat eller olika jordar till vänster, till höger Eppendorf-rör.



Figur 9. Eppendorf-rör för IEK experimentet.

3.6 ^{33}P inkubationsexperiment

Utifrån ^{33}P inkubationsexperiment kan det uppmätta Växttillgängligt P fås fram vilket resulterar i både fysikalisk-kemiska och biologiska/biokemiska processer i jorden. För att jorden ska ha en konstant jord respiration vill man uppnå samma mängd mg P kg^{-1} jord varje dag som experimentet utförs.

Detta experiment pågick under 21 dagar och hade 5 tidpunkter (dag 1, dag 3, dag 7, dag 14, dag 21). ^{33}P inkubationsexperiment omfattar tre olika experiment: K_p (avsnitt 3.2), Mikrobiell P (avsnitt 3.3) och GWC (torkade 5 g jord i ugnen på 100 °C över natten och bestämde sedan vattenhalten i jorden). Parallellt pågick IEK experimentet för två dagar innan jord inkubationsmärkningsexperimentet påbörjades utfördes den första IEK experimentet. Sedan under tiden som jord inkubationsmärkningsexperimentet pågick utfördes IEK tre gånger till. Då tre olika jordar användes blev det ett replikat per jord för varje gång IEK utfördes, vilket resulterade i 4 replikat totalt. Detta för att fastställa baslinjen för isotop utbyte.

Började med ett förprov för att se hur mycket vatten jorden kunde hålla, syftet var att undersöka hur mycket vatten som var möjligt att tillsätta till jorden när experimentet startade. Aktiviteten av ^{33}P -märkning som ska tillsättas beror på hur starkt jorden sorberar P och hur många dagar experimentet kommer pågå. Den sorberande P beror på hur snabbt jorden sorberar P, mer ^{33}P måste tillsättas då jorden sorberar P snabbt i jämförelse om jorden endast sorberar en liten mängd P. Att ^{33}P har en halveringstid på 24,4 dagar innebär att efter dessa dagar är halva aktiviteten av det som tillsätts från början borta. I detta experiment användes 40 KBq g^{-1} jord till jordmärkningen, (se bilaga 5 mer exakt hur mycket ^{33}P som beställdes). Använde 300 g torr jord och den mängd fuktig jord som krävs kan beräknas från GWC. En ny GWC för jorden måste utvärderas, vilket är från förprovet av hur mycket vatten jorden kunde hålla. I förprovet användes 10 g torr jord och uppskattat hur mycket vatten som skulle tillsättas baserat på den nya GWC.

Första steget i ^{33}P inkubationsexperiment vägdes jorden upp i en plastskål sedan tillsattes 6 ml ^{33}P (märkningen) och den uppskattade mängden vatten (Figur 10). När vätskan tillsätts är det viktigt att inte alla vätskor tillsätts på en gång, blanda jorden hela tiden över en period av 10 minuter och tillsätt vätskorna under den perioden. Överförde sedan jorden till en plastpåse för inkubation. För varje dag (tidpunkt) blev det en individuell plastpåse. Med undantag för



Figur 10. Jordprov efter 6 ml ^{33}P tillsats samt den beräknade mängd vatten.

dag 1, eftersom att när märkningen sker är det dag 0, redan efter märkning påbörjades experimentet till dag 1. Tidpunkten för varje dag definieras vid den tidpunkt då

fasseparationen (filtrering eller resin avlägsnande) äger rum, viktigt att notera den tiden och även den tid då jord märkningen utfördes. Den exakta tiden är viktig för beräkningarna. Experimentet mikrobiellt P innehar fyra behandlingar i ^{33}P inkubationsexperiment istället för tre. De tre behandlingar är lika som i ovannämnda mikrobiellt P det vill säga icke-fumigerad, fumigerad och P-spetsning med ^{31}P . Den fjärde behandlingen är en P-spetsning med ^{33}P . ^{31}P -spetsning för ^{33}P inkubationsexperiment hade koncentrationen $4 \mu\text{g P ml}^{-1}$, och ^{33}P -spetsningen hade också $4 \mu\text{g P ml}^{-1}$ plus 0,1 ml av IEK-lösningen. Hur ^{33}P späddes ut (se bilaga 6) (Bünemann, 2015).

3.7 Uträkningar

Alla experiment som ^{33}P har ingått i har uträkningarna korrigerats för det radioaktiva sönderfallet som sker, därför är det viktigt i laborationsexperimenten att notera tidpunkter. Beräkningar har utförts i Excel för P oorganiska (P_i), P organiska (P_o) och P totalt ($\text{P}_i + \text{P}_o$) utifrån total P och oorganisk P bestämning.

För mikrobiellt P-experimentet beräknades resin P (icke-fumigerad) som är tillgängligt P för växter och P-fumigerad vilket bara är P som frisätts av mikroorganismer. Beräkna sedan P-återhämtning (P_{rec}), vilket är andelen av den tillsatta P som sedan har återfunnits, och därmed beräknades mikrobiell P ($^{31}\text{P}_{\text{mic}}$), se formlerna nedan:

$$^{31}\text{P}_{\text{mic}} = (^{31}\text{P}_{\text{fum}} - ^{31}\text{P}_{\text{resin}}) / ^{31}\text{P}_{\text{rec}}$$

$$^{31}\text{P}_{\text{rec}} = (^{31}\text{P}_{\text{Pspike}} - ^{31}\text{P}_{\text{resin}}) / ^{31}\text{P}_{\text{spike}}$$

$^{31}\text{P}_{\text{fum}}$ är fumigerade provet. $^{31}\text{P}_{\text{spike}}$ är koncentrationen P tillsatt i provet vilket är samma som ^{31}P -spetsning och $^{31}\text{P}_{\text{Pspike}}$ är det uppmätta P koncentrationen i provet.

För IEK experimentet beräknades specifik aktivitet:

$$SA = \left(\frac{r(t)}{R}\right) / Kp$$

$r(t)$ = Den detekterbara radioaktiviteten efter viss minut (KBq/g jord).

R = tillsatt radioaktivitet (KBq/g jord).

Kp = koncentration av fosfat i jordlösningen. Från experimentet extraherbart P i vatten.

Växttillgängligt P (utbytbar P, det P som är tillgängligt för växter) = $1/SA$

IEK experimentet resulterar i extrapolerat Växttillgängligt P vilket är fysikalisk-kemiska processer i jorden.

$$SA = \left(\frac{r(t)}{R}\right) / Kp$$

$$\text{Växttillgängligt P (E - value)} = \frac{1}{SA}$$

^{33}P inkubationsexperiment ingår beräkningar för Kp , Mikrobiellt P och GWC. Den mikrobiella P-immobiliseringshastigheten beräknades sedan genom formeln:

$$\text{P immobilisering (mg P kg}^{-1}\text{ jord)} = SA_{\text{Pmic}} / SA_{\text{PW}} * ^{31}\text{P}_{\text{mic}}$$

SA_{Pmic} = Specifik aktivitet av Phexanol.

SA_{PW} = Specifik aktivitet av extraherbart P i vatten.

$$^{31}\text{P}_{\text{mic}} = (^{31}\text{P}_{\text{fum}} - ^{31}\text{P}_{\text{resin}}) / ^{31}\text{P}_{\text{rec}}$$

Kp -värdena från ^{33}P inkubationsexperiment resulterar i uppmätt Växttillgängligt P.

En kombination av de två metoderna IEK och ^{33}P inkubationsexperiment resulterar i brutto organisk P mineralisering:

Brutto organiskt P mineralisering hastighet = Uppmätt Växttillgängligt P – extrapolerat Växttillgängligt P

För att beräkna netto organisk P mineraliseringshastighet, subtraherar mikrobiell P immobilisering från brutto organiska P mineralisering. Enligt denna formel:

Netto organisk P mineralisering = Brutto organisk P mineralisering - Mikrobiell P immobilisering

3.8 Skyddsutrustning och säkerhetsåtgärder

Vid arbete med ^{33}P måste de speciella risker som finns beaktas, allt arbete måste utföras i labbrock och plasthanskar samt skyddsglasögon. När man använt sig av isotopen måste man kontrollera händer och kläder innan man lämnar laborationslokalen med en geigermätare. Även under tiden som arbete sker ska man vara medveten om aktiviteten på isotopen och att förvara den i glas eller kartong för då minskar strålningen utåt.

Inget material som haft innehåll av ^{33}P ska gå ut i slasken, utan det ska samlas upp i särskilda kärl som är markerade med ^{33}P och ett radioaktivt märke. Även annan utrustning som används när man hanterar isotopen såsom spetsar till plastsprutor ska samlas upp i särskilda plastpåsar. Använd inte hiss när man transporterar prover innehållande ^{33}P på grund av risk att olycka uppstår om problem uppkommer med hissen.

4. Resultat

Resultat delen är uppdelad i de olika experimenten, i ordningen totalt organisk och oorganisk P bestämning och extraherbart P i vatten, mikrobiell P samt ^{33}P inkubationsexperiment i kombination med IEK.

4.1 Totalt organisk och oorganisk P bestämning samt extraherbart P i vatten

På alla olika jordar utfördes experimenten totalt organisk och oorganisk P bestämning samt extraherbart P i vatten. Nedan presenteras resultaten för Skogaryd, Västra Sydney och Flakaliden.

4.1.1 Skogaryd

För jordarna från Skogaryd användes tre olika provtagningsytor, namnen på dessa var: 1/3, 2/3 och 3/3 alla dessa var behandlade med $6,6 \text{ t ha}^{-1}$ träaska (Klemedtsson et al., 2010). Två av provtagningsytor på jorddjupet 0-5 cm resulterade i relativt höga koncentrationer av totalt P och P_o (tabell 1 och tabell 2), därav utfördes vidare studier på dessa provtagningsytor. Extraherbart P i vatten mäter PO_4^{3-} koncentrationen, vilket är den tillgängliga P för växter, beräknades till P-koncentrationen.

Tabell 1. Provtagningsytor från Skogaryd. Resultat av glödningsförlust, P koncentrationen och P-H₂O är extraherbart P i vatten (Kp). Jord 1/3 0-5 cm och 3/3 0-5 cm, dessa två utfördes även extraherbart P på. Endast ett prov för glödningsförlusten, medan det är medelvärdet för P totalt, P_i och P-H₂O proverna, inom parentes är standardavvikelsen. För P totalt och P_i togs två prover, samt fyra prover för P-H₂O. Där det står nd innebär att ingen data skapades.

Jord och djup	Glödningsförlust	P oorganisk	P totalt	P organisk	P-H ₂ O
Namn och cm	g g ⁻¹	mg P kg ⁻¹	mg P kg ⁻¹	mg P kg ⁻¹	mg P kg ⁻¹
1/3 0-5	0,73	118 (2,74)	502 (0,31)	384	14,21 (0,30)
1/3 5-20	0,49	20 (1,72)	65 (3,20)	45	nd
2/3 0-5	0,81	74 (19,20)	166 (22,83)	92	nd
2/3 5-20	0,79	15 (0,21)	393 (35,03)	378	nd
3/3 0-5	0,93	73 (0,18)	238 (2,71)	165	14,17 (0,16)
3/3 5-20	0,95	34 (0,51)	216 (0,42)	182	nd

Tabell 2. Provtagningsytor från Skogaryd. Resultat i mg P/g SOM (soil organic matter). Två replikat har används.

Jord och djup	P oorganisk	P totalt	P organisk
Namn och cm	g P / g SOM	g P / g SOM	g P / g SOM
1/3 0-5	3,2*10 ²	13,6*10 ²	10,4*10 ²
1/3 5-20	0,2*10 ²	0,6*10 ²	0,4*10 ²
2/3 0-5	3,2*10 ²	7,1*10 ²	3,9*10 ²
2/3 5-20	0,6*10 ²	14,8*10 ²	14,2*10 ²
3/3 0-5	9,7*10 ²	31,6*10 ²	21,9*10 ²
3/3 5-20	6,4*10 ²	41*10 ²	34,6*10 ²

4.1.2 Västra Sydney

Från Västra Sydney användes nio olika provtagningsytor, P koncentrationen för dessa var låga. Proverna med namnen Ring 1, 4 och 5 har förhöjd CO₂ medan ring 2, 3 och 6 är normala (omgivande) CO₂ ringar. Glödningsförlust indikerar att jorden är låg i organiskt material (tabell 3 och tabell 4). Extraherbart P i vatten utfördes på sex olika jordar men inga ytterligare studier utfördes sedan, på grund av låga P koncentrationer.

Tabell 3. Australien jord från forskningsområdet i Västra Sydney, R2 och R3 är utanför ringen och R3 träd är ett prov tagit nära ett träd. Endast ett prov för glödningsförlusten, medan det är medelvärde för P totalt, Pi och P-H₂O proverna, inom parentes är standardavvikelsen. För P totalt och Pi togs två prover, samt fyra prover för P-H₂O. Där det står nd innebär att ingen data skapades.

Jord	Glödningsförlust	P oorganisk	P totalt	P organisk	P-H ₂ O
	g g ⁻¹	mg P kg ⁻¹	mg P kg ⁻¹	mg P kg ⁻¹	mg P kg ⁻¹
Ring 1	0,02	1,7(0,04)	11,0(1,25)	9,3	nd
Ring 2	0,02	1,1(0,00)	13,4(0,79)	12,4	0,145(0,009)
R2	0,03	3,0(0,04)	18,8(0,16)	16,1	nd
Ring 3	0,03	1,6(0,11)	18,1(0,87)	16,8	0,029(0,010)
R3	0,06	1,0(0,01)	20,1(0,41)	19,2	nd
R3 träd	0,03	1,7(0,05)	17,6(0,50)	16,0	nd
Ring 4	0,02	1,3(0,05)	9,4(0,24)	8,2	0,001(0,006)
Ring 5	0,03	2,0(0,03)	30,6(0,44)	29,1	0,031(0,011)
Ring 6	0,02	2,2(0,63)	25,8(0,39)	23,8	0,021(0,006)

Tabell 4. Provtagningsytor från västra Sydney. Resultat i mg P/g SOM (soil organic matter). Två replikat har använts.

Jord	P oorganisk	P totalt	P organisk
	mg P / g SOM	mg P / g SOM	mg P / g SOM
Ring 1	35,6	224,6	189
Ring 2	22,8	270,6	247,8
R2	93,1	581,2	488,2
Ring 3	47,8	543,1	495,3
R3	65,8	1286	1220,2
R3 träd	52,2	540	487,8
Ring 4	25,8	191,9	166,1
Ring 5	59,1	927,8	868,7
Ring 6	44,4	522,1	477,7

4.1.3 Flakaliden

Från Flakaliden försöksområde användes nio olika provtagningsytor med namnen 2A, 3A, 4A, 5A, 6A, 12A, 14A, 15A och 17A, dessa jordar har olika behandlingar. Flera provtagningsytor hade ganska hög total P koncentrationer, mängden organiskt material är låg för de flesta av Flakalidens provtagningsytor (tabell 5 och tabell 6). För tre olika provtagningsytor (6A, 12A och 15A) utfördes experimentet extraherbart P. För provtagningsytorna 6A och 12A resulterade det i låga värden för extraherbart P i vatten, för provtagningsytan 15A var värdena högre (tabell 5). För att ta reda på vilken jord som är mest lämplig att utföra ³³P inkubationsexperiment på så utfördes extraherbart P i vatten på alla provtagningsytor.

Tabell 5. Försöksytor från Flakaliden försöksområde, resultatet av glödningsförlust, P koncentration och extraherbart P i vatten (Kp). Endast ett prov för glödningsförlusten, medan det är medelvärde för P totalt, Pi och P-H₂O proverna, inom parentes är standardavvikelsen. För P totalt och Pi togs två prover, samt fyra prover för P-H₂O. Där det står nd innebär att ingen data skapades.

Jord och behandling	Glödningsförlust	P oorganisk	P totalt	P organisk	P-H ₂ O
	g g ⁻¹	mg P kg ⁻¹	mg P kg ⁻¹	mg P kg ⁻¹	mg P kg ⁻¹
2A gallring 60% 2003, gödsling med fast gödsel	0,07	33(2,71)	277(9,14)	244	6,013(0,072)
3A gallring 30% 2003, gödsling med fast gödsel	0,08	1(0,13)	154(3,17)	153	1,677(0,048)
4A kontroll	0,04	5(0,19)	25(0,30)	20	0,297(0,012)
5A gallring 60% 2003, gödsling med fast gödsel	0,04	39(0,58)	80(14,35)	41	4,747(0,154)
6A kontroll	0,06	209(9,51)	288(10,79)	79	0,118(0,021)
12A gallring 30% 2004, (aska och kvävegödsling)	0,15	67(1,21)	302(20,75)	235	nd
14A kontroll	0,03	nd	24(0,48)	22	0,398(0,011)
15A gödsling med fast gödsel	0,07	133(12,89)	215(37,89)	82	2,856(0,082)
17A gallring 30%, träddeklar 2004 (aska och kvävegödsling)	0,05	6(0,13)	50(2,84)	44	1,475(0,030)

Tabell 6. Provtagningsytor från Flakaliden. Resultat i mgP/g SOM (soil organic matter). Två replikat har använts. Där det står nd innebär att ingen data skapades.

Jord och behandling	P oorganisk mg P / g SOM	P totalt mg P / g SOM	P organisk mg P / g SOM
2A gallring 60% 2003, gödsling med fast gödsel	2563	21286	18723
3A gallring 30% 2003, gödsling med fast gödsel	94	13503	13408
4A kontroll	212	1060	847
5A gallring 60% 2003, gödsling med fast gödsel	1765	3630	1864
6A kontroll	12836	17660	4825
12A gallring 30% 2004, (aska och kvävegödsling)	12277	55227	42951
14A kontroll	nd	644	597
15A gödsling med fast gödsel	10199	16498	6270
17A gallring 30%, träddelar 2004 (aska och kvävegödsling)	328	2823	2495

4.2 Mikrobiell P

Nedan redovisas resultaten från mikrobiell P experimenten, här ges en förklaring av resultaten. Jordens resin P värden indikerar att provtagningsytorna har tillgängligt P för växter. Mikrobiellt P visar koncentrationen P som mikroorganismerna kan frisätta vid lycering. P-spetsning återhämtning är procenten av tillsatta ³³P som återfunnits i proverna.

4.2.1 Skogaryd

Data från tabell 1 och 7 visar att jord från Skogaryd innehåller koncentrationer av P som kan vara möjliga att fortsätta utföra laborationsarbete på. Problemet var att jorden innehöll för mycket organiskt material så det var svårt att filtrera jorden, vilket är nödvändigt när IEK experimentet utförs.

Tabell 7. De två provtagningsytorna från Skogaryd som det utfördes mikrobiella P experimentet på, sex stycken replikat användes och inom parentesen är det standardavvikelsen.

Jord	Resin P mg P kg ⁻¹	Mikrobiell P mg P kg ⁻¹	P-spetsning återhämtning %
Namn och cm			
1/3 0-5	22(4,65)	91(4,04)	76(0,02)
3/3 0-5	13(0,80)	77(1,54)	57(0,04)

4.2.2 Flakaliden

På tre olika provtagningsytor 6A, 12A och 15A utfördes experimentet mikrobiellt P. För provtagningsytorna 6A och 12A resulterade det i låga värden för resin P, för provtagningsytan 15A var värdena högre (tabell 8). Utav resultatet från extraherbart P valdes även provtagningsytorna 2A och 5A ut för experimentet mikrobiellt P, eftersom att dessa två provtagningsytor hade högre mg P kg⁻¹ i extraherbart P experimentet än resterande

provtagningssytor. Detta resulterade i att ^{33}P inkubationsexperiment utfördes på provtagningssytorna 2A, 5A och 15A.

Tabell 8. Flakalidens försöksytor, resultatet från mikrobiell P experiment. P-spetsning återhämtning är från ^{31}P , resultatet visar två prover för jord 15A eftersom det var först ett förprov med den jorden. Proverna visar ett medelvärde av 3 replikat. Där det står nd innebär att ingen data skapades.

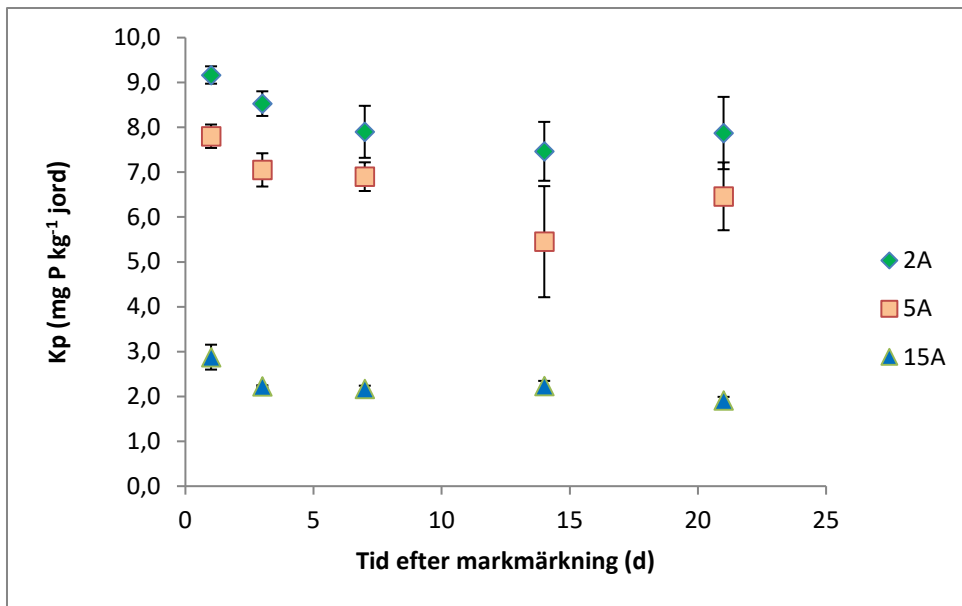
Jord och behandling	Resin P	Mikrobiell P	P-spetsning återhämtning
			%
2A gallring 60% 2003, gödsling med fast gödsel	21,671	nd	190
5A gallring 60% 2003, gödsling med fast gödsel	10,523	2,802	77
6A kontroll	5,1(1,45)	2,06(0,19)	94(0,12)
12A gallring 30% 2004, (aska och kvävegödsling)	nd	3,17(0,41)	54(0,11)
15A gödsling med fast gödsel	11,5 (2,08) & 13,673	0,92 (0,91) & nd	102 (0,35) & 257

4.3 ^{33}P inkubationsexperiment i kombination med IEK

I det här experimentet ingick flera olika experiment och fokus var på de utvalda provtagningssytorna 2A, 5A och 15A från Flakaliden, totalt pågick det under 21 dagar. Nedan redovisas respektive resultat från ^{33}P inkubationsexperiment i kombination med IEK i ordningen extraherbart P i vatten, SA och Växttillgängligt P, mikrobiell P och brutto Po mineraliserings hastighet.

4.3.1 Extraherbart P i vatten under 21 dagar

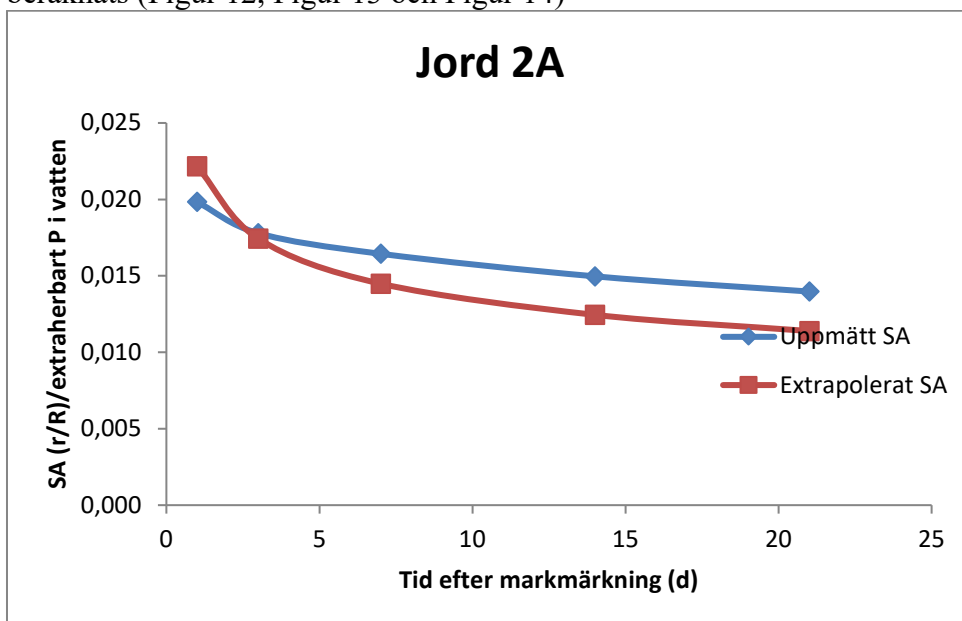
För varje tidpunkt (dag) utfördes den extraherbart P i vatten. I genomsnitt har högsta värdet för Kp jord 2A (gallring 60 % 2003, gödsling med fast gödsel) och lägst 15A (gödsling med fast gödsel) och i mitten är 5A (gallring 60 % 2003, gödsling med fast gödsel) vilket också framgår i tabell 5 (Figur 11).



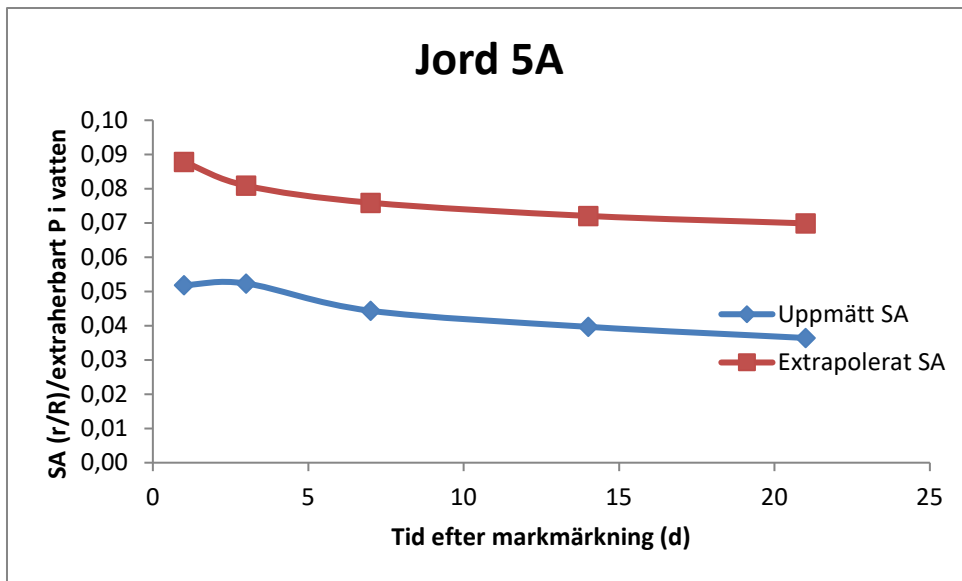
Figur 11. Medelvärdet av extraherbart P i vatten (Kp) för varje tidpunkt av den märkta jorden med standardavvikelse, tre replikat användes i experimentet. 2A (gallring 60 % 2003, gödsling med fast gödsel), 5A (gallring 60 % 2003, gödsling med fast gödsel) och 15A (gödsling med fast gödsel).

4.3.2 Specifik aktivitet (SA)

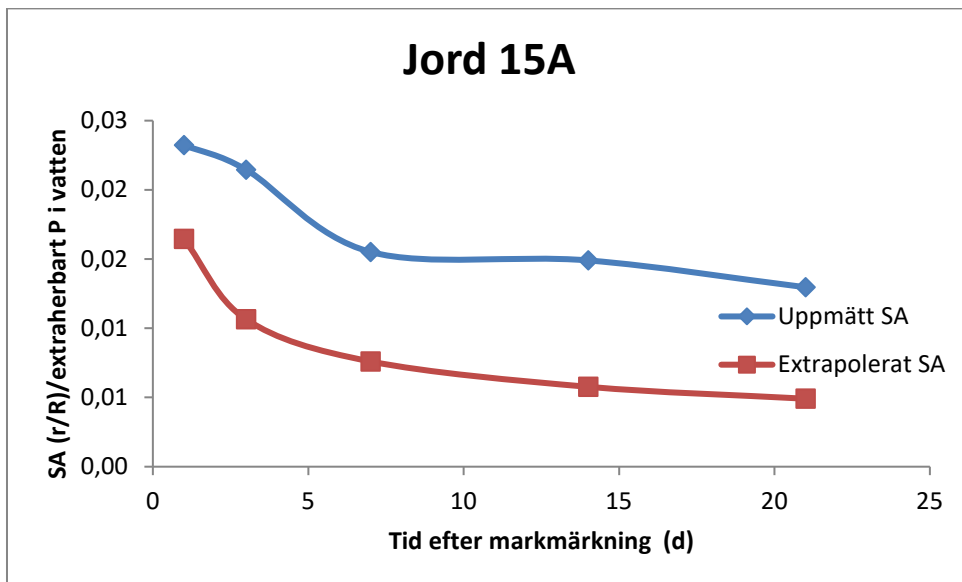
Från extraherbart P i vatten för varje dag beräknas också mängderna av den tillsatta spårämnet som återfunnits vilken är den uppmätta SA. Från IEK experimentet har den extrapolerade SA beräknats (Figur 12, Figur 13 och Figur 14)



Figur 12. SA mot tiden för Flakaliden jord 2A (gallring 60 % 2003, gödsling med fast gödsel). Tre replikat har använts så medelvärdet av dessa visas.



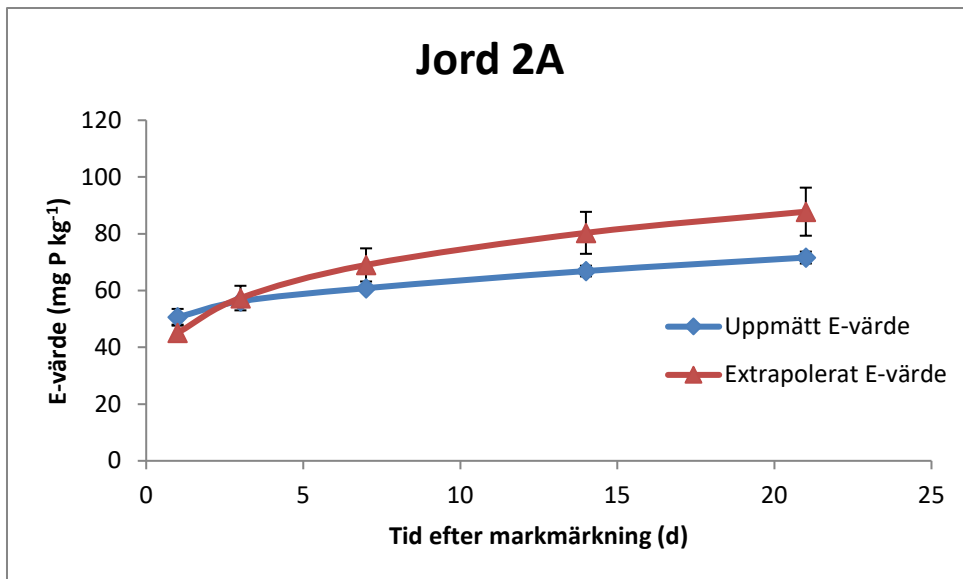
Figur 13. SA mot tiden för Flakaliden jord 5A (gallring 60 % 2003, gödsling med fast gödsel). Tre replikat har använts så medelvärden av dessa visas.



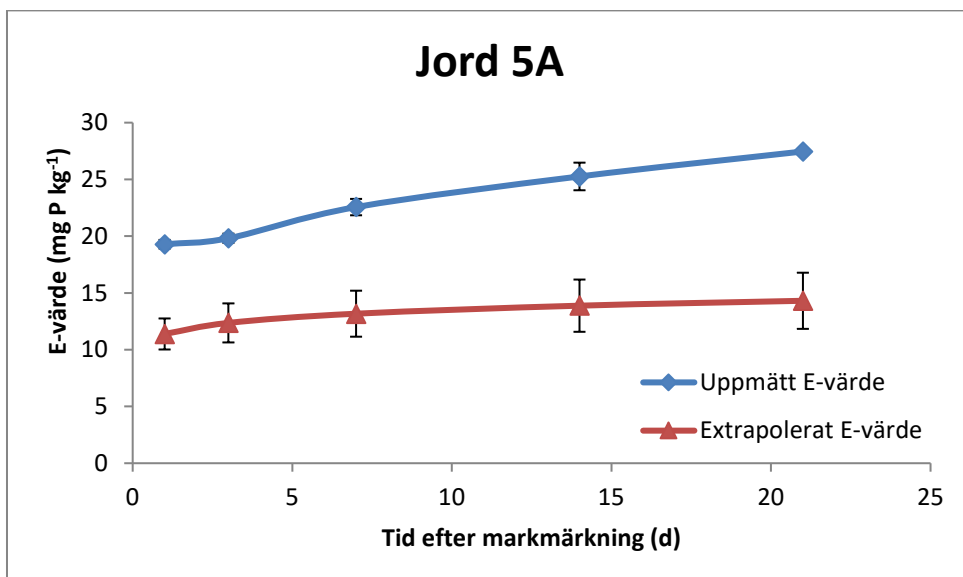
Figur 14. SA mot tiden för Flakaliden jord 15A (gödsling med fast gödsel). Tre replikat har använts så medelvärden av dessa visas.

4.3.3 Växttillgängligt P

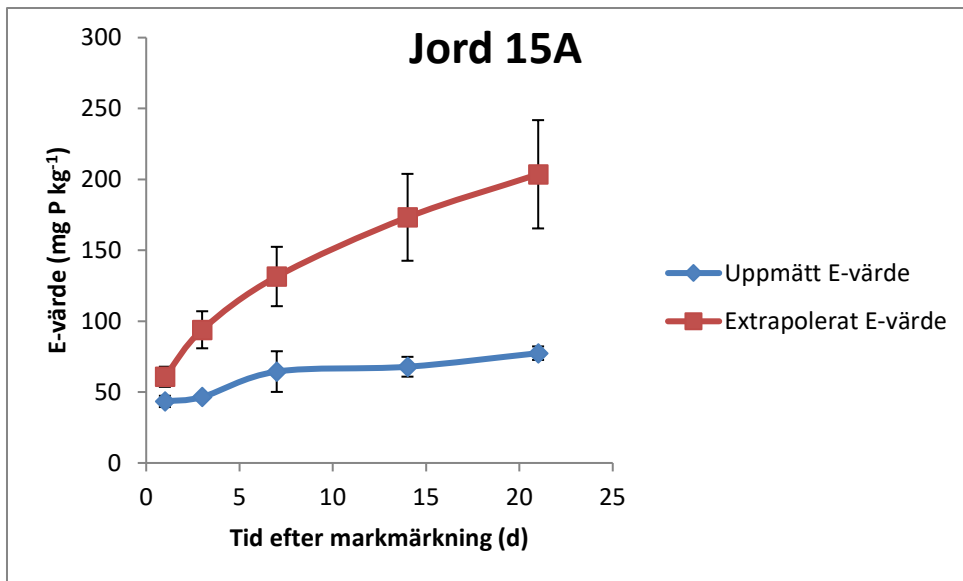
Resultaten för växttillgängligt P visar den utbytbara P i jorden. Växttillgängligt P mot tiden plottas i diagram för både det uppmätta växttillgängligt P och det extrapolerade växttillgängligt P (Figur 15, Figur 16 och Figur 17). Det är jord 2A som har det mest korrelerade extrapolerade Växttillgängligt P och uppmätt växttillgängligt P.



Figur 4. Växttillgängligt P (E-värde) mot tid för jord 2A (gallring 60 % 2003, gödsling med fast gödsel). Tre replikat har använts så medelvärdet av dessa visas.



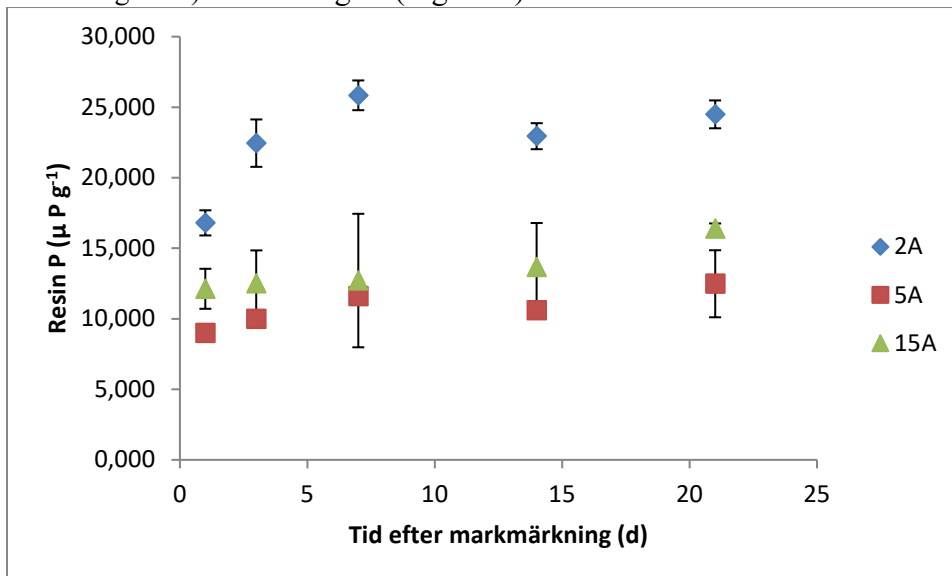
Figur 16. Växttillgängligt P (E-värde) mot tid för jord 5A (gallring 60 % 2003, gödsling med fast gödsel). Tre replikat har använts så medelvärdet av dessa visas.



Figur 17. Växttillgängligt P (E-värde) mot tid för jord 15A (gödsling med fast gödsel). Tre replikat har använts så medelvärdet av dessa visas.

4.3.4 Mikrobiell P

Det mikrobiella P experimentet i ³³P inkubationsexperiment visar de icke-fumigerade proverna den tillgängliga P för växter som är resin P. Jord 2A (gallring 60 % 2003, gödsling med fast gödsel) har den högsta koncentrationen av resin P och jord 5A (gallring 60 % 2003, gödsling med fast gödsel) har den lägsta (Figur 18).



Figur 5. Resin P mot tid för provtagningsytorna från Flakaliden för jord 2A, 5A och 15A. 2A (gallring 60 % 2003, gödsling med fast gödsel), 5A (gallring 60 % 2003, gödsling med fast gödsel) och 15A (gödsling med fast gödsel).

4.3.5 Experimentet mineraliseringshastigheter

Det var möjligt att beräkna brutto P₀ mineraliseringshastighet för jord 2A och 5A, koncentrationen hade ett spann mellan 1,6 till 34,4 mg P kg⁻¹. För jord 15A var det inte möjligt, eftersom koncentrationen var högre för extrapolerade Växttillgängligt P än det uppmätta Växttillgängligt P. Mikrobiella P immobiliseringen var detekterbar för några prover. Net P₀ mineraliserings hastigheter för de flesta jordar är samma som brutto P₀ mineraliserings

hastighet så dessa är inte detekterbara på grund av mikrobiell P immobiliseringen. Förutom två prover som har net på grund av mikrobiella P immobiliseringen värdena (Tabell 9). Brutto är brutto organiskt P mineraliseringshastigheter totalt medan daglig är hastigheten per dag. Brutto är den kumulativa hastigheten för dagarna, den ökar på grund av att det sker aktivitet i jorden. Sen den dagliga hastigheten är den kumulativa hastigheten dividerat på antalet dagar. Den visar att det är mest aktivitet i jorden första dagen, sedan avtar aktiviteten i jorden med tiden.

Tabell 9. Resultatet av brutto/daglig organisk P mineraliserings hastighet, mikrobiell P immobilisering och net organisk P mineralisation. Standard avvikelse är ± av tre replikat förutom de extrapolerade värdena som hade fyra replikat. Vissa dagar har det inte resulterat i något värde dessa presenteras som nd (no data).

	Jord	Enhet	Dagar efter märkning					
			1	3	7	14	21	
Brutto	2A	mg P kg ⁻¹	5,5 ± 6	nd	nd	nd	nd	nd
Brutto	5A	mg P kg ⁻¹	8,2 ± 2	16,3 ± 15	9,7 ± 3	34,4 ± 9	13,5 ± 3	
Brutto	15A	mg P kg ⁻¹	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Mikrobiell immobilisering	2A	mg P kg ⁻¹	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Mikrobiell immobilisering	5A	mg P kg ⁻¹	nd	0,03 ± 1,3	nd	0,6 ± 1	nd	nd
Mikrobiell immobilisering	15A	mg P kg ⁻¹	1,4 ± 0,6	nd	4,4 ± 5,1	5,7 ± 4,5	nd	nd
Net organisk P mineralisation	2A	mg P kg ⁻¹	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Net organisk P mineralisation	5A	mg P kg ⁻¹	nd	16,2 ± 15	nd	33,8 ± 10	nd	nd
Net organisk P mineralisation	15A	mg P kg ⁻¹	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Daglig brutto	2A	mg P kg ⁻¹	5,5	nd	nd	nd	nd	nd
Daglig brutto	5A	mg P kg ⁻¹	7,9	2,5	1,3	0,8	0,6	
Daglig brutto	15A	mg P kg ⁻¹	nd	nd	nd	nd	nd	nd

5. Diskussion

Tre olika studieområden undersöktes den som hade högst total P innehåll var Skogaryds provtagningsyta 1/3 på djupet 0-5 cm, där total P koncentrationen var 502 mg P kg⁻¹. Jorden i Skogaryd är behandlad med träaska (6,6 t ha⁻¹) och total P låg mellan 65-302 mg P/ kg⁻¹ (tabell 1). De lägsta total P koncentrationerna hade studieområdet västra Sydney där medelvärdet för provtagningsytorna låg mellan 9,4-25,8 mg P/ kg⁻¹ (tabell 3). Data från tabell 1 och 7 visar att jord från Skogaryd innehåller koncentrationer av P som kan vara möjliga att fortsätta utföra laborationsarbete på. Problemet var praktiska orsaker att jorden var svår att filtrera, vilket är nödvändigt när IEK experimentet utförs. Utav det valdes Flakalidens jord för vidare laborationsexperiment som hade total P mellan 24-302 mg P/ kg⁻¹ (tabell 5).

För P totalt och Pi togs endast två prover, och om standardavvikelsen är stor kan resultatet vara missvisande men det är inga extrema skillnader. Det kan vara mera lämpligt att ta minst tre replikat så att man vet om det är någon utstickare. I och med att så många olika provtyper användes och målet var att finna den mest lämpliga jord för det kombinerade experimentet så fanns inte tiden för flera replikat.

Flakaliden, Skogaryd och Västra Sydney jordar är skogsjord, de två jordarna från Sverige är behandlade med aska och fast gödsel medan jorden från Västra Sydney är naturlig jord. Platserna har olika temperaturer och klimat, och även nederbörden skiljer sig, i Västra Sydney är det mest nederbörd ungefär 850 mm år⁻¹, medan Flakaliden har runt 600 mm år⁻¹.

Skogaryds jord består mest av organiskt material då glödningsförlust har ett spann mellan 0,49 till 0,95 medan de andra jordarna har ett spann mellan 0,02 till 0,15.

Resultaten för Flakaliden P koncentrationen och extraherbart P avgjorde vilka provtagningsytor som det mikrobiella P experimentet skulle utföras på. Det blev provtagningsytorna 2A, 5A, 6A, 12A och 15A, de resterande provtagningsytorna hade för låga P koncentrationer för att utföra vidare arbete på dem. Resultatet för mikrobiell P visade att provtagningsytorna 6A och 12A hade låga värden för resin P (tillgängligt P för växter), för provtagningsytan 2A, 5A och 15A var värdena högre (tabell 8). Detta resulterade i att ^{33}P inkubationsexperiment utfördes på provtagningsytorna 2A, 5A och 15A. Resultatet för totala P på provtagningsytorna 2A, 5A och 15A hade en koncentration mellan 80 mg P kg^{-1} och 277 mg P kg^{-1} . 2A är jorden med högst P_o vilket är 88 %, för jord 5A 51 % så nästan hälften är P_o och den andra halvan är P_i medan jord 15A endast består av 38 % P_o . Jorden 2A (gallring 60 % 2003, gödsling med fast gödsel) har relativt hög standardavvikelse (9,14) för total P, då det endast var två replikat kan det vara ett missvisande resultat kanske hade det blivit en mindre standardavvikelse om man hade flera replikat. Om man hade tre replikat och två liknade varandra, skulle det vara lättare att upptäcka om någon var en utstickare. Medan nu har man två värden som inte är så lika varandra då vet man inte vilken som är mest representativ för jorden. Total P för jord 5A (gallring 60 % 2003, gödsling med fast gödsel) är standardavvikelsen 14,35, medan P_i har en låg standardavvikelse (0,58) för jord 5A. Jord 15A (gödsling med fast gödsel) har hög standardavvikelse för total P (37,89) även P_i har en hög standardavvikelse (12,89). Trots att standardavvikelsen är stor så har Flakalidens jord provtagningsytor 2A, 5A och 15A lämpliga koncentrationer av P för att utföra vidare studier på.

I figur 11 borde K_p minska med tiden eftersom ^{33}P minskar med tiden då isotopen har en halveringstid på 24,4 dagar . Det är jord 2A som följer den trenden bäst, men jord 5A och 15A har också större skillnader i standard avvikelse, kanske hade jord 5A och 15A minskat med tiden. Samma för SA värden plottade mot tiden är det mest troligt att SA minskar med tiden eftersom att ^{33}P minskar i den märkta jorden. När det extrapolerade SA värdet har högre koncentration än det uppmätta SA det indikerar att den biologiska/biokemiska processen verkar i jorden, det är fallet för jord 2A och 5A. Jord 15A har det uppmätta SA i en högre koncentration än det extrapolerade SA.

Det uppmätta Växttillgängligt P är det både fysikalisk-kemiska processer och biologiska/biokemiska processer, medan det extrapolerade Växttillgängligt P är endast fysikalisk-kemiska processer. Jord 2A och 5A visar att de biologiska/biokemiska processerna är starkare än de fysikalisk-kemiska processerna. För jord 15A det extrapolerade Växttillgängligt P är högre än det uppmätta Växttillgängligt P vilket visar att de biologiska/biokemiska processerna verkar inte i samma mängd som jord 2A och 5A. Jord 2A indikerar att ha mest tillgängligt P för växter, i jämförelse med de andra två jordarna (Figur 18). Jord 5A och 15A har mer konstant koncentration av resin P över tid än jord 2A. Medel av brutto P_o mineraliserings hastighet för jord 2A är $6,5 \text{ mg P kg}^{-1}$ och för jord 5A är det $16,4 \text{ mg P kg}^{-1}$ men för dag 14 har jord 5A har en högre hastighet än de andra dagarna. Förutom dag 14 för jord 5A är medelhastigheten $11,9 \text{ mg P kg}^{-1}$. Det var inte detekterbart för jord 15A eftersom att det extrapolerade Växttillgängligt P var högre än det uppmätta Växttillgängligt P. Jord 15A indikerar att ha mest mikrobiell P immobilisering i jämförelse med de andra jordarna. Det kan bero på den stora mängd av P_i (62 %), eftersom mikroorganismerna kan använda P_i som redan existerar i jorden.

Jord 2A har de mest stabila värden och högst koncentration av P, det kan bero på den stora mängd Po. Jord 2A och 5A har exakt samma behandling och är lokaliserade väldigt nära varandra se bilaga 1, medan jord 15A har inte gallring 60 % vilket resulterar i att det är mera skog i provtagningsytan 15A. Tre replikat har använts för ^{33}P inkubationsexperiment, vilket ibland har haft ett värde som varierat mycket från de andra två replikaten det vill säga en utstickare vilket kan ses i standard avvikelsen. När proverna är mätt med SmartChem utförs automatiskt duplikat av proverna vilket resulterar i sex replikat. Jord 2A har ingen utstickare som de andra två jordarna, vilket också kan resultera i högre koncentrationer av P för jord 2A.

Värdet på brutto Po mineraliseringshastigheter tyder på att det finns mineralisering i jorden, genom att mikroorganismerna i jorden genomför mineralisering av organiskt material som blir oorganiskt material. Det som kan utläsas av resultatet är att det är väldigt låg mineralisering i jorden, särskilt för jord 15A där det inte var möjligt att få ut brutto Po mineraliseringshastigheter. Resultatet visar att den dagliga brutto Po mineraliseringshastigheten för jord 5A är mellan 0,6-7,9 mg P kg⁻¹. Vilket kan jämföras med en jord från en bokskog i Tyskland där det är lite högre medeltemperatur och nästan samma nederbörds mängd som Flakaliden. Där är den dagliga brutto Po mineraliseringshastigheten mellan 0,8-5,8 mg P kg⁻¹ (Bünemann et al., 2016).

Faktorer som har inverkan på resultatet är att man jobbar med väldigt små mängder av diverse provtagningsytor eftersom att provplatserna för Flakaliden är 50x50 m. Resultatet hade blivit mer rättvisande om man haft flera prover som var tagna utspritt från provplatsen för att få en bättre helhetsbild av resultatet. I det här projektet har det endast blivit en liten del från respektive provtagningsplats som undersökt i labb. Jorden som är i laborationslokalen får förändrade förhållanden mot vad det är i verkligheten som att det är en annan temperatur, rötterna i jorden är inte med vilket också har inverkan på resultatet.

6. Slutsats

- Svårt att hitta en lämplig jord för att kunna jobba med P, på grund av låga koncentrationer av P.
- Flakaliden var den mest lämpliga jorden.
- Trots att jordarna har liknande behandlingar så skiljer de sig, i två jordar är det de fysikalisk-kemiska processerna som styr över P tillgängligheten i systemet.
- Jord 5A har biologisk aktivitet och brutto organiskt P hastigheten är mellan 0,6-7,9 mg P kg⁻¹d⁻¹.

7. Tackord

Jag vill tacka mina handledare Tobias Rütting, Klaus Jarosch och Louise C. Andresen (Rütting) som har varit ett bra stöd under vägen med laborations experiment, ideér och utformning av uppsatsen. Vill även rikta ett tack till Anna-Karin Björnsne, Josefina Carlberg och Aila Schachinger som hjälpt mig med praktiska saker i laborationssalen. Vill tacka opponenter Julia Kukulies för alla förslag och funderingar på min uppsats. Vill tacka min examinator Leif Klemedtsson.

8. Referenser

- Achat, D.L., Bakker, M.R., Morel, C. (2009). Process-based assessment of phosphorus availability in a low phosphorus sorbing forest soil using isotopic dilution methods. *Soil Science Society of America Journal* 73, 2131-2142.
- Agestam, E. (2015). Skogsskötselserien: Gallring. Skogsskötselserien nr. 7. Skogsstyrelsen.
- Bünemann, Else K., & Condon, Leo M. (2007). Phosphorus and Sulphur Cycling in Terrestrial Ecosystems. *Soil Biology*, 10, 65-92.
- Bünemann, E. K., Marschner, P., McNeill, A. M., & McLaughlin, M. J. (2007). Measuring rates of gross and net mineralisation of organic phosphorus in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 39(4), 900-913. doi: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2006.10.009>
- Bünemann, Else K., Oberson, A., Liebisch, F., Keller, F., Annaheim, K.E., Huguenin-Elie, O., Frossard, E. (2012). Rapid microbial phosphorus immobilization dominates gross phosphorus fluxes in a grassland soil with low inorganic phosphorus availability. *Soil Biology & Biogeochemistry* 51, 84-95.
- Bünemann, Else K. (2015). Assessment of gross and net mineralization rates of soil organic phosphorus – A review. *Soil Biology and Biochemistry*, 89, 82-98. doi: 10.1016/j.soilbio.2015.06.026
- Bünemann, E. K., Augstburger, S., & Frossard, E. (2016). Dominance of either physicochemical or biological phosphorus cycling processes in temperate forest soils of contrasting phosphate availability. *Soil Biology and Biochemistry*, 101, 85-95. doi: 10.1016/j.soilbio.2016.07.005
- Condon, Leo M, Moir, JO, Tiessen, H, & Stewart, JWB. (1990). Critical evaluation of methods for determining total organic phosphorus in tropical soils. *Soil Science Society of America Journal*, 54(5), 1261-1266.
- Di, H.J., Condon, L.M., & Frossard, E. (1995). Isotope techniques to study phosphorus cycling in agricultural and forest soils: a review. *Biol Fertil Soil*(Springer- Verlag), 1-12.
- Doolette, Ashlea L., & Smernik, Ronald J. (2011). Soil Organic Phosphorus Speciation Using Spectroscopic Techniques. I E. Bünemann, A. Oberson & E. Frossard (Red.), *Phosphorus in Action: Biological Processes in Soil Phosphorus Cycling* (ss. 3-36). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Fardeau, J.C. (1993). Le phosphate assimilable des sols: sa représentation par un modèle fonctionnel à plusieurs compartiments. *Agronomie* 13, 317-331.
- Frossard, E., López-Hernández, D. Brossard, M. (1996). Can isotopic exchange kinetics give valuable information on the rate of mineralization of organic phosphorus in soils? *Soil Biology & Biochemistry* 28, 857-864.
- Hasegawa, Shun, Macdonald, Catriona A., & Power, Sally A. (2016). Elevated carbon dioxide increases soil nitrogen and phosphorus availability in a phosphorus-limited Eucalyptus woodland. *Global Change Biology*, 22(4), 1628-1643. doi: 10.1111/gcb.13147
- Helpenstein, Julian, Jegminat, Jannes, McLaren, Timothy I., & Frossard, Emmanuel. (2018). Soil solution phosphorus turnover: derivation, interpretation, and insights from a global compilation of isotope exchange kinetic studies. *Biogeosciences*, 15(1), 105-114. doi: 10.5194/bg-15-105-2018
- Klemedtsson, L., Ernfors, M., Björk, R. G., Weslien, P., Rütting, T., Crill, P., & Sikström, U. (2010). Reduction of greenhouse gas emissions by wood ash application to a Picea abies (L.) Karst. forest on a drained organic soil. *European Journal of Soil Science*, 61(5), 734-744. doi: 10.1111/j.1365-2389.2010.01279.x
- Kouno, Kenji, Tuchiya, Yasuhiro, & Ando, Tadao. (1995). Measurement of soil microbial biomass phosphorus by an anion exchange membrane method. *Soil Biology and Biochemistry*, 27(10), 1353-1357. doi: 10.1016/0038-0717(95)00057-L

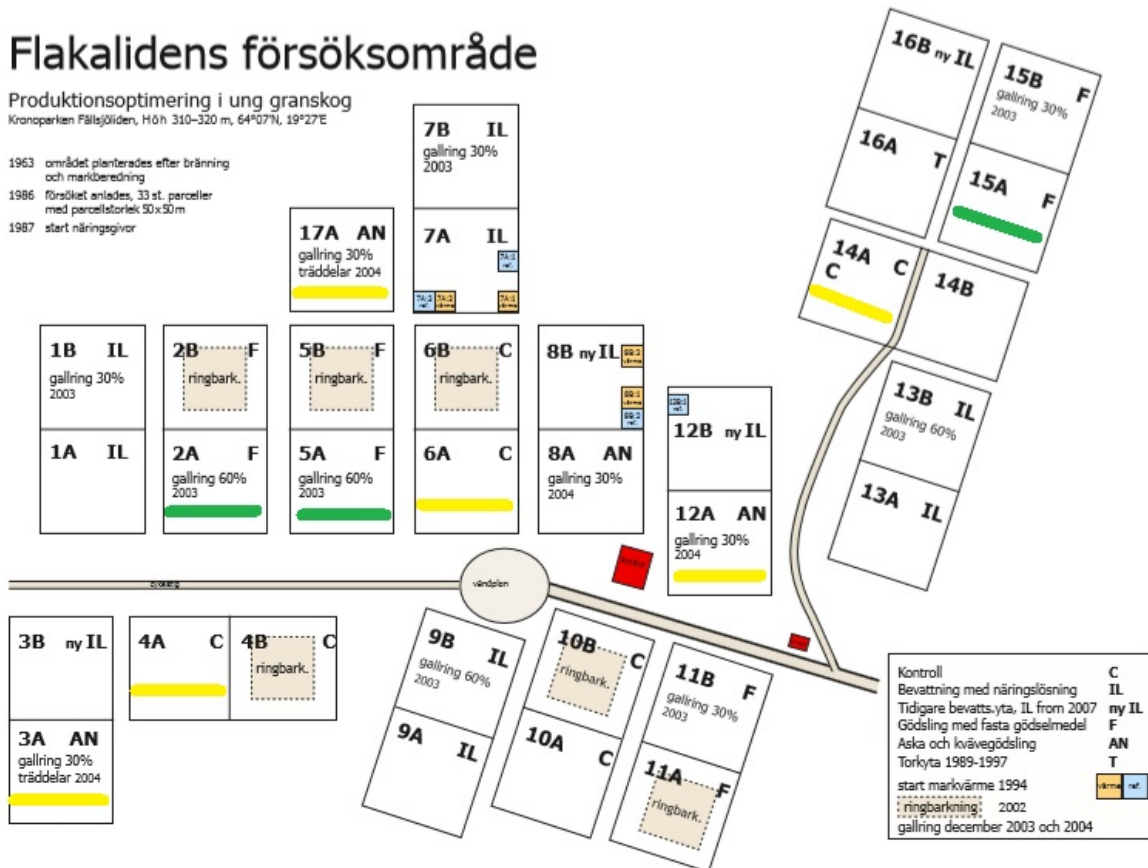
- López-Hernández, D., Brosard, M., Frossard, E. (1998). P-isotopic exchange values in relation to P_o mineralisation in soils with very low P-sorbing capacities. *Soil Biology & Biochemistry* 30, 1663-1670.
- McAuliffe, C.D., Hall, N.S., Dean, L.A., Hendricks, S.B. (1947). Exchange reactions between phosphates and soils: hydroxylic surfaces of soil minerals. *Soil Science society of America Proceedings* 12, 119-123.
- Oehl, Fritz, Frossard, Emmanuel, Fliessbach, Andreas, Dubois, David, & Oberson, Astrid. (2004). Basal organic phosphorus mineralization in soils under different farming systems. *Soil Biology and Biochemistry*, 36(4), 667-675. doi: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2003.12.010>
- Randriamanantsoa, Lalajaona, Frossard, Emmanuel, Oberson, Astrid, & Bünemann, Else K. (2015). Gross organic phosphorus mineralization rates can be assessed in a Ferralsol using an isotopic dilution method. *Geoderma*, 257-258, 86-93. doi: <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2015.01.003>
- Ryan, Michael. (2013). *Three decades of research at Flakaliden advancing whole-tree physiology, forest ecosystem and global change research* (Vol. 33).
- Saunders, WMH and, & Williams, EG. (1955). Observations on the determination of total organic phosphorus in soils. *European Journal of Soil Science*, 6(2), 254--267. doi: 10.1111/j.1365-2389.1955.tb00849.x
- Schlesinger, William H., & Bernhardt, Emily S. (2013). Chapter 4 - The Lithosphere *Biogeochemistry (Third Edition)* (ss. 93-133). Boston: Academic Press.
- Selmants Paul, C., & Hart Stephen, C. (2010). Phosphorus and soil development: Does the Walker and Syers model apply to semiarid ecosystems? *Ecology*, 91(2), 474-484. doi: 10.1890/09-0243.1
- Spohn, M., Ermark, A., Kuzyakov, Y. (2013). Microbial gross organic phosphorus mineralization can be stimulated by root exudates – a P-33 isotopic dilution study. *Soil Biology & Biochemistry* 65, 254-263.
- Tiessen, Holm, Ballester, Maria Victoria, & Salcedo, Ignacio. (2011). Phosphorus and Global Change. I E. Bünemann, A. Oberson & E. Frossard (Red.), *Phosphorus in Action: Biological Processes in Soil Phosphorus Cycling* (ss. 459-471). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Walbridge, M.R., Vitousek, P.M. (1987). Phosphorus mineralization potentials in acid organic soils: processes affecting ³²P₄³⁻ isotopic dilution measurements. *Soil Biology & Biochemistry* 19, 709-717.
- Walker, T. W., & Syers, J. K. (1976). The fate of phosphorus during pedogenesis. *Geoderma*, 15(1), 1-19. doi: 10.1016/0016-7061(76)90066-5
- Wiklander, L. (1950). Kinetics of phosphate exchange in soils. *The Annals of the Royal Agricultural College of Sweden* 17, 404-424.

9. Bilagor

Flakalidens försöksområde

Produktionsoptimering i ung granskog
Kronoparken Fålsjöleden, Höh 310-320 m, 64°07'N, 19°27'E

1963 området planterades efter bränning och markberedning
1986 försöket anlades, 33 st. parceller med parcellstorlek 50x50 m
1987 start näringsgivor



Bilaga 1. Flakalidens försöksområde. Försöksytorna med gula och gröna linjer undersöktes, dem med gröna linjer användes för ³³P inkubationsexperiment i kombination med IEK.
Bilaga 2. IEK tidsplan till 3 prover, tiden är i minuter.

Sample	Add isotope	Filter	Filter	Filter	Filter	Filter	Filter
1	0	1	4	10	30	60	90
2	12	13	16	22	42	72	102
3	24	25	28	34	54	84	114

Sample	Add isotope	Filter	Filter	Filter	Filter	Filter	Filter
1	0	1	4	10	30	60	90
2	12	13	16	22	42	72	102
3	24	25	28	34	54	84	114

Bilaga 3. IEK tidsplan till 3 prover, tiden är i minuter. 1.1, 1.4, 1.10, 2.1, 2.4, 2.10, 3.1, 3.4, 1.30, 3.10, 2.30, 3.30, 1.60, 2.60, 3.60, 1.90, 2.90 och 3.90.
1, 4, 10, 13, 16, 22, 25, 28, 30, 34, 42, 54, 60, 72, 84, 90, 102 och 114.

Dag 1

- Fuktig jord vägdes upp som motsvarade 10 g torr jord och 97 ml Milli-Q vatten mättes upp i en 250 ml flaskor med skruvkork, detta skakades i cirka 16 timmar. Det är viktigt att fast:vätska formatet är 1:10, normalt 10 g torr mark + 99 ml vatten + 1 ml spårämne (^{33}P).
- Förbered även två flaskor för varje jord med 4 gram jord och 40 ml vatten som också blev skakade under 16 timmar, dessa används för att mäta PO_4^{3-} koncentrationen i jorden med SmartChem.
- Samt ska det finnas med 2 stycken prover med endast 99 ml vatten som skakas i 16 timmar. Dessa är stora R = tillsatt radioaktivitet som krävs för uträkningarna.

Dag 2

- En magnet tillsattes i varje flaska som har innehåll av jordlösning, och flaskorna placerades på omröringsplattor, cirka 30 minuter skedde omrörning innan startpunkten av experimentet.
- Förberedde siffor på Eppendorf-rören, ordningen de fick var enligt tidpunkterna som proven togs i det vill säga provet och i minuter enligt serien: 1.1, 1.4, 1.10, 2.1, 2.4, 2.10, 3.1, 3.4, 1.30, 3.10, 2.30, 3.30, 1.60, 2.60, 3.60, 1.90, 2.90 och 3.90. Dessa tidpunkter är enligt Bilaga 2.
- Sedan startar experimentet när 1 ml ^{33}P tillsattes i det första provet (tidpunkt 0), sedan enligt tidsserien på 1 minut tas det första provet.
- På 12:e och 24:e minuten tillsätts isotopen (^{33}P) i andra provet respektive tredje provet. Bra att märka ut flaskorna med jordlösning 1, 2, 3 för att kunna följa tidsschemat.
- Man använder sig av tidpunkterna genom att börja ca 15 sekunder före tidpunkten att extraherades 5-10 ml från suspensionen med en plastspruta (separat plastspruta för varje flaska).
- Sedan - 5 sekunder före till + 5 sekunder efter tidpunkten filtrerades det genom cellulosafilter (0,45 μm) ned i Eppendorf-rören (nytt cellulosafilter för varje filtrering).
- Stäng Eppendorf-röret och fortsätt till enligt tidsschemat. Rengör plastsprutan med Milli-Q vatten.
- När man har ett par minuter över börja förberedda scintillationsflaskor och
- Från varje Eppendorf-rör togs antingen 1 ml eller 0,1 ml till en scintillationsflaska där tillsattes även 5 ml eller 0,5 ml scintillationscocktail. Det viktiga är att prov- och scintillationscocktailen ska ha förhållandet 1:5.

- För att få reda på den tillsatta radioaktiviteten i jordlösningarna är det de två blanka proverna (99 ml vatten) som tillsattes med 1 ml av ^{33}P IEK lösningen och blandar runt ordentligt. Sedan filterades det med cellulosafilter (0,45 μm) till Eppendorf-rör och samma metod som ovan för att mäta med scintillationcounter (1 ml eller 0,1 ml av provet samt 5 ml eller 0,5 ml scintillation cocktail).
- Även vill man se vattnet så det inte finns radioaktivitet i det mätte upp 1 ml vatten i en scintillationsflaska och tillsatte 5 ml scintillationcocktail.
- Förberedde proverna till SmartChem mätte upp 1 ml från jordlösningen dessa används för att mäta PO_4^{3-} koncentrationen i jorden.

Bilaga 4. IEK experimentet med ^{33}P märkning

calculation required ^{33}P

Aimed soil labelling: 40 kBq per g soil

40 kBq per g soil

1066 g soil in total

42643,2 kBq required for all soil

42,6432 MBq required for all soil

1,15 mCi required for all soil

-> order 1.5 mCi to have extra ^{33}P for IEKs and ^{33}P spikes

Bilaga 5. KBq per g jord multipliceras med g jord totalt för att få KBq som krävs för all jord.

Order 1.5 mCi			
which is the same as 55.76947 MBq			
Prepare ^{33}P stock solution:			
Transfer the entire ^{33}P (1.5 mCi) into 10 ml Milli-Q water			
Labeling solution	36 MBq	in 18 ml	labeling solution for labeling only
Labeling solution	40 MBq	in 20 ml	labeling solution for labeling + counting of label
40 MBq * 10 ml / 55.76947 MBq = 7.17 ml			of stock solution
	20 ml - 7.17 ml =	12.83 ml	Milli-Q water
IEK solution 0.3 ml from stock solution and 30 ml Milli-Q water			

Bilaga 6. Stegen ^{33}P späddes ut för märknings experimentet och IEK lösningen.