آلودگی فاژی تهدیدی برای میکروارگانیسم‌های مفید

محمدرضا ساریخانی
استادیار گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز (rsarikhani@yahoo.com)

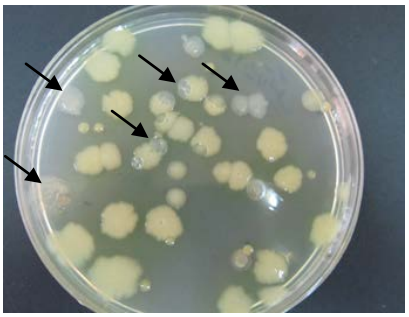
مقدمه

میکروارگانیسم‌های موجود در خاک دارای تعداد و تنوع گسترده‌ای هستند به صورتی‌که شامل ریزموجودات مفید تا مضر می‌باشند و در این میان توجه به ریزموجودات مفید و استفاده از باکتریهایی با اثربخشی مثبت مورد توجه محققان مختلف به ویژه بیولوژیست‌های خاک بوده است. یکی از مواردی که حیات جامعه میکروبی مفید خاک بویژه باکتریها را تهدید می‌کند، پارازیتهای اجباری درون سلولی (obligate interacellular parasites) آنها یعنی باکتریوفاژها (bacteriophage) یا فاژها (phage) می‌باشد که هم در زیستگاه طبیعی یا در شرایط آزمایشگاهی و فرمانتورها می‌تواند زندگی آنها را مختل نماید. از آنجا که بهره‌گیری از باکتریها به صورت بیوماس میکروبی (در قالب کودهای زیستی، مواد پروبیوتیک و ...)، یا تولید آنزیم‌های صنعتی و متابولیتهای ثانویه و غیره مورد توجه می‌باشد، آلودگی کشت‌های باکتریایی به فاژها و همچنین القاء پروفاژها (prophage induction) در سلول‌های میزبان، تهدیدی جدی برای آنها تلقی می‌شود و در آزمایشگاههای بیوتکنولوژی و تحقیقاتی مشکل اساسی می‌باشد. آلودگی فاژی یا باکتریوفاژی (bacteriophage contamination) باکتریهای مفید گرچه مطلوب نمی‌باشد و یک تهدید محسوب می‌شود ولیکن استفاده‌های سودمند نیز از فاژها برده می‌شود به ویژه در کنترل زیستی (biocontrol by phages)، شاخه نوظهوری که در کنترل و پیشگیری آفات و حشرات مورد توجه محققان می‌باشد. کشف و شناسایی فاژها به اوایل قرن بیستم بازمی‌گردد، ذرات فاژی محدوده میزبانی مشخص و خاصی دارند. باکتریوفاژها یا به صورت حاد و کشنده‌اند (virulent) و چرخه Lytic را دنبال می‌کنند یا اعتدالی‌اند (temperate) و چرخه Lysogenic را پیش می‌گیرند (Duckworth, 1976). تقریباً همه باکتریهای جداشده از خاک از نوع لیزوژنی‌اند یعنی مواد ژنتیکی فاژ در ژنوم میزبان تلفیق شده است و چرخه غیرمخرب دنبال می‌شود (Dhar et al., 2013). باکتریوفاژهایی که از باکتریهای مفید خاک نظیر *Rhizobium*، *Bacillus*، *Pseudomonas*، *Azotobacter* و دیگر باکتریهای مفید خاک به عنوان میزبان برای تکثیر قطعات فاژی استفاده می‌کند مضر می‌باشند و می‌توانند از نقشهای مفید این باکتریها در اکوسیستم خاک و کشاورزی پایدار بکاهند. اگر چه حذف این ذرات ویروسی فاقد متابولیسم و تنفس در طبیعت عملاً امکانپذیر نمی‌باشد اما در تکثیر و انبوه‌سازی باکتریهای مفید که به منظور بهره‌گیری آنها در کشاورزی یا بیوتکنولوژی انجام می‌پذیرد با رعایت اصول ایمنی می‌توان از تکثیر فاژها و ورود آنها به طبیعت جلوگیری کرد. هدف این نوشتار ارائه گزارشی از رشد باکتریها در شرایط مشکوک به آلودگی فاژی در شرایط آزمایشگاهی است و با بیان برخی راهکارها برای پیشگیری از چنین مشکلاتی در کارهای تحقیقاتی، توجه محققان را به این تهدید جلب نماید.

مواد و روشها

در این آزمایش از کود زیستی نیتروکسین استفاده شد. یکی از استانداردهای رعایت شده در کودهای زیستی تامین جمعیت میکروبی فعال در کود زیستی می‌باشد به همین منظور جهت شمارش تعداد باکتریهای زنده

موجود در این کود زیستی بعد از تهیه سریهای رقت اقدام به کشت آنها بر روی محیط جامد LB یا NA شد. برای این منظور ۱ میلی‌لیتر از کود مایع نیتروکسین در درون ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۹۹ میلی‌لیتر آب مقطر استریل ریخته شد و بعد از همزدن آن به مدت ۱۰ دقیقه از اولین رقت تهیه شده (10^{-2}) با انتقال ۱ میلی‌لیتر به فالکون‌های ۱۵ میلی‌لیتری حاوی ۹ میلی‌لیتر آب مقطر استریل سایر رقت‌ها (10^{-3} الی 10^{-9}) نیز تهیه شد. سپس از رقت‌های 10^{-5} تا 10^{-9} به میزان ۱۰۰ میکرولیتر بر روی محیط جامد LB در دو تکرار گسترده شد. پلیت‌های کشت شده در درون انکوباتور تحت دمای ۲۶ درجه سانتیگراد قرار گرفتند و بعد از ۲-۳ روز مشاهدات رشد میکروبی یادداشت‌برداری شد. مشاهدات ما نشان داد که به مرور تنها یک فنوتیپ باکتری (به احتمال قوی *Azotobacter* sp.) به مرور دچار تغییراتی می‌شود و این تغییرات در دیگر فنوتیپ‌ها مشاهده نمی‌شود (شکل ۱). نکته قابل تامل در شکل ۱ آن می‌باشد که تنها یک فنوتیپ باکتریایی علائم مشکوک به آلودگی فاژی را نشان می‌دهد در صورتی‌که سایر فنوتیپ باکتریایی چنین علائمی را نشان نمی‌دهد و این موضوع تاییدی بر رخداد آلودگی فاژی در میزبان خاص (highly host-specific) می‌باشد. قابل ذکر است که بر اساس ادعای شرکت سازنده کود زیستی نیتروکسین این کود داری باکتریهای تثبیت‌کننده نیتروژن از جنس‌های *Azotobacter* و *Azospirillum* می‌باشد. از جمله روش‌های تایید آلودگی فاژی استفاده از روش تشکیل پلاک فاژی (plaque assay) است که در این روش ابتدا کشت چمنی (lawn culture) از باکتری مورد آزمایش تهیه شده و از عصاره فاژی عبور داده شده از فیلتر ۰/۲۲ میکرومتر بر روی کشت انتقال می‌دهند. تشکیل پلاک فاژی تاییدی بر وجود آلودگی خواهد بود یا در روش دوم از کشت مایع باکتری استفاده می‌شود که بعد از وارد نمودن ذرات فاژی به آن به دلیل لیز نمودن سلولهای میزبان (cell lysis) بعد از یک دوره انکوباسیون باعث ذلال و شفاف شدن محیط کشت خواهد شد (Panec and Sue Katz, 2013). در روش جایگزین برای مشاهده پلاک فاژی (phage plaque) به صورت زیر اقدام می‌شود، به این صورت که ابتدا بخش زیرین پلیت را با آگار ۱/۵٪ تهیه نموده و بخش رویی آن را با مخلوطی از آگار نرم (soft agar mixture) که در آن ۳ میلی‌لیتر آگار ۰/۷٪، ۰/۳ میلی‌لیتر کشت مایع باکتری مورد نظر و ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره ذرات فاژی با هم آمیخته شده و بر سطح آگار سخت پراکنده می‌شود. بعد از ۶ تا ۲۴ ساعت انکوباسیون می‌توان انتظار ظهور پلاکهای فاژی را داشت (Panec and Sue Katz, 2013). در این آزمایش بعد از جمع‌آوری لاشه‌های میکروبی از مناطق مشکوک به پلاک فاژی به کمک لوپ استریل، بقایای میکروبی به درون ویال ۱/۵ میلی‌لیتری حاوی ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر انتقال داده شد و محلول به دست بعد از ورتکس شدن از فیلتر ۰/۲ میکرومتر عبور داده شد. جهت انجام plaque assay از باکتری میزبان (*Azotobacter* sp.) کشت چمنی در محیط LB تهیه شد و بعد از ظهور پوشش یکدست باکتری در سطح پلیت، اقدام به کشت نقطه‌ای (dot culture) از عصاره مشکوک به حضور باکتریوفاژ به میزان ۲۰ میکرولیتر در چهار نقطه متفاوت از پلیت شد. سپس پلیت مجدداً در درون انکوباتور قرار داده شد. همزمان کشت مایعی از باکتری تهیه شد و بعد از مشاهده کدورت مناسب ناشی از رشد باکتری، مجدداً از عصاره عبور داده شده از فیلتر به میزان ۵۰ میکرولیتر به محیط مایع تلقیح شد و نمونه درون شیکر انکوباتور قرار داده شد.

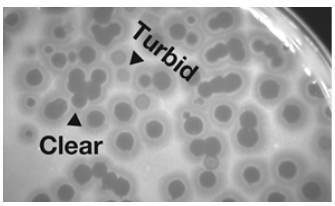


شکل ۱- نمونه‌ای از کشت میکروبی مشکوک به آلودگی فاژی در رقت‌های تهیه شده از کود زیستی

نتایج و بحث

بایستی در ابتدا به این موضوع اشاره کرد که این مطالعه با هدف بررسی آلودگی فاژی انجام نپذیرفته است، بلکه در جریان انجام مطالعه‌ای که بر روی برخی از کودهای زیستی رایج در کشور انجام می‌پذیرفت مشاهداتی شبیه به آلودگی باکتریوفاژی در یک نمونه از کودهای زیستی (کود نیتروکسین) مشاهده شد. شواهدی مشابه با تشکیل پلاک‌های فاژی که در شکل ۱ مشخص می‌باشد. نتایج ابتدایی گرچه آلودگی فاژی در این کود زیستی را قوت می‌بخشید اما انجام آزمایشات بعدی یعنی عدم تشکیل پلاک فاژی در کشت چمنی و عدم شفاف شدن کشت مایع باکتری بعد از تلقیح با عصاره مورد نظر این موضوع را تایید نکرد. اگر چه پلاک فاژی در کشت چمنی باکتری مشاهده نشد اما شاید دلایل زیر را بتوان در مشاهده علائم مشکوک به آلودگی فاژی (رفتار خاص در این باکتری) عنوان داشت. پدیده‌ای به نام autolysis یا self-digestion پدیده‌ای است که در نتیجه آزاد شدن آنزیم‌های هضم‌کننده از لیزوزوم (lysosomes) به درون سیتوپلاسم سلولهای در حال مرگ یا آسیب‌دیده مشاهده می‌شود و شاید دلیل این نوع رفتار باشد. همچنین اگر باکتری در حالت آلودگی به فاژ از نوع لیزوژنی باشد ممکن است با تشکیل پلاکهای مات (مطابق شکل ۲) چنین علایم را نشان دهد و چون در عصاره تهیه شده از آن، ذرات فاژی آزاد برای آلوده کردن میزبان وجود نداشته است تشکیل پلاک فاژی رخ نداده است و نکته دیگر آن می‌باشد که لیزوژنها به آلودگی فاژی با فاژی از نوع مشابه مصونیت حاصل می‌کنند (Los et al., 2004). البته بایست عنوان نمود که دلایل فوق فقط فرضیاتی هستند که مطرح می‌شود و تایید آنها نیاز به انجام مطالعات بیشتری دارد. تولید و استفاده از مواد مهم بیوتکنولوژی مبتنی بر کشت باکتریها می‌باشد و اهمیت آنها در زیست‌فناوری جای تردیدی باقی نمی‌گذارد، اما با این حال مشکلات جدی ممکن است برای آنها به وجود آید زمانی‌که کشت‌های میکروبی تهیه شده در درون ارلن‌های کشت (در آزمایشگاه‌ها) یا بیوراکتورها (در کارخانه‌ها) با پارازیت‌های طبیعی خود یعنی ویروس‌ها یا فاژها آلوده شوند. رخداد این اتفاق باعث از دست دادن کامل محصول زیستی شده و باعث پراکندگی ذرات فاژی در آزمایشگاه خواهد شد، چنین اتفاقی برای هر آزمایشگاهی بسیار مهلک و مصیبت‌آمیز خواهد بود. فاژها یا سلول میزبان خود را لیز نموده و آن را از بین می‌برند یا اینکه مواد ژنتیکی خود در کروموزوم میزبان خود وارد نموده و سویه‌های لیزوژنیک (lysogenic strains) به جای لیتیک حاصل خواهد شد. پروفاژهای تلفیق شده در درون ژنوم میزبان در چنین سویه‌های در مقایسه با سویه‌های سالم ممکن است دارای سرعت رشد کمتری باشند. بعلاوه سویه‌های لیزوژن آلوده به یک فاژ به آلودگی فاژی از نمونه مشابه خود مصونیت پیدا می‌کنند (Los et al., 2004). البته بایستی به این موضوع توجه داشت که تشکیل پلاک فاژی به دو صورت واضح (clear plaque) و مات (turbid plaque) می‌باشد (مطابق با شکل ۲) که عقیده بر آن است که در حالت پروفاژی می‌توان شاهد تشکیل پلاک مات بود و

اگر باکتری میزبان فاژ در شرایط القائی از قبیل عوامل فیزیکی و شیمیایی خاص (نظیر تابش UV، آنتی‌بیوتیک‌ها، میتومایسین C، استرس‌های فیزیولوژیکی) قرار گیرد چرخه لیزوژنی به چرخه لیتیک تبدیل می‌شود (Dhar et al., 2013; Panec and Sue Katz, 2013). به طور کلی استراتژی‌های پیشگیرانه از قبیل آزمایشگاه خوب و شرایط آزمایشگاهی ایده‌ال، رعایت بهداشت، استریل‌سازی، آلودگی‌زدایی و ضدعفونی برای ممانعت از آلودگی فاژی ضروری می‌باشند. اما موارد فوق تضمین‌کننده عدم آلودگی فاژی نیست و فارق از رعایت بهداشت و شرایط مطلوب آزمایشگاهی، آلودگی فاژی ممکن است گاهی اوقات رخ دهد و شاید بهره‌گیری از سویه‌های باکتریایی مقاوم به آلودگی فاژی مناسب باشد (Los et al., 2004). در چنین مواردی توصیه می‌شود تمام ابزاری که در تماس با فاژ بوده است استریل شود. ضدعفونی منظم ازمایشگاه انجام گیرد و تا حد امکان از تابش لامپ‌های UV برای ضدعفونی استفاده شود. پوشش پروتئینی دربرگیرنده مواد ژنتیکی فاژ به اشعه UV بسیار حساس می‌باشد و تابش شبانه UV برای ضدعفونی توصیه می‌شود. همچنین روش دیگر برای جلوگیری از آلودگی فاژ استفاده از سویه‌های باکتریایی دارای پروفاژهای خاص می‌باشد زیرا این موضوع به خوبی شناخته شده است که چنین سویه‌هایی دیگر با فاژهای مشابه آلوده نخواهند شد. مشاهده شده است که در سرعت رشد پایین توسعه فاژ محدود می‌شود یعنی فاژها در سلولهای میزبان گرسنه به طو رکارآمد توسعه پیدا نمی‌کنند (Los et al., 2004). گرچه تشخیص آلودگی فاژی ممکن است در مراحل اولیه آلودگی و القاء پروفاژ از طریق روش‌های سنتی سخت باشد (نشانه‌هایی چون لیز شدن سلول و تشکیل پلاک فاژی در محیط جامد یا کاهش غیرمنتظره در OD کشت‌های شبانه در محیط‌های مایع، تشکیل کف سفید ضخیم بر روی محیط کشت مایع و ناپدید نشدن آن حتی در صورت ساکن بودن محیط، تشکیل توده‌ها و رشته‌های قابل مشاهده در درون کشت مایع، و در مشاهدات میکروسکوپی نیز سلول‌های با شکل مشخص و میله‌ای مشاهده نشده و قطرات چربی، توده و رشته مانند مشاهده می‌شود) اما بکارگیری تکنولوژی جدید مبتنی بر چیپ‌های DNA (electric DNA chips) شناسایی مواد ژنتیکی فاژی در کشت‌های باکتریایی را قبل از لیز شدن کامل سلول را آسان ساخته است (Los et al., 2004).



شکل ۲- تشکیل پلاکهای فاژی واضح (در نتیجه چرخه لیتیک) و مات (در نتیجه چرخه لیزوژنی)

منابع

Los M, Czyz A, Sell E, Wegrzyn A, Neubauer P, Wegrzyn G, 2004. Bacteriophage contamination: is there a simple method to reduce its deleterious effects in laboratory cultures and biotechnological factories? J. Appl. Genet. 45(1): 111-120.

Gallet R, Kannoly S, Wang IN, 2011. Effects of bacteriophage traits on plaque formation. BMC Microbiology 11:181.

Panec M, Sue Katz D, 2013. Plaque assay protocols. ASM MicrobLibrary.

Dhar B, Jaiswal SK, Kumar B, Vaishampayan A, 2013. Characteristics and host range odulation of a lysogenic *Bradyrhizobium* strain of pigeonpea (*Cajanus cajan* L.) isolated from an Indian soil. Biol Fertil Soils 49: 343–349.

تاثیر قارچ میکوریزا آربسکولار بر جذب عناصر سدیم،کلر، پتاسیم و فسفر درگیاه گوجه فرنگی تحت شرایط تنش شوری

صمد سپهی[1]، حسن حقیقت نیا [2] ، فرهاد خورسندی[3]
۱ -دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم وتحقیقات فارس sdsepahi@yahoo.com
۲ -عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی فارس
۳ -استادیار گروه خاکشناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد داراب

مقدمه

مطالعات نشان می دهد که اکنون سطح وسیعی از مناطق مختلف کشور دچار مشکل شوری آب و خاک هستند. مهم ترین اثر شوری افزایش غلظت سدیم در بافت گیاهی است (زاهدی فر و همکاران ۱۳۸۹) ،که منجر به کاهش عملکرد می شود. از مهمترین دلائل کاهش وزن خشک اندام هوائی گیاه در شرایط شور، سمیت یون هائی نظیر سدیم و کلر همراه با عدم تعادل تغذیه ای می باشد(Gunes et al. 1996). یکی از روش های نوین در جهت مقابله با تنش های محیطی بویژه تنش شوری استفاده از روش های بیوتکنولوژیکی مثل استفاده از قارچ های میکوریزی است که می تواند مقاومت گیاه گوجه فرنگی را مانند بسیاری از گیاهان دیگر تحت تاثیر قرار دهد. قارچ های میکوریزا از جمله فراوانترین قارچهای همزیست با گیاهان هستند که با سودمندیهای فراوان، مانند تولید کودهای بیولوژیک، قابل جذب کردن عناصر غذایی بخصوص فسفر و مبارزه بیولوژیکی با آفات، دارای جایگاه ویژه ای در کشاورزی هستند. قارچ مایکوریزا می تواند در خاکهای فقیر از فسفر گسترش یافته و باعث افزایش جذب فسفر و در نتیجه افزایش رشد و عملکرد گیاه گرددنادیان ۱۳۷۷). فلاحیان و همکاران (۱۳۸۵) نشان دادند که قارچ های وزیکولار ـ آربسکولار باعث افزایش جذب عناصر کم تحرک مانند فسفر شده و با بهبود روابط آبی گیاه باعث افزایش رشد گیاه می شوند. صدری و همکاران (۱۳۹۰) در آزمایشی نتیجه گرفتند که کاربرد میکوریزا تحت تنش شوری جذب کلسیم، پتاسیم و منیزیم را در گیاه سورگوم افزایش و جذب سدیم را کاهش داد. در دیگر مطالعات که جهت بررسی اثرات شوری بر روی گیاهان میکوریزا انجام گرفت، نشان داده شد که غلظت سدیم و پتاسیم در ریشه‌های AM بیشتر میباشد و بنابراین نسبت پتاسیم به سدیم در مقایسه با گیاهان غیر میکوریزایی در سطح بالاتری قرار داشت.

مواد و روشها

به منظور مشخص کردن وضعیت عناصر غذایی خاک، مقدار کافی خاک بکر از افق سطحی(۰ تا ۳۰ سانتیمتری) از سه نقطه از محلی که خاک آن را مناسب جهت انجام آزمایش یعنی با قابلیت دسترسی کم فسفر(P = 4.00 ppm) تشخیص دادیم نمونه برداری به عمل آمد.این پژوهش بشکل گلدانی و بصورت فاکتوریل(۴*۴) در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی با چهار(۴) تکرار شامل ۶۴ گلدان صورت گرفت. ابعاد آماری طرح عبارت بودند از چهار سطح شوری آب آبیاری (۰/۹ ، ۲ ، ۴ و ۶ دسی زیمنس بر متر) و چهار تلقیح میکوریزائی شامل: ۱- شاهد(بدون تلقیح). ۲- تلقیح با گونه Glomus intraradices . 3- تلقیح با گونه Glomus mosseae . و ۴- تلقیح با هر دو گونه(۲ و ۳). جهت انجام این آزمایش ابتدا خاک مورد نظر را که از قبل بمدت دو ساعت در درجه حرارت ۱۲۱ درجه سانتیگراد در دستگاه اتوکلاو استریل شده بود را، جهت خزانه کاری ، درون لیوانهای پلاستیکی ریخته شد ، سپس ۲ الی ۳ عدد بذر گوجه فرنگی رقم S.P.A در آنها کشت و پس از جوانه زنی و

چند برگی شدن ، گیاهانی که از لحاظ ظاهری کاملا" یکسان بودند را انتخاب و به گلدانهای اصلی انتقال داده شدند. برای هر گلدان ۸ کیلوگرم خاک در نظر گرفته شد. همزمان با این کار عمل تلقیح با مایه تلقیح قارچهای مورد نظر (برای هر گلدان ۱۰۰ گرم) بطوریکه کاملا" قارچ ها در اطراف ریشه گیاهچه ها قرار گرفتند انجام شد. برداشت گیاه گوجه فرنگی ۶۰ روز پس از انتقال گیاهچه ها به گلدانهای اصلی و تا قبل از مرحله گل دهی انجام گرفت. در پایان آزمایش، گیاهان از سطح طوقه بریده شد و ریشه ها را به گونه ای که کمترین آسیب ببینند از خاک خارج و پس از شستشو با آب مقطر، به مدت ۴۸ ساعت و در دمای ۶۵ درجه سلیسیوس در آون قرار داده تا کاملا خشک شدند . بمنظور تعیین عناصر غذائی گیاه ، پس از آسیاب نمودن گیاهان خشک شده ، نمونه یک گرمی از هر تیمار در کوره الکتریکی در دمای ۵۵۰ درجه سانتیگراد خاکستر کرده، عناصر سدیم و پتاسیم با دستگاه فلیم فتومتر، میزان فسفر را با روش نورسنجی و عنصر کلر با روش تیتراسیون اندازه گیری شد. در نهایت با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف بین تیمارها بررسی گردید. ضمنا از نرم افزار آماری SAS برای انجام آزمون های فوق استفاده شد.

نتایج و بحث

همانطور که در جدول۱ پیداست با افزایش شوری آب آبیاری غلظت سدیم در گیاه نسبت به شاهد بطور معنی داری افزایش یافت نتایج مشابهی توسط Sairam و همکاران (2002) گزارش شد. همچنین با افزایش شوری آب آبیاری غلظت کلر در شاخساره گیاه نیز افزایش یافت.این در حالیست که تلقیح میکوریزی سبب کاهش معنی دار غلظت سدیم و کلر در گیاه گردید بهترین تلقیح میکوریزائی در کاهش غلظت کلر و سدیم، تیمار *Mossea* و (*Inter+ Mossea*) بود. نتایج مشابهی در رابطه با کاهش غلظت کلر با تلقیح میکوریزائی، توسط توسلی و اصغرزاده(۱۳۸۸) و همچنین در رابطه با کاهش غلظت سدیم شاخساره با استفاده از تلقیح میکوریزی توسط صدری و همکاران (۱۳۹۰) گزارش شد. با افزایش شوری آب آبیاری غلظت پتاسیم و فسفر شاخساره بطور معنی داری نسبت به شاهد کاهش یافت(جدول۱). نتایج مشابهی در رابطه با کلر توسط زاهدی فر و همکاران (۱۳۸۹) و کاهش فسفر شاخساره در اثر افزایش شوری توسط یوسفی راد (۱۳۸۶) گزارش شد. محققان بسیاری گزارش کرده اند در اثر شوری، غلظت پتاسیم بافت های گیاهی کاهش می یابد که علت را رقابت و جذب انتخابی بین سدیم و پتاسیم در شرایط شوری و افزایش جذب سدیم در قبال پتاسیم می دانند (Gulshan et al. 2008). در شوری های ۲، ۴ و ۶ دسی زیمنس بر متر نیز، تلقیح میکوریزی غلظت پتاسیم را بطور معنی داری نسبت به شاهد افزایش داد و بیشترین افزایش غلظت پتاسیم، متعلق به تیمار *Mossea* بود(جدول۱). نتایج مشابهی در رابطه با افزایش غلظت پتاسیم در اثر تلقیح میکوریزی توسط Marschner و dell (1994) گزارش شد. همچنین تلقیح میکوریزائی، غلظت فسفر را در شاخساره گوجه فرنگی تحت تنش شوری بطور معنی داری افزایش داد. در این بین، تیمار (*Inter Mossea*) نسبت به بقیه تیمارها غلظت فسفر را بیشتر افزایش داد(جدول۱). در مطالعاتی نشان داده شده، که کاهش اثرات شوری در گیاهان میکوریزایی نه تنها با افزایش فسفر گیاه میزبان ارتباط دارد بلکه بیشتر مبتنی بر سایر اثرات می‌باشد(نادیان و همکاران ۲۰۰۹). بنابراین، با توجه به نتایج این آزمایش، تلقیح میکوریزائی، تحمل به شوری گوجه فرنگی را افزایش داده است. همچنین گیاهان تلقیح شده به میکوریزا در محیط شور، نسبت به تنش شوری تحمل بیشتری را نشان دادند لذا با توجه به نتایج فوق بایستی به دنبال روشهای مدیریتی صحیح برای تداوم پایداری و کاهش شوری در جهت رسیدن به عملکرد و رشد متعادل باشیم.

جدول ۱- تاثیر شوری آب آبیاری و تلقیح میکوریزی بر غلظت سدیم،کلر،پتاسیم و فسفر در شاخساره

میکوریزا	شوری آب آبیاری (دسی زیمنس بر متر) ۰/۹	۲	٤	٦	میانگین
			سدیم شاخساره		
C	۰/۸۳defg	۱/۱۳dcb	۱/۳۰ab	۱/۵۰a	۱/۱۹A
Inter	۰/٦۷fg	۰/۹۳dcef	۱/۰۲dceb	۱/۱۵cb	۰/۹٤B
Mosea	۰/۵۲g	۰/۷۲efg	۰/۸۰defg	۰/۸۰defg	۰/۷۱D
Inter Mosea	۰/۵۳g	۰/۷۵efg	۰/۸۵dcefg	۰/۸۲defg	۰/۷٤C
میانگین	۰/٦٤D	۰/۸۸C	۰/۹۹B	۱/۰۷A	----------
			کلر شاخساره		
C	۰/۹۸gh	۱/۷٦e	۲/۷۳bc	۳/۷۳a	۲/۳۰A
Inter	۰/۸۳gh	۱/۲۲gf	۲/۲۳d	۳/۰٦b	۱/۸٤B
Mosea	۰/٦۷h	۰/۸۷gh	۱/۵۰ef	۲/٤۲dc	۱/۳۷C
Inter Mosea	۰/٦۵h	۰/۸۵gh	۱/٤۷ef	۲/۵۰dc	۱/۳۷C
میانگین	۰/۷۸D	۱/۱۷C	۱/۹۸B	۲/۹۲A	----------
			پتاسیم شاخساره		
C	۵/۵۰cd	۵/۰۰ ed	٤/۰۰f	۳/۰۰ g	٤/۳۷D
Inter	٦/۵۰cb	٦/۰۰c	۵/۵۰cd	٤/۵۰fe	۵/٦۲C
Mosea	۷/۵۰a	٦/۳۳cb	٦/۰۰c	۵/۵۰cd	٦/۳۳A
Inter Mosea	٦/۱۷cb	٦/۳۳cb	۵/٦۷cd	٤/۸۳fed	۵/۷۵B
میانگین	٦/٤۲A	۵/۹۱B	۵/۲۹C	٤/٤۵D	----------
			فسفر شاخساره		
C	۱/۲۰ed	۰/۹۰f	۰/٦۰g	۰/٤۷g	۰/۷۹D
Inter	۱/٦۰cb	۱/٤۰cd	۱/۱۰ef	۱/۰۳ef	۱/۲۸C
Mosea	۱/۹۷a	۱/۹۷a	۱/۷۷ab	۱/۷۰ab	۱/۸۵B
Inter Mosea	۱/۹۷a	۱/۹۳a	۱/۹۰a	۱/۹۳a	۱/۹۳A
میانگین	۱/٦۸A	۱/۵۵B	۱/۳٤C	۱/۲۸D	----------

منابع

توسلی، ع. علی اصغر زاد، ن.، (۱۳۸۸) اثر قارچهای میکوریز آربوسکولار بر جذب عناصر غذایی و عملکرد پیاز در یک خاک شور در شرایط مزرعه‌ای. مجله دانش آب وخاک. جلد ۱۹ شماره ۱. سال۱۳۸۸.

زاهدی فر، م. ع.، رونقی، ع. ا.، و موسوی، ص. صفرزاده شیرازی. (۱۳۸۹). تاثیر سطوح شوری و نیتروژن بر رشد، عملکرد و جذب عناصر غذایی گوجه فرنگی تحت شرایط آبکشت. مجله علوم و فنون کشت های گلخانه ای، ۱ (۲)، ۴۰-۳۱.

صدری، م.، حیدریان پور، م.ب.، آزادی، ا.، و زارعی، م. (۱۳۹۰) اثر سطوح شوری، قارچ میکوریزا آربسکولار و ورمی کمپوست بر رشد و جذب عناصر غذایی در گیاه سورگوم. داوزدهمین کنگره علوم خاک ایران، تبریز، ایران.

فلاحیان، ف.ا.، عباسپور، ح.، فهیمی، ح.، و خاوری نژاد، ر.ع. (۱۳۸۵) بررسی تأثیر قارچ اندومیکوریز بر تغذیه معدنی و رشد گیاه پسته (pistacia vera L.) در شرایط شوری. مجله پژوهش و سازندگی در زراعت و باغبانی، (۶۷).

نادیان، ح. (۱۳۷۷) نقش مایکوریزا در کشاورزی پایدار. چکیده مقالات پنجمین کنگره علوم زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی کرج، کرج، ایران، ۴ـ۳.

یوسفی راد،م. ۱۳۸۶.تاثیر قارچ میکوریزا بر خصوصیات مرفولوژیکی و محتوای عناصر غذایی جو در سطوح مختلف شوری.مجله دانش نوین کشاورزی- سال پنجم شماره ۱۶،پاییز ۱۳۸۸.

Gulshan, N., Muanmmad, SH. and Nudrat_Aisha, A. (2008). Interactive effect of rooting medium application of phosphorus and NaCl plant biomass and mineral nutrients of rice(Oryza satval). Pak Journal of Botany, 40 (4), 1601- 1608.

Gunes, A. A. Inal , and L. Alpasalan, 1996. Effect of salinity on stomatal resistance, prolin and mineral composition of pepper. J. Plant Nutr. 19: 389-396.

Marschner, H., and Dell, B., (1994) Nutrient uptake in mycorrhizae symbiosis. Plant Soil, 159,89-102.

Nadian, H., M. Hashemi and S. J. Herbert. 2009. Soil aggregate size and mycorrhizal colonization effect on root growth and phosphorus accumulation by berseem clover. Commu. Soil Sci. Plant Ann. 40: 2413–2425.

Oelmüller R, Sherameti I, Tripathi S and Varma A, 2009. Piriformospora indica, a of leached nutrients. Functional Plant Biology., in presson the form of N supplied. Plant Cell Environ. 28: 1247-1254.

Sairam, R.K., Veerabharda, K., and Srivastava, G. C. (2002). Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress. On tioxidant activity and osmolyte concentration. Plant Science ،163(5), 1037 - 1046.

Sharma AK, 2002. Biofertilizers for Sustainable Agriculture. Agrobios, India. 407 pp.

تاثیر قارچ میکوریزا آربسکولار بر برخی از ویژگی های رشد و کلروفیل برگ در گیاه گوجه فرنگی تحت شرایط تنش شوری

صمد سپهی[1] ، حسن حقیقت نیا [2] ، فرهاد خورسندی[3]
۱- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم وتحقیقات فارس sdsepahi@yahoo.com
۲- عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی فارس
۳- استادیار گروه خاکشناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد داراب

مقدمه

تنش های محیطی از عوامل اصلی کاهش دهنده رشد و نمو و عملکرد گیاهان زراعی بشمار آمده و همواره امنیت غذایی انسان ها را تهدید می کنند. در مناطق خشک و نیمه خشک ، شوری منابع آب و خاک تولیدات محصولات زراعی را با چالش بزرگ روبرو ساخته است. برین (۱۳۸۵) بیان کرد که شوری از طریق صدمات اسمزی و ایجاد تنش خشکی، کاهش سطح برگ ،کاهش هدایت روزنه ای ، تجمع کلروسدیم در اندام ها و یا تخریب ساختمان کلروپلاست سبب کاهش فتوسنتز و در نتیجه ارتفاع ، وزن خشک و تر گیاه می شود. یکی از روش های نوین در جهت مقابله با تنش های محیطی بویژه تنش شوری استفاده از روش های بیوتکنولوژیکی مثل استفاده از قارچ های میکوریزی است که می تواند مقاومت گیاه گوجه فرنگی را مانند بسیاری از گیاهان دیگر تحت تاثیر قرار دهد. قارچ های میکوریزا با افزایش جذب عناصر غذایی، رشد و عملکرد گیاهان را در شرایط تنش شوری افزایش می دهند(Giri and makerji 2004) .نتایج مشابهی در رابطه با افزایش در وزن تر ریشه گیاه با تلقیح میکوریزائی توسط مردوخی و همکاران (۱۳۸۵) و Al-karaki (2000) گزارش شده. یکی از دلائل کاهش کلروفیل در تنش شوری ، اثر آنتاگونیسمی سدیم در جذب منیزیم است. همچنین میکوریزا می تواند سنتز کلروفیل در گیاه را افزایش دهد و کاهش کلروفیل می تواند از کاهش سدیم در شاخساره گیاهان میکوریزا نسبت به گیاهان غیر میکوریزی باعث شود.در واقع میکوریزا نقش شوری را در سنتز کلروفیل کاهش می دهد (Giri et al. 2004).

مواد و روشها

به منظور مشخص کردن وضعیت عناصر غذایی خاک، سایر پارامترهای لازم و توصیه کودی، مقدار کافی خاک بکر از افق سطحی(۰ تا ۳۰ سانتیمتری) از سه نقطه از محلی که خاک آن را مناسب جهت انجام آزمایش یعنی با قابلیت دسترسی کم فسفر(P = 4.00 ppm) تشخیص دادیم نمونه برداری به عمل آمد.این پژوهش بشکل گلدانی و بصورت فاکتوریل(۴*۴) در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی با چهار(۴) تکرار شامل ۶۴ گلدان صورت گرفت. ابعاد آماری طرح عبارت بودند از چهار سطح شوری آب آبیاری (۰/۹ ، ۲ ، ۴ و ۶ دسی زیمنس بر متر) و چهار تلقیح میکوریزائی شامل: ۱- شاهد(بدون تلقیح). ۲- تلقیح با گونه *Glomus intraradices* . ۳- تلقیح با گونه *Glomus mosseae* . و ۴- تلقیح با هر دو گونه(۲ و ۳). جهت انجام این آزمایش ابتدا خاک مورد نظر را که از قبل بمدت دو ساعت در درجه حرارت ۱۲۱ درجه سانتیگراد در دستگاه اتوکلاو استریل شده بود را، جهت خزانه کاری درون لیوانهای پلاستیکی با ظرفیت ۳۰۰ گرم ریخته شد ، سپس ۲ الی ۳ عدد بذر گوجه فرنگی

رقم S.P.A در آنها کشت و پس از جوانه زنی و چند برگی شدن ، گیاهانی که از لحاظ ظاهری کاملا" یکسان بودند را انتخاب و به گلدانهای اصلی انتقال داده شدند. برای هر گلدان ۸ کیلوگرم خاک در نظر گرفته شد. همزمان با این کار عمل تلقیح با مایه تلقیح قارچ های مورد نظر (برای هر گلدان ۱۰۰ گرم) بطوریکه کاملا" قارچ ها در اطراف ریشه گیاهچه ها قرار گرفتند انجام شد. در این پژوهش پیش از برداشت گیاه، ابتدا میزان کلروفیل برگ را با دستگاه Spad اندازه گیری کردیم سپس برداشت گیاه گوجه فرنگی ۶۰ روز پس از انتقال گیاهچه ها به گلدانهای اصلی و تا قبل از مرحله گل دهی انجام گرفت. بنابرین در پایان آزمایش ، گیاهان از سطح طوقه بریده شد و ریشه ها را به گونه ای که کمترین آسیب ببینند از خاک خارج و پس از شستشو با آب مقطر ، ارتفاع گیاه، وزن تر ریشه و اندام های هوائی بطور مجزا اندازه گیری گردید و سپس به مدت ۴۸ ساعت و در دمای ۶۵ درجه سلیسیوس در آون قرار داده ، وزن خشک آنها نیز بطور جداگانه اندازه گیری شد در نهایت با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف بین تیمارها بررسی گردید. ضمنا از نرم افزار آماری SAS برای انجام آزمون های فوق استفاده شد.

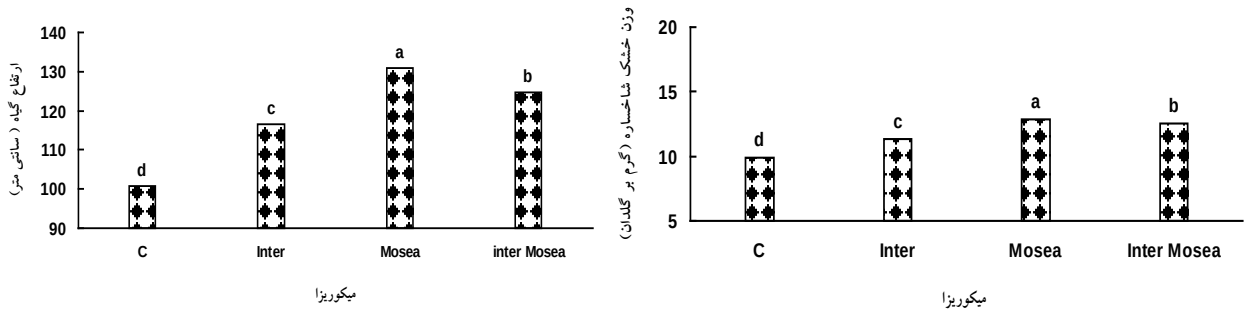
نتایج و بحث

همانطور که در جدول۱ مشخص است با افزایش شوری آب آبیاری به ۲ ، ۴ و ۶ دسی زیمنس بر متر میزان کلروفیل برگ ، وزن تر شاخساره ، وزن تر ریشه و وزن خشک ریشه گوجه فرنگی نسبت به شاهد کاهش پیدا کرد. همچنین در شوری ۰/۹ ،۲، ۴ و ۶ دسی زیمنس بر متر، تلقیح میکوریزا، وزن ترشاخساره گیاه را افزایش داد اما این افزایش معنی دار نبود. نتایج مشابهی در مورد گیاه جو میکوریزا شده در شرایط تنش شوری بدست آمد(Nourinia et al. 2007). در شوری های مختلف، تلقیح میکوریزا، سبب افزایش معنی دار وزن تر ریشه گوجه فرنگی شد. همچنین تلقیح میکوریزی در شوری های ۰/۹ ، ۲ ، ۴ و ۶ دسی زیمنس بر متر توانست وزن خشک ریشه را نیز افزایش دهد. چون در جدول تجزیه واریانس، میانگین اثر متقابل شوری و میکوریزا در وزن خشک شاخساره و ارتفاع گیاه معنی دار نشد بنابرین فقط نمودار اثر میکوریزا در ارتفاع و وزن خشک شاخساره در اینجا آورده شده بنابرین همانطور که در شکل-۱ پیداست با افزایش شوری آب آبیاری به ۲، ۴ و ۶ دسی زیمنس بر متر وزن خشک شاخساره و ارتفاع گیاه بطور معنی داری نسبت به شاهد کاهش پیدا کرد نتایج مشابهی توسط Abbaspour و همکاران (2005) گزارش شد. یوسفی راد و همکاران(۱۳۸۶) گزارش کردند شوری سبب کاهش معنی دار ارتفاع گیاهان میشود ولی بر تعداد برگ ساقه اصلی بی تاثیر است اما تلقیح میکوریزا توانست ارتفاع گیاه را بطور معنی داری نسبت به شاهد افزایش دهد همچنین تلقیح میکوریزائی ، وزن خشک شاخساره را بطور معنی داری نسبت به شاهد افزایش داد(شکل۱). با افزایش شوری، تلقیح میکوریزائی سبب افزایش میزان کلروفیل برگ نسبت به شاهد شد اما این افزایش فقط در تیمار *Mossea* نسبت به شاهد معنی دار شد(جدول۱). نتایج این آزمایش نشان داد که با افزایش شوری آب آبیاری، رشد گوجه فرنگی کاهش می یابد. همچنین این آزمایش نشان داد که تلقیح میکوریزائی با افزایش رشد گوجه فرنگی همراه بوده است، بهترین تلقیح میکوریزائی در بین تیمارها، *Mosseae* بود. بنابراین، با توجه به نتایج این آزمایش، تلقیح میکوریزا، تحمل به شوری گوجه فرنگی را افزایش داده است. همچنین گیاهان تلقیح شده به میکوریزا در محیط شور، نسبت به تنش شوری

تحمل بیشتری را نشان دادند لذا با توجه به نتایج فوق بایستی به دنبال روشهای مدیریتی صحیح برای تداوم پایداری و کاهش شوری در جهت رسیدن به عملکرد و رشد متعادل باشیم.

جدول -۱- تاثیر شوری آب آبیاری و تلقیح میکوریزا بر وزن ترشاخساره ، وزن تر و خشک ریشه و کلروفیل برگ در گیاه گوجه فرنگی

میکوریزا	شوری آب آبیاری (دسی زیمنس بر متر) ۰/۹	۲	۴	۶	میانگین
			وزن تر شاخساره		
C	۱۱۵/۶۷ ab	۱۰۸/۰۰cab	۹۸/۳۳cb	۸۸/۳۳c	۱۰۲/۵۸D
Inter	۱۲۰/۰۰a	۱۱۳/۰۰ab	۱۱۰/۶۷ab	۹۸/۳۳cb	۱۱۰/۵۰C
Mosea	۱۲۴/۰۰a	۱۱۸/۰۰ab	۱۱۶/۶۷ab	۱۰۸/۳۳cab	۱۱۶/۷۵A
Inter Mosea	۱۲۲/۳۳a	۱۱۷/۰۰ab	۱۱۴ab	۱۰۶/۶۷cab	۱۱۵/۰۰B
میانگین	۱۲۰/۵۰A	۱۱۴/۰۰B	۱۰۹/۹۱C	۱۰۰/۴۱D	----------
			وزن تر ریشه		
C	۶/۵۰cedf	۵/۰۰hgf	۳/۵۰hi	۲/۹۰l	۴/۴۷D
Inter	۷/۵۲cadb	۶/۸۰cedbf	۴/۲۰hgf	۴/۴۳hli	۵/۷۳C
Mosea	۹/۰۰a	۸/۵۰ab	۷/۰۰cedb	۶/۲۳cedf	۷/۶۸A
Inter Mosea	۸/۵۰ab	۸/۰۰cab	۷/۰۰cedb	۵/۹۳cdgf	۷/۳۵B
میانگین	۷/۸۸A	۷/۰۸B	۵/۴۲C	۴/۸۷D	----------
			وزن خشک ریشه		
C	۱/۰۷cb	۰/۹۲cb	۰/۷۲c	۰/۵۸c	۰/۸۲D
Inter	۱/٤۰ab	۱/۱۷cab	۱/۰٦cb	۰/۹۸cb	۱/۱۵C
Mosea	۱/۷۰a	۱/۵۲ab	۱/٤۲ab	۱/۳۲ab	۱/٤۹A
Inter Mosea	۱/٦۷a	۱/٤۵ab	۱/۳۸ab	۱/٤۰ab	۱/٤۸B
میانگین	۱/٤٦A	۱/۲٦B	۱/۱٤C	۱/۰۷D	----------
			کلروفیل برگ		
C	۱٤/۵۰cadb	۱۲/٦۷ ced	۱۰/۸۳ef	۹/۳۳f	۱۱/۸۳D
Inter	۱۵/۵۰ cab	۱٤/۱۷cadb	۱۳/٦۷cedb	۱۱/۸۳edf	۱۳/۷۹C
Mosea	۱۷/٤۰a	۱٦/۱۷ab	۱۵/٦۷cab	۱۳/۹۷cedf	۱۵/۸۰A
Inter Mosea	۱۵/۵۰cab	۱۵/۱۷cab	۱۳/۸۳cedb	۱۱/۵۰edf	۱٤/۰۰B
میانگین	۱۵/۷۲A	۱٤/۵٤B	۱۳/۵۰C	۱۱/٦۵D	----------



نمودار ۱- تاثیر تلقیح میکوریزا بر وزن خشک شاخساره و ارتفاع گیاه گوجه فرنگی

منابع

برین م.، علی اصغرزاده ن .و صمدی ع .۱۳۸۵ . اثر شوری حاصل کلرید سدیم و مخلوط املاح بر غلظت پرولین و برخی شاخص های رشد: گوجه فرنگی در همزیستی با قارچهای میکوریز آربوسکولار .مجله علوم کشاورزی ایران .۳۷ ۱۳۹-۱۴۷

مردوخی ب.و رجالی ف.۱۳۸۵. نقش قارچ های میکوریز آربوسکولار در جذب عناصر غذائی و عملکرد گندم در شرایط شور.پایان نامه کارشناسی ارشد خاکشناسی، دانشگاه تربیت مدرس.

یوسفی راد،م. ۱۳۸۶.تاثیر قارچ میکوریزا بر خصوصیات مرفولوژیکی و محتوای عناصر غذایی جو در سطوح مختلف شوری.مجله دانش نوین کشاورزی- سال پنجم شماره ۱۶،پاییز ۱۳۸۸

Abbaspour, H.F. Fallahyan and Fahimi. 2005."effect of endomycorrhizal fungi and salt stress on nutrient acquisition and growth pistacia vera L."Pakistan journal of biological Sciences 8: 1006-1010.

AL- Karaki, G.N. (2000) Growth of mycorrhizal tomato and mineral acquisition under salt stress. Mycorrhiza, 10, 51-54.

Giri, B., and Makerji, K.G. (2004) mycorrhizal inoculant alleviates salt stress in sesbania aegyptiaca and sasbania grandiflora under field conditions: ecidence for reduced sodium and imprpved magnesium uptake. Mycorrhiza, 14, 307-312.

Nouriana, A. A., E FAghani, F. Rejali, A.Safarnezhad, A. and M. R. Abbasi. 2007."Evaluation effect of symbiosis of mycorrhiza on 74-yield components of barley genotypes under salinity stress". Asian plant Sciences journal 6: 1108-1112.

تاثیر قارچ میکوریزا آربسکولار بر غلظت آهن،منگنز، روی و مس در گیاه گوجه فرنگی تحت شرایط تنش شوری

صمد سپهی[1] ، حسن حقیقت نیا [2] ، فرهاد خورسندی[3]
۱ دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم وتحقیقات فارس sdsepahi@yahoo.com
۲ عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی فارس
۳ استادیار گروه خاکشناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد داراب

مقدمه

تنش های محیطی از عوامل اصلی کاهش دهنده رشد و نمو و عملکرد گیاهان زراعی بشمار آمده و همواره امنیت غذایی انسان ها را تهدید می کنند. . تنش شوری از تنشهای غیر زنده مهم است که اثرات زیانباری بر عملکرد گیاه و کیفیت محصول دارد. شوری برای رشد گیاه یک عامل محدود کننده است. بدان سبب که باعث ایجاد محدودیتهای تغذیه ای از طریق کاهش جذب فسفر، پتاسیم، نیترات و کلسیم، افزایش غلظت یونی درون سلولی و تنش اسمزی می گردد .حال سوال اساسی این است که چه راهکارهایی را می توان جهت کاهش اثرات سوء تنش شوری بر گیاه بکار برد؟یکی از روش های نوین در جهت مقابله با تنش های محیطی بویژه تنش شوری استفاده از روش های بیوتکنولوژیکی مثل استفاده از قارچ های میکوریزی است که می تواند مقاومت گیاه گوجه فرنگی را مانند بسیاری از گیاهان دیگر تحت تاثیر قرار دهد. قارچ مایکوریزا می تواند در خاکهای فقیر از فسفر گسترش یافته و باعث افزایش جذب فسفر و در نتیجه افزایش رشد و عملکرد گیاه گردد(نادیان ۱۳۷۷). به نظر می‌رسد قارچ‌های میکوریز از طریق ترشح انواعی از سیدروفورها و کلاته کردن آهن توانسته‌اند جذب و انتقال آهن را افزایش دهند (انتشاری و حاجی هاشمی ۱۳۸۹). کاهش غلظت منگنز در اثر شوری توسط امیر آبادی و همکاران (۱۳۸۷) گزارش شد. همزیستی میکوریزایی می تواند با افزایش طول ریشه ها و همچنین افزایش سطح جذب توسط ریسه‌های قارچی، جذب عناصر غیر متحرک از جمله روی را افزایش دهد (Kothari et al. 1991). میزان مس موجود در محلول خاک بسیار اندک بوده و از طرف دیگر ضریب پخشیدگی این عنصر در خاک بسیار کم است. این دو عامل باعث می‌شود تا در گیاهان میکوریزایی میزان مس جذب شده بیشتر از گیاهان غیر میکوریزایی باشد (Marschner and dell 1994).

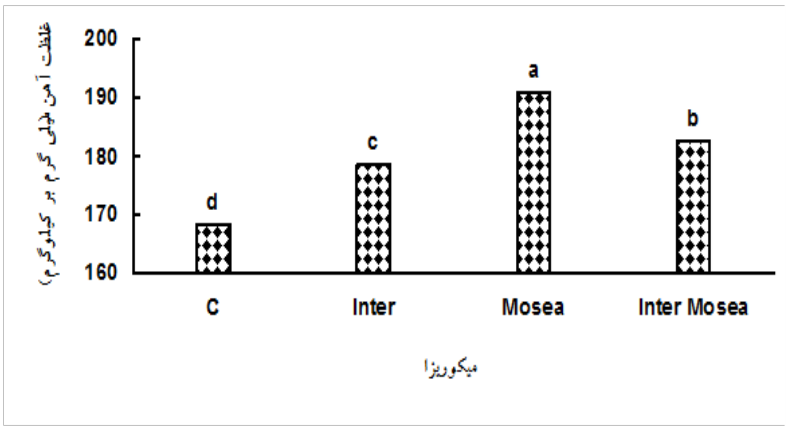
مواد و روشها

به منظور مشخص کردن وضعیت عناصر غذایی خاک، مقدار کافی خاک بکر از افق سطحی(۰ تا ۳۰ سانتیمتری) از سه نقطه از محلی که خاک آن را مناسب جهت انجام آزمایش یعنی با قابلیت دسترسی کم فسفر(P = 4.00 ppm) تشخیص دادیم نمونه برداری به عمل آمد. این پژوهش بشکل گلدانی و بصورت فاکتوریل(۴*۴) در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی با چهار(۴) تکرار شامل ۶۴ گلدان صورت گرفت. ابعاد آماری طرح عبارت بودند از چهار سطح شوری آب آبیاری (۰/۹ ، ۲ ، ۴ و ۶ دسی زیمنس بر متر) و چهار تلقیح میکوریزائی شامل: ۱- شاهد(بدون تلقیح). ۲- تلقیح با گونه3 . Glomus intraradices- تلقیح با گونه Glomus mosseae . و ۴- تلقیح با هر دو گونه(۲ و ۳). جهت انجام این آزمایش ابتدا خاک مورد نظر را که از قبل بمدت دو ساعت در درجه حرارت ۱۲۱ درجه سانتیگراد در دستگاه اتوکلاو استریل شده بود را، جهت خزانه کاری درون لیوانهای پلاستیکی ریخته شد ، سپس ۲ الی ۳ عدد بذر گوجه فرنگی رقم S.P.A در آنها کشت و پس از جوانه زنی و چند برگی شدن ، گیاهانی که از لحاظ ظاهری کاملا" یکسان بودند را انتخاب و به گلدانهای اصلی انتقال داده

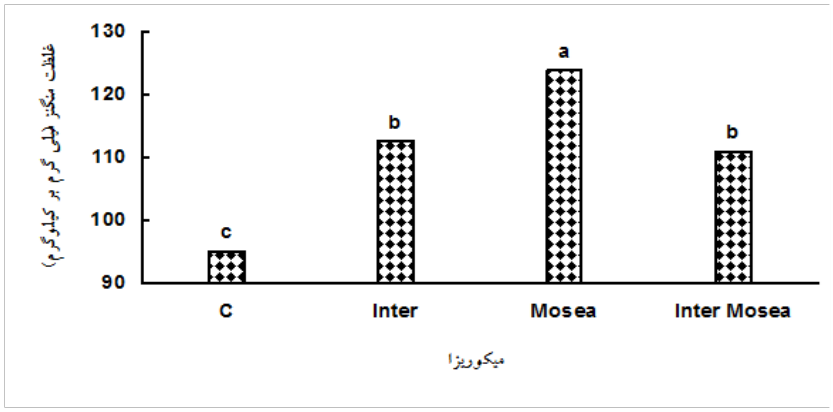
شدند. برای هر گلدان ۸ کیلوگرم خاک در نظر گرفته شد. همزمان با این کار عمل تلقیح با مایه تلقیح قارچ های مورد نظر (برای هر گلدان ۱۰۰ گرم) بطوریکه کاملا" قارچ ها در اطراف ریشه گیاهچه ها قرار گرفتند انجام شد. سپس تا مدت ۲۰ روز و تا زمانیکه بوته ها به رشد و اندازه کافی و قدرت لازم جهت اعمال تنش شوری برسند گلدانها را بوسیله آب شهری(شوری شاهد) با میزان یک لیتر آب برای هر گلدان آبیاری شدند. برداشت گیاه گوجه فرنگی ۶۰ روز پس از انتقال گیاهچه ها به گلدانهای اصلی و تا قبل از مرحله گل دهی انجام گرفت. در پایان آزمایش، گیاهان از سطح طوقه بریده شد و ریشه ها را به گونه ای که کمترین آسیب ببینند از خاک خارج و پس از شستشو با آب مقطر، به مدت ۴۸ ساعت و در دمای ۶۵ درجه سلیسیوس در آون قرار داده تا کاملا خشک شدند . بمنظور تعیین عناصر غذائی گیاه ، پس از آسیاب نمودن گیاهان خشک شده ، نمونه یک گرمی از هر تیمار در کوره الکتریکی در دمای ۵۵۰ درجه سانتیگراد خاکستر کرده و میزان عناصر آهن، منگنز، روی و مس اندام هوائی با دستگاه جذب اتمی اندازه گیری شد. در نهایت با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف بین تیمارها بررسی گردید. ضمنا از نرم افزار آماری SAS برای انجام آزمون های فوق استفاده شد.

نتایج و بحث

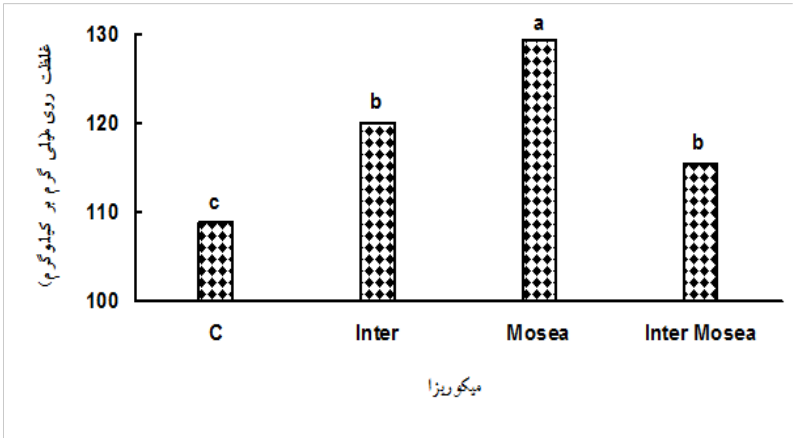
با افزایش شوری آب آبیاری به ۲، ۴ و ۶ دسی زیمنس بر متر، غلظت آهن در شاخساره گوجه فرنگی بطور معنی داری کاهش یافت اما تلقیح میکوریزائی توانست غلظت آهن را بطور معنی داری افزایش دهد (شکل۱).افزایش شوری آب آبیاری به ۲، ۴ و ۶ دسی زیمنس بر متر، غلظت منگنز شاخساره را بطور معنی داری کاهش داد. کاهش غلظت منگنز در اثر شوری توسط امیر آبادی و همکاران (۱۳۸۷) گزارش شد. اما همانگونه که در شکل ۲ مشخص است تلقیح میکوریزائی غلظت منگنز را بطور معنی داری نسبت به شاهد افزایش داد و بهترین تلقیح میکوریزائی در افزایش غلظت منگنز تیمار Mosseae بود. افزایش شوری آب آبیاری توانست غلظت روی شاخساره را در گیاه بطور معنی داری کاهش دهد. اما تلقیح میکوریزائی غلظت روی را بطور معنی داری افزایش داد(شکل۳). همزیستی میکوریزایی می تواند با افزایش طول ریشه ها و همچنین افزایش سطح جذب توسط ریسه‌های قارچی، جذب عناصر غیر متحرک از جمله روی را افزایش دهد(Kothari et al. 1991). با افزایش شوری آب آبیاری به ۲، ۴ و ۶ دسی زیمنس بر متر، غلظت مس بطور معنی داری کاهش یافت. کاهش غلظت مس در اثر شوری توسط صفرزاده شیرازی و همکاران (۱۳۸۹) گزارش شد. ولی تلقیح میکوریزائی توانست غلظت مس را بطور معنی داری افزایش دهد(شکل۴). میزان مس موجود در محلول خاک بسیار اندک بوده و از طرف دیگر ضریب پخشیدگی این عنصر در خاک بسیار کم است. این دو عامل باعث می‌شود تا در گیاهان میکوریزایی میزان مس جذب شده بیشتر از گیاهان غیر میکوریزایی باشد) Marschner and dell 1994 (.بنابراین، با توجه به نتایج این آزمایش، تلقیح میکوریزا، تحمل به شوری گوجه فرنگی را افزایش داده است. همچنین گیاهان تلقیح شده به میکوریزا در محیط شور، نسبت به تنش شوری تحمل بیشتری را نشان دادند لذا با توجه به نتایج فوق بایستی به دنبال روشهای مدیریتی صحیح برای تداوم پایداری و کاهش شوری در جهت رسیدن به عملکرد و رشد متعادل باشیم.



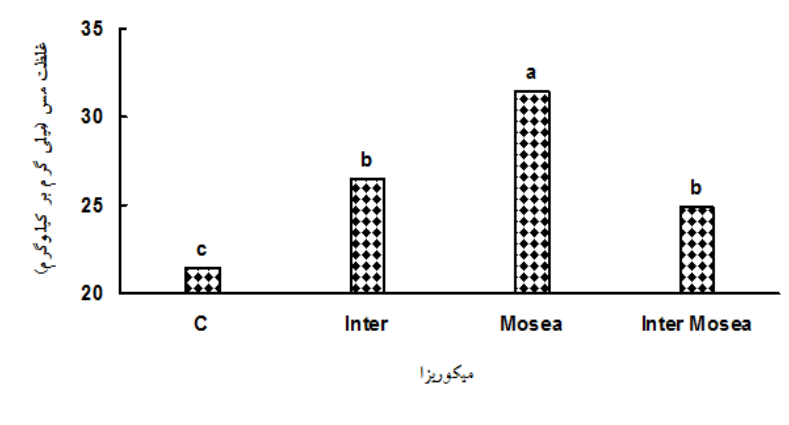
شکل۱- تاثیر تلقیح قارچ میکوریزا بر غلظت آهن شاخساره در گیاه گوجه فرنگی



شکل۲- تاثیر تلقیح قارچ میکوریزا بر غلظت منگنز شاخساره در گیاه گوجه فرنگی



شکل۳- تاثیر تلقیح قارچ میکوریزا بر غلظت روی شاخساره در گیاه گوجه فرنگی



شکل ٤- تاثیر تلقیح قارچ میکوریزا بر غلظت مس شاخساره در گیاه گوجه فرنگی

منابع

امیرآبادی، م.، رجالی، ف.، اردکانی، م.ر.، و برجی، م. (۱۳۸۷) تاثیر کاربرد مایه تلقیح ازتوباکتر و قارچ میکوریزایی بر جذب برخی عناصر معدنی توسط ذرت علوفه ای (رقم سینگل کراس ۷۰۴) در سطوح مختلف فسفر . مجله پژوهش‌های خاک،(۲۳) ، ۱۰۷-

انتشاری، ش.، و حاجی هاشمی، ف. (۱۳۸۹) تاثیر دو گونه قارچ میکوریزآربوسکولار بر گره‌زایی ریشه و میزان جذب برخی عناصردر گیاه سویا تحت شرایط تنش شوری. نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی). جلد ۲۴. ،(۳)، ۳۲۳-۳۱۵.

نادیان، ح. (۱۳۷۷) نقش مایکوریزا در کشاورزی پایدار. چکیده مقالات پنجمین کنگره علوم زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی کرج، کرج، ایران، ۴ـ۳.

صفرزاده شیرازی، ص.، رونقی، ع. م.، غلامی، ع. ص.، و زاهدی فر، م. (۱۳۸۹). اثر شوری و نیتروژن بر کیفیت میوه و غلظت عناصر کم مصرف گوجه فرنگی در کشت هیدروپونیک. مجله علوم و فنون کشت های گلخانه ای. (۳)، ۱۱-۲۱

Kothari S.K., H. Marschner and V. Romheld. 1991. Contribution of the VA mycorrhizal hyphae in acquisition of phosphorus and zinc by maize grown calcareous soil. Plant and Soil, 131: 177–185.

Lindsay, W. L., and Norvell, W. A. (1979). Development of a DTPA soil test for Zn, Fe, Mn, Cu. Soil Science Society America Journal, 42, 421-428.

Marschner, H., and Dell, B., (1994) Nutrient uptake in mycorrhizae symbiosis. Plant Soil, 159,89-102.

بررسی تأثیر کود بیولوژیک بر تغییرات تنفس در دو نوع بافت خاک تحت کشت گندم

فاطمه امیری فارسانی[۱]، مصطفی چرم[۲]، نعیمه عنایتی ضمیر[۳]
۱-کارشناسی ارشد خاکشناسی ۲- دانشیار دانشگاه شهید چمران اهواز ۳- استادیار دانشگاه شهید چمران اهواز

مقدمه

حاصلخیزی بیولوژیک خاک عبارت است از توان موجودات خاکزی برای تأمین نیازهای غذایی گیاهان، در عین حال حفظ فرایند بیولوژیک که تأثیر مثبتی بر وضعیت فیزیکی و شیمیایی خاک دارد (ابوت و مورفی، ۱۹۶۹). کودهای بیولوژیک تولیداتی آلی هستند که شامل سلولهای زنده انواع میکروارگانیسم‌ها از جمله باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن مانند ریزوبیوم و حل کننده‌های فسفات می‌باشند و توانایی تبدیل عناصر غذایی از فرم غیرمحلول به فرم محلول را از طریق فرایندهای بیولوژیکی دارند (وسی و همکاران، ۲۰۰۳). تجمع دی‌اکسید کربن یکی از شاخص‌های مهم برای فعالیت میکروبی و تجزیه مواد آلی می‌باشد (پیوتروسکا و همکاران،۲۰۱۲). محمود و محمد (۲۰۰۸) بیان نمودند کودهای بیولوژیک با افزایش قابلیت دسترسی عناصر غذایی نیتروژن، فسفر و پتاسیم موجب افزایش موجودات ذره‌بینی خاک‌های زراعی گندم می‌شوند. جایاما (۲۰۰۸) افزایش بیومس میکروبی و فعالیت آنزیمی در محیط ریشه گیاه در تلقیح با باکتری‌های حل کننده فسفر و آزوسپیریلیوم را در مقایسه با عدم تلقیح مشاهده کرد و بیشترین جمعیت باکتری‌ها و قارچ‌ها را در تیمار کاربرد کود بیولوژیک به علاوه ۷۵ درصد کود شیمیایی گزارش نمود. آزمایشات دینش و همکاران (۲۰۱۰) نشان داد استفاده از کودهای آلی و کودهای بیولوژیک اثرات مثبتی روی تنفس خاک نشان داد. این تحقیق با هدف بررسی اثر کودهای بیولوژیک و شیمیایی بر میزان تنفس میکروبی خاک تحت کشت گندم در دو نوع بافت خاک انجام گرفت.

مواد و روشها

این تحقیق در سال زراعی ۹۱-۱۳۹۰ در دانشگاه شهید چمران اهواز در یک بررسی گلخانه‌ای به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. فاکتورهای آزمایش شامل دو نوع بافت خاک (بافت لوم شنی و لوم رسی) و ۹ تیمار کودی (T_1: عدم تلقیح کود بیولوژیک (شاهد)، T_2: کود بیولوژیک ازته نیتروکارا، T_3: کود بیولوژیک فسفره، T_4: کود بیولوژیک ازته نیتروکارا +کود بیولوژیک فسفره، T_5: کود بیولوژیک ازته نیتروکارا + ۵۰ درصد NPK ، T_6: کود بیولوژیک فسفره +۵۰ درصد NPK ، T_7: کود بیولوژیک ازته نیتروکارا + کود بیولوژیک فسفره + ۵۰ درصد NPK ، T_8: ۵۰ درصد NPK ، T_9: ۱۰۰ درصد NPK) بود.

قبل از اجرای طرح ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی نمونه خاک‌ها در آزمایشگاه تعیین شد که نتایج آن در جدول ۱ نشان داده شده است. بر اساس آزمون خاک و نیازهای غذایی گندم، کود شیمیایی اوره به‌عنوان منبع نیتروژن (۱۰۰ کیلوگرم در هکتار) و کود سوپر فسفات تریپل و کود سولفات پتاسیم (۵۰ کیلوگرم در هکتار) به ترتیب به عنوان منبع فسفر و پتاسیم استفاده شد. کودهای بیولوژیک نیتروکارا و فسفاته بارور ۳ به میزان ۱۰۰ گرم در هکتار مورد استفاده قرار گرفتند. نام علمی ریزسازواره تثبیت کننده ازت موجود در کود زیستی نیتروکارا *Azorhizobium caulinodans* می‌باشد و نام علمی ریزسازواره حل کنندهٔ فسفر موجود در کود بیولوژیک فسفاته بارور ۳، *Pseudomonas putida P13*، *Pantoea agglomerans P5* و *Pseudomonas putida MC1* می‌باشد

که به میزان 10^{9} CFU/g در بسته‌های کود بیولوژیک تولید می شوند. قبل از کشت بر اساس تیمارها بذور گندم (رقم چمران) با محلول کود بیولوژیکی با رقت مناسب آغشته شد و پس از کمی خشک شدن ۲۰ بذر در گلدان‌ها کشت شد و پس از جوانه زدن ۱۰ بذر در گلدان‌ها تا زمان برداشت نگهداری شد. میزان تنفس خاک به روش اندرسون (اندرسون، ۱۹۸۲) قبل از برداشت و بعد از برداشت گیاه اندازه‌گیری شد و مقدار CO_2 آزاد شده محاسبه و بر حسب میلی‌گرم CO_2–C در کیلوگرم خاک خشک گزارش گردید. داده‌های حاصل با استفاده از نرم افزارهای آماری SAS تجزیه واریانس و با استفاده از نرم افزار MSTAT-C و آزمون دانکن در سطح ۵ درصد مقایسه میانگین شدند و نمودارها در محیط EXCEL ترسیم گردید.

جدول (۱) خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه قبل از کاشت

شماره خاک	بافت خاک	هدایت الکتریکی ($ds\ m^{-1}$)	اسیدیته	نیتروژن (٪)	فسفر قابل جذب ($mg\ kg^{-1}$)	ماده آلی (٪)	پتاسیم محلول ($meq\ lit^{-1}$)	منیزیم محلول ($meq\ lit^{-1}$)
خاک ۱	لوم شنی	۲/۱۱	۷/۶۵	۰/۰۶۵	۱۱/۸۷	۰/۶۷	۰/۷	۵/۸
خاک ۲	لوم رسی	۲/۸۱	۷/۷۰	۰/۰۹۴	۱۳/۳۲	۰/۹۶	۰/۷۲	۸/۲

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس ارائه شده در جدول۲ نشان می‌دهد تأثیر عامل کود و بافت خاک بر میزان تنفس میکروبی خاک قبل از برداشت در سطح یک درصد معنی‌دار گردید و بعد از برداشت گیاه عامل کود در سطح یک درصد و عامل بافت خاک در سطح ۵ درصد بر میزان تنفس میکروبی خاک معنی‌دار گردید.

جدول (۲) نتایج تجزیه واریانس تأثیر تیمارها بر میزان تنفس خاک قبل و بعد از برداشت گیاه

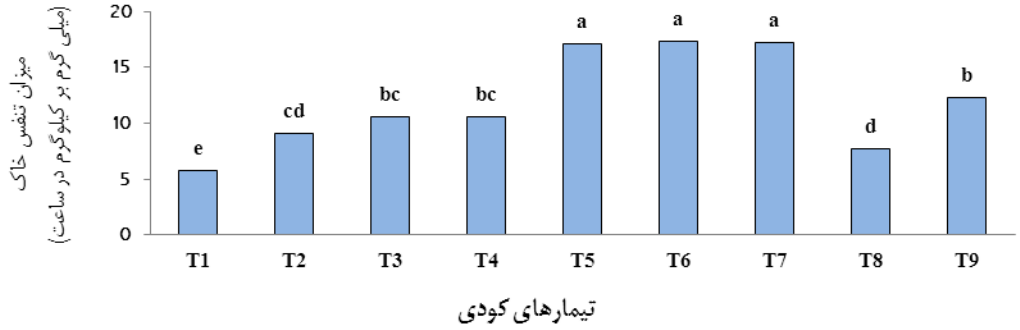
منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		تنفس (قبل از برداشت گیاه)	تنفس (بعد از برداشت گیاه)
کود	۸	۱۱۵/۰۶۸***	۱۱/۴۴۳***
بافت خاک	۱	۲۸/۹۹۸***	۵/۲۰۱*
کود × بافت خاک	۸	۰/۴۳۲^{ns}	۰/۱۷۴^{ns}
خطا	۳۶	۲/۲۰۶	۰/۷۳۳
ضریب تغییرات		۱۲/۴۳۵	۱۸/۵۴۴

^{ns} فاقد تفاوت معنی‌دار * و ** به ترتیب معنی داری در سطح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۰۱

۱- تأثیر تیمارهای کودی بر میزان تنفس میکروبی خاک

نتایج مقایسه میانگین در شکل ۱ و ۲ نشان داد تلقیح کودهای بیولوژیک تأثیر مثبتی در افزایش تنفس میکروبی خاک داشت. بیشترین میزان تنفس خاک قبل و بعد از برداشت گیاه در تیمارهای کود بیولوژیک فسفره در تلفیق با ۵۰ درصد کود شیمیایی، کود بیولوژیک نیتروکارا به‌علاوه فسفره در تلفیق با ۵۰ درصد کود شیمیایی و کود

بیولوژیک نیتروکارا در تلفیق با ۵۰ درصد کود شیمیایی مشاهده گردید. کمترین میزان تنفس خاک قبل و بعد از برداشت گیاه در عدم تلقیح کود بیولوژیک مشاهده گردید. کاهش تنفس خاک بعد از برداشت گیاه می‌تواند در نتیجه کاهش تعداد و فعالیت میکروارگانیسم‌های خاک در نتیجه تنش خشکی ایجاد شده به‌علت عدم آبیاری گلدان‌ها باشد. کودهای بیولوژیک در تلفیق با کودهای شیمیایی افزایش معنی‌داری را در میزان تنفس خاک در مقایسه با کاربرد کودهای شیمیایی و کودهای بیولوژیک به‌تنهایی ایجاد می‌کند بنابراین کودهای شیمیایی و کودهای بیولوژیکی به‌تنهایی نمی‌توانند اثرات کودهای بیولوژیک در تلفیق با کودهای شیمیایی را بر میزان تنفس خاک گیاه ایجاد کنند. کودهای بیولوژیکی تنفس میکروبی را افزایش داده و همراه با کودهای شیمیایی این اثر تشدید می‌شود، کودهای بیولوژیک و شیمیایی با افزایش قابلیت دسترسی عناصر غذایی از طریق افزایش فعالیت و جمعیت میکروارگانیسم‌ها می‌توانند تنفس میکروبی خاک را افزایش دهند. پیتوسکا و همکاران (۲۰۱۲) بیان داشتند کود بیولوژیک موجب افزایش تجمع دی‌اکسیدکربن در مقایسه با شاهد خاک در طی ۴۸ ساعت گردید. بررسی دینش و همکاران (۲۰۱۰) اثر مثبت استفاده از کودهای بیولوژیک روی تنفس خاک را نشان داد.
به طور کلی نتایج نشان داد کودهای بیولوژیک نیتروکارا و فسفره نقش مثبتی در افزایش تنفس میکروبی خاک در مقایسه با عدم تلقیح کود بیولوژیک دارد. از آنجایی که تصاعد دی اکسید کربن خاک نمایانگر فعالیت تنفسی ریزجانداران خاک می‌باشد می‌توان امیدوار بود کاربرد کودهای بیولوژیک همراه با مصرف مقادیر کمتری از کود شیمیایی موجب افزایش حاصلخیزی بیولوژیک و بهبود خصوصیات فیزیکوشیمیایی و بیولوژیکی خاک گردند.



شکل (۱) تأثیر تیمارهای کودی بر میزان تنفس خاک قبل از برداشت گیاه

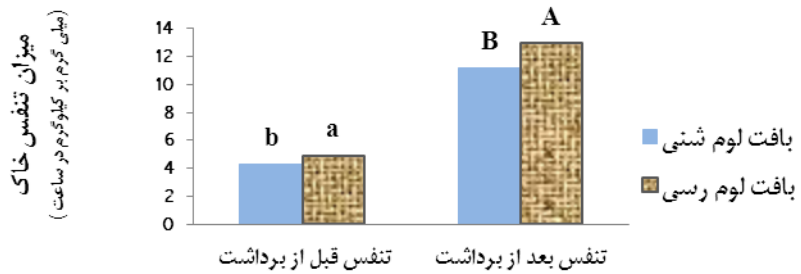


شکل (۲) تأثیر تیمارهای کودی بر میزان تنفس خاک بعد از برداشت گیاه

T_1: عدم تلقیح کود بیولوژیک و کاربرد کود شیمیایی، T_2: کود بیولوژیک ازته نیتروکارا، T_3: کود بیولوژیک فسفره، T_4: کود بیولوژیک ازته نیتروکارا +کود بیولوژیک فسفره، T_5: کود بیولوژیک ازته نیتروکارا + ۵۰ درصد NPK ، T_6: کود بیولوژیک فسفره +۵۰ درصد NPK ، T_7: کود بیولوژیک ازته نیتروکارا + کود بیولوژیک فسفره + ۵۰ درصد NPK ، T_8: ۵۰ درصد NPK ، T_9: ۱۰۰ درصد NPK.

۲- تأثیر نوع بافت خاک بر میزان تنفس خاک

نتایج مقایسه میانگین در شکل۳ نشان داد که میزان تنفس قبل از برداشت و بعد از برداشت در بافت لوم رسی در مقایسه با لوم شنی بیشتر بود. تصاعد دی اکسیدکربن نمایانگر فعالیت تنفسی ریزجانداران خاک است. بعد از برداشت گیاه به علت عدم آبیاری، تنش خشکی ایجاد شده موجب کاهش فعالیت میکروارگانیسم‌های خاک در هر دو بافت خاک گردیده است. ابوت و مورفی (۱۹۶۹) بیان داشتند غالباً همبستگی خوبی بین مقدار رس و زیست توده میکروبی خاک دیده شده است که در نتیجه‌ی همبستگی بین مقدار رس و ماده آلی خاک می‌باشد. بنابراین با توجه به بالا بودن رطوبت و عناصر غذایی و مواد آلی در بافت لوم رسی نسبت به لوم شنی می‌توان افزایش میزان تنفس خاک در بافت لوم رسی را در نتیجه افزایش جمعیت و فعالیت میکروارگانیسم‌ها توجیه کرد.



شکل(۳) تأثیر نوع بافت خاک بر میزان تنفس خاک

منابع

Abbott lk and Murphy dv, 1969 .soil biological fertility: a key to sustainable land use in agriculture. Kelower academic publisher.

Anderson JPE, 1982. Soil respiration. In: Methods of soil analysis. Part 2: Chemical and Microbiological Propertiese , page AL and Miller RH (Eds.). American Society of Agronomy, Madiso.

Dinesh R, Srinivasan V, Hamza S, Manjusha A, 2010. Short-term incorporation of organic manures and biofertilizers influences biochemical and microbial characteristics of soils under an annual crop [*Turmeric (Curcuma longa L.)*]. Bioresour Technol 101(12):4697-4702.

Jayamma, N, 2008. Response of jasmine *(Jasminum auriculatum)* to biofertilizer application, Thesis submitted to the University of Agricultural Sciences. University of Agricultural Sciences, Dharwad.

Mahmoud AA and Mohamed HFY, 2008. Impact of bio-fertilizers application on improving wheat *(Triticum aestivum L.)* resistance to salinity. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences 4(5): 520-528.

Piotrowska A, Dlugosz J, Zamorski R and Bogdanowicz P, 2012. Changes in Soil and Biological Chemical Properties of an Arable Soil Treated with the Microbial Biofertilizer. Journal of Environmental Studies 21(2):455-463.

Vessy K, 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizars. Plant and Soil 255: 571-586.

بررسی اثر رشد و پوسیدگی ریشه گیاه بر پالایش باکتری در ستون‌های خاک شنی لومی

مولود عالیپور شهنی [۱]، احمد فرخیان فیروزی [۲]، حسین معتمدی [۳]، علی کرایی [٤]
۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز
۲- استادیار، گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز
۳- استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز
٤- دانشجوی کارشناسی ارشد خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز
molood2008@yahoo.com

مقدمه

آلودگی آب‌های زیرزمینی و سطحی توسط کاربرد کودهای دامی در بخش کشاورزی به عنوان مشکلی جدّی برای محیط زیست ثبت شده است. بیماری‌های منتقله از آب[۱] مطلبی است که در سرتاسر تاریخ تکامل انسان مطرح بوده است. علی‌رغم اینکه در امر تصفیه آب و پساب پیشرفت چشم‌گیری انجام گرفته است ولی باز هم بیماری‌های منتقله از آب جامعه بشری را تهدید می‌کند. حفظ سلامت عمومی و محیطی نیازمند آب آشامیدنی مناسب است، بدین معنی که عاری از باکتری‌های بیماری‌زا باشد. مطالعات گوناگون نشان داده‌اند که مسیرهای سهل‌الوصول ایجاد شده توسط منافذ درشت حاصل از رشد و پوسیدگی گیاهان و درز و شکاف‌ها در خاک سبب انتقال سریع میکروب‌های بیماری‌زا به لایه‌های زیرین خاک و آب‌های زیرزمینی می‌گردند (جامیسون و همکاران، ۲۰۰۲). بررسی‌های شلتون و همکاران (۲۰۰۳) نشان داد میانگین سرعت انتقال باکتری ۷ برابر بیشتر از میانگین سرعت آب منفذی بود. آنها علّت این پدیده را وجود معابر فرعی جریان در ماتریکس خاک بیان نمودند.

مصدقی و همکاران (۲۰۰۸) به بررسی اثر پسماند آلی و ساختمان خاک روی انتقال باکتری در ستون‌های خاک دست‌نخورده در شرایط غیراشباع پرداختند. بدین منظور ستون‌های خاک به ارتفاع ۲۵ و قطر ۱۶ سانتی‌متر از بافت لومی‌رسی‌شنی و شنی‌لومی را انتخاب و آنها را با کودهای گاوی، مرغی و لجن فاضلاب به مقدار ۱۰ تن در هکتار (بر اساس وزن خشک) آلوده نمودند. سپس با برقراری جریان ماندگار با ۴/۸ سانتی متر بر ساعت آبشویی شد. غلظت باکتری با روش شمارش پلیت اندازه گیری شد. ضریب پالایش و شاخص نسبی جذب و E. coli و کل باکتری ها در بافت شنی لومی نسبت به بافت لومی رسی شنی بیشتر بودند که نشان دهنده نقش ساختمان خاک و وجود مسیرهای ترجیحی ناشی از منافذ درشت در بافت لومی رسی شنی بود. بطورکلی نتایج پژوهش آنها نشان داد که ساختمان خاک و در نتیجه جریان‌های ترجیحی در انتقال E. coli در ستون‌های دست‌نخورده با اهمیّت‌تر از بافت خاک و مکان های جذب است.

زند سلیمی و همکاران (۱۳۸۵) در پژوهشی به بررسی اثر ویژگی‌های فیزیکی خاک و کودهای آلی بر حرکت باکتری اشریشیاکولی آلوده کننده آب‌های زیرزمینی در ستون‌های خاک دست‌نخورده غیر اشباع پرداختند. آن‌ها

1- Water Borne Disease (WBD)

به این نتیجه رسیدند که خاک لوم‌رسی‌شنی نسبت به لوم شنی باکتری بیشتری را از خود عبور داده و شدت آلودگی زهاب در آن بالاتر است. آن‌ها علّت این امر را وجود منافذ درشت و درز وترک و ساختمان و پیوستگی بهتر منافذ و جریان های ترجیحی دانستند.

تا کنون بیشتر پژوهش‌های انجام یافته بدون بررسی اثر رشد و پوسیدگی ریشه گیاه بر انتقال باکتری بررسی شده‌اند. در این پژوهش تلاش بر آن بوده است که اثر ریشه گیاه تازه و پوسیده شده بر انتقال آلاینده میکروبی به صورت کمّی بررسی و مقایسه گردد. به منظور مطالعه‌ی اثر ریشه‌ی گیاه بر انتقال آلاینده میکروبی در خاک آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با منظور کردن سه تیمار (خاک شاهد، خاک با ریشه گیاه و خاک با ریشه پوسیده گیاه) در ستون‌های خاک دست‌خورده اجرا گردید.

مواد و روشها

به منظور مطالعه‌ی اثر ریشه‌ی گیاه بر انتقال آلاینده‌های میکروبی در خاک آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با منظور کردن سه تیمار (خاک شاهد، خاک با ریشه گیاه و خاک با ریشه پوسیده گیاه) در ستون‌های خاک دست‌خورده اجرا گردید. در این آزمایش خاک درشت بافت با بافت شن لومی از مزرعه شماره ۲ باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز انتخاب شد. تعداد ۹ عدد لوله پلی‌اتیلن با قطر و ارتفاع به ترتیب ۲۴ و ۲۵ سانتی‌متر برش داده شدند. گیاه انتخاب شده جهت این پژوهش ذرّت هیبرید *سینگل کراس ۷۰۴* (*Sc.704*) بود که کاشت آن در منطقه متداول است.

آزمایش انتقال باکتری در شرایط جریان اشباع پایدار انجام شد. برای تعیین غلظت باکتری در محلول از روش شمارش زنده[2] استفاده شد. سوسپانسیون باکتری با غلظت (cfu/ml) ۱۰[۹] در محلول کلرید کلسیم ۰/۰۵ مولار استریل به کمک چگالی نوری (دانسیته‌ی نوری) [3] به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۰۰ نانومتر و شمارش بشقابی بدست آمد.

محاسبه ضریب پالایش باکتری در خاک (λ_f)

ضریب پالایش باکتری [4] به عنوان یک پارامتر کمّی برای سنجش میزان پالایش باکتری در مسیر انتقال به صورت زیر محاسبه شد (ماتیز و همکاران، ۱۹۸۸):

$$\lambda_f = \ln\frac{C_{0(av)}}{C_{(av)}} \times \frac{1}{z} \qquad [1]$$

که در اینجا λ_f بر حسب m^{-1}، $C_{0(av)}$ و $C_{(av)}$ میانگین غلظت باکتری در سوسپانسیون تزریق شده و خروجی بر حسب cfu ml^{-1} و z طول ستون آزمایش بر حسب متر است.

نتایج و بحث

ضریب پالایش باکتری (λ_f) در تیمارهای شاهد، با ریشه و با ریشه پوسیده به وسیله معادله (۱) محاسبه گردید. میانگین این ضریب در جدول (۱) آمده است.

2- Plate Cunt
3- Optical Density (OD)
4- Filtration Coefficient of Bacteria

جدول ۱- میانگین ضریب پالایش (λ_f) باکتری در تیمارهای مورد مطالعه

تیمار	$\lambda_f\ (m^{-1})$
شاهد	۳/۲۳۶۱ [a]
ریشه گیاه	۲/۰۸۳۳ [b]
ریشه پوسیده گیاه	۱/۶۰۰ [c]

(حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۱ درصد است)

همانطوریکه در جدول (۱) ملاحظه می‌شود خاک تیمار شاهد (بدون ریشه گیاه) بیشترین پالایش و خاک تیمار با ریشه پوسیده کمترین پالایش را داشته است. این نتایج بیان کننده این است که در نتیجه سیستم ریشه گیاه ذرّت منافذ درشتی ایجاد شده که به دلیل جریان سریع آب در این منافذ زمان تماس کاهش یافته و پالایش کمتر شده اَست. تفاوت در ضریب پالایش باکتری (λ_f) در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی مورد بررسی قرار گرفت. تیمارها شامل شاهد (بدون ریشه)، خاک با ریشه و خاک با ریشه پوسیده گیاه ذرّت و هر کدام در ۳ تکرار بودند. نتایج نشان داد که ریشه و پوسیده شده آن تاثیر معنی‌داری در کاهش (λ_f) داشته‌اند و این اثر در سطح یک درصد معنی‌دار بوده است (جدول۱). همچنین نتایج آزمون مقایسه میانگین LSD نشان داد که تفاوت بین هر یک از تیمارها در پالایش باکتری معنی‌دار است (جدول۲).

جدول۲- آزمون تجزیه واریانس اثر تیمارها بر میزان پارامتر ضریب پالایش باکتری

منبع تغییرات	متغیر وابسته	درجه آزادی	میانگین مربعات	ارزش F	ارزش P
تیمار	$\lambda_f\ (m^{-1})$	۲	۲/۱۱۶	۶۴۱/۵۳۳**	۰/۰۰۰
خطا		۶	۰/۰۰۳		
کل		۸			

**درسطح ۱ درصدمعنی‌داراست

* درسطح ۵ درصد معنی دار است

وجود جریان در منافذ درشت می‌تواند نقش موثری در انتقال سریع باکتری‌ها و املاح و آلودگی آب‌های زیرزمینی داشته باشد (جانگ و همکاران، ۱۹۸۳). مصدقی و همکاران (۲۰۱۰) انتقال *E. coli* در شرایط جریان اشباع و غیراشباع در لایسیمتر با خاک لوم رسی به طول ۵۰ و قطر ۲۲ سانتی‌متر بررسی کردند. آنها پارامترهای نوع جریان و عمق خاک را بر ضریب پالایش موثر دانستند. بیشترین و کمترین ضریب پالایش برای شرایط غیر اشباع / اعماق اولیه وشرایط اشباع / اعماق اولیه و به ترتیب به میزان ۵/۷۴ و ۳/۷۹ بود. سیستم‌های ریشه‌ای مانند گیاه ذرّت که دارای رشد رو به پایین هستند سبب ایجاد منافذ پیوسته در خاک و در نتیجه سهولت در انتقال باکتری به اعماق و آب‌های زیرزمینی و کاهش پالایش باکتری می‌شوند (مادسلی و همکاران، ۱۹۹۴).

همچنین مطالعه دازو و همکاران (۱۹۷۲) در بررسی نقش سیستم‌های ریشه‌ای بر انتقال کلیفرم‌های روده‌ای نشان داد میزان حذف باکتری در ستون‌های خاک با ریشه گیاه ارزن نسبت به گیاه جو بیشتر بوده است.

منابع

زند سلیمی، س.، ۱۳۸۵. بررسی اثر ویژگی‌های فیزیکی خاک و کودهای آلی بر حرکت باکتری‌های آلوده کننده آبهای زیر زمینی در ستون‌های خاک دست‌نخورده. پایان نامه کارشناسی ارشد خاک شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بو علی سینا.

Jamieson RC, Gordon RJ, Sharples KE, Stratton GW, Madani A, 2002. Movement and persistence of fecal bacteria in agricultural soils and subsurface drainage water: A review. Canadian Biosystems Engineering, 44: 1.1-1.9.

Shelton DR, Pachepsky YA, Sadeghi AM, Stout WL, Karns JS, Gburek WJ, 2003. Release rates of manure-borne coliform bacteria from data on leaching through stony soil. Vadose Zone Journal, 2: 34-39.

Mosaddeghi MR, Mahboubi AA, Zandsalimi S, Unc A, 2008. Influence of organic waste type and soil structure on the bacterial filtration rates in unsaturated intact soil columns. Journal of Environment, 90: 730-739.

Matthess G, Pekdeger A, Schroeter J, 1988. Persistence and transport of bacteria and viruses in groundwater-conceptual evaluation. Journal of Countaminat Hydrology. 77 (2): 171–188.

Jang LK, Change PW, Findley J, Yen TF, 1983. Selection of bacteria with favorable transport properties thpough porous rock for the application of microbial enhanced oil recovery. Applied and Environmental Microbialogy, 46: 1066-1072.

Mosaddeghi MR, Safari sinjani AA, Farhangi MB, Mahboubi AA, Unc A, 2010. Saturated and unsaturated transport of cow manure-borne *Escherichia Coli* through in situ clay loam lysimeters. Agriculture, Ecosystems and Environment, 137: 163-171.

Mawdsley JL, Bardgett RD, Merry RJ, Pain BF, Theodorou MK, 1994. Pathogens in livestock waste, their potential for movement through soil and environmental pollution. Applied Soil Ecology, 2:1-15.

Dazzo FB, 1972. The microbial ecology of cultivated soil receiving cow manure waste. unpublished masters thesis, Department of Microbiology, University of Florida, Gainesville FL.

اثر ریزوباکترهای بومی محرک رشد گیاه بر رشد آفتابگردان در یک خاک حاوی سرب

عبدالرزاق دانش شهرکی[۱]، محمدرضا نادری[۲]، فایز رئیسی[۱] و محسن مبینی دهکردی[۳]
۱-استادیار و استاد دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد
۲ -دانش آموخته آگرواکولوژی دانشگاه شهرکرد و دانشجوی دکتری اکولوژی دانشگاه مشهد
۳ -استادیار دانشکده علوم دانشگاه شهرکرد

مقدمه

به دلیل استفاده‌ی روز افزون از فلزات سنگین در بخش‌های رو به رشد صنعت و کشاورزی و برخورداری آن‌ها از تجمع زیستی و سمیت بالا، این فلزات به یکی از اصلی‌ترین عوامل تنش‌زای غیرزیستی برای موجودات زنده و از آن جمله گیاهان تبدیل شده‌اند (لین و همکاران، ۲۰۰۵). سرب، یکی از خطرناک‌ترین فلزات سنگین است که دارای کارکرد زیستی مشخصی نمی‌باشد و از پتانسیل ایجاد مسمومیت برای گیاهان و سایر موجودات زنده برخوردار است. این فلز نه تنها فعالیت ریزجانداران خاک را تحت تأثیر قرار داده و سبب از دست رفتن حاصلخیزی خاک می‌شود، بلکه باعث بروز تغییر در شاخص‌های فیزیولوژیکی رشد گیاهان و در نهایت کاهش عملکرد آن‌ها نیز می‌گردد (لون و همکاران، ۲۰۰۸).
بررسی نتایج مطالعات مختلف حاکی از آن است که تلقیح ناحیه‌ی ریزوسفر به وسیله‌ی باکتری‌های متحمل به فلزِ محرک رشد گیاه می‌تواند منجر به ارتقای رشد و زیست‌توده تولیدی گیاه تحت شرایط بروز تنش فلزی شود (شنگ و زیا، ۲۰۰۶، صغیرخان و همکاران، ۲۰۰۹). این ریزوباکترها از خاک‌های آلوده به فلزات سنگین قابل استخراج هستند (شنگ و زیا، ۲۰۰۶) و علاوه بر نقشی که در سم‌زدایی و یا حذف فلزات دارند، قادر به ارتقای رشد گیاهان از طریق سازوکارهایی نظیر تولید مواد محرک رشد و سیدروفور نیز می‌باشند (صغیرخان و همکاران، ۲۰۰۹). بر این اساس، مطالعه‌ی حاضر با هدف ارزیابی تأثیر هشت ریزوباکتری بومی که از یک خاک حاوی سرب استخراج گردیده‌اند، بر وزن خشک ریشه و اندام هوایی آفتابگردان تحت شرایط بروز تنش سرب به اجرا درآمد.

مواد و روش‌ها

ریزوباکترهای محرک رشد مورد استفاده در این آزمون از ناحیه‌ی ریزوسفر گیاهان بومی معدن سرب و روی باما، واقع در ۲۰ کیلومتری جنوب غربی شهر اصفهان به روش رقیق‌سازی متوالی در سرم فیزیولوژیک ۰/۹ درصد استریل و کشت بر روی محیط لوریا–برتانی محتوی ۵۰ ppm سرب (به شکل نیترات سرب) استخراج و خصوصیات محرک رشدی آن‌ها شامل سنتز ایندول استیک اسید (IAA)، سیدروفور و ACC–دی‌آمیناز به ترتیب با استفاده از روش‌های گلیک‌من و دساکس (۱۹۹۵)، سیلوا–استنیکو و همکاران (۲۰۰۵) و دل‌آمیکو و همکاران (۲۰۰۵) تعیین شد. خلاصه‌ای از صفات محرک رشدی این ریزوباکتری‌ها در جدول ۱ ارائه گردیده است.

جدول ۱- صفات محرک رشدی ریزوباکتری‌های بومی استخراج شده از خاک دارای سرب

ریزوباکتری	علامت اختصاری	IAA ($mg\ l^{-1}$)	سیدروفور (٪)	ACC-دی‌آمیناز	انحلال کربنات سرب
Rhodococcus sp.	RH	۴۳/۶۴	۷۳/۱	−	−
Bacillus stearothermophilus ST1	BST1	۱۸/۲۶	۷۹/۱	−	−
Corynebacterium sp.	CO	۳/۵۳	۸۶/۲	−	+
Bacillus pumilus	BP	۳۸/۵۹	۶۰/۲	−	−
Mycobacterium sp.	MY	۲۰/۳۹	۸۵/۱	+	−
Bacillus stearothermophilus ST2	BST2	۲۱/۸۴	۵۷/۷	−	−
Bacillus licheniformis	BL	۷/۹۳	۷۸/۴	+	−
Bacillus sp.	B	۱۱/۶۴	۸۰/۴	−	−

آزمایش‌های مربوط به مطالعه‌ی اثر باکتری‌های جدا شده بر رشد آفتابگردان (رقم رکورد) در شرایط گلخانه‌ای انجام شد. خاک مورد نظر برای انجام این آزمون به صورت طبیعی و از معدن سرب و روی باما (ایرانکوه) واقع در ۲۰ کیلومتری جنوب‌غربی شهر اصفهان تهیه گردید و پس از انجام آزمون خاک، عناصر ضروری مورد نیاز جهت رشد بوته‌های آفتابگردان به آن اضافه شد. برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی این خاک در جدول ۲ ارائه گردیده است.

جدول ۲- برخی از خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک مورد استفاده

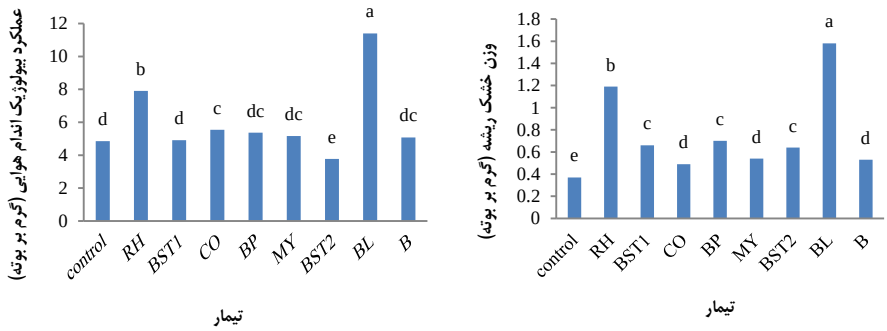
نیتروژن کل (٪)	کربن آلی (٪)	فسفر قابل جذب ($mg\ kg^{-1}$)	پتاسیم قابل جذب ($mg\ kg^{-1}$)	سرب قابل جذب ($mg\ kg^{-1}$)	سرب کل ($mg\ kg^{-1}$)	رس (٪)	سیلت (٪)	شن (٪)	EC ($dS\ m^{-1}$)	pH	بافت خاک
۰/۰۶	۰/۵۸	۹/۳۵	۲۵۰	۴۱	۳۷۹	۱۹	۳۶	۴۵	۰/۲۹	۷/۶۲	لومی

آزمون در قالب طرح کاملاً تصادفی و با چهار تکرار انجام شد. تیمارهای مورد استفاده در این آزمون شامل ۸ تیمار تلقیحی و یک تیمار شاهد، که در آن‌ها بذور آفتابگردان برای مدت ۱ ساعت در دمای اتاق در داخل سرم فیزیولوژیک ۰/۹ درصد (برای تیمارهای شاهد) یا سوسپانسیون باکتریایی (برای تیمارهای تلقیحی) تهیه شده از طریق غوطه‌ور نمودن سلول‌های باکتریایی در سرم فیزیولوژیک ۰/۹ درصد استریل که میزان جذب آن در طول‌موج ۶۰۰ نانومتر به منظور دستیابی به تراکم مایه‌ی تلقیح ۵×۱۰^{۸} واحد تشکیل کلونی (CFU) بر میلی‌لیتر، روی عدد ۰/۵ تنظیم شده بود، معلق گردیدند (بورد و همکاران، ۱۹۹۸). به علاوه، بر سطح خاک هر گلدان نیز به وسیله‌ی سرنگ‌های استریل، مقدار ۱۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتریایی با جمعیت ۵×۱۰^{۸} واحد تشکیل‌دهنده‌ی کلونی (CFU) بر میلی‌لیتر یا سرم فیزیولوژیک اسپری شد.

پس از سبز شدن، تعداد گیاهچه‌های داخل هر گلدان به ۳ عدد کاهش یافته و این ۳ گیاهچه برای مدت ۷۰ روز در شرایط گلخانه رشد یافتند. آبیاری گلدان‌ها برحسب نیاز آن‌ها و با آب شیر صورت پذیرفت. پس از گذشت ۷۰ روز، بخش‌های هوایی و ریشه‌ی گیاهان درون گلدان‌ها برداشت شده و به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۶۰ درجه‌ی سانتیگراد درون آون خشک گردیدند. تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از این آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SAS صورت پذیرفت. مقایسه‌ی میانگین‌ها به روش LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

تجزیه‌ی واریانس مربوط به صفات مورد ارزیابی نشان داد که اثر تیمارهای مختلف بر عملکرد بیولوژیک اندام هوایی و وزن خشک ریشه بوته‌های آفتابگردان بسیار معنی‌دار ($P \leq ۰/۰۱$) بوده است. مقایسه میانگین عملکرد بیولوژیک اندام هوایی آفتابگردان (شکل ۱) نشان داد که میان تیمارهای مورد مطالعه، اختلاف بسیار معنی‌داری وجود داشته است. به‌طوری‌که، عملکرد بیولوژیک اندام هوایی آفتابگردان از ۱۱/۴ گرم بر بوته در تیمار تلقیح با ریزوباکتری *Bacillus licheniformis* تا ۳/۷۷ گرم بر بوته در تیمار تلقیح با باکتری *Bacillus stearothermophilus* ST2 متغیر بود. بالاترین عملکرد بیولوژیک بوته‌های آفتابگردان با میانگین ۱۱/۴ گرم بر بوته در تیمار تلقیح با ریزوباکتری *Bacillus licheniformis* حاصل گردید. تلقیح بوته‌های آفتابگردان توسط ریزوباکتری‌های متحمل به سربِ محرک رشد گیاه، اثرات متفاوتی بر رشد بوته‌ها گذاشت.



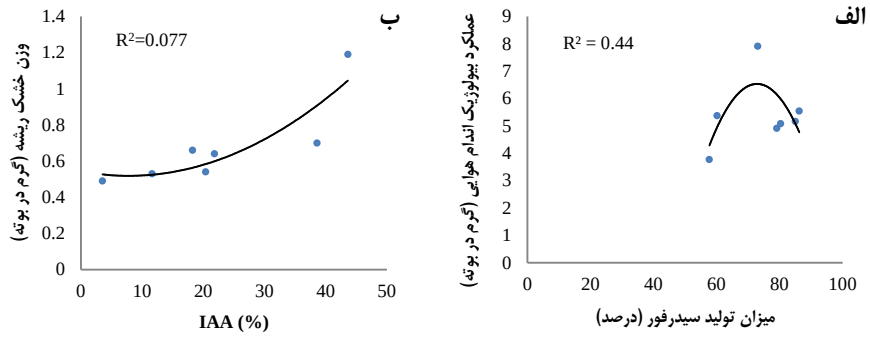
شکل ۱- اثر تیمارهای مختلف بر عملکرد بیولوژیک اندام هوایی و وزن خشک ریشه‌ی آفتابگردان (میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند).

پس از تیمار تلقیح با ریزوباکتری *Bacillus licheniformis*، بالاترین عملکرد بیولوژیک بوته‌های آفتابگردان با میانگین ۷/۹۱ و ۵/۵۴ به ترتیب متعلق به تیمار تلقیح با ریزوباکتری‌های *Rhodococcus* sp. و *Corynebacterium* sp. بوده است. با این وجود، سایر ریزوباکترها نیز نتوانستند موجب افزایش معنی‌دار عملکرد بیولوژیک آفتابگردان در مقایسه با تیمار شاهد سرب‌دار بدون تلقیح شوند (شکل ۱).

یک همبستگی مثبت ضعیف میان عملکرد بیولوژیک اندام هوایی بوته‌های آفتابگردان و میزان تولید سیدروفور توسط سویه‌های باکتریایی استخراج شده از خاک حاوی سرب مشاهده شد (شکل ۲، الف). به هر حال، این همبستگی مثبت می‌تواند حاکی از نقش موثر این صفت باکتریایی در ارتقای رشد بوته‌های آفتابگردان تحت شرایط بروز تنش ناشی از وجود آلاینده‌های سرب در خاک باشد.

تمامی ریزوباکترهای مورد مطالعه توانستند به‌طور معنی‌دار وزن خشک ریشه‌های آفتابگردان را نسبت به تیمار شاهد سرب‌دار بدون تلقیح افزایش دهند (شکل ۱). بر این اساس، ریزوباکتری‌های *Bacillus licheniformis*، *Rhodococcus* sp.، *Bacillus pumilus*، *Bacillus stearothermophilus* ST1، *Bacillus stearothermophilus* ST2، *Mycobacterium* sp.، *Bacillus* sp. و *Corynebacterium* sp. به ترتیب سبب افزایش ۳۲۹، ۲۲۳، ۹۰، ۸۰، ۷۳، ۴۸، ۴۶ و ۴۴ درصدی وزن خشک ریشه‌ی آفتابگردان نسبت به تیمار شاهد سرب‌دار بدون تلقیح گردیدند.

بین وزن خشک ریشه‌های آفتابگردان و میزان تولید ایندول استیک اسید (IAA) توسط سویه‌های باکتریایی استخراج شده از خاک حاوی سرب یک همبستگی مثبت قوی وجود داشت. (R^2= ۰/۷۷) (شکل ۲، ب). این همبستگی مثبت میان میزان تولید ایندول استیک اسید توسط سویه‌های باکتریایی و وزن خشک ریشه‌ی بوته‌های آفتابگردان نشان دهنده‌ی نقش موثر و سودمند این نوع باکتری‌ها در ارتقای رشد ریشه‌ی بوته‌های آفتابگردان تحت شرایط بروز تنش ناشی از وجود آلاینده‌های فلزی سمی در خاک است.



شکل ۲- (الف) رابطه‌ی میان عملکرد بیولوژیک اندام هوایی آفتابگردان و میزان تولید سیدروفور توسط سویه‌های ریزوباکتریایی و (ب) رابطه‌ی میان وزن خشک ریشه‌ی آفتابگردان و میزان تولید ایندول استیک اسید توسط سویه‌های ریزوباکتریایی (به استثنای *Bacillus licheniformis*)

منابع

Burd GI, Dixon DG and Glick BR, 1998. A plant growth-promoting bacterium that decreases nickel toxicity in seedlings. Journal of Applied and Environmental Microbiology 64: 3663–3668.

Dell'Amico E, Cavalca L and Andreoni V, 2005. Analysis of rhizobacterial communities in perennial Graminaceae from polluted water meadow soil, and screening of metal-resistant, potentially plant growth-promoting bacteria. FEMS Microbiol Ecology 52: 153–162.

Glickmann E and Dessaux Y, 1995. A critical examination of the specificity of the Salkowski reagent for indolic compounds produced by phytopathogenic bacteria. Applied and Environmental Microbiology 61: 793–796.

Lin CH, Chen LM and Liu ZH, 2005. Rapid effect of copper on lignin biosynthesis in soybean roots. Plant Science 168: 855–861.

Lone MI, Li H, Zhen PJ, Stoffella E and Yang X, 2008. Phytoremediation of heavy metal polluted soils and water: Progresses and perspectives. Journal of Zhejiang University Science B 9: 210-220.

Saghir Khan M, Zaidi A, Ahmad Wani P and Oves A, 2009. Role of plant growth promoting rhizobacteria in the remediation of metal contaminated soils. Environmental chemistry letters 7:1–19.

Sheng XF and Xia JJ, 2006. Improvement of rape (*Brassica napus*) plant growth and cadmium uptake by cadmium-resistant bacteria. Chemosphere 64: 1036–1042.

Silva-stenico ME, Pacheco FTH, Rodrigues JLM, Carrilho E and Tsai SM, 2005. Growth and siderophore production of *Xylella fastidiosa* under iron-limited conditions. Microbiological Research 160: 429-436.

ارزیابی محلول‌های کرم‌آزورول‌سولفونات برای اندازه‌گیری فیتوسیدروفورها در ترشحات ریشه‌ای

ابراهیم شیرمحمدی
عضو هیأت علمی گروه علوم خاک دانشکده آب و خاک دانشگاه زابل ibrahim_13000@yahoo.com

مقدمه

بعضی از گیاهان مثل گرامینه‌ها موادی به بیرون ریشه ترشح می‌کنند که تمایل زیادی به کی‌لیت کردن آهن دارند و خطر بروز کمبود آهن در این گیاهان را کاهش می‌دهند. به این مواد کی‌لیت کننده، فیتوسیدروفورگویند. این ترکیبات پپتیدهای غیرریبوزومی‌اند و بعنوان یک واسطه برای جذب عمل می‌کنند. کمپلکس فیتوسیدروفور با عناصر فلزی محلول است و از طریق پروتئین‌های خاص از غشای پلاسمایی ریشه به داخل سلول‌های ریشه منتقل می‌شود. فیتوسیدروفور ترشح شده به محیط ریزوسفر الزاماً با آهن تشکیل کمپلکس نمی‌دهد. در حقیقت گزارش‌های زیادی در مورد تشکیل کمپلکس این کی‌لیت‌کننده‌ها با عناصری مانند روی، مس و منگنز وجود دارد.

برای اندازه‌گیری کمّی کی‌لیت کننده‌های ترشح شده از میکروب‌ها (سیدروفورها) که ترکیباتی مشابه فیتوسیدروفورها هستند، روش‌های مختلفی ارائه شده است که از جمله آنها، روش محلول سنجشگر کرم‌آزورول-سولفونات(chrome azurol sulfonate (CAS)) است. این روش اندازه‌گیری سیدروفور، در محلول رویی محیط‌های کشت مایع توسط شواین و نیلندز (۱۹۸۷) و در مایعات داخلی بدن و ترکیبات پیچیده توسط هایدون و همکاران (۱۹۷۳) استفاده شده است. همچنین شیرمحمدی و همکاران (۱۳۸۶) گزارش نمودند که با ایجاد تغییراتی در روش کرم‌آزورول‌سولفونات محلول می‌توان از این روش در اندازه‌گیری ترکیبات سیدروفوری موجود در آبشویه گیاهان بهره جست. علی‌رغم تحقیقات انجام شده در زمینه اندازه‌گیری کمی ترکیبات سیدروفوری در ترشحات ریشه‌ای با استفاده از روش کرم‌آزورول‌سولفونات محلول، برای بهینه سازی اندازه‌گیری کمی فیتوسیدروفورها در آبشویه‌های جمع‌آوری شده از گیاهان با این روش، نیازمند تحقیقات بیشتر است. برای این منظور تعدادی محلول سنجشگر کرم‌آزورول‌سولفونات ساخته شد و خصوصیات پایداری رنگ محلول با گذشت زمان، حداکثر طول موج جذبی هر محلول و همبستگی میزان تغییر رنگ محلول با غلظت‌های مختلف کی‌لیت کننده‌های DTPA، EDTA و ترکیبات کی‌لیت کننده موجود در آبشویه گیاه سورگوم مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روشها

تهیه محلول‌های کرم‌آزورول‌سولفونات

محلول (A): شش میلی‌لیتر از محلول ۱۰ میلی‌مولار دترجنت(Trishydroxyméthylaminométhane) HDTMA، به داخل یک ارلن ۱۰۰ میلی‌لیتری ریخته و حجم آن با آب مقطر به ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس ۱/۵ میلی‌لیتر از محلول آهن (یک میلی‌مولار $FeCl_3.6H_2o$ محلول در اسیدهیدروکلریک ۱۰ میلی‌مولار) در حال بهم زدن به محلول قبلی اضافه شد. سپس ۷/۵ میلی‌لیتر از محلول دو میلی‌مولار کرم‌آزورول‌سولفونات

به آرامی و همراه با هم زدن به محلول داخل ارلن اضافه گردید. در این حالت رنگ محلول بنفش است. سپس ۲۵ میلی‌لیتر محلول تامپون پایپ[۵] (۴/۳۰۷ گرم تامپون پایپ در آب مقطر بوسیله افزودن هیدروکسیدسدیم ۰/۱ نرمال حل و pH در ۵/۶ تنظیم شد). به محلول قبلی اضافه گردید. در این حالت pH باید ۵/۶ باشد. در غیر اینصورت با هیدروکسیدسدیم یا اسیدهیدروکلریک ۰/۱ نرمال pH تنظیم می‌شود و در نهایت حجم محلول با آب مقطر به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد که رنگ محلول در این حالت آبی شد (شواین و نیلندز، ۱۹۸۷).

محلول (B): این محلول بجز تامپون پایپ، همه ترکیبات محلول (A) را داراست و برای تهیه آن، بجای استفاده از تامپون پایپ از محلول تامپون تریس[۶] استفاده شد. بدین ترتیب که ۱/۲۲ گرم تامپون تریس در ۸۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد و pH آن با هیدروکسیدسدیم یا اسیدهیدروکلریک ۰/۱ مولار در ۵/۶ تنظیم گردید. سپس با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد.

محلول (C): این محلول بجز تامپون پایپ تمام ترکیبات محلول (A) را داراست.

محلول‌های (H, G, F, E, D): ترکیبات این محلول‌ها بجز مقدار HDTMA، شبیه محلول (C) می‌باشد و به ترتیب دارای ۰/۰۷، ۰/۱۴، ۰/۲۸، ۰/۷ و ۱ گرم HDTMA در ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول کرم‌آزوورول‌سولفونات هستند.

محلول (I): ابتدا ۲/۸ گرم دترجنت HDTMA در یک بالن یک لیتری ریخته شد و با آب مقطر به حجم حدود ۷۰۰ میلی‌لیتر رسید، سپس ۳۰ میلی‌لیتر از محلول کلرید آهن (۰/۰۲۷ گرم $FeCl_3.6H_2o$ در ۱۰۰ میلی لیتر محلول ۰/۰۱مولار اسیدهیدروکلریک) به آن اضافه شد. سپس به آرامی ضمن به هم زدن ۱۵۰ میلی‌لیتر از محلول کرم‌آزوورول‌سولفونات (۰/۱۲۱۱ گرم پودر کرم‌آزوورول‌سولفونات در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر) به این محلول اضافه گردید. در این حالت رنگ محلول بنفش شد. سپس pH محلول با هیدروکسیدسدیم یا اسیدهیدروکلریک ۰/۱ مولار در ۵/۶ تنظیم گردید. رنگ محلول در این حالت سبز تیره شد.

تعیین طول موج مورد استفاده در دستگاه اسپکتروفتومتر برای محلول‌های کرم‌آزوورول‌سولفونات

سه میلی‌لیتر از محلول کرم‌آزوورول‌سولفونات به داخل کووت (شیشه‌های آزمایش اسپکتروفتومتر) ریخته شد و جذب در طول موج‌های مختلف به ترتیب با فواصل ۱۰۰، ۱۰ و یک نانومتر بوسیلهٔ دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید. بدین ترتیب طول موجی که بیشترین جذب را داشت انتخاب شد. ضمناً برای قرائت جذب در طول موج-های با فاصلهٔ یک نانومتر، بعد از هر قرائت محلول کرم‌آزوورول‌سولفونات داخل کووت تعویض شد تا از خطای گرم شدن محلول جلوگیری شود.

جمع‌آوری ترشحات ریشه‌ای

۱۰ بوته گیاه سورگوم (*Sorghum bicolor* L.) در یک بستر عاری از عناصر کم مصرف آهن، روی، مس و منگنز (ماسه سفید اسیدشویی شده با اسیدهیدروکلریک یک مولار) کشت گردید. هدف این بود که ترشح فیتوسیدروفور تحریک و افزایش یابد. برای جمع‌آوری آبشویه (که حاوی ترشحات فیتوسیدروفوری است) ابتدا بستر با آب مقطر شستشو داده شد تا تمام محلول غذایی از گلدان خارج شود و آب مقطر در تماس با ریشهٔ گیاه قرار گیرد. بعد از ۳ ساعت مجدداً این بستر با آب مقطر شستشو داده شد و ۲۵۰ میلی‌لیتر از محلول خروجی جمع‌آوری گردید (شان و همکاران، ۲۰۰۳).

رسم نمودار استاندارد برای کرم‌آزورول‌سولفونات در غلظت‌های مختلف DTPA

ابتدا غلظت‌های ۰ ، ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۲۵، ۱۵۰ میکرومول بر لیتر کی‌لیت کننده DTPA تهیه گردید و یک میلی‌لیتر از آنها به پنج میلی‌لیتر از محلول معرف کرم‌آزورول‌سولفونات اضافه گردید و برای تمامی محلول‌های ساخته شده تکرار شد. پس از یک ساعت، جذب در طول موج‌های تعیین شده برای هر محلول توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. ضریب تبیین (r^2) خط برازش یافته بین غلظت‌های مختلف کی‌لیت کننده و جذب برای هر یک از محلول‌های سنجشگر نیز محاسبه گردید. مراحل فوق‌الذکر با غلظت‌های مختلف کی‌لیت‌کنندهٔ EDTA نیز انجام شد.

اندازه‌گیری کمی فیتوسیدروفور در آبشویه جمع‌آوری شده

پنج میلی‌لیتر از محلول معرف کرم‌آزورول‌سولفونات به داخل لوله‌های آزمایش ریخته شد. سپس یک میلی‌لیتر از آبشویه جمع آوری شده به داخل آنها افزوده شد. پس از گذشت یک ساعت میزان جذب در طول موج تعیین شده برای هر محلول، توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. سپس با رسم نمودار استاندارد، غلظت فیتوسیدروفور در آبشویه ریشه بر حسب معادل غلظت DTPA محاسبه گردید.

نتایج و بحث

خصوصیات اندازه گیری شده در محلول‌های (A, B, ..., I)

محلول (A): این محلول ثبات رنگ بالایی دارد و در دمای ۲۵°C نگهداری طولانی مدت آن (تا دو ماه) در ظروف پلاستیکی، تغییری در رنگ محلول ایجاد نمی‌کند ولی مقدار جذب در طول موج ۶۳۰ نانومتر با غلظت-های مختلف DTPA و ترکیبات کی‌لیت کننده موجود در آبشویه[۶] همبستگی خوبی ندارد.

محلول (B): این محلول ثبات رنگ پایینی دارد و نگهداری آن بیش از یک روز در دمای ۲۵°C، تغییر رنگ خود بخودی ایجاد می‌کند که علت آن رسوب ذرات رنگی داخل محلول می‌باشد. این فرایند با اضافه کردن آبشویه حاوی ترکیبات کی‌لیت کننده تشدید می‌شود و میزان تغییر رنگ با غلظتهای مختلف DTPA و ترکیبات کی-لیت کننده موجود در آبشویه همبستگی خوبی ندارد.

محلول (C): این محلول ثبات رنگ نسبتاً بالایی دارد و نگهداری آن به مدت ۱۵ روز در دمای ۲۵°C تغییری در رنگ محلول ایجاد نمی‌کند. مقدار جذب در طول موج ۶۸۷ نانومتر با غلظت‌های مختلف DTPA و ترکیبات کی‌لیت کننده موجود در آبشویه (تغییر رنگ محلول از سبز تیره به نارنجی) همبستگی خوبی دارد و ضریب تبیین آن ۰/۹۷ بدست آمد.

محلول‌های (D و E): ثبات رنگی این محلول‌ها بالاست و نگهداری طولانی مدت (یک ماه) تغییری در رنگ محلول ایجاد نمی‌کند. مقدار جذب برای محلول‌های D و E به ترتیب در طول موج‌های ۶۹۵ و ۷۰۲ نانومتر (تغییر رنگ از سبز تیره به نارنجی) با غلظتهای مختلف DTPA و ترکیبات کی‌لیت کننده موجود در آبشویه، همبستگی خوبی دارد و ضریب تبیین آنها در حدود ۰/۹۷ بدست آمد.

محلول‌های (F، G و H): بطور کلی ثبات رنگ این محلول‌ها پایین است و نگهداری آن‌ها مشکل است زیرا این محلول‌ها بصورت خود بخودی تغییر رنگ می‌دهند. به نظر می‌رسد غلظت HDTMA تا یک حدی باعث ثبات

و پایداری رنگ می‌شود بعد از آن غلظت، خود HDTMA در جهت ناپایداری کمپلکس CAS-Fe-HDTMA، عمل می کند. همین عامل سبب شده است که از زمان تهیه محلول تغییر رنگ خود بخودی (از سبز تیره به نارنجی) در محلول‌های F، G و H ایجاد شود. این تغییر رنگ در محلول‌های F، G و H به ترتیب با شدت بیشتری افزایش می‌یابد بطوری که تغییر رنگ کامل (خود بخودی) برای محلول‌های F ، G و H به ترتیب در مدت ۳۰، ۱۰ و یک روز پس از تهیه محلول مشاهده شد.

محلول (I): این محلول دارای ثبات رنگ بسیار بالایی است و نگهداری آن در دمای ۲۵°C حتی تا دو ماه تغییری در رنگ محلول ایجاد نمی‌کند و مقدار جذب در طول موج ۶۹۸ نانومتر (تغییر رنگ محلول از سبز تیره به نارنجی) با غلظت‌های مختلف DTPA و ترکیبات کی‌لیت کننده همبستگی بسیار خوبی دارد و ضریب تبیین آن بالای ۰/۹۹ است.

بنا به دلایل اشاره شده بهترین و مطمئن‌ترین محلول سنجشگر برای اندازه‌گیری کمی فیتوسیدروفور در آبشویه جمع‌آوری شده از گیاهان، محلول سنجشگر (I) می‌باشد. همچنین وقتی از EDTA به جای DTPA استفاده گردید، با افزایش غلظت این کمپلکس‌کننده تغییر رنگ خیلی جزئی بود. ولی هنگامی که غلظت EDTA به یک غلظت معین رسید؛ تغییر رنگ شدیدی ظاهر گردید، بطوری که رنگ محلول کاملاً نارنجی شد. بنابراین نتیجه می‌شود که واکنش آهن با EDTA در حضور محلول کرم‌آزورول‌سولفونات تنها در غلظت معینی از EDTA، کامل می‌شود و در غلظت‌های پایین، این واکنش جزئی و ناقص خواهد بود. شواین و نیلندز (۱۹۸۷)، نیز گزارش کرده‌اند که تغییر رنگ کمپلکسومتری کرم‌آزورول‌سولفونات با EDTA فقط در نزدیکی نقطه پایانی تیتراسیون دیده می‌شود. چون ترکیبات کی‌لیت‌کننده تولید شده توسط گیاهان، ترکیباتی مرکب هستند و حتی ساختار شیمیایی و نسبت کمپلکس شدن (استوکیومتری) بعضی از آنها با آهن برای ما مشخص نیست، لذا غلظت به دست آمده از معادله یاد شده برای فیتوسیدروفور بر حسب DTPA معادل در نظر گرفته شد. مقدار فیتوسیدروفور موجود در آبشویه گیاه سورگوم با استفاده از روش محلول سنجشگر کرم‌آزورول‌سولفونات (I)، معادل ۳۹۳ میکرومولار DTPA اندازه‌گیری شد. همچنین به‌علت واکنش بعضی از عناصر فلزی با ترکیبات سیدروفوری و ایجاد اختلال در کمپلکسومتری، در جمع‌آوری ترشحات ریشه‌ای بجای محلول غذایی از آب مقطر استفاده شد.

منابع

شیرمحمدی، ا.، علی اصغرزاده، ن. و اوستان، ش.، ۱۳۸۶. روش کمی اندازه‌گیری ترکیبات سایدروفوری در ترشحات ریشه‌ای گیاه. صفحه های ۶۸ تا ۶۹. مجموعه مقالات دهمین کنگره علوم خاک ایران. کرج.

Haydon AH, Davis WB, Arceneaux JE and Byers BR, 1973. Hydroxamate recognition during iron transport from hydroxamate-ion chelates. J. Bacteriol. 115: 912-918.

Schwyn B and Neilands JB, 1987. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. Analy. Biochem. 160: 47- 56.

Shane MW, Vos MD, Roock SD, Lambers H. 2003. Shoot P status regulates cluster-root growth and citrate exudation in lapinus albus grown with a divided root system. Plant Cell and Environ. 26: 265-273.

ارزیابی محلول‌های کرم‌آزورول‌سولفونات برای اندازه‌گیری فیتوسیدروفورها در ترشحات ریشه‌ای

ابراهیم شیرمحمدی

عضو هیأت علمی گروه علوم خاک دانشکده آب و خاک دانشگاه زابل ibrahim_13000@yahoo.com

مقدمه

بعضی از گیاهان مثل گرامینه‌ها موادی به بیرون ریشه ترشح می‌کنند که تمایل زیادی به کی‌لیت کردن آهن دارند و خطر بروز کمبود آهن در این گیاهان را کاهش می‌دهند. به این مواد کی‌لیت کننده، فیتوسیدروفورگویند. این ترکیبات پپتیدهای غیرریبوزومی‌اند و بعنوان یک واسطه برای جذب عمل می‌کنند. کمپلکس فیتوسیدروفور با عناصر فلزی محلول است و از طریق پروتئین‌های خاص از غشای پلاسمایی ریشه به داخل سلول‌های ریشه منتقل می‌شود. فیتوسیدروفور ترشح شده به محیط ریزوسفر الزاماً با آهن تشکیل کمپلکس نمی‌دهد. در حقیقت گزارش‌های زیادی در مورد تشکیل کمپلکس این کی‌لیت‌کننده‌ها با عناصری مانند روی، مس و منگنز وجود دارد.

برای اندازه‌گیری کمّی کی‌لیت کننده‌های ترشح شده از میکروب‌ها (سیدروفورها) که ترکیباتی مشابه فیتوسیدروفورها هستند، روش‌های مختلفی ارائه شده است که از جمله آنها، روش محلول سنجشگر کرم‌آزورول-سولفونات[1] است. این روش اندازه‌گیری سیدروفور، در محلول رویی محیط‌های کشت مایع توسط شواین و نیلندز (۱۹۸۷) و در مایعات داخلی بدن و ترکیبات پیچیده توسط هایدون و همکاران (۱۹۷۳) استفاده شده است. همچنین شیرمحمدی و همکاران (۱۳۸۶) گزارش نمودند که با ایجاد تغییراتی در روش کرم‌آزورول‌سولفونات محلول می‌توان از این روش در اندازه‌گیری ترکیبات سیدروفوری موجود در آبشویه[2] گیاهان بهره جست. علی-رغم تحقیقات انجام شده در زمینه اندازه‌گیری کمی ترکیبات سیدروفوری در ترشحات ریشه‌ای با استفاده از روش کرم‌آزورول‌سولفونات محلول، برای بهینه سازی اندازه‌گیری کمی فیتوسیدروفورها در آبشویه‌های جمع-آوری شده از گیاهان با این روش، نیازمند تحقیقات بیشتر است. برای این منظور تعدادی محلول سنجشگر کرم-آزورول‌سولفونات ساخته شد و خصوصیات پایداری رنگ محلول با گذشت زمان، حداکثر طول موج جذبی هر محلول و همبستگی میزان تغییر رنگ محلول با غلظت‌های مختلف کی‌لیت کننده‌های DTPA[3]، EDTA و ترکیبات کی‌لیت کننده موجود در آبشویه گیاه سورگوم مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روشها

تهیه محلول‌های کرم‌آزورول‌سولفونات

محلول (A): شش میلی‌لیتر از محلول ۱۰ میلی‌مولار دترجنت HDTMA[4]، به داخل یک ارلن ۱۰۰ میلی‌لیتری ریخته و حجم آن با آب مقطر به ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس ۱/۵ میلی‌لیتر از محلول آهن (یک میلی‌مولار $FeCl_3.6H_2o$ محلول در اسیدهیدروکلریک ۱۰ میلی‌مولار) در حال بهم زدن به محلول قبلی اضافه شد. سپس

۷/۵ میلی‌لیتر از محلول دو میلی‌مولار کرم‌آزورول‌سولفونات به آرامی و همراه با هم زدن به محلول داخل ارلن اضافه گردید. در این حالت رنگ محلول بنفش است. سپس ۲۵ میلی‌لیتر محلول تامپون پایپ[5] (۴/۳۰۷ گرم تامپون پایپ در آب مقطر بوسیله افزودن هیدروکسیدسدیم ۰/۱ نرمال حل و pH در ۵/۶ تنظیم شد). به محلول قبلی اضافه گردید. در این حالت pH باید ۵/۶ باشد. در غیر اینصورت با هیدروکسیدسدیم یا اسیدهیدروکلریک ۰/۱ نرمال pH تنظیم می‌شود و در نهایت حجم محلول با آب مقطر به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد که رنگ محلول در این حالت آبی شد (شواین و نیلندز، ۱۹۸۷).

محلول (B): این محلول بجز تامپون پایپ، همه ترکیبات محلول (A) را داراست و برای تهیه آن، بجای استفاده از تامپون پایپ از محلول تامپون تریس[6] استفاده شد. بدین ترتیب که ۱/۲۲ گرم تامپون تریس در ۸۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد و pH آن با هیدروکسیدسدیم یا اسیدهیدروکلریک ۰/۱ مولار در ۵/۶ تنظیم گردید. سپس با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد.

محلول (C): این محلول بجز تامپون پایپ تمام ترکیبات محلول (A) را داراست.

محلول‌های (H, G, F, E, D): ترکیبات این محلول‌ها بجز مقدار HDTMA، شبیه محلول (C) می‌باشد و به ترتیب دارای ۰/۰۷، ۰/۱۴، ۰/۲۸، ۰/۷ و ۱ گرم HDTMA در ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول کرم‌آزورول‌سولفونات هستند.

محلول (I): ابتدا ۲/۸ گرم دترجنت HDTMA در یک بالن یک لیتری ریخته شد و با آب مقطر به حجم حدود ۷۰۰ میلی‌لیتر رسید، سپس ۳۰ میلی‌لیتر از محلول کلرید آهن (۰/۰۲۷ گرم $FeCl_3.6H_2o$ در ۱۰۰ میلی لیتر محلول ۰/۰۱مولار اسیدهیدروکلریک) به آن اضافه شد. سپس به آرامی ضمن به هم زدن ۱۵۰ میلی‌لیتر از محلول کرم‌آزورول‌سولفونات (۰/۱۲۱۱ گرم پودر کرم‌آزورول‌سولفونات در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر) به این محلول اضافه گردید. در این حالت رنگ محلول بنفش شد. سپس pH محلول با هیدروکسیدسدیم یا اسیدهیدروکلریک ۰/۱ مولار در ۵/۶ تنظیم گردید. رنگ محلول در این حالت سبز تیره شد.

تعیین طول موج مورد استفاده در دستگاه اسپکتروفتومتر برای محلول‌های کرم‌آزورول‌سولفونات

سه میلی‌لیتر از محلول کرم‌آزورول‌سولفونات به داخل کووت (شیشه‌های آزمایش اسپکتروفتومتر) ریخته شد و جذب در طول موج‌های مختلف به ترتیب با فواصل ۱۰۰، ۱۰ و یک نانومتر بوسیلهٔ دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید. بدین ترتیب طول موجی که بیشترین جذب را داشت انتخاب شد. ضمناً برای قرائت جذب در طول موج-های با فاصلهٔ یک نانومتر، بعد از هر قرائت محلول کرم‌آزورول‌سولفونات داخل کووت تعویض شد تا از خطای گرم شدن محلول جلوگیری شود.

جمع‌آوری ترشحات ریشه‌ای

۱۰ بوته گیاه سورگوم (*Sorghum bicolor* L.) در یک بستر عاری از عناصر کم مصرف آهن، روی، مس و منگنز (ماسه سفید اسیدشویی شده با اسیدهیدروکلریک یک مولار) کشت گردید. هدف این بود که ترشح فیتوسیدروفور تحریک و افزایش یابد. برای جمع‌آوری آبشویه (که حاوی ترشحات فیتوسیدروفوری است) ابتدا بستر با آب مقطر شستشو داده شد تا تمام محلول غذایی از گلدان خارج شود و آب مقطر در تماس با ریشهٔ گیاه قرار گیرد. بعد از ۳ ساعت مجدداً این بستر با آب مقطر شستشو داده شد و ۲۵۰ میلی‌لیتر از محلول خروجی جمع‌آوری گردید (شان و همکاران، ۲۰۰۳).

رسم نمودار استاندارد برای کرم‌آزورول‌سولفونات در غلظت‌های مختلف DTPA

ابتدا غلظت‌های ۰ ، ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۲۵، ۱۵۰ میکرومول بر لیتر کی‌لیت کننده DTPA تهیه گردید و یک میلی‌لیتر از آنها به پنج میلی‌لیتر از محلول معرف کرم‌آزورول‌سولفونات اضافه گردید و برای تمامی محلول‌های ساخته شده تکرار شد. پس از یک ساعت، جذب در طول موج‌های تعیین شده برای هر محلول توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. ضریب تبیین (r^2) خط برازش یافته بین غلظت‌های مختلف کی‌لیت کننده و جذب برای هر یک از محلول‌های سنجشگر نیز محاسبه گردید. مراحل فوق‌الذکر با غلظت‌های مختلف کی‌لیت‌کنندهٔ EDTA نیز انجام شد.

اندازه‌گیری کمی فیتوسیدروفور در آبشویه جمع‌آوری شده

پنج میلی‌لیتر از محلول معرف کرم‌آزورول‌سولفونات به داخل لوله‌های آزمایش ریخته شد. سپس یک میلی‌لیتر از آبشویه جمع آوری شده به داخل آنها افزوده شد. پس از گذشت یک ساعت میزان جذب در طول موج تعیین شده برای هر محلول، توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. سپس با رسم نمودار استاندارد، غلظت فیتوسیدروفور در آبشویه ریشه بر حسب معادل غلظت DTPA محاسبه گردید.

نتایج و بحث

خصوصیات اندازه گیری شده در محلول‌های (A, B, ..., I)

محلول (A): این محلول ثبات رنگ بالایی دارد و در دمای ۲۵°C نگهداری طولانی مدت آن (تا دو ماه) در ظروف پلاستیکی، تغییری در رنگ محلول ایجاد نمی‌کند ولی مقدار جذب در طول موج ۶۳۰ نانومتر با غلظت-های مختلف DTPA و ترکیبات کی‌لیت کننده موجود در آبشویه[۶] همبستگی خوبی ندارد.

محلول (B): این محلول ثبات رنگ پایینی دارد و نگهداری آن بیش از یک روز در دمای ۲۵°C، تغییر رنگ خود بخودی ایجاد می‌کند که علت آن رسوب ذرات رنگی داخل محلول می‌باشد. این فرایند با اضافه کردن آبشویه حاوی ترکیبات کی‌لیت کننده تشدید می‌شود و میزان تغییر رنگ با غلظتهای مختلف DTPA و ترکیبات کی-لیت کننده موجود در آبشویه همبستگی خوبی ندارد.

محلول (C): این محلول ثبات رنگ نسبتاً بالایی دارد و نگهداری آن به مدت ۱۵ روز در دمای ۲۵°C تغییری در رنگ محلول ایجاد نمی‌کند. مقدار جذب در طول موج ۶۸۷ نانومتر با غلظت‌های مختلف DTPA و ترکیبات کی‌لیت کننده موجود در آبشویه (تغییر رنگ محلول از سبز تیره به نارنجی) همبستگی خوبی دارد و ضریب تبیین آن ۰/۹۷ بدست آمد.

محلول‌های (D و E): ثبات رنگی این محلول‌ها بالاست و نگهداری طولانی مدت (یک ماه) تغییری در رنگ محلول ایجاد نمی‌کند. مقدار جذب برای محلول‌های D و E به ترتیب در طول موج‌های ۶۹۵ و ۷۰۲ نانومتر (تغییر رنگ از سبز تیره به نارنجی) با غلظتهای مختلف DTPA و ترکیبات کی‌لیت کننده موجود در آبشویه، همبستگی خوبی دارد و ضریب تبیین آنها در حدود ۰/۹۷ بدست آمد.

محلول‌های (F، G و H): بطور کلی ثبات رنگ این محلول‌ها پایین است و نگهداری آن‌ها مشکل است زیرا این محلول‌ها بصورت خود بخودی تغییر رنگ می‌دهند. به نظر می‌رسد غلظت HDTMA تا یک حدی باعث ثبات

و پایداری رنگ می‌شود بعد از آن غلظت، خود HDTMA در جهت ناپایداری کمپلکس CAS-Fe-HDTMA، عمل می کند. همین عامل سبب شده است که از زمان تهیه محلول تغییر رنگ خود بخودی (از سبز تیره به نارنجی) در محلول‌های F، G و H ایجاد شود. این تغییر رنگ در محلول‌های F، G و H به ترتیب با شدت بیشتری افزایش می‌یابد بطوری که تغییر رنگ کامل (خود بخودی) برای محلول‌های F ، G و H به ترتیب در مدت ۳۰، ۱۰ و یک روز پس از تهیه محلول مشاهده شد.

محلول (I): این محلول دارای ثبات رنگ بسیار بالایی است و نگهداری آن در دمای ۲۵°C حتی تا دو ماه تغییری در رنگ محلول ایجاد نمی‌کند و مقدار جذب در طول موج ۶۹۸ نانومتر (تغییر رنگ محلول از سبز تیره به نارنجی) با غلظت‌های مختلف DTPA و ترکیبات کی‌لیت کننده همبستگی بسیار خوبی دارد و ضریب تبیین آن بالای ۰/۹۹ است.

بنا به دلایل اشاره شده بهترین و مطمئن‌ترین محلول سنجشگر برای اندازه‌گیری کمی فیتوسیدروفور در آبشویه جمع‌آوری شده از گیاهان، محلول سنجشگر (I) می‌باشد.

همچنین وقتی از EDTA به جای DTPA استفاده گردید، با افزایش غلظت این کمپلکس‌کننده تغییر رنگ خیلی جزئی بود. ولی هنگامی که غلظت EDTA به یک غلظت معین رسید؛ تغییر رنگ شدیدی ظاهر گردید، بطوری که رنگ محلول کاملاً نارنجی شد. بنابراین نتیجه می‌شود که واکنش آهن با EDTA در حضور محلول کرم‌آزورول‌سولفونات تنها در غلظت معینی از EDTA، کامل می‌شود و در غلظت‌های پایین، این واکنش جزئی و ناقص خواهد بود. شواین و نیلندز (۱۹۸۷)، نیز گزارش کرده‌اند که تغییر رنگ کمپلکسومتری کرم‌آزورول-سولفونات با EDTA فقط در نزدیکی نقطه پایانی[7] تیتراسیون دیده می‌شود.

چون ترکیبات کی‌لیت‌کننده تولید شده توسط گیاهان، ترکیباتی مرکب هستند و حتی ساختار شیمیایی و نسبت کمپلکس شدن (استوکیومتری) بعضی از آنها با آهن برای ما مشخص نیست، لذا غلظت به دست آمده از معادله یاد شده برای فیتوسیدروفور بر حسب DTPA معادل در نظر گرفته شد. مقدار فیتوسیدروفور موجود در آبشویه گیاه سورگوم با استفاده از روش محلول سنجشگر کرم‌آزورول‌سولفونات (I)، معادل ۳۹۳ میکرومولار DTPA اندازه‌گیری شد. همچنین به‌علت واکنش بعضی از عناصر فلزی با ترکیبات سیدروفوری و ایجاد اختلال در کمپلکسومتری، در جمع‌آوری ترشحات ریشه‌ای بجای محلول غذایی از آب مقطر استفاده شد.

منابع

۱- شیرمحمدی، ا.، علی اصغرزاده، ن. و اوستان، ش.، ۱۳۸۶. روش کمی اندازه‌گیری ترکیبات سایدروفوری در ترشحات ریشه‌ای گیاه. صفحه های ۶۸ تا ۶۹. مجموعه مقالات دهمین کنگره علوم خاک ایران. کرج.

2. Haydon AH, Davis WB, Arceneaux JE and Byers BR, 1973. Hydroxamate recognition during iron transport from hydroxamate-ion chelates. J. Bacteriol. 115: 912-918.

3. Schwyn B and Neilands JB, 1987. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. Analy. Biochem. 160: 47- 56.

4. Shane MW, Vos MD, Roock SD, Lambers H. 2003. Shoot P status regulates cluster-root growth and citrate exudation in lapinus albus grown with a divided root system. Plant Cell and Environ. 26: 265-273.

1. chrome azurol sulfonate (CAS)
2. lechate
3. diethylenetriaminepentaacetic acid
4. hexadecyltrimethylammonium
5. anhydrous piperazine
6. trishydroxyméthylaminométhane
7. endpoint

سینتیک تجزیه آمینواسیدها در خاک

نجمه سالاری بردسیری[۱]، فرشید نوربخش[۲]

[۱]دانشجوی سابق کارشناسی ارشد خاکشناسی، [۲]استاد گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

مقدمه

نیتروژن یکی از عناصر غذایی پر نیاز گیاهان است که در ساختار مولکولی پروتئین‌ها، پپتیدها، اسیدهای نوکلئیک، کیتین، پپتیدوگلیکان و آمینواسیدها قرار دارد. آمینواسیدها بزرگترین ذخایر نیتروژن آلی خاک بوده و منابع طبیعی مهم کربن و نیتروژن برای میکروارگانیسم‌های خاک محسوب می‌شوند (مکلین و همکاران ۲۰۰۵). منابع ورود آمینواسیدها به خاک شامل بقایای گیاهی و جانوری، کودهای حیوانی و ترشحات ریشه گیاه و میکروارگانیسم‌ها می‌باشد (جونز و همکاران ۲۰۰۲). وقتی آمینواسیدها در خاک تجزیه می‌شوند زنجیره کربنی آن‌ها تجزیه و کربن آن‌ها به صورت CO_2 آزاد و به همین نسبت در اثرتجزیه گروه آمینی آن‌ها، نیتروژن هم به صورت NH_4^+ آزاد می‌شود این مطلب نشان می‌دهد که آمینواسیدها تأمین‌کننده کربن و نیتروژن قابل جذب جهت تولید انرژی برای میکروارگانیسم‌ها می‌باشند که با اندازه‌گیری CO_2 وNH_4^+ آزاد شده طی تجزیه آمینواسیدها می‌توان سرعت و میزان تجزیه آن‌ها را در خاک‌ها بررسی کرد (کریستو و همکاران ۲۰۰۶). اوون و جونز (۲۰۰۱) در بررسی تجزیه آمینواسیدها بین محیط ریشه گندم با میکروارگانیسم‌های ریزوسفر ریشه و بررسی نقش آمینواسید در تأمین نیتروژن گیاه به این نتیجه رسیدند که آمینواسیدها دارای رفتارهای متفاوتی از نظر خصوصیات شیمیایی هستند، به عبارتی آمینواسیدها را به سه دسته کلی آمینواسیدهای بازی، خنثی و اسیدی تقسیم می‌کنند. رابرتز و همکاران (۲۰۰۹) در بررسی‌های خود به این نتیجه رسیدند که معدنی شدن نیتروژن آمینواسید در خاک‌ها به نیاز متابولیک میکروب‌ها برای هر آمینواسید بر می‌گردد. یعنی هرچه نیاز میکروارگانیسم‌ها به آن‌ها بیشتر باشد معدنی شدن نیتروژن آن آمینواسید هم زیادتر است. از طرفی میزان معدنی شدن برخی آمینواسیدها به محل قرارگیری آن‌ها در مسیر بیوسنتز آمینواسیدها مربوط می‌باشد. آمینواسیدهای موجود در انتهای مسیر بیوسنتز (لیسین) در مقایسه با آمینواسیدهایی که در ابتدای مسیر بیوسنتز قرار دارند (گلوتامات)، کمتر در متابولیسم شرکت می‌کنند، بیشترین مقدار نیتروژن معدنی خالص مربوط به آمینواسید آرجینین است. این امر به این دلیل است که نیاز درونی میکروب‌ها به آرجینین کم بوده و این آمینواسید در انتهای مسیر بیوسنتز نیز قرار گرفته است. آرجینین توسط بسیاری از میکروارگانیسم‌ها و از طریق مسیرهای مختلف متابولیکی تجزیه شده و آمونیفیکاسیون آن بیشتر است. هدف از این مطالعه، مقایسه سینتیکی تجزیه آمینواسیدها در خاک است.

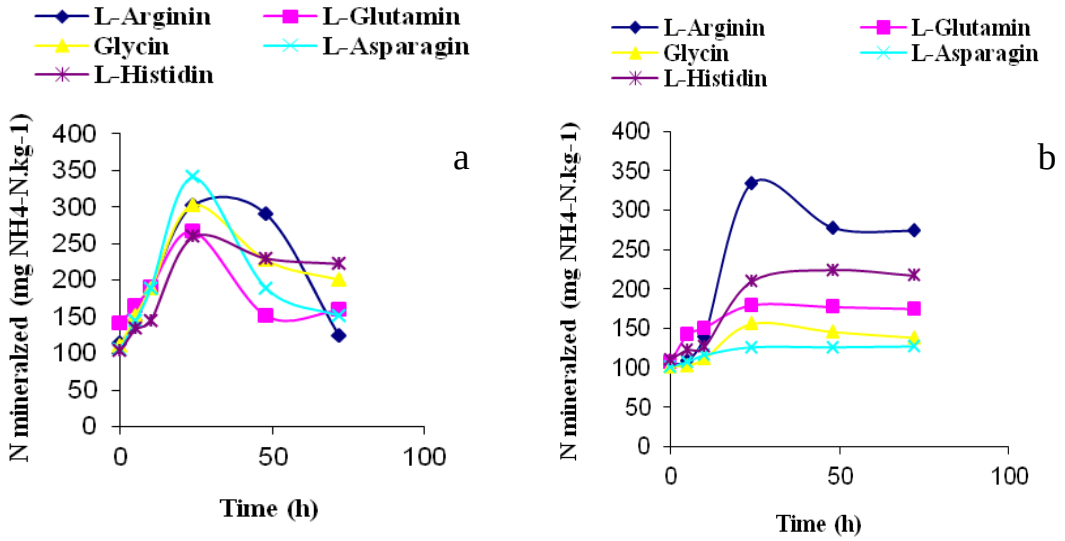
مواد و روشها

نمونه‌های خاک از مزارع تحقیقاتی دانشگاه صنعتی اصفهان واقع در لورک و شرودان تهیه شدند. به منظور بررسی تأثیر زمان بر معدنی شدن نیتروژن آمینوسیدها، خاک‌های مورد مطالعه توسط ۵ میلی‌لیتراز غلظت ۵۰ میلی‌مولار آمینواسیدهای L–گلوتامین، L–آسپاراژین، L–هیستیدین، L–آرجینین، گلیسین، تیمار شده و به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوباسیون گردیدند و در طول این دوره، مقدار نیتروژن معدنی در زمان‌های ۰، ۵ ، ۱۰، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از شروع انکوباسیون با استفاده از روش ارائه شده به وسیله کینی

و نلسون (۱۹۸۲)، اندازه‌گیری شد. در مرحله دوم جهت بررسی تأثیر غلظت آمینوسیدها بر معدنی شدن نیتروژن، خاک‌های مورد مطالعه توسط محلول‌هایی با غلظت‌های ۰، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار آمینواسیدهای مورد نظر تیمار شده و پس از آن مقدار نیتروژن معدنی در زمان ۲۴ ساعت پس از شروع انکوباسیون اندازه گیری شد.

نتایج و بحث

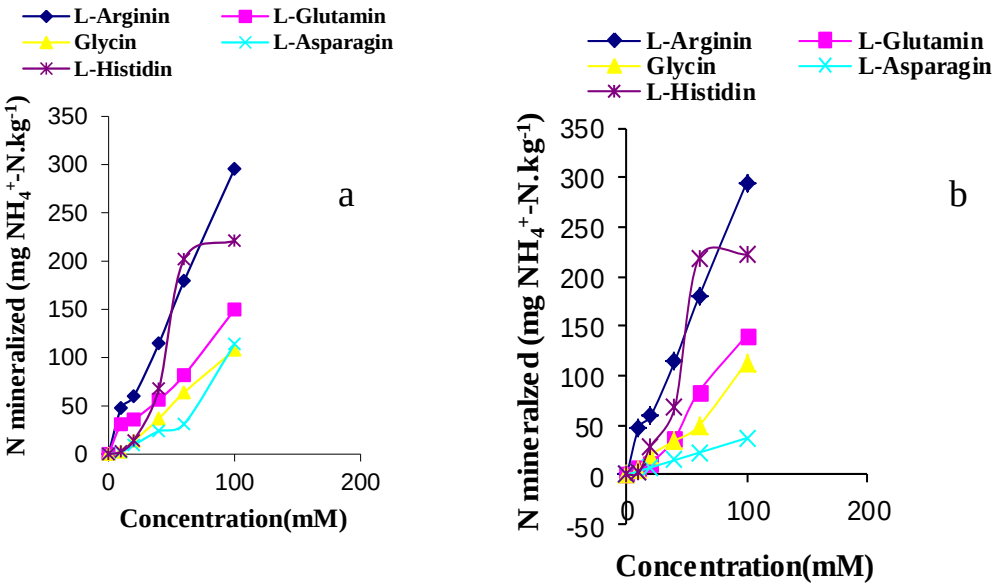
نتایج حاصل از بررسی اثر زمان انکوباسیون آمینواسیدها بر معدنی شدن نیتروژن نشان داد که در هر دو خاک مورد مطالعه معدنی شدن نیتروژن در زمان‌های مختلف برای تیمارهای مختلف، متفاوت است. درخاک لورک بیشترین معدنی شدن نیتروژن برای تمام تیمارها در مدت زمان ۲۴ ساعت اتفاق افتاد و با افزایش زمان کاهش یافت. در این خاک بیشترین معدنی شدن نیتروژن در ۲۴ ساعت، ۳۴۰/۴۱ میلی‌گرم نیتروژن در کیلوگرم خاک مربوط به تیمار L–آسپاراژین و کمترین معدنی شدن نیتروژن ۲۵۹/۱۸ میلی‌گرم نیتروژن در کیلوگرم خاک مربوط به تیمار L–هیستیدین است (شکل ۱a). در خاک شرودان هم مانند خاک لورک بیشترین معدنی شدن نیتروژن برای تمام تیمارها در مدت زمان ۲۴ ساعت اتفاق افتاده و با افزایش زمان ثابت شده است. بیشترین معدنی شدن نیتروژن در خاک شرودان ۳۳۴/۱۵ میلی‌گرم نیتروژن به کیلوگرم خاک مربوط به تیمار L–آرجینین و کمترین معدنی شدن نیتروژن ۱۲۶/۲۳ مربوط به تیمار ال–آسپاراژین است (شکل ۱b). رابرتز و همکاران (۲۰۰۹) به بررسی تأثیر نسبت C/N و وزن مولکولی بر سرعت معدنی شدن آمینواسیدها در خاک پرداختند. نتایج این دانشمندان نشان داد که طی ۲۴ ساعت اول، جمعیت میکروبی به سرعت آمینواسیدها را مصرف کرده و پس از ۹ روز تقریباً باعث حذف کامل آمینواسیدها خواهند شد. رابطه مثبت بین سرعت کاهش غلظت آمینواسیدها و نسبت C/N و وزن مولکولی آن‌ها به مشاهده گردیده، اما این رابطه از نظر آماری معنی‌دار نبوده است.



شکل ۱- نمودار معدنی شدن نیتروژن در زمان‌های مختلف برای آمینواسیدها در خاک لورک a و شرودانb

در مرحله دوم، بیشترین مقدار معدنی شدن نیتروژن برای تمام تیمارها و برای هر دو خاک در ۲۴ ساعت برای محلول غلظت‌های (۰، ۱۰، ۲۰،۴۰، ۶۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار) اندازه‌گیری شد. علت انتخاب مدت زمان ۲۴ ساعت

این بود که در قسمت قبل بیشترین معدنی شدن نیتروژن برای تمام تیمارها در ۲۴ ساعت رخ داد. میزان معدنی شدن نیتروژن برای هر دو خاک با افزایش غلظت زیاد شده است و برای همه تیمارها و برای هر دو خاک بیشترین معدنی شدن نیتروژن در غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار رخ داده است (شکل ۲a ,b) . این یافته‌ها نتایج تحقیق رابرتز و همکاران (۲۰۰۹) را تأیید می‌کند. این محققین به این نتیجه رسیدند که معدنی‌شدن نیتروژن در خاک‌های غنی از نیتروژن، به نیاز میکروارگانیسم‌ها برای هر آمینواسید بر می‌گردد. همچنین معدنی‌شدن برخی آمینواسیدها مربوط به محل قرارگیری آن‌ها در مسیر بیوسنتز آمینواسیدها می‌باشد. بیشترین مقدار نیتروژن معدنی خالص مربوط به آرجینین است. به این دلیل که نیاز متابولیک میکروب‌ها به آرجینین کم بوده و این آمینواسید در انتهای مسیر بیوسنتز نیز قرار گرفته است. آرجینین توسط بسیاری از میکروارگانیسم‌ها و از طریق مسیرهای مختلف متابولیکی تجزیه شده و آمونیفیکاسیون آن سریع است. به عبارتی در ساختمان آمینواسید L–آرجینین در مقایسه با سایر آمینواسیدها مقدار زیادی نیتروژن وجود دارد و از طرفی میکروارگانیسم‌های خاک این آمینواسید را به جای این‌که مستقیماً جذب کنند و وارد پروتئین‌سازی کنند، آن را تجزیه می‌کنند. بنابراین میزان معدنی شدن این آمینواسید هم در بررسی اثر غلظت‌های مختلف و هم اثر زمان بر معدنی شدن نیتروژن از سایر آمینواسیدها بیشتر است و به دلیل تمایل زیاد میکروارگانیسم‌ها برای شکستن این آمینواسید امروزه از آزمایش آرجینین آمونیفیکاسیون برای تخمین میزان بیومس میکروبی استفاده می‌شود. به طور کلی چنین نتیجه گیری می‌شود که بخش بزرگی از آمینواسیدهای آزاد افزوده شده به خاک در مدتی قریب به یک شبانه روز از افزوده شدن به خاک تجزیه می‌شوند. به علاوه سرعت این فرایند وابسته به غلظت بوده که نشان دهنده تبعیت سینتیک فرایند از مدل سینتیکی رده نخست است. به هر حال از بین آمینواسیدهای مورد بررسی بیشترین سرعت تجزیه متعلق به L–آرجینین می‌باشد.



شکل ۲- نمودار معدنی شدن نیتروژن در غلظت‌های مختلف آمینواسیدها در خاک لورک a و شرودانb

منابع

Christou, M., E. J. Avramides and D. L. Jones. 2006. Dissolved organic nitrogen dynamics in a Mediterranean vineyard soil. *Soil Biol. Biochem*. 38: 2265–2277.

Jones DL, Owen AG and Farrar JF. 2002. Simple method to enable the high resolution determination of total free amino acids in soil solutions and soil extracts. Soil Biol. Biochem 34: 1893-1902.

McLain, J. E. T. and D. A. Martens. 2005. Nitrous oxide flux from soil amino acid mineralization. *Soil Biol. Biochem.* 37: 289-299.

Owen, A. G. and D. L. Jones. 2001. Competition for amino acids between wheat roots and rhizosphere microorganisms and the role of amino acids in plant N acquisition. *Soil Biol. Biochem*. 33: 651–657.

Roberts, P., R. Stockdale, M. Khalid, Z. Iqbal and D. L. Jones. 2009. Carbon-to-nitrogen ratio is a poor predictor of low molecular weight organic nitrogen mineralization in soil. *Soil Biol. Biochem.* 41: 1750-1752.

بررسی سینتیک آنزیم ال- گلوتامیناز در اجزای خاکدانه‌ای برخی جنگل‌های بلوط زاگرس

راحله سادات آل طه مکی* _ فرشید نوربخش**

*دانشجوی سابق کارشناسی ارشد دانشگاه صنعتی اصفهان _**استاد گروه خاکشناسی دانشگاه صنعتی اصفهان

مقدمه

از آن‌جا که فعالیت‌های بیولوژیکی و محیط فیزیکی خاک، بسیار به هم مرتبط هستند، هرگونه تغییر مدیریتی که بر فیزیک خاک اثر بگذارد، باعث عکس العمل سریع آنزیم‌ها می‌شود. خاکدانه‌های خاک که جزء ضروری ساختمان خاک محسوب می‌شوند، بهترین محل و جایگاه امن برای فعالیت‌های آنزیمی به حساب می-آیند(سیکس و همکاران ۲۰۰۴). بیش از ۹۰ درصد ماده آلی داخل خاکدانه‌های خاک نگه‌داری می‌شود در نتیجه فعالیت توده زنده میکروبی نیز درون خاکدانه‌ها بیشتر است(حجتی و نوربخش ۲۰۰۹). آنزیم ال- گلوتامیناز (EC 3.5.1.2)، از مهم‌ترین آنزیم‌های دخیل در معدنی کردن نیتروژن خاک به حساب می‌آید که هیدرولیز ال-گلوتامین به ال-گلوتامیک اسید و آمونیاک را انجام می‌دهد (طباطبایی ۱۹۹۴). اندازه‌گیری پارامترهای سینتیکی یک آنزیم ماهیت و پایداری وضعیت کمپلکس آنزیم – سوبسترا را برای ما مشخص می‌سازد. پارامترهای سینتیکی شامل K_m وV_{max} (حداکثر سرعت آنزیم) هستند. K_m برابر مقداری از غلظت سوبسترا است، که درآن غلظت نیمی از نقاط فعال آنزیم توسط سوبسترا اشغال شده باشد. در حقیقت تمایل آنزیم به سوبسترا را نشان می‌دهد. برنز (۱۹۷۸) اظهار می‌دارد با افزایش میزان ماده آلی، آنزیم یا سوبسترا به وسیله کلوئیدها جذب سطحی می‌شوند. و تمایل آنزیم به سوبسترا و تشکیل کمپلکس آنزیم – سوبسترا کاهش می‌یابد. نوربخش و مونریل (۲۰۰۶)، دربررسی، سینتیک آنزیم اوره‌آز در دو منطقه متفاوت از لحاظ کاربری، یکی تحت کشت یونجه و دیگری با کاربری مرتع (پوشش گرامینه)، نشان دادند که پارامترK_m در کاربری کشت یونجه به مراتب بیشتر از مرتع است. پس با تغییر کاربری و تفاوت کیفیت ماده آلی، پارامترهای سینتیکی تغییر می‌کنند. خاک زیر کشت یونجه حاوی مقادیر بیشتر و با کیفیت بالاتر ماده آلی است. آنزیم اوره‌آز باکلوئیدهای هومیکی و مواد آلی تجزیه نشده در سطح خاک، کمپلکس تشکیل می‌دهد و تمایل آنزیم - سوبسترا کاهش و مقادیر K_m افزایش می‌یابد. با توجه به این‌که تعیین پارامترهای سینتیکی، یک دیدگاه قوی از خصوصیات کاتالیتیکی آنزیم‌های برون سلولی است و با بررسی مطالعات قبلی، کمبود اطلاعات در مورد پارامترهای سینتیکی درون خاکدانه‌ها حس می‌شد، این پژوهش با هدف بررسی پاسخ ثابت‌های سینتیکی یکی از آمیدوهیدرولازهای خاک به تغییر کاربری در بخش‌های مختلف خاکدانه انجام شد.

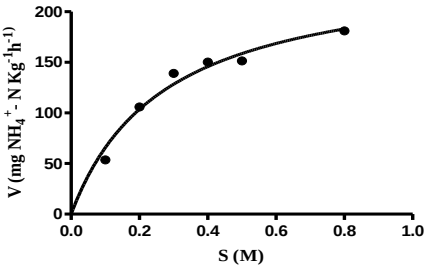
مواد و روشها

نمونه برداری از اکوسیستم جنگلی دلورا در لردگان استان چهارمحال بختیاری با دو کاربری، شامل جنگل دست نخورده بلوط(*Quercus brantii Lindl*) و جنگل تخریب شده بلوط که به زمین کشاورزی با کشت گندم (*Triticum aestivum L.*) تبدیل شده بود، انجام شد. طول جغرافیایی منطقه ۵۱°۱۰′E و عرض جغرافیایی آن ۳۱°۱۹′N و ارتفاع ۲۰۹۷ متر از سطح دریا است. برای جداسازی خاکدانه ها از روش الک تر بهره‌گیری شد

(جاسترو و همکاران ۱۹۹۶). الک های به کار برده شده با مش ۲، ۱، ۰/۵، ۰/۲۵، ۰/۱ میلی‌متر بودند ، بنابراین خاکدانه‌های جدا شده به ترتیب ۲ < ۲-۱، ۱-۰/۵، ۰/۵-۰/۲۵ و ۰/۲۵-۰/۱ می‌باشند. برای به دست آوردن K_m و V_{max}، فعالیت آنزیم ال- گلوتامیناز در حضور غلظت های مختلف سوبسترا (۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۸۰ mM) اندازه گیری شد. و منحنی مربوطه طبق معادله میکائیلیس- منتن، رسم شد. کربن آلی به روش سوزاندن تر در تمام اندازه‌های خاکدانه‌ای اندازه‌گیری شد. آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزارSAS و PRISM انجام شد.

نتایج و بحث

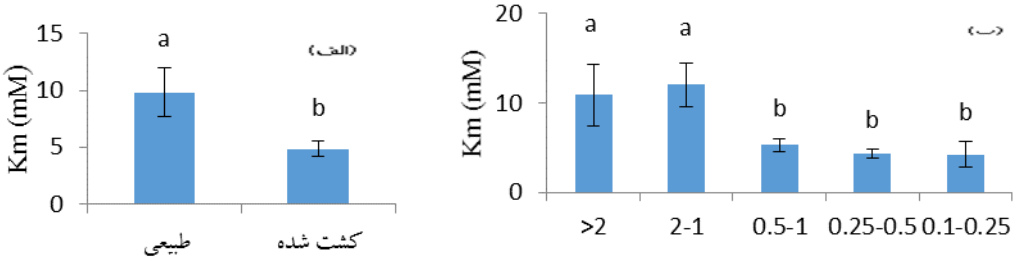
با توجه به شکل ۱ مدل سینتیکی آنزیم ال- گلوتامیناز درون خاکدانه‌ها از مدل سینتیک اشباعی میکائیلیس – منتن پیروی می کند. از آن‌جایی‌که یافتن آستانه منحنی هیپربولیک میکائیلیس- منتن به مراتب مشکل تر بوده و ممکن است با خطاهایی همراه باشد، پس می توان به سادگی پارامتر های K_m و V_{max} را از سه روش خطی سازی لاین ویور-برک، ادی-هافستی، هانس-ولف به دست آورد.



شکل ۱ نمودار برازش یافته سرعت فعالیت آنزیم ال- گلوتامیناز در مقابل غلظت های متفاوت بر اساس معادله میکائیلیس- منتن در خاکدانه ۲< جنگل بلوط طبیعی

پس از اجرای هر سه روش خطی‌سازی و برازش معادلات، روش لاین ویور- برک بهتر از دو معادله دیگر توانست پارامترهای سینتیکی را برآورد کند. به همین دلیل تمام محاسبات آماری بر اساس داده های به دست آمده توسط این معادله، انجام شد. با توجه به نتایج همبستگی شاخص محتوای آنزیمی(V_{max}) با شاخص تمایل آنزیم به سوبسترا (K_m) با مقدار (۰/۹۳***) و با کربن آلی(۰/۹۵***) ارتباط مثبت و معنی‌داری نشان می دهد. و همبستگیK_m با کربن آلی (۰/۸۳***) است. به طور کلی ماده آلی به دلیل داشتن ماهیت کلوئیدی و خاصیت جذب کنندگی بالا بر بسیاری از خصوصیات خاک تأثیرگذار است و می‌تواند ماهیت آنزیم‌ها را نیز دستخوش تغییر کند. در مطالعات نوربخش و مونریل (۲۰۰۶)، جان و همکاران(۲۰۰۵) نیز پارامترهای سینتیکی با کربن آلی رابطه معنی‌دار نشان دادند. با افزایشV_{max}، شاهد افزایش مقادیر K_m خواهیم بود که این ارتباط احتمالاً به دلیل وجود ارتباط قوی و معنی دار K_m با کربن آلی است. به صورتی که با افزایش کربن آلی میزان تثبیت آنزیم‌ها افزایش می‌یابد درنتیجه تمایل آن‌ها به سوبسترا کاهش می‌یابد (افزایشK_m)، از طرفی میکروارگانیسم ها برای جبران این تثبیت حاضر به تولید مقدار آنزیم بیشتری می‌شوند به این طریق محتوای آنزیمی (V_{max})

افزایش می‌یابد. شکل ۲(الف) نشان می‌دهد که میزان K_m در جنگل بلوط طبیعی بیش‌تر از کاربری کشت شده است که این اختلاف ناشی از میزان ماده آلی بیش‌تر در جنگل بلوط طبیعی می‌باشد.



شکل۲-اثر اصلی مدیریت (الف) و اثر اصلی خاکدانه (ب) بر مقادیر K_m

در حقیقت میزان تمایل کم نسبت به تشکیل کمپلکس آنزیم- سوبسترا، (K_m زیاد) ناشی از این موضوع است که آنزیم یا سوبسترا به نحوی به وسیله توده خاک یا مواد آلی احاطه شده اند یا این که آنزیم ها در این محیط که دارای ماده آلی بالا می‌باشد بیش‌تر با مواد هومیکی تشکیل کمپلکس داده‌اند و از دسترس خارج شده‌اند (برنز۱۹۷۸). به عبارت دیگر ماده آلی در این‌جا نقش بازدارنده را بازی می‌کند به طوری که وقتی آنزیم بر سطح کلوئیدهای آلی جذب می‌شود، جایگاه فعال آن دیگر تمایلی به جذب سوبسترا نشان نمی‌دهد که این امر سبب معنی‌داری تفاوت در دو کاربری شده است. تفاوت در میزان K_m در هر کدام از کلاس‌های خاکدانه‌ای مربوط به تفاوت آنزیمی می‌باشد. منظور از تفاوت آنزیمی این است که با توجه به همسان بودن نوع آنزیم اما از لحاظ ساختاری متفاوت هستند به این گونه آنزیم ها ایزوآنزیم گفته می شود. مارکس و همکاران (۲۰۰۵) نیز در بخش‌های مختلف خاکدانه‌ای K_m های متفاوت یافتند و معتقدند که K_m های متفاوت در بخش‌های مختلف یک خاک به نوع آنزیم بستگی دارد که وابستگی آن آنزیم با آن بخش خاک روی تمایل به سوبسترای آن تأثیر گذاشته است. در مطالعه حاضر که نوع آنزیم یکی است (ال- گلوتامیناز)، این احتمال می رود که با وجود مواد آلی مختلف، ایزوآنزیم‌های متفاوت این آنزیم در بخش‌های مختلف خاکدانه‌ای حضور دارند که بر تمایل آن به سوبسترا مؤثر است. همچنین میزان ماده آلی موجود در خاکدانه نیز بر مقدار K_m تأثیرگذار است. جدول ۱ نشان می دهد محتوای آنزیمی در خاکدانه‌های درشت بیش‌تر از خاکدانه‌های ریز است. خاکدانه‌های درشت با داشتن منافذ ریز و درشت بسیار جایگاه مناسبی برای آنزیم‌ها به شمار می روند(آلیسون وجاستروه۲۰۰۶). کاهش محتوای آنزیمی(V_{max}) با کاهش اندازه خاکدانه صورت می گیرد که این موضوع از فراوانی خاکدانه‌های جنگل بلوط طبیعی نشأت می گیرد.

جدول ۱- مقایسه میانگین اثرات متقابل مدیریت و اندازه خاکدانه بر مقدار V_{max}

مدیریت	اندازه خاکدانه ها (میلی متر)				
	>۲	۲ -۱	۱ -۰/۵	۰/۵ -۰/۲۵	۰/۲۵ -۰/۱
طبیعی	۱۲۹/۲^{a}	۱۰۴/۶^{b}	۵۲/۷^{c}	۲۶/۱^{de}	۱۴/۲^{ef}
کشت شده	۱۱/۴^{f}	۳۴/۱^{d}	۱۳/۵^{ef}	۱۸/۷^{ef}	۱۷/۵^{ef}

نکته قابل توجه در این بین، خاکدانه ۱-۲ میلی متر کاربری تخریب شده می‌باشد. این خاکدانه با این که فراوانی نسبی کم‌تری نسبت به دیگر کلاس‌های خاکدانه‌ای دارد اما میزان V_{max} آن به اندازه‌ای زیاد بوده است که توانسته بیش‌تر از دیگر کلاس های خاکدانه ای محتوای آنزیمی را نشان دهد. حتی این مقدار محتوای آنزیمی، از خاکدانه‌های ۰/۲۵- ۰/۵و ۰/۱- ۰/۲۵ کاربری بلوط طبیعی نیز بیش‌تر است. این موضوع در مورد مقدارK_m این خاکدانه نیز صدق می‌کند. در هر دو کاربری، هر دو پارامتر سینتیکی K_m و V_{max} در خاکدانه ۱-۲ میلی متر بیش از بقیه کلاس‌های خاکدانه‌ای بود که این موضوع بیش از پیش اهمیت حفظ و پایداری ساختمان خاک را جهت بهبود خصوصیات بیوشیمیایی یادآور می‌شود. در نتیجه با تخریب جنگل و تبدیل آن به زمین کشاورزی، درشت خاکدانه‌ها به ریز خاکدانه‌ها تبدیل شده‌اند، کربن آلی افت کرده است و در پی آن محتوای آنزیمی و فعالیت آنزیمی کاهش یافته است.

منابع

Allison SD, and Jastrow JD, 2006. Activities of extracellular enzymes in physically isolated fractions of restored grassland soil. Soil Biology and Biochemistry. 38: 3245-3256.

Burns RG, 1978. Enzyme activity in soil: Some theorical and paractical consideration. PP.295- 340. In: R.G. Burns (Ed.), Soil Enzymes. Academic Press, London.

Hojati SA, and Nourbakhsh FA, 2009. Distribution of β-Glucosidase activity within aggregates of a soil amended with organic fertilizers. American Journal of Agricultural and Biological Sciences. 4: 179-186.

Jastrow JD, Boutton TW and Miller RM. 1996. Carbon dynamics of aggregate-associated organic matter estimated by carbon-13 natural abundance. Soil Science Society of American Journal 60: 801-807.

John B, Yamashita T, Ludwig B and Flessa H. 2005. Storage of organic carbon in aggregate and density fractions of silty soils under different type of land use. Geoderma. 128: 63- 79.

Marx MC, Kandeler E, Wood M, Wermbter N, and Jarvis S C, 2005. Exploring the enzymatic landscape: distribution and kinetics of hydrolytic enzymes in soil particule- size fractions. Soil Biology and Biochemistry. 37: 35- 48.

Nourbakhsh FA, and Monreal CM, 2006. Urease activity as affected by cultivation and soil depth: A kinetic approach. Agrochimica. 12: 72- 76.

Six J, Bossuyt H, Degryze S, and Denef K, 2004. A history of research on the link between (micro)aggregates, soil biota and soil organic matter dynamics. Soil Tillage and Research. 79: 7- 31.

Tabatabai M. A, 1994. Soil Enzymes. *In*: Weaver et al . Methods of Soil Analysis. Madison, Wl., USA.

تأثیر باکتری‌های دارای فعالیت ACC-دی‌آمیناز بر وزن خشک بوته‌ی سه رقم گندم تحت تنش شوری

رضوان نادری[۱]، محمدقادر قادری[۲]، غلامرضا زمانی[۲] و مجید جامی‌الاحمدی[۲]
۱-دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و تکنولوژی بذر، دانشگاه بیرجند
۲-اعضای هیئت علمی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند
Email: naderis20@gmail.com

مقدمه

محدودیت اراضی قابل کشت و منابع آب شیرین موجب شده است که جهت‌گیری بسیاری از پژوهش‌ها به سمت بررسی امکان استفاده از خاک‌ها و آب‌های شور در تولید محصولات زراعی باشد. بیوپرایمینگ فرآیند تیمار بیولوژیکی بذر گیاه است که شامل آبگیری و تلقیح همزمان بذر با میکروارگانیسم‌های سودمند به منظور حفاظت از آن در مقابل عوامل نامساعد محیطی می‌باشد (Singh et al, 2003).

تنش شوری از طریق افزایش مقدار ترکیب ۱-آمینوسیکلوپروپان-۱-کربوکسیلیک اسید (ACC) موجب افزایش میزان بیوسنتز اتیلن در گیاه می‌شود و اتیلن نیز فرآیندهای فیزیولوژیکی بافت‌های گیاهی را دستخوش تغییرات نامطلوب می‌کند. اخیراً محققین دریافته‌اند که برخی از باکتری‌ها محتوی آنزیمی تحت عنوان ACC-دی‌آمیناز هستند، که قادر به تغییر مقدار ACC درونی گیاه و متعاقباً تغییر مقدار اتیلن می‌باشد. این آنزیم سبب هیدرولیز ACC به آمونیاک و آلفا-کتوبوتیرات شده و بدین طریق، تولید اتیلن در گیاهان تحت تنش را کاهش و متعاقباً آسیب‌هایی که ممکن است در اثر این نوع از اتیلن به گیاه وارد شود نیز به حداقل می‌رسد (Grichko, and Glick, 2001).

مواد و روش‌ها

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در شرایط گلخانه به اجرا در آمد. آزمایش در برگیرنده‌ی دو سطح مایه تلقیح باکتریایی شامل *Pseudomonas fluorescens* strain 169 و *Pseudomonas putida* strain 108 و یک سطح بدون تلقیح، سه رقم گندم شامل روشن، قدس و چمران و سه سطح آب شور، شامل صفر، ۵، ۱۰، دسی‌زیمنس بر متر با نسبت‌های اکی‌والانی برابر از نمک‌های NaCl و $CaCl_2$ بود (جلیلی و همکاران، ۱۳۸۸). در تیمارهای تلقیحی، بذور به مدت یک‌ساعت در دمای اتاق درون سوسپانسیون باکتریایی معلق گردیدند، در تیمارهای بدون تلقیح نیز بذور به مدت یک‌ساعت درون محلول استریل سولفات منیزیم ۱۰۰ میلی‌مولار غوطه‌ور شدند (Husen et al., 2009). خاک مورد استفاده ترکیبی از خاک مزرعه، خاک برگ و ماسه با نسبت وزنی ۳:۱:۱ (۳کیلوگرم خاک مزرعه، یک کیلوگرم خاک‌برگ، یک کیلوگرم ماسه) بود. قبل از پر نمودن گلدان‌ها، EC خاک عیین و میزان کود مورد نیاز بر اساس نتایج آزمون خاک محاسبه گردید و به خاک مورد استفاده افزوده شد. در پایان دوره رشد گیاه، وزن خشک بوته‌ها اندازه‌گیری شد. تجزیه داده‌های حاصل از این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار SAS صورت پذیرفت. مقایسه‌ی میانگین‌ها به روش LSD در سطح احتمال ۵ درصد و با استفاده از نرم‌افزار MSTAT C انجام و برای ترسیم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

جدول (۱) برخی از خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک مورد استفاده در آزمون

ازت کل (٪)	کربن آلی (٪)	فسفر قابل جذب (mg/kg)	پتاسیم قابل جذب (mg/kg)	رس (٪)	سیلت (٪)	شن (٪)	EC (ds/m)	pH	بافت خاک
۰/۸۴	۰/۷۹۶	۲۲/۳۶	۵۸۹	۳۵	۴۱/۸	۲۳/۲	۰/۸۳۳	۷/۵۶	لومی رسی

نتایج و بحث

تجزیه‌ی واریانس مربوط به صفت وزن خشک گیاهچه گندم نشان داد که تأثیر شوری، رقم، تلقیح باکتریایی و نیز اثرات متقابل سطوح شوری × رقم، شوری × تلقیح باکتریایی ، رقم × تلقیح باکتریایی و نهایتاً سطوح شوری × رقم × تلقیح باکتریایی، بر وزن خشک گیاهچه گندم در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲).

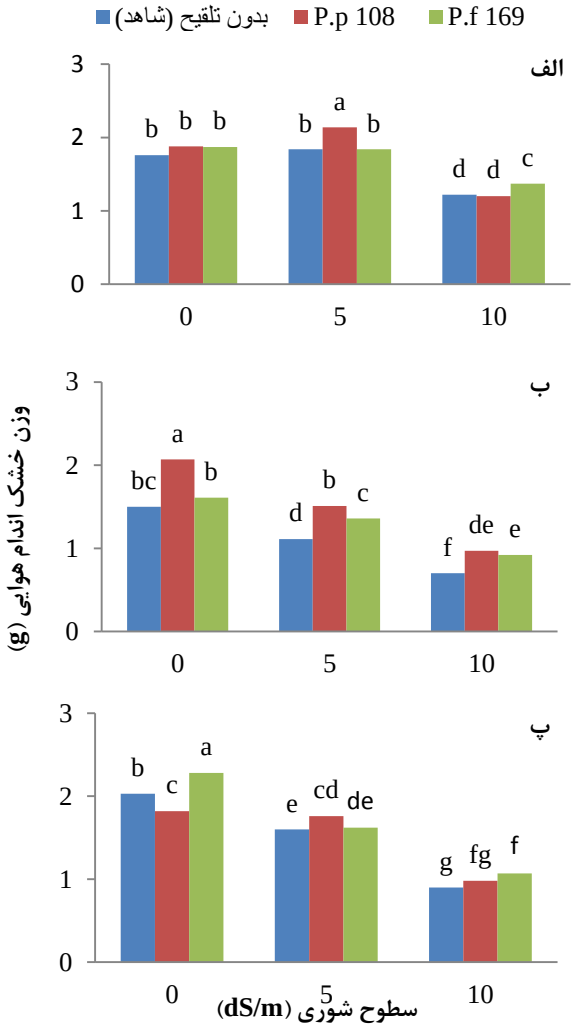
جدول (۲) تجزیه‌ی واریانس برای صفت وزن خشک اندام هوایی ارقام گندم

منابع تغییر	درجه‌ی آزادی	میانگین مربعات
		وزن خشک اندام هوایی
شوری (S)	۲	۵/۰۱۰**
رقم (C)	۲	۰/۹۹۷**
باکتری (B)	۲	۰/۲۵۲**
S×C	۴	۰/۲۴۱**
S×B	۴	۰/۰۴۴**
C×B	۴	۰/۱۱۵**
S×C×B	۸	۰/۰۵۴**
خطا	۵۴	۰/۰۰۸
ضریب تغییرات		۶/۰۰۷

***، ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد و ns غیرمعنی‌دار**

در رقم روشن در سطح شوری پنج دسی‌زیمنس بر متر سویه باکتریایی P.p 108 سبب افزایش معنی‌دار ۱۶/۳۰ درصدی وزن خشک اندام هوایی در مقایسه با تیمار شاهد بدون تلقیح همین سطح از شوری گردید. در سطح شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر نیز سویه باکتریایی P.f 169 توانست سبب افزایش معنی‌دار ۱۲/۲۹ درصدی وزن خشک اندام هوایی رقم روشن در مقایسه با تیمار شاهد بدون تلقیح همین سطح از شوری گردد (شکل ۱، قسمت الف). در رقم قدس سویه باکتریایی P.p 108 سبب افزایش معنی‌دار ۳۸ درصدی وزن خشک اندام هوایی این رقم در سطح شوری صفر گردید. در سطح شوری پنج دسی‌زیمنس بر متر تلقیح بذور رقم قدس توسط هر دو سویه باکتریایی P.p 108 و P.f 169 سبب افزایش معنی‌دار وزن خشک اندام هوایی این رقم به ترتیب به میزان ۳۶ و ۲۲/۵ درصد در مقایسه با تیمار شاهد بدون تلقیح همین سطح از شوری گردید. در سطح شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر نیز هر دو سویه باکتریایی P.p 108 و P.f 169 موجب افزایش معنی‌دار وزن خشک اندام هوایی به ترتیب به میزان ۳۸/۵ و ۳۱/۴ درصد نسبت به تیمار شاهد بدون تلقیح همین سطح از شوری شدند (شکل ۱، قسمت ب). در رقم چمران در سطح شوری صفر تلقیح بذور توسط سویه باکتریایی P.f

169 سبب افزایش معنی‌دار ۱۲/۳۱ درصدی وزن خشک اندام هوایی شد. در سطح شوری پنج دسی‌زیمنس بر متر تلقیح با سویه باکتریایی P.p 108 سبب افزایش معنی‌دار ۱۰ درصدی وزن خشک اندام هوایی رقم چمران گردید و در سطح شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر نیز سویه‌ی باکتریایی P.f 169 سبب افزایش معنی‌دار ۱۸/۸ درصدی وزن خشک اندام هوایی رقم چمران در مقایسه با تیمار شاهد شد (شکل ۱، قسمت پ).



شکل (۷) تأثیر تلقیح باکتریایی بر وزن خشک اندام هوایی رقم روشن (الف) قدس (ب) چمران (پ) تحت سطوح مختلف شوری (میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند).

در مجموع می‌توان اظهار داشت که سویه‌های باکتریایی مورد مطالعه با برخورداری از صفاتی نظیر تولید هورمون‌ها و مواد محرک رشد، بهبود تغذیه‌ی گیاه و کاستن از میزان اتیلن تنشی به واسطه‌ی تولید آنزیم ACC–دی‌آمیناز (ذبیحی و همکاران، ۱۳۸۸) در بسیاری از موارد توانستند وزن خشک اندام هوایی بوته‌های تلقیح شده را نسبت به بوته‌های تلقیح نشده افزایش دهند (شکل ۱).

به طور کلی، کاهش رشد گیاهان در خاک‌های شور تا حدودی وابسته به بروز کمبود آهن و کاهش قابلیت جذب فسفات تحت چنین شرایطی می‌باشد (Burd et al., 2000). از این رو، تلقیح بذور توسط ریزوباکتری‌های محرک رشد حل‌کننده‌ی فسفات و تولیدکننده‌ی سیدروفور می‌تواند سبب تسهیل تکثیر ریشه‌ی گیاه در درون خاک و متعاقباً بهبود جذب عناصر معدنی نظیر فسفر و آهن توسط گیاه میزبان شود (Zaidi et al., 2006). سویه‌های باکتریایی مورد مطالعه در این آزمون نیز احتمالاً به‌واسطه‌ی سنتز کلات زیستی سیدروفور و همچنین انحلال فسفات (ذبیحی و همکاران، ۱۳۸۸) سبب افزایش میزان فراهمی عناصر مفیدی نظیر آهن و فسفر برای بوته‌های گندم شده و به دلیل بهبود جذب آهن و فسفر توسط گیاه رشد آن را تحت شرایط کمبود آهن و فسفر القا شده بر اثر وجود غلظت‌های بالای املاح در خاک ارتقا داده‌اند. از طرف دیگر، این ریزوباکتری‌ها با تولید هورمون گیاهی ایندول استیک اسید و همچنین کاستن از میزان تولید اتیلن تنشی موجب بهبود توسعه‌ی ریشه‌های گندم و احتمالاً افزایش دسترسی گیاه به آب و عناصر غذایی موجود در خاک شده و بدین طریق رشد بوته‌های گندم را تحت تنش شوری بهبود بخشیده‌اند (Khan et al., 2003; Cakmakci et al., 2007).

منابع

جلیلی، ف.، خاوازی، ک. پذیرا، ا. نجاتی، ع. و اسدی رحمانی، ه.، ۱۳۸۸. تأثیر سودوموناس‌های فلورسنت دارای فعالیت آنزیم ACC–دی‌آمیناز در تعدیل اثرات مضر شوری بر کلزا در مرحله جوانه‌زنی، مجله‌ی پژوهش‌های خاک. ۲۳: ۲۵–۴۰.

ذبیحی، ح. ر.، ثواقبی، غ.ر.، ۱۳۸۸. بررسی تاثیرکاربرد سویه هایی از سودوموناسهای فلورسنت بر عملکرد و اجزای عملکرد گندم در سطوح مختلف شوری خاک. مجله آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی). ۲۳: ۲۰۸–۱۹۹.

Burd, G.I., Dixon, D.G., and Glick, B.R., 2000. Plant growth promoting bacteria that decrease heavy metal toxicity in plants. Canadian Journal of Microbiology, 46: 237–245.

Cakmaki, R., Kantar, F. and Algur, F. 1999. Sugar beet and barley yields in relation to Bacillus polymyxa and Bacillus megaterium var. phosphaticum inoculation. Journal of Plant Nutrition and Soil Science. 162: 437-442.

Grichko, V.P. and Glick, B.R. 2001. Amelioration of flooding stress by ACC-deaminase containing plant growth promoting bacteria. Pl. Physiol. Biochem., 39: 11–17.

Husen, E., Wahyudi, A.T., Suwanto, A., and Saraswati, R., 2009. Soybean seedling root growth promotion by 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase-producing pseudomonads. Indonesian Journal of Agricultural Science. 10: 19-25.

Khan, M.A. and Gulzar, S. 2003. Germination responses of Sporobolus ioclados: a potential forage grass. Journal of arid environment. 53: 387-394.

Singh, U.S., Zaidi, N.W., Joshi, D., Varshney, S. and Khan, T. 2003. Current status of *Trichoderma* as a biocontrol agent. In: Ramanujam, B. and Rabindra, R.J. (eds) Current status of biological control of plant diseases using antagonistic organisms in India. Project Directorate of Biological Control, Bangalore, pp 13-48.

Zaidi, S., Usmani, S., Singh, B.R., and Musarrat, J., 2006. Significance of *Bacillus subtilis* strain SJ-101 as a bioinoculant for concurrent plant growth promotion and nickel accumulation in *Brassica juncea*. *Chemosphere*. 64: 991–997.

تأثیر بیوپرایم بذر با ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه بر شاخص تحمل بوته سه رقم گندم تحت تنش شوری

رضوان نادری[۱]، محمدقادر قادری[۲]، غلامرضا زمانی[۲] و مجید جامی‌الاحمدی[۲]
۱ دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و تکنولوژی بذر، دانشگاه بیرجند
۲ اعضای هیئت علمی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند
Email: naderis20@gmail.com

مقدمه

شوری به عنوان یکی از موانع اصلی توسعه کشاورزی در تمام نقاط دنیا شناخته شده است. اوج اثرات منفی و بازدارنده شوری در مناطق خشک و نیمه‌خشک می‌باشد که به علت کمبود نزولات جوی امکان شستشوی طبیعی املاح عامل شوری مقدور نمی‌باشد (تاج‌بخش و قیاسی، ۱۳۸۷). تنش شوری، جذب عناصر غذایی و فعالیت‌های متابولیکی گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. کاهش آب قابل دسترس در شرایط شوری به همراه ایجاد اثر سمیت یونی برخی از عناصر (نظیر سدیم و کلر) و عدم تعادل غذایی، موجب کاهش عملکرد گیاه می‌شود. شوری با القای خشکی فیزیولوژیک مانع از توسعه و متابولیسم سلولی شده بدین ترتیب رشد گیاه را کاهش می‌دهد (Khan and Ungar, 1997).

بررسی نتایج مطالعات مختلف حاکی از آن است که تلقیح ناحیه‌ی ریزوسفر به وسیله‌ی باکتری‌های محرک رشد گیاه، به ویژه باکتری‌های تولیدکننده‌ی ACC–دی‌آمیناز می‌تواند منجر به ارتقای رشد و بیوماس تولیدی گیاهان مواجه با تنش شوری شود (Sheng and Xia, 2006). این ریزوباکتری‌ها علاوه بر نقشی که در سم‌زدایی و یا حذف یون‌های سمی دارند، قادر به ارتقای رشد گیاهان از طریق مکانیسم‌هایی نظیر تولید مواد محرک رشد، سیدرفور و جلوگیری از سنتز اتیلن نیز می‌باشند (Saghir Khan et al, 2009). از این رو، امکان استفاده از آن‌ها به منظور بیوپرایم بذر و در نتیجه کاستن از اثرات مخرب تنش شوری بر بذور و گیاهچه‌های در حال رشد وجود خواهد داشت (Saghir Khan et al, 2009).

مواد و روش‌ها

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در شرایط گلخانه به اجرا در آمد. آزمایش در برگیرنده‌ی دو سطح مایه‌ی تلقیح باکتری‌های تولیدکننده‌ی آنزیم ACC-دی‌آمیناز، شامل Pseudomonas *fluorescens* strain 169 ، *Pseudomonas putida* strain 108 و یک سطح بدون تلقیح، سه رقم گندم شامل چمران، روشن و قدس و سه سطح آب شور، شامل صفر، ۵ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر با نسبت‌های اکی‌والانی برابر از نمک‌های NaCl و $CaCl_2$ بود (جلیلی و همکاران، ۱۳۸۸). در تیمارهای تلقیحی، بذور گندم به مدت یک‌ساعت در دمای اتاق درون سوسپانسیون باکتریایی معلق گردیدند، در تیمارهای بدون تلقیح نیز بذور به مدت یک‌ساعت درون محلول استریل سولفات منیزیم ۱۰۰ میلی‌مولار غوطه‌ور شدند (Husen et al., 2009). خاک مورد استفاده جهت انجام آزمون ترکیبی از خاک مزرعه، خاک برگ و ماسه با نسبت وزنی ۳:۱:۱ (۳کیلوگرم خاک مزرعه، یک کیلوگرم خاک‌برگ، یک کیلوگرم ماسه) بود. قبل از پر نمودن گلدان‌ها، EC خاک تعیین و

میزان کود مورد نیاز بر اساس نتایج آزمون خاک محاسبه گردید و به خاک مورد استفاده اضافه شد. در پایان رشد گیاه وزن خشک بوته‌ها اندازه‌گیری شد و با استفاده از فرمول زیر شاخص تحمل (TI) محاسبه گردید.

$$TI = \frac{DW_S}{DW_{ns}} \times 100 \qquad [۱]$$

DW_S : وزن خشک بوته در تیمار آبیاری با آب شور

DW_{ns}: وزن خشک بوته در تیمار آبیاری با آب غیر شور

تجزیه داده‌های حاصل از این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار SAS صورت پذیرفت. مقایسه‌ی میانگین‌ها به روش LSD در سطح احتمال ۵ درصد و با استفاده از نرم‌افزار MSTAT C انجام و برای ترسیم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

جدول (۱) برخی از خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک مورد استفاده در آزمون

ازت کل (٪)	کربن آلی (٪)	فسفر قابل جذب (mg/kg)	پتاسیم قابل جذب (mg/kg)	رس (٪)	سیلت (٪)	شن (٪)	EC (ds/m)	pH	بافت خاک
۰/۸۴	۰/۷۹۶	۲۲/۳۶	۵۸۹	۳۵	۴۱/۸	۲۳/۲	۰/۸۳۳	۷/۵۶	لومی رسی

نتایج و بحث

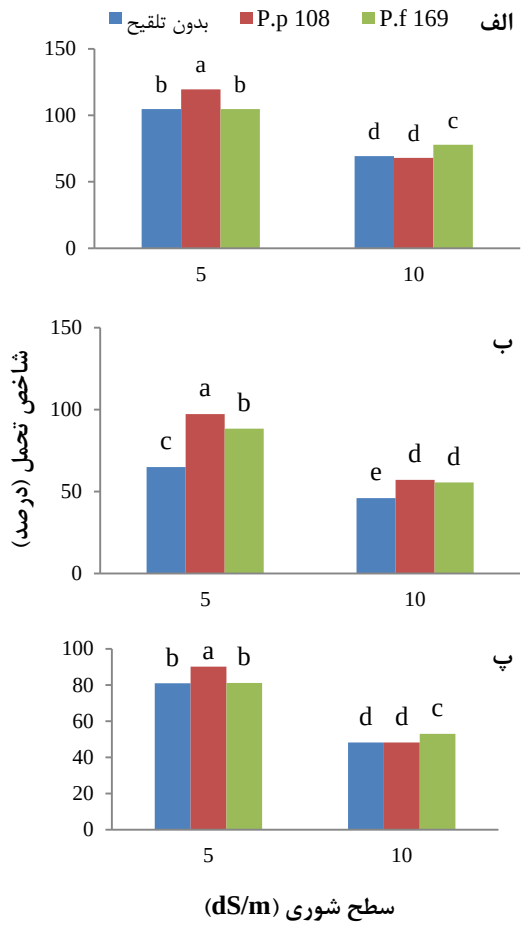
تجزیه‌ی واریانس مربوط به شاخص تحمل بوته‌های گندم نشان داد که تأثیر تیمارهای شوری، رقم، باکتری، اثرمتقابل شوری × رقم، شوری × باکتری، رقم × تلقیح باکتریایی و شوری × رقم × تلقیح باکتریایی بر این شاخص در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بود (جدول ۱).

جدول (۱) جدول تجزیه‌ی واریانس برای شاخص تحمل ارقام گندم

منابع تغییر	درجه‌ی آزادی	میانگین مربعات
		شاخص تحمل (درصد)
شوری (S)	۲	۱۵۸۳۶/۵۵**
رقم (C)	۲	۳۲۰۱/۳۸**
باکتری (B)	۲	۵۷۴/۹۲**
S×C	۴	۵۹/۰۰**
S×B	۴	۳۵۴/۶۲**
C×B	۴	۱۴۶/۷۷**
S×C×B	۸	۶۴/۲۰**
خطا	۵۴	۵/۳۶
ضریب تغییرات		۳/۰۷

*، ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد و ns غیرمعنی‌دار

نتایج نشان داد که در رقم روشن، تلقیح بذور توسط سویه‌ی باکتریایی P.p 108 سبب افزایش معنی‌دار ۱۴/۱۵ درصدی شاخص تحمل در سطح شوری پنج دسی‌زیمنس بر متر گردید. در سطح شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر سویه‌ی باکتریایی P.f 169 موجب افزایش معنی‌دار شاخص تحمل به میزان ۱۲/۲۸ درصد نسبت به تیمار شاهد گردید (شکل۱، قسمت الف). در سطح شوری پنج دسی‌زیمنس بر متر تلقیح بذور رقم قدس توسط هر دو سویه باکتریایی P.p 108 و P.f 169 سبب افزایش معنی‌دار شاخص تحمل این رقم به ترتیب به میزان ۴۹/۶۳ و ۳۶/۰۵ درصد در مقایسه با تیمار شاهد بدون تلقیح همین سطح از شوری گردید. در سطح شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر نیز هر دو سویه‌ی باکتریایی P.p 108 و P.f 169 سبب افزایش معنی‌دار شاخص تحمل این رقم به ترتیب به میزان ۲۴/۰۱ و ۲۰/۷۷ درصد گردیدند (شکل ۱، قسمت ب). در رقم چمران در سطح شوری پنج دسی‌زیمنس سویه‌ی باکتریایی P.p 108 سبب افزایش معنی‌دار ۱۱/۳۶ درصدی شاخص تحمل نسبت به تیمار شاهد گردید و در سطح شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر نیز سویه‌ی باکتریایی P.f 169 سبب افزایش معنی‌دار ۹/۹۵ درصدی شاخص تحمل گردید (شکل ۱، قسمت پ).



شکل (۱) تأثیر تلقیح باکتریایی بر شاخص تحمل (درصد) رقم روشن (الف)، قدس (ب) و چمران (پ) تحت سطوح مختلف شوری (میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند).

در مجموع نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که باکتری‌های محرک رشد گیاه به‌واسطه‌ی برخورداری از صفاتی نظیر سنتز آنزیم ACC–دی‌آمیناز، تولید هورمون‌های گیاهی مثل ایندول استیک اسید و کلات‌های زیستی مانند سیدروفور قادر به بهبود تحمل بوته‌های گندم نسبت به تنش شوری بودند. مطالعات پیشین نیز حاکی از افزایش تحمل گیاهان در مقابل تنش‌های محیطی نظیر خشکی، شوری (Mayak et al., 2004) و سمیت ناشی از فلزات سنگین (Belimov et al., 2005) در نتیجه‌ی تلقیح با باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه می‌باشند. این باکتری‌ها با استفاده از مکانیسم‌هایی نظیر تولید هورمون‌های گیاهی، تثبیت نیتروژن به صورت همزیستی یا غیرهمزیستی، بهبود جذب آهن از طریق ترشح سیدروفورها، مقابله با پاتوژن‌های گیاهی به‌واسطه‌ی سنتز آنتی‌بیوتیک‌ها، آنزیم‌های لیزکننده دیواره‌ی سلولی و ترکیبات قارچ‌کش، انحلال فسفات‌های آلی و معدنی و کاهش سطوح اتیلن تنشی به وسیله‌ی تولید آنزیم ACC–دی‌آمیناز، در بهبود شاخص‌های رشدی گیاه نظیر سرعت جوانه‌زنی، رشد ریشه، میزان تولید در واحد سطح، وزن خشک اندام هوایی و ریشه، سطح برگ و محتوای کلروفیل برگ مؤثر بوده و بدین طریق موجب افزایش تحمل گیاه نسبت به تنش‌های زیستی و غیرزیستی می‌شوند (ارزانش و همکاران، ۱۳۹۱).

منابع

ارزانش، م.ح.، بنی‌عقیل، ن.، قربانلی، م.، و شهبازی، م.، ۱۳۹۱. تأثیر باکتری‌های محرک رشد گیاه بر پارامترهای رشدی و غلظت عناصر کم‌مصرف در دو رقم کلزا تحت تنش شوری. مجله مدیریت خاک و تولید پایدار. ۲: ۱۵۳-۱۶۴.

تاج‌بخش، م.، و قیاسی، م.، ۱۳۸۷. اکولوژی بذر. چاپ اول. انتشارات جهاد دانشگاهی، آذربایجان غربی، ۹۵ ص.

جلیلی، ف.، خاوازی، ک. پذیرا، ا. نجاتی، ع. و اسدی رحمانی، ه.، ۱۳۸۸. تأثیر سودوموناس‌های فلورسنت دارای فعالیت آنزیم ACC–دی‌آمیناز در تعدیل اثرات مضر شوری بر کلزا در مرحله جوانه‌زنی، مجله‌ی پژوهش‌های خاک، جلد ۲۳، شماره ۱، ص ۲۵–۴۰.

Belimov, A.A., Hontzeas, N., Safronova, V.I., Demchinskaya, S.V., Piluzza, G., Bullitta, S., and Glick, B.R., 2005. Cadmium-tolerant plant growth-promoting bacteria associated with the roots of Indian mustard (Brassica juncea L. Czern.). Soil Biology and Biochemistry. 37: 241–250.

Husen, E., Wahyudi, A.T., Suwanto, A., and Saraswati, R., 2009. Soybean seedling root growth promotion by 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase-producing pseudomonads. Indonesian Journal of Agricultural Science. 10: 19-25.

Khan, M.A. and Ungar, I.A. 1997. Effects of thermoperiod on recovery of seed germination of halophytes in saline conditions. Am. J. Bot. 84: 279–283.

Mayak, S., Tirosh, S., and Glick, B.R., 2004. Plant growth promoting bacteria that confer resistance to water stress in tomatoes and peppers. Plant Physioloy. 166: 525–530.

Saghir Khan, M., Zaidi, A., Ahmad Wani, P. and Oves, A. 2009. Role of plant growth promoting rhizobacteria in the remediation of metal contaminated soils. Environmental chemistry letters, 7:1–19.

Sheng, X.F. and Xia J.J. 2006. Improvement of rape (Brassica napus) plant growth and cadmium uptake by cadmium-resistant bacteria. Chemosphere. 64: 1036–1042.

بررسی تاثیر باکتری‌های محرک رشد گیاه *Pseudomonas fluorescens* بر جذب فسفر و اجزا عملکرد کلزا در شرایط گلخانه‌ای

فرهاد آذرمی[1]، محمدجعفر ملکوتی[2] و کاظم خاوازی[3]

۱- دانشجوی دکتری علوم‌خاک، دانشگاه ولی‌عصر (عج) رفسنجان، ۲- استاد دانشگاه تربیت‌مدرس تهران، ۳- دانشیار موسسه تحقیقات خاک و آب کرج

مقدمه

کلزا (*Brassica napus* L.) یکی از مهمترین دانه‌های روغنی می‌باشد که در سالهای اخیر کشت آن مورد توجه قرار گرفته است. واکنش کلزا به مصرف کودهای فسفاتی به عوامل مختلفی ازجمله سیستم توسعه ریشه‌های فعال، مقدار فسفر قابل جذب خاک و رطوبت خاک بستگی دارد (ملکوتی و سپهر، ۱۳۸۲). فسفر پس از نیتروژن مهمترین عنصر مورد نیاز گیاهان بوده و نقش مهمی در تولید و انتقال انرژی دارد. به‌دلیل ماهیت آهکی خاک-های زراعی ایران، مقدار فسفر قابل جذب کمتر از مقدار لازم برای رشد بهینه گیاه می‌باشد. مرسوم‌ترین روش برای جبران کمبود این عنصر استفاده از کودهای فسفاتی است. علاوه بر ایجاد آلودگی‌های زیست محیطی، کارایی کودهای فسفاتی پایین بوده و تقریبا ۸۰ درصد کودهای فسفاتی افزوده شده به خاک به سرعت تثبیت شده و برای گیاه غیرقابل استفاده می‌شود (Holford, 1997). یکی از راهکارهای موثر برای افزایش فراهمی فسفر خاک استفاده از میکروارگانیسم‌های مفید خاکزی با قابلیت انحلال فسفات‌های غیرمحلول می‌باشد. باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPB)[1] گروهی از باکتری‌های مفید خاک می‌باشند که می‌توانند به‌طور مستقیم (حل‌کردن فسفات‌های نامحلول، تثبیت نیتروژن، تولید هورمون‌های گیاهی مانند اکسین) و یا غیرمستقیم (کنترل بیمارگرهای گیاهی) موجب بهبود رشد گیاه شوند (Glick, 1995). باکتری-های *Pseudomonas* توانایی زیادی در بهبود کارایی جذب فسفر از خود نشان داده و به علت انتشار وسیع، تنوع گونه‌ای و مقاوم بودن برخی از گونه‌های آن به تنش‌های محیطی توانسته‌اند به عنوان کود زیستی مناسب از اهمیت ویژه‌ای برخوردار گردند (Kim *et al.*, 1989). تلقیح با باکتری *Pseudomonas* ارتفاع بوته و وزن تر اندام‌هوایی ذرت را به‌ترتیب ۹-۸ و ۲۳ درصد افزایش داد (Chabot *et al.*, 1993). در راستای نیل به کشاورزی پایدار، میکروارگانیسم‌های مفید خاکزی نقش مهمی در کاهش مصرف کودهای شیمیایی و سموم در کشاورزی دارند. هدف از این مطالعه بررسی نقش باکتری محرک رشد گیاه *Pseudomonas fluorescens* در غنی‌سازی و جذب فسفر مورد نیاز کلزا در حضور کودهای فسفاتی می‌باشد.

مواد و روشها

به‌منظور بررسی تاثیر تلقیح باکتری‌های *Pseudomonas fluorescens* بر رشد و اجزای عملکرد کلزا آزمایشی به‌صورت گلخانه‌ای و در قالب طرح کامل تصادفی در چهار تکرار در دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس تهران اجرا گردید. تیمارهای اعمال شده شامل ۱- شاهد (C)، ۲- باکتری محرک رشد گیاه *Pseudomonas*

[1]. Plant Growth Promoting Bacteria

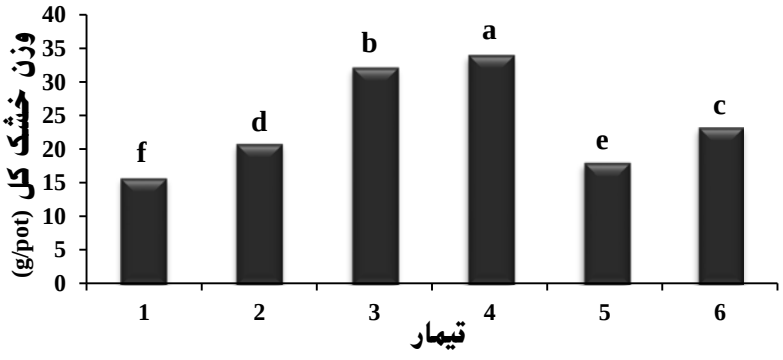
fluorescens strain 93 (PGPB)، ۳- سوپرفسفات تریپل (TSP)، ۴- سوپرفسفات تریپل + باکتری محرک رشد گیاه (TSP+PGPB)، ۵- خاک فسفات (RP)، ۶- خاک فسفات + باکتری محرک رشد گیاه (RP+PGPB) بودند. خاک مورد استفاده در این تحقیق پس از هوا خشک شدن از الک ۴ میلی‌متری عبور داده شده و مورد تجزیه قرار گرفت (جدول ۱). در هر گلدان ۸ کیلوگرم خاک ریخته شده سپس بذور با مایه تلقیح محتوی باکتری‌های *Pseudomonas fluorescens* با جمعیت میکروبی CFU ۵×۱۰^{۸} تلقیح گردید. عناصر غذایی نیز از منابع مختلف بر اساس آزمون خاک قبل از کاشت با خاک مخلوط شدند. در هر گلدان ۵ عدد بذر کشت شده و ۲ هفته پس از کاشت تعداد آن‌ها به ۳ عدد کاهش پیدا کرد. پس از ۵ ماه گیاهان برداشت شده و شاخص‌های زراعی اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری فسفر گیاه از روش رنگ‌سنجی استفاده شد. محاسبات آماری و رسم نمودارها نیز با نرم‌افزارهای SAS و Excel انجام شد.

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده قبل از کشت

عمق	بافت	EC	OC	TN	pH	P	K	Fe	Zn	Mn	Cu
cm		dS m^{-1}	%			mg kg^{-1}					
۰-۳۰	لوم	۰/۷۵	۰/۶۱	۰/۰۵۷	۸/۰۰	۴/۰۰	۱۹۰	۵/۴۰	۰/۵۲	۵/۲۳	۱/۲۲

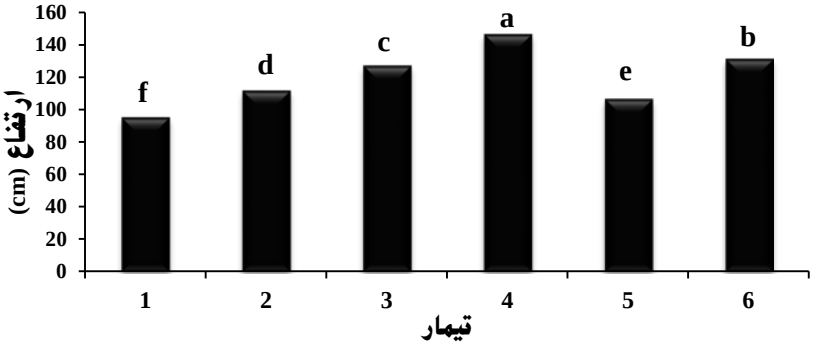
نتایج و بحث

تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف بر شاخص‌های زراعی اندازه‌گیری شده در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد. نتایج نشان داد که تلقیح با PGPB موجب افزایش وزن خشک گیاه نسبت به تیمارهای بدون تلقیح شد. تلقیح با PGPB وزن خشک گیاه را ۳۱/۴۹ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش داد. بیشترین وزن خشک گیاه از تیمار ۴ بدست آمد که برابر ۳۴/۰۹ گرم در گلدان بود و اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با سایر تیمارها داشت (شکل ۱). نتایج مطالعات Zaidi (1999) نشان داد که بیشترین عملکرد گیاه مربوط به آزاد شدن فسفر تثبیت شده خاک در اثر فعالیت میکروارگانیسم‌ها و فسفر افزوده شده به خاک حاصل شد.



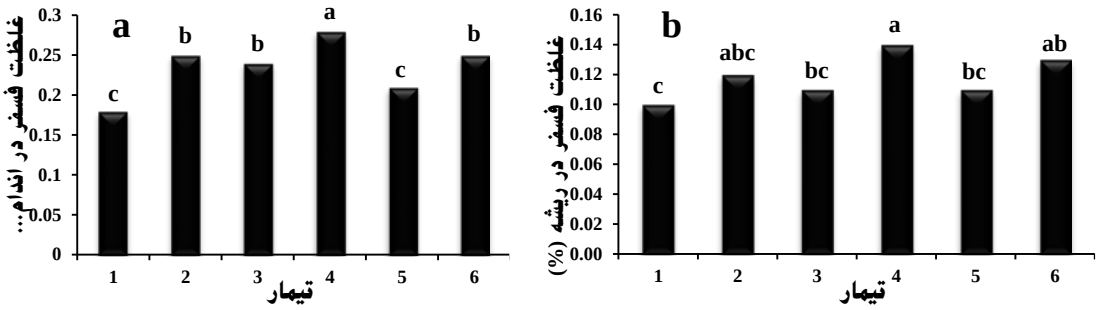
شکل ۱- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف بر وزن‌خشک کلزا

بیشترین ارتفاع گیاه مربوط به تیمار ۴ (TSP+PGPB) برابر با ۱۴۶/۸۸ سانتی‌متر بود که نسبت به تیمار ۳ (TSP) ۱۵/۱۷ درصد افزایش نشان داد. همچنین تلقیح با PGPB ارتفاع گیاه را ۱۷/۳۳ درصد نسبت به شاهد بدون تلقیح افزایش داد (شکل ۲).



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف بر ارتفاع کلزا

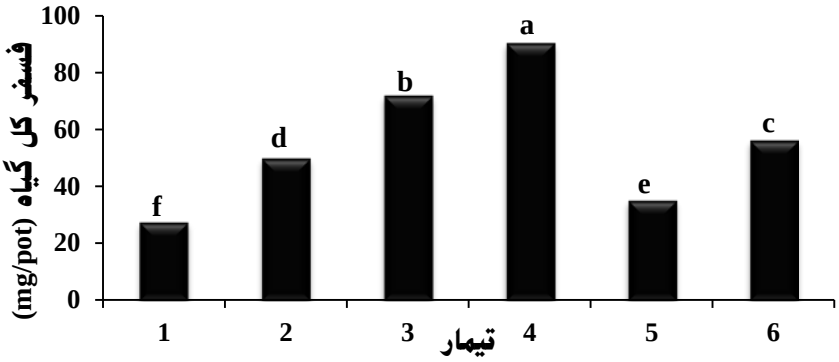
تلقیح با باکتری‌های PGPB غلظت فسفر در اندام‌هوایی و ریشه کلزا را به‌ترتیب ۳۹ و ۲۰ درصد نسبت به شاهد بدون تلقیح افزایش داد. بیشترین غلظت فسفر در اندم‌هوایی از تیمار TSP+PGPB بدست آمد که برابر ۰/۲۸ درصد بود و اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت. همچنین کاربرد همزمان PGPB با خاک فسفات (تیمار ۶) غلظت فسفر در اندام‌هوایی و ریشه کلزا را به‌ترتیب ۱۹ و ۱۸/۲ درصد نسبت به کاربرد تنهای خاک فسفات (تیمار ۵) افزایش داد (شکل ۳).



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف بر غلظت فسفر در اندام‌هوایی (a) و ریشه (b) کلزا

با توجه به‌شکل ۴، بیشترین فسفر جذب شده مربوط به تیمار ۴ (TSP+PGPB) برابر با ۹۰/۴۹ میلی‌گرم در گلدان بود که اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با سایر تیمارها داشت. در اثر تلقیح با PGPB جذب فسفر توسط کلزا در تیمار ۴ (TSP+PGPB) ۲۵/۷ درصد نسبت به تیمار ۳ (TSP) افزایش یافت. همچنین تلقیح با PGPB فسفر کل گیاه را ۸۰/۲۰ درصد نسبت به شاهد بدون تلقیح افزایش داد. با کاربرد PGPB همراه با خاک فسفات (تیمار ۶) جذب فسفر در کلزا ۵۹ درصد نسبت به تیمار ۵ افزایش یافت. نتایج مطالعات Kumutha *et al.*, 2004 نشان داد که استفاده از باکتری‌های مفید خاکزی می‌تواند کارایی کودها را افزایش دهد. این

میکروارگانیسم‌ها با تولید اسیدهای آلی pH ریزوسفر را کاهش داده و انحلال ترکیبات فسفاتی را افزایش می-دهند. از طرفی تثبیت فسفر در خاک کاهش یافته و فراهمی فسفر برای گیاه افزایش می‌یابد. با توجه به نتایج حاصله می‌توان بخشی از کودهای فسفاتی را با کودهای زیستی جایگزین کرد.



شکل ٤- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف بر جذب فسفر توسط کلزا

منابع

ملکوتی، م. ج. و سپهر، ا.، ۱۳۸۲. تغذیه بهینه دانه‌های روغنی گامی موثر در نیل به خودکفایی روغن در کشور (مجموعه مقالات). انتشارات خانیران، تهران.

Chabot R, Antoun H, and Cescas MP, 1993. Stimulation of the growth of maize and lettuce by inorganic phosphorus – solubilizing micro- organisms. Can. J. Microbiol. 39: 941-947.

Glick BR, 1995. The enhancement of plant growth by free-Living bacteria. Can. J. Microbiol. 41:109-117.

Holford ICR, 1997. Soil phosphorus: its measurement, and its uptake by plants. Aust. J. Soil Res. 35: 227–239.

Kim KK, Jordan D, and MacDonald GA, 1989. Entro bacter agglomerans, phosphate solublizing bacterial activity in soil: effect of carbon sources. Soil. Biol. Biochem. 89: 995-1003.

Kumutha K, Sempaualan J, and Krishnan PS, 2004. Effect of insoluble phosphate and dual inocolattion on soybean. Pp. 354-358. In: Kannaryan S, Kumar K, and Gouidarajan K, (eds), Biofertilizer.

Zaidi A, 1999. Synergistic interactions of nitrogen fixing microorganisms with phosphate mobilizing microorganisms. Ph.D. Thesis, Aligarh Muslim University, Aligarh, India.

تأثیر کاربرد کود های زیستی و شیمیایی روی و فسفر بر عملکرد و غلظت عناصر غذایی دو رقم لوبیا چیتی

محمود محمدی[1]، محمد جعفر ملکوتی[2]، کاظم خاوازی[3]، فرهاد رجالی[4]، محمد حسین داوودی[4]
۱- دانشجوی دکتری دانشگاه تربیت مدرس و عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان چهارمحال و بختیاری، ۲- استاد دانشگاه تربیت مدرس، ۳ و ٤ به ترتیب دانشیار و استادیار مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور

مقدمه:

لوبیا (Phaseolus vulgaris L.) یکی از مهم‌ترین گیاهان زراعی است که با داشتن ۲۵-۲۰ درصد پروتئین در رژیم غذائی حائز اهمیت می‌باشد (Fageria & Santos, 2008). عوارض و پیامدهای زیست محیطی ناشی از مصرف بی رویه و نامتعادل کودهای شیمیایی بالاخص کودهای فسفری منجر به ترغیب تولید و مصرف کودهای زیستی شده است (رجالی، ۱۳۸۴). تعدادی از ریز جانداران در خاک وجود دارند که قادرند در تغذیه و جذب عناصر غذایی به طرق مختلف به گیاهان کمک کنند. در این میان همزیستی قارچ با گیاه می‌تواند یکی از مهمترین پدیده‌های جالب و قابل توجه به شمار آید (رجالی، ۱۳۸۴؛ Kaya et al., 2009). قارچهای میکوریزی و باکتریهای افزایش دهنده رشد گیاه مثل باکتری Azotobacter و Pseudomonas پتانسیل افزایش جذب عناصر غذایی، به‌خصوص زمانی که با هم استفاده می‌شوند را دارا می‌باشند (Smith & Read, 2008). کودهای زیستی فسفری، حاوی قارچها و باکتری‌های مفید حل کننده فسفات هستند که معمولاً با ترشح اسیدهای آلی، اسیدی کردن خاک و یا ترشح آنزیمهای فسفاتاز، باعث رهاسازی یون فسفات و افزایش قابلیت جذب آن برای گیاهان می‌گردند (رجالی، ۱۳۸۴؛ Kaya et al., 2009). تحقیقات Rudresh et al., 2005 نشان داده است که استفاده از ریزجانداران حل‌کننده فسفات باعث افزایش جوانه‌زنی، افزایش رشد گیاه، جذب عناصر، ارتفاع گیاه، تعداد شاخه، گره بندی و عملکرد گیاه نخود نسبت به شاهد شده است. مطالعات Behl et al., 2006 نشان می‌دهد، باکتری-های Azotobacter از طریق سنتز هورمون‌های محرک رشد مانند ایندول استیک اسید، جیبرلین‌ها و سیتوکنین‌ها باعث افزایش رشد گیاه، درصد جوانه‌زنی بذرها، ریشه‌زایی و گسترش ریشه می‌گردند. مهمترین اثر مفید استفاده ازریزجانداران افزایش رشد گیاه میزبان است که معمولا به‌واسطه افزایش جذب عناصر غذایی صورت می‌گیرد (رجالی، ۱۳۸۴؛ Kaya et al., 2009). اکثر تحقیقات انجام شده در این خصوص به‌صورت گلخانه‌ای بوده و به‌صورت مزرعه‌ای تحقیقات چندانی به‌عمل نیامده است. با توجه به این که استان چهارمحال و بختیاری یکی از مناطق مستعد تولید لوبیا در سطح کشور می‌باشد یافتن راهکاری مناسب جهت کاهش هزینه‌ها، کاهش مصرف کود شیمیایی فسفری، حفظ سلامت محیط زیست و افزایش تولید برای این محصول استراتژیک، امری ضروری به نظر می‌رسد. این تحقیق در این راستا و با هدف بررسی اثرات کاربرد کودهای زیستی فسفر و روی، در فاز مزرعه‌ای بر عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیکی، تغییرات برخی از عناصر غذایی معدنی، در دانه دو رقم لوبیا چیتی برای اولین بار در منطقه کیار این استان اجرا شد.

مواد و روشها:

این تحقیق به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در اراضی لوبیاکاری شهرستان کیار استان چهارمحال و بختیاری انجام شد. فاکتور های این آزمایش عبارت بودند از فاکتور اول ارقام لوبیا چیتی شامل C_1: تلاش و C_2: صدری، فاکتور دوم کاربرد فسفر درچهار سطح P_0: شاهد، P_1: استفاده از کود شیمیائی سوپر فسفات تریپل بر اساس آزمون خاک، P_2: استفاده از کود زیستی فسفری و مصرف ۵۰ درصدکود سوپر فسفات تریپل بر اساس آزمون خاک و P_3: استفاده از کود زیستی فسفری، فاکتور سوم کاربرد روی درسه سطح شامل Zn_0: شاهد، Zn_1: استفاده از کودشیمیایی سولفات روی مطابق آزمون خاک و Zn_2: استفاده از کود زیستی حاوی باکتری های حل کننده روی بود. تیمار کود زیستی فسفری مورد استفاده شامل مایه تلقیح حاوی باکتری حل کننده فسفات از جنس *Azotobacter chroococcum strain 5* (حاوی $۱۰^{۸} \times ۱/۸$سلول باکتری در هرگرم) و قارچهای میکوریزی از جنس *Golumus etunicatum*، *Golumus intraradices* و *Golumus mosseae* (با جمعیت ۶۰ اسپور در هر گرم) بود که به ازاء هر بذر مقدار دو گرم از این کود استفاده شد. کود زیستی روی مورد استفاده، مایه تلقیح حاوی باکتریهایی از جنس *Pseudomonas aeuroginosa strain MPFM* و *Pseudomonas fluorescens strain 187* با تراکم جمعیت $۱۰^{۸} \times ۲/۳$ باکتری در هر گرم *بود*. بدین ترتیب در هر بلوک آزمایشی ۲۴ کرت آزمایشی ایجاد شد که با احتساب سه تکرار تعداد کل واحدهای آزمایش ۷۲ کرت (به ابعاد متر مربع ۱۲= ۴×۳) بود. پس از نمونه‌برداری و انجام آزمون خاک و آماده‌سازی قطعه زمین، انجام تلقیح و هوا خشک شدن سطوح بذور، بلافاصله کشت محصول به‌صورت خطی انجام گرفت. کود فسفری مصرفی از منبع سوپر فسفات تریپل به میزان ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار در تیمار **P_1** و ۵۰ کیلوگرم در هکتار در تیمار P_2، روی از سولفات روی به میزان ۵۰ کیلوگرم در هکتار (Zn_1) و ۵۰ کیلوگرم در هکتار اوره قبل از کاشت مصرف شد. مایه‌های تلقیح و کود های زیستی مورد استفاده از بخش تحقیقات بیولوژی خاک مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور تهیه شد. در طول فصل رشد مراقبتهای زراعی لازم بطور یکنواخت برای همهٔ تیمارها اعمال شد. در پایان فصل رشد برداشت محصول با رعایت حاشیه در سطح ۶ متر مربع انجام و عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیکی و غلظت عناصر غذایی نیتروژن، فسفر و پتاسیم موجود در دانه اندازه‌گیری شدند. (امامی، ۱۳۷۵). در پایان داده‌ها توسط نرم افزار SAS 9.2 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفته و مقایسه میانگین ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه خاک محل آزمایش نشان داد خاک مزرعه دارای بافت سیلتی لوم و فاقد محدودیت شوری و با توجه به بالاتر بودن غلظت پتاسیم و منگنز قابل استفاده نسبت به حد بحرانی، نیازی به مصرف کود پتاسیمی و منگنزی نبود. این خاک از نظر فسفر و روی قابل جذب در زیر حد بحرانی قرار داشت.

عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیکی: مطابق نتایج جدول تجزیه واریانس مرکب بین ارقام بکار رفته در این آزمایش، اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد از نظر عملکرد دانه ولی از نظر عملکرد بیولوژیکی اختلاف معنی‌دار مشاهده نگردید (جدول ۱). بیشترین میزان عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک از رقم صدری به ترتیب به میزان ۳۳۰۹ و ۷۲۱۱ کیلوگرم در هکتار حاصل شد (جدول ۲). استفاده از فسفر بر عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیکی تأثیر معنی‌داری داشت. بیشترین میزان عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیکی از تیمار P_2 به میزان ۳۴۴۵

و ۸۰۵۷/۲ کیلوگرم در هکتار حاصل شد، که نسبت به تیمار شاهد افزایش ۱۸و ۳۳/۵ درصد را نشان داد (جدول ۲). مصرف روی تأثیر معنی‌دار در سطح یک درصد برروی عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیکی داشت. حداکثر عملکرد دانه از تیمار Zn_1 به میزان ۳۳۳۹ کیلوگرم در هکتار بدست آمد. حداکثر عملکرد بیولوژیکی نیزاز تیمار Zn_2به‌میزان ۷۴۴۲/۳ کیلوگرم در هکتار بدست آمد. اثر متقابل تیمارهای فسفری و روی بر عملکرد دانه معنی دار نشد (جدول ۱). با این وجود، بیشترین میزان عملکرد دانه به ترتیب به میزان۳۵۲۰ و ۸۶۷۱/۶ کیلو گرم در هکتار از تیمارP_2Zn_1 حاصل گردید که نسبت به تیمار شاهد افزایش ۳۲/۵ و ۶۵/۲ درصدی را نشان داد. این نتایج با یافته‌های Rudresh *et al.*, 2005؛ Smith & Read, 2008 و Kaya *et al.*, 2009 مطابقت دارد.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس تأثیر استفاده از کودهای زیستی فسفر وروی بر صفات مورد بررسی دو رقم لوبیا چیتی

منابع تغییرات	درجه آزادی	عملکرد دانه	عملکرد بیولوژیکی	نیتروژن	فسفر	پتاسیم
رقم	۱	۵۹۱۸۷۲**	۱۹۲۷۶۶۶ ns	۱/۱۵**	۰/۰۰۵۳ ns	۱/۱۷**
تکرار (رقم)	۴	۱۶۷۸۱۷**	۴۲۱۳۷۶۰**	۰/۰۳۷ ns	۰/۰۰۰۹ ns	۰/۱۶**
(B) فسفر	۳	۱۰۱۹۷۰۸**	۱۳۳۱۳۹۹۶**	۰/۸۲**	۰/۰۷۳۵**	۰/۶۸**
(B)روی	۲	۵۰۹۷۳۶**	۱۰۹۶۷۳۰۰**	۰/۵۶*	۰/۰۷۳۵ ns	۰/۲۳**
(A×B) اثر متقابل	۶	۲۹۹۸۷ ns	۱۳۱۶۸۰۱ ns	۰/۱۹ ns	۰/۰۰۱ ns	۰/۰۷*
(A) فسفر×رقم	۳	۲۹۰۰۵ ns	۱۵۰۶۸۳۵ ns	۰/۰۱۱ ns	۰/۰۰۵۲*	۰/۰۹*
(B) روی ×رقم	۲	۵۱۰۸۴ ns	۵۹۶۰۰ ns	۰/۰۲۹*	۰/۰۱۵۲**	۰/۰۲ ns
A × B×رقم	۶	۹۴۲۵ ns	۸۴۹۰۲۷ ns	۰/۰۱ ns	۰/۰۰۰۷ ns	۰/۰۰۸ ns
خطا	۴	۲۴۱۷۳	۹۴۲۶۵۲	۰/۰۸	۰/۰۰۱۵	۰/۰۲۳
ضریب تغییرات		۴/۸	۱۳/۷	۷/۷۵	۹/۶	۷/۳

جدول۲- مقایسه میانگین صفات تأثیر کودهای زیستی فسفر وروی بر عملکرد و اجزاء عملکرد در دو رقم لوبیا چیتی

تیمار	عملکرد دانه	عملکرد بیولوژیکی	نیتروژن	فسفر	پتاسیم
	Kg ha^{-1}		٪		
C_1- تلاش	۳۱۲۸۷ b	۶۸۸۴a	۳/۶۲ b	۰/۴ a	۱/۹۶ b
C_2- صدری	۳۳۰۹ a	۷۲۱۱a	۳/۸۷ a	۰/۴۲ a	۲/۲ a
P_0	۲۹۱۵ b	۶۰۳۱/۷b	۳/۵۴ c	۰/۳۳d	۱/۸۵ b
P_1	۳۱۵۰ ab	۶۷۶۱/۲ab	۳/۶۷ bc	۰/۳۸ c	۲/۰۶ ab
P_2	۳۴۴۵ a	۸۰۵۷/۲a	۴ a	۰/۴۸ a	۲/۳۲ a
P_3	۳۳۶۵ a	۷۳۴۰b	۳/۷۵ bc	۰/۴۴ b	۲/۱۲ ab
Zn_0	۳۰۵۶ b	۶۲۶۷b	۳/۵۸ b	۰/۴۲ a	۱/۹۸ b
Zn_1	۳۳۳۹ a	۷۴۳۳/۳a	۳/۸۷ a	۰/۴ a	۲/۱۶ a
Zn_2	۳۲۶۰ a	۷۴۴۲/۳a	۳/۸ a	۰/۴ a	۲/۱۳a

در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک هستند فاقد اختلاف معنی دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

غلظت نیتروژن، فسفر و پتاسیم دانه: بین دو رقم مورد استفاده در این آزمایش، اختلاف معنی‌داری درغلظت نیتروژن و پتاسیم مشاهده شد ولی از نظر غلظت فسفر تأثیر معنی‌داری مشاهده نگردید (جدول۱). رقم صدری دارای میزان نیتروژن، فسفر و پتاسیم بیشتری در مقایسه با رقم تلاش بود (جدول ۲). تیمار فسفر باعث ایجاد تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد در غلظت این سه عنصر غذایی دردانه شد، به‌طوریکه با مصرف کودهای زیستی فسفری به همراه ۵۰ کیلوگرم در هکتار سوپرفسفات تریپل (تیمار P_2) افزایش ۱۲ درصدی نیتروژن، ۴۶ درصدی فسفر و ۲۶ درصدی پتاسیم نسبت به تیمار شاهد، مشاهده گردید (جدول ۲). مصرف روی بر غلظت نیتروژن و پتاسیم دانه معنی‌دار و بر روی غلظت فسفر معنی‌دار نبود (جدول ۱). بیشترین میزان نیتروژن و پتاسیم دانه از تیمار Zn_1 به ترتیب به میزان ۴ و ۲/۳۲ درصد حاصل شد. حداکثر میزان فسفر دانه از تیمار Zn_0 به میزان ۰/۴۲ درصد بدست آمد (جدول ۲). کاهش جذب فسفر در تیمار Zn_1 و Zn_2 می‌تواند به علت اثر آنتاگونیسمی فسفر در جذب روی باشد. اثرات متقابل مصرف این دو تیمار فقط بر روی غلظت پتاسیم دانه معنی دار شد (جدول ۱). بیشترین مقدار پتاسیم دانه از تیمار P_2Zn_1 به میزان ۲/۴۶ درصد و بیشترین میزان نیتروژن از تیمار P_2Zn_2به میزان ۴/۳۹ درصد و حداکثر میزان فسفر دانه از تیمار P_2Zn_0 حاصل شد. این تغییرات را می‌توان به تأثیر افزایش جذب عناصر غذایی در اثر استفاده از تیمارهای زیستی نسبت داد. این نتایج با نتایج تحقیقات رجالی، ۱۳۸۴؛ Rudresh *et al.*, 2005؛ Khann & Zaidi, 2007 مطابقت می‌کند. با توجه به معنی دار شدن تیمار زیستی فسفری در این تحقیق، قارچ‌های میکوریزی و *Azotobacter* مصرف شده (P_2) توانسته‌اند استفاده بیشتری از فسفر غیر متحرک موجود در خاک ببرنند. این موضوع نشان می‌دهد، افزایش جذب فسفر توسط قارچ‌های میکوریزی و باکتری*Azotobacter* از خاک‌هایی که حتی با کمبود فسفر روبرو هستند از یک سو می-تواند اثرات کمبود فسفر را نه تنها کاهش داده بلکه به کلی از بین ببرد و ازسوی دیگر، می‌تواند مصرف کودهای شیمیایی فسفری را تا ۵۰ درصد کاهش بدهد. در این تحقیق در تیمارهای زیستی استفاده شده میزان نیتروژن، فسفر و پتاسیم بیشتری توسط دانه جذب شد. بهبود شرایط رشد و افزایش جذب فسفر و نیتروژن به جذب پتاسیم دانه کمک نمود. همچنین میزان نیتروژن بیشتر در تیمارهای زیستی می‌تواند به طور مستقیم در اثر افزایش تجزیه ترکیبات آلی نیتروژن دار و افزایش پتانسیل تثبیت زیستی نیترون و به طور غیر مستقیم با افزایش عناصر غذایی مؤثر در تثبیت نیتروژن و بهبود شرایط رشدی گیاه باشد (Rudresh *et al.*, 2005). بر اساس یافته‌های این تحقیق ، مصرف کود های زیستی فسفری و روی سبب افزایش عملکرد و افزایش غلظت نیتروژن، فسفر، پتاسیم دانه در دو رقم لوبیا چیتی مورد مطالعه شد. با توجه به تفاوت در عملکرد و غلظت عناصر غذایی، رقم صدری از نظر بسیاری از صفات مورد مطالعه نسبت به رقم تلاش برتری نشان داد. همچنین کود های زیستی فسفری علاوه بر افزایش عملکرد کمی و جذب عناصر غذایی، باعث کاهش ۵۰ درصدی مصرف کودهای فسفری دراین دو رقم لوبیا شدند. بنابراین تلفیق مناسب از کودهای زیستی با کودهای شیمیایی می-تواند علاوه بر کاهش مصرف کودهای شیمیایی فسفری، باعث افزایش جذب عناصر غذایی، افزایش عملکرد کمی و کیفی و کاهش آلودگی محیط زیست شود.

منابع:

امامی، ع.، ۱۳۷۵. روش های تجزیه گیاه. جلد اول. موسسه تحقیقات آب و خاک. نشریه شماره ۹۸۲.

رجالی، ف.، ۱۳۸۴. مروری اجمالی بر همزیستی میکوریزی. سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی، موسسه تحقیقات خاک و آب. نشریه فنی شماره ۴۶۸. ۳۵ صفحه.

Behl RK, Narula N, Vasudeva M, Sato A, Shinano T, and Osaki M, 2006. Harnessing wheat genotype x Azotobacter strain interactions for sustainable wheat production in semi arid tropics. Tropics. 15: 123-133.

Fageria NK, and Santos AB, 2008. Yield physiology of dry Bean. Journal of Plant Nutrition. 31: 983: 1004.

Kaya M, Küçükyumu Zk, and Erdal I, 2009. Phytase activity, phytic acid, zinc, phosphorus and protein contents in different chickpea genotypes in relation to nitrogen and zinc fertilization. African Journal of Biotechnology. 8: 4508-4513.

Khan, MS and Zaidi A, 2007. Synergistic effects of the inoculation with plant growth promoting rhizobacteria and an Arbuscular mycorrhizal fungus on the performance of wheat. Agriculture and Forestry. 31: 355-362.

Rudresh DL, Shivaprakash MK, and Prasad RD, 2005. Effect of combined application of Rhizobium, phosphate solubilizing bacterium and *Trichoderma spp*. On growth, nutrient uptake and yield of chickpea (*Cicer aritenium* L.). Applied Soil Ecology. 28:139-146.

Smith SE, and Read DJ, 2008. Mycorrhizal Symbiosis, third ed. Academic Press, London. UK.

تأثیر کاربرد کود های زیستی و شیمیایی روی و فسفر بر غلظت عناصر غذایی و نسبت مولی اسید فیتیک به روی در دانه دو رقم لوبیا چیتی

محمود محمدی[1]، محمد جعفر ملکوتی[2]، کاظم خاوازی[3]، فرهاد رجالی[4]، محمد حسین داوودی[4]
۱- دانشجوی دکتری دانشگاه تربیت مدرس و عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان چهارمحال و بختیاری، ۲- استاد دانشگاه تربیت مدرس، ۳ و ٤ به ترتیب دانشیار و استادیار مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور

مقدمه

لوبیا حساسیت بالایی نسبت به کمبود روی و آهن دارد (Moragan & Grafton, 2003). شکل اصلی ذخیره فسفات در دانه غلات و حبوبات اسید فیتیک (میواینوزیتول هگزا فسفات) است که در مراحل توسعه و تشکیل دانه به صورت ترکیبی از نمک‌های فیتات آهن، روی، کلسیم، منیزیم و پتاسیم مشاهده می‌شود (ملکوتی، ۱۳۹۰؛ Kaya *et al.*, 2009). در مطالعات انجام شده بر لوبیا، غلظت اسید فیتیک از ۰/۷۴ تا ۲/۱۰ درصد گزارش گردیده است (Kaya *et al.*, 2009). با وجود بالا بودن غلظت عناصر معدنی آهن، روی، کلسیم و منیزیم در لوبیا، اما دانه این گیاه حاوی اسید فیتیک است که قابلیت جذب و استفاده از این عناصر را به واسطه ایجاد نمک فیتات به شدت کاهش داده و سبب بروز اختلال در جذب و هضم آنها در دستگاه گوارش انسان می‌گردد (ملکوتی،۱۳۹۰؛ Cakmak *et al*,. 2010). مقدار زیاد فیتات در مواد غذایی یکی از عوامل بروز کمبود روی عنوان شده است. نسبت مولی اسید فیتیک به روی (PA/Zn) که توسط سازمان بهداشت جهانی در سال ۱۹۹۶ مطرح گردید، معیار مناسبی برای تعیین زیست فراهمی روی در مواد غذایی می‌باشد. نتایج تحقیقات نشان می دهد که رابطه مستقیمی بین میزان فسفر قابل جذب و غلظت اسید فیتیک دردانه وجود دارد (ملکوتی، ۱۳۹۰). بررسی های Coelho & Benedito, 2008 در لوبیا چیتی نشان داد که بیشترین فراهمی فسفر به صورت فیتات بوده و تشکیل فیتات یا فیتین سبب ایجاد ترکیبات نامحلول با عناصر غذایی می‌شود. مطالعات Kaya *et al.*, 2009 نشان داد، کوددهی روی باعث افزایش روی دانه و کاهش نسبت مولی اسید فیتیک به روی در ژنوتیپ‌های مختلف نخود شده است. متشرع زاده و ثواقبی، ۱۳۹۱ گزارش نمودند مصرف بهینه کود در ارقام مختلف لوبیا قرمز موجب کاهش نسبت مولی اسید فیتیک به روی می‌گردد. همچنین کاربرد روی سبب کاهش غلظت فسفر به میزان ۳/۹ – ۳/۵ میلی‌گرم در گرم و ۱۰/۷ – ۹/۱ میلی‌گرم در گرم برای اسید فیتیک شد. امروزه از کودهای زیستی به‌عنوان ابزاری در جهت تأمین عناصر غذایی گیاه و کاهش مصرف کودهای شیمیایی استفاده می‌گردد. یکی از این سیستم‌های زیستی، همزیستی قارچ با گیاه می‌باشد. قارچهای میکوریزی و باکتریهای افزایش دهنده رشد گیاه مثل باکتری*Azotobacter* و *Pseudomonas* پتانسیل افزایش جذب عناصر غذایی، را دارا می‌باشند (Smith & Read, 2008). کودهای زیستی فسفری، حاوی قارچها و باکتری‌های مفید حل کننده فسفات هستند که معمولاً با ترشح اسیدهای آلی، اسیدی کردن خاک و یا ترشح آنزیمهای فسفاتاز، باعث رهاسازی یون فسفات و افزایش قابلیت جذب آن برای گیاهان می‌گردند (رجالی، ۱۳۸۴؛ Kaya *et al.*, 2009). با توجه به این که در زراعت لوبیا سالیانه مقادیر زیادی کود شیمیایی فسفره مصرف می‌گردد، یافتن راهکاری مناسب جهت کاهش هزینه‌ها، حفظ سلامت محیط زیست و افزایش تولید کمی و کیفی این محصول ضروری به نظر می‌رسد. این تحقیق در این راستا و با هدف بررسی اثرات کاربرد کودهای زیستی فسفر و روی، در مقیاس مزرعه‌ای بر

تغییرات عناصر غذایی معدنی آهن و روی ونسبت مولی اسید فیتیک به روی در دانه دو رقم لوبیا چیتی برای اولین بار در منطقه کیار استان چهارمحال و بختیاری اجرا شد.

مواد و روشها

این تحقیق به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در اراضی لوبیاکاری شهرستان کیار استان چهارمحال و بختیاری انجام شد. فاکتور های این آزمایش عبارت بودند از فاکتور اول ارقام لوبیا چیتی شامل C_1: تلاش و C_2: صدری، فاکتور دوم کاربرد فسفر درچهار سطح P_0: شاهد، P_1: استفاده از کود شیمیائی سوپر فسفات تریپل بر اساس آزمون خاک، P_2: استفاده از کود زیستی فسفری و مصرف ۵۰ درصدکود سوپر فسفات تریپل بر اساس آزمون خاک و P_3: استفاده از کود زیستی فسفری، فاکتور سوم کاربرد روی درسه سطح شامل Zn_0: شاهد، Zn_1: استفاده از کودشیمیایی سولفات روی مطابق آزمون خاک و Zn_2: استفاده از کود زیستی حاوی باکتری های حل کننده روی بود. تیمار کود زیستی فسفری مورد استفاده شامل مایه تلقیح حاوی باکتری حل کننده فسفات از جنس *Azotobacter chroococcum strain 5* و قارچ‌های میکوریزی از جنس *Golumus etunicatum*، *Golumus intraradices* و *Golumus mosseae* بود که به ازاء هر بذر مقدار دو گرم از این کود استفاده شد. کود زیستی روی مورد استفاده، مایه تلقیح حاوی باکتریهایی از جنس *Pseudomonas aeuroginosa strain MPFM* و *Pseudomonas fluorescens strain 187* بود. بدین ترتیب در هر بلوک آزمایشی ۲۴ کرت آزمایشی ایجاد شد که با احتساب سه تکرار تعداد کل واحدهای آزمایش ۷۲ کرت (به ابعاد متر مربع ۱۲= ۴×۳) بود. پس از نمونه‌برداری و انجام آزمون خاک و آماده‌سازی قطعه زمین، انجام تلقیح و هوا خشک شدن سطوح بذور، بلافاصله کشت محصول به‌صورت خطی انجام گرفت. مایه‌های تلقیح و کود های زیستی مورد استفاده از بخش تحقیقات بیولوژی خاک مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور تهیه شد. در طول فصل رشد مراقبتهای زراعی لازم بطور یکنواخت برای همهٔ تیمارها اعمال شد. در پایان فصل رشد برداشت محصول با رعایت حاشیه در سطح ۶ متر مربع انجام و عملکرد دانه و غلظت عناصر روی و آهن موجود در دانه اندازه‌گیری شدند (امامی، ۱۳۷۵). اندازه‌گیری اسید فیتیک به روش Haug & Lantzch, 1983 بود. در پایان داده‌ها توسط نرم افزار SAS 9.2 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفته و مقایسه میانگین ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه خاک محل آزمایش نشان داد خاک مزرعه دارای بافت سیلتی لوم و فاقد محدودیت شوری و با توجه به بالاتر بودن غلظت پتاسیم و منگنز قابل استفاده نسبت به حد بحرانی، نیازی به مصرف کود پتاسیمی و منگنزی نبود. این خاک از نظر فسفر و روی قابل جذب در زیر حد بحرانی قرار داشت.

غلظت آهن و روی دانه: بین دو رقم مورد استفاده در این آزمایش اختلاف معنی‌داری از لحاظ غلظت آهن و روی مشاهده شد (جدول ۱). بیشترین مقدار آهن و روی به ترتیب به میزان ۹۵/۱ و ۲۹/۷ میلی‌گرم در کیلوگرم از رقم صدری حاصل شد (جدول ۲). در رقم صدری افزایش بیشتر جذب آهن وروی می‌تواند ناشی از وضعیت رشدی مطلوب‌تر، درصد جوانه زنی و سبزشدن بیشتر و میزان کلروفیل بالاتر و میزان فتوسنتز بیشتر این رقم در مقایسه با رقم تلاش باشد(نتایج ارائه نشده است). تیمار مصرف فسفر اختلاف معنی‌داری در غلظت آهن دانه

ایجاد نکرد ولی باعث ایجاد اختلاف معنی‌دار در غلظت روی گردید (جدول ۱). مقایسه میانگین تیمارها نشان داد علی‌رغم معنی‌دار نشدن تیمارهای مصرف فسفر بر روی آهن موجود در دانه، ولی حداکثر غلظت آهن از تیمار P_2 به میزان ۹۴ میلی‌گرم در کیلوگرم بدست آمد. حداکثر مقدار روی دانه نیز به میزان ۳۲/۸ میلی‌گرم در کیلوگرم از تیمار P_2 حاصل شدکه در مقایسه با تیمار شاهد ۳۵/۶ درصد افزایش را نشان داد. این نتایج نشان داد، همزیستی ایجاد شده در اثر تیمارهای زیستی فسفری دارای پتانسیل افزایش غلظت آهن و روی دانه را دارد. افزایش جذب آهن و روی دردانه در اثر استفاده از کودهای زیستی فسفری می‌تواند ناشی از انتقال توسط هیف قارچی، اسیدی شدن ریزوسفر، تولید سیدروفرهای آهن و روی و بهبود شرایط کیلت‌نمودن و افزایش فراهمی این دو عنصر باشد (Kaya *et al.*, 2009 ؛Ryan *et al.*, 2008). تیمار مصرف روی بر میزان آهن و روی دانه اختلاف معنی‌دار نشان داد (جدول ۱). بیشترین میزان آهن از تیمار Zn_0 به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم و بیشترین میزان غنی سازی روی دانه از تیمار Zn_1 به میزان ۳۰/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم حاصل شد. در این آزمایش کاهش میزان آهن در تیمار Zn_1 در مقایسه با افزایش جذب روی درآن ناشی از اثر آنتاگونیسمی افزایش روی در جذب آهن بود. هیچ یک از اثرات متقابل بررسی شده بر روی غلظت آهن و روی دانه تأثیر معنی دار ایجاد ننمود. با این وجود بیشترین میزان روی و آهن دانه از تیمار P_2Zn_1 و P_2Zn_0 به ترتیب به میزان ۳۵/۸ و ۱۱۲/۷۵ میلی‌گرم در کیلوگرم بدست آمد.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس تأثیر استفاده از کودهای زیستی فسفر وروی بر صفات مورد بررسی دو رقم لوبیا چیتی

منابع تغییرات	درجه آزادی	آهن	روی	PA/Zn
رقم	۱	۲۳۷٤/٦*	٥۲/۷۷*	٥۲/٥۳ ns
تکرار(رقم)	۴	٦۱٦/۷ ns	۱۱/٦۱ ns	۳٤/۰۹ ns
(B)فسفر	۳	۳۷٤/٤ ns	۲۳۰/۲**	۲۱۳/٤٥**
(B) روی	۲	۲۱۸۹/٥*	۱٦۷/۳**	٦٥/۹۸ ns
(A×B) اثر متقابل	۶	۲۹۱/٤ ns	۹/۹ ns	۳۰/٦٥ ns
(A) فسفر×رقم	۳	۲٥۲/٥ ns	۱٦/٤۷ ns	۱/۱۷ ns
(B) روی ×رقم	۲	۷۳۸/۲ ns	۰/۲٤۸ ns	۱۹۰/٥۱**
A × B×رقم	۶	۷۳۸/۲ ns	۰/۹٦٤ ns	۳۸/۲۸ ns
خطا	۴	٥۳۰/۷	۸/۲۷٦	۲۳/۰۳
ضریب تغییرات		۲٥/۷	۹/۹	۱۸

نسبت مولی اسید فیتیک به روی(PA/Zn): نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد اثر استفاده از تیمار فسفر و اثر رقم در تیمار روی در سطح یک درصد معنی‌دار شدند، اما اثر رقم، روی، اثر متقابل فسفر در روی، رقم در فسفر و رقم در فسفر و روی بر روی این صفت معنی‌دار نگردید (جدول ۱). میانگین نسبت مولی اسید فیتیک به روی در دو رقم مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (جدول ۲). تیمار مصرف فسفر باعث ایجاد تفاوت معنی‌دار در مقدار نسبت مولی اسید فیتیک به روی در هر دو رقم گردید، به‌طوریکه کمترین مقدار این نسبت از تیمار P_2 به ترتیب به میزان ۱۳ بدست آمد، که در مقایسه با تیمار شاهد ۱۱ درصد کاهش را نشان داد. با وجود معنی‌دار نشدن تیمار مصرف روی کمترین مقدار نسبت مولی از تیمار Zn_1 به میزان ۱۶/۴ حاصل شد. (جدول

۲). این کاهش در نسبت مولی در تیمار Zn_1 ناشی از افزایش جذب روی با تأمین روی مورد نیاز گیاه از طریق اضافه کردن کود سولفات روی به خاک و در تیمار Zn_2 ناشی از آزادسازی روی به‌واسطه استفاده از باکتریهای آزاد کننده روی بود. اثر متقابل مصرف تیمارهای فسفر و روی بر این نسبت معنی‌دار نگردید. اما مقایسه میانگین-ها نشان داد، کمترین مقدار این نسبت از تیمار P_2Zn_1 به میزان ۱۰/۳ حاصل شد. این اطلاعات با نتایج Kaya 2009 در نخود، Ryan *et al.*, 2008 در گندم مطابقت داشت. این محققین نشان دادند قارچهای میکوریزی باعث افزایش جذب روی در دانه شده و متعاقب آن نسبت مولی اسید فیتیک به روی کاهش پیدا می‌کند. تیمارهای زیستی فسفری و روی استفاده شده در این آزمایش، با آزاد کردن روی از منابع روی غیر قابل دسترس خاک و بهبود شرایط جذب روی باعث افزایش غلظت روی دانه شده و بطور غیر مستقیم باعث کاهش نسبت مولی شدند. در تحقیق حاضر نیز به دلیل کمبود روی درخاک، کوددهی روی سبب کاهش نسبت مولی اسید فیتیک به روی شد. این نتیجه با نتایج تحقیقات ملکوتی و همکاران، ۱۳۹۰، متشرع زاده و ثواقبی، ۱۳۹۱ مطابقت دارد. سازمان بهداشت جهانی اعلام نمود برای آنکه عناصر موجود در ماده غذایی بوسیله سیستم گوارشی بدن قابل جذب باشد باید شاخص PA/Zn کمتر از ۲۵ باشد. با توجه به این که اگر گستره نسبت مولی اسید فیتیک به روی دانه ارقام مختلف لوبیا بین ۱۵ – ۵ باشد، ۳۵ – ۳۰ درصد روی دانه توسط بدن انسان جذب می گردد (ملکوتی، ۱۳۹۰)، براین اساس استفاده از تیمار زیستی فسفری به همراه ۵۰ درصد فسفر مورد نیاز خاک از منبع کود شیمیائی به همراه تأمین روی مورد نیاز خاک از تیمارهای زیستی و یا مصرف کودهای شیمیایی حاوی روی (تیمار P_2Zn_1 و P_2Zn_2) دراین دو رقم لوبیا چیتی باعث کاهش نسبت مولی اسید فیتیک به روی گردید. در ضمن این دو رقم را می‌توان به عنوان ارقام مناسب با نسبت مولی اسید فیتیک به روی پایین معرفی نمود.

جدول۲- مقایسه میانگین صفات تأثیر کودهای زیستی فسفر وروی بر عملکرد و اجزاء عملکرد در دو رقم لوبیا چیتی

تیمار	آهن	روی	PA/Zn
C_1 - تلاش	۸۳/٦ b	۲۸ b	۱٦/٥۷ a
C_2 - صدری	۹٥/۱ a	۲۹/۷ a	۱۸/۲۸ a
P_0	۸۳/۲ a	۲٤/۱۹ c	۲۱/۱ a
P_1	۹۱/٤ a	۲۸/۸ b	۱۹ a
P_2	۹٤ a	۳۲/۸ a	۱۳ ab
P_3	۸۸/۹ a	۲۹/۳ b	۱٦/٥ ab
Zn_0	۱۰۰ a	۲٥/۸ b	۱۹/۳٥ a
Zn_1	۸۱/٥ b	۳۰/٥ a	۱٦/٤ b
Zn_2	۸٦/٥ b	۳۰/۲ a	۱٦/٤۸ b

در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک هستند فاقد اختلاف معنی دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

منابع

امامی، ع.، ۱۳۷۵. روش های تجزیه گیاه. جلد اول. موسسه تحقیقات آب و خاک. نشریه شماره ۹۸۲.

رجالی، ف.، ۱۳۸۴. مروری اجمالی بر همزیستی میکوریزی. سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی، موسسه تحقیقات خاک و آب. نشریه فنی شماره ۴۶۸. ۳۵ صفحه.

متشرع زاده، ب. و ثواقبی غ ر.، ۱۳۹۰. تأثیر مصرف بهینه کود بر غلظت عناصر غذایی و نسبت مولی اسید فیتیک به روی در ارقام لوبیا قرمز در مرلحل مختلف تکامل دانه. مجله علوم و فنون کشت گلخانه‌ای. ۹ : ۸۳ – ۷۳.

ملکوتی، م ج.، ۱۳۹۰. راهکار افزایش کیفیت نان‌های مصرفی در کشور. مجله علوم و صنایع غذایی. (۳۱)۲۲ – ۱۱. ۸

Cakmak I, Pfeiffer WH, and Mcclafferty B, 2010. Biofortification of durum wheat with zinc and iron. Cereal Chemistry. 87: 10-2.

Coelho CMM, and Benedito VA, 2008. Seed development and reserve compound accumulation in common been (Phaseolus vulgaris L.). Seed Science Biotechnology. 2: 42-52.

Haug W, and Lantzsch HJ. 1983. Sensitive method for the rapid determination of phytate in cereal products. Journal of Science Food Agriculture. 34: 1423-1426.

Kaya M, Küçükyumuk Z, and Erdal I, 2009. Phytase activity, phytic acid, zinc, phosphorus and protein contents in different chickpea genotypes in relation to nitrogen and zinc fertilization. African Journal of Biotechnology. 8: 4508-4513.

Moragan JT, and Grafton K, 2003. Plant zinc and the zinc-efficiency trait in navy bean. Journal of Plant Nutrition. 26: 1649 – 1663.

Smith SE, and Read DJ, 2008. Mycorrhizal Symbiosis, third ed. Academic Press, London. UK.

ارزیابی کاربرد ورمی کمپوست و قارچ های میکوریز آربوسکولار بر صفات زایشی و میزان کلنیزاسیون گیاه پپینو (*Solanum muricatum*) در کشت ارگانیک

مرجان ساعی نعیمی [۱]-جمال جوانمردی[۲]- سید حسین نعمتی [۳]- مهدی زارعی[٤]
۱-کارشناسی ارشد گروه خاکشناسی دانشگاه شیراز ۲- استاد یار گروه باغبانی دانشگاه شیراز ۳- استادیار دانشکده گروه علوم باغبانی دانشگاه فردوسی مشهد ٤- استادیار گروه علوم خاک دانشگاه شیراز

مقدمه:

سبزی جدید پپینو[۱] *Solanum muricatum* از تیره Solanaceae، بومی نواحی معتدله کوه‌های آند، کلمبیا، پرو و شیلی است است (نعمتی و تهرانی فر، ۱۳۸۶). میوه ها معمولا به رنگ سفید یا شیری می‌باشند که در هنگام بلوغ نوارهای بنفش رنگ روی آنها ظاهر می‌شود. میوه‌ها به لحاظ رنگ و شکل در بین ارقام مختلف دارای تنوع بسیار هستند (Gutierrez-Miceli *et al.*, 2007). منابع آب و خاک، زوال تنوع زیستی- کشاورزی، آلودگی هوا و آب به وسیله آفت کش‌ها و کودهای شیمیایی و افزایش مقاومت آفات و بیماری‌ها به سموم شیمیایی، تنها معدودی از مشکلات محیطی است که در کشاورزی امروز با آن مواجه هستیم (نصیری محلاتی و همکاران ۱۳۸۰). استفاده از روش شیمیایی علاوه بر ایجاد مقاومت در بسیاری آفات منجر به ایجاد خطرات زیست محیطی و همچنین افزایش هزینه‌های تولید شده است. در عین حال باید توجه داشت که منابع آبی و خاکی کشور محدود است و بر این اساس تولید محصولات کشاورزی از طریق افزایش سطح زیر کشت قابل توصیه نمی‌باشد. بنابراین مناسب‌ترین راه دستیابی به تولید بالا، از طریق افزایش عملکرد در واحد سطح می‌باشد. مصرف کودهای آلی به خصوص ورمی کمپوست به دلیل داشتن ماهیت آلی علاوه بر تامین بخشی از نیاز غذایی گیاه، از آلودگی خاک جلوگیری نموده و مواد آلی خاک را افزایش می‌دهد و باعث حاصلخیزی خاک می شود (Moraditochaee *et al.*, 2011). قارچ میکوریزا آربوسکولار عملکرد گیاهان زراعی را از طریق ۱- تغذیه بهتر گیاه، ۲- ریشه دهی بهتر، ۳- حفاظت گیاه تحت تاثیر قرار می‌دهد (ناصری، ۱۳۸۲.)

مواد و روشها :

این آزمایش بصورت گلدانی در یک دوره ۲ ساله اجرا شد و درمهر ماه۱۳۹۰ به پایان رسید. مواد آزمایشی شامل قلمه‌های شاخه‌های یکساله از بوته‌های مادری پپینو رقم کانسولا بود. آزمون به صورت فاکتوریل۳×۲ عامل اول شامل بستر دارای ورمی کمپوست به میزان دو درصد وزنی خاک و بستر بدون ورمی کمپوست عامل دوم شامل ۱- قارچ میکوریزا آربوسکولار گلوموس ورسیفورم ۲- قارچ میکوریزا آربوسکولار گلوموس اتونیکاتوم ۳- شاهد (بدون قارچ) بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار، ۶ تکرار و هر تکرار ۳ نمونه مورد بررسی قرار گرفت. تلقیح با قارچ همزمان با انتقال قلمه‌ها به گلدان صورت گرفت . تجزیه واریانس نتایج آزمایش با نرم افزار آماری JMP8 آنالیز شد.. مقایسه میانگین صفات در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD انجام شد. بستر پایه مورد استفاده خاک باغی بود که مشخصات خاک و ورمی کمپوست مورد استفاده در جدول ۱ آمده است.

---

[1] -Pepino

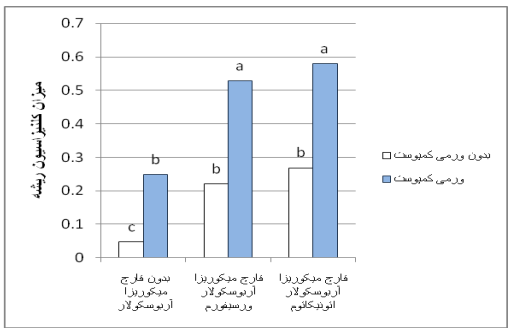
جدول ۱- تجزیه شیمیایی خاک و ورمی کمپوست

pH	EC (ds/m)	درصد نیتروژن	فسفر (ppm)	پتاسیم (ppm)	منگنز (ppm)	روی (ppm)	مس (ppm)	آهن (ppm)	درصد رس	درصد سیلت	درصد شن
۷/۸۲	۱/۶۳	۰/۰۳۱	۵/۴	۱۳۵	۹/۸	۱/۵	۰/۹۵	۳/۸۶	۲۰	۴۶	۳۴

درصد رطوبت	درصد جذب آب	pH	EC (ds/m)	درصد کربن آلی	درصد مواد آلی	نسبت C/N	درصد نیتروژن	درصد فسفر	درصد پتاسیم	درصد سدیم
۷/۵	۱۰۷/۵	۸/۲۵	۵	۱۸/۵	۳۷/۵	۱۴	۱/۴۵	۱/۷۵	۱/۲	۰/۷۵

نتایج و بحث

نتایج نشان داد که تیمار ورمی کمپوست بر صفات مورد مطالعه اثر معنی داری در سطح احتمال ۰/۰۱ داشت بطوری که باعث افزایش در تعداد گل، تعداد میوه و بخصوص وزن میوه و میزان کلنیزاسیون ریشه گردید. قارچ های میکوریزا آربوسکولار و بخصوص گونه اتونیکاتوم نسبت به شاهد تاثیر معنی داری در افزایش صفات وزن میوه و میزان کلنیزاسیون ریشه داشتند(جداول ۲و ۳). اثر متقابل ورمی کمپوست و قارچ میکوریزا آربوسکولار در سطح احتمال ۰/۰۵ فقط بر میزان کلنیزاسیون ریشه گیاه پیینو معنی دار بود (جدول ۲) دو نوع قارچ میکوریزا آربوسکولار نسبت به وجود یا عدم وجود ورمی کمپوست در بستر واکنش متفاوتی را نشان دادند. (شکل ۱).



شکل ۱- اثر متقابل ورمی کمپوست و قارچ‌های میکوریز آربوسکولار بر میزان کلنیزاسیون ریشه

بستر حاوی ورمی کمپوست تعداد گل در خوشه را افزایش داد که این افزایش می تواند در اثر افزایش در رشد عمومی گیاه باشد بستر حاوی ورمی کمپوست به میزان زیادی بیش از ۲ برابر تعداد میوه را افزایش داده است. مقداری از این افزایش تعداد میوه در اثر افزایش تعداد گل می‌باشد. همچنین بستر حاوی ورمی کمپوست باعث افزایش وزن میوه گردید. تیمار ورمی کمپوست باعث افزایش تعداد برگ در بوته ودر نتیجه میزان فتوسنتز بیشتر شده که باعث افزایش رشد و در نتیجه افزایش وزن میوه می‌شود. قارچ‌های میکوریز آربوسکولار نیز باعث افزایش وزن میوه شدند و بخصوص زمانی که از قارچ‌های میکوریز آربوسکولار در بستر حاوی ورمی کمپوست

استفاده شد وزن میوه افزایش بیشتری یافت که تاثیر ترکیب ورمی کمپوست و قارچ‌های میکوریز آربوسکولار را در بستر نشان می دهد. به طور کلی استفاده از ورمی کمپوست و استفاده از قارچ میکوریز آربوسکولار اثر مثبتی بر رشد زایشی پپینو داشته است که می تواند باعث افزایش عملکرد گردد.

جدول ۳- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس تاثیر تیمارهای ورمی کمپوست و قارچ مایکوریزا آربوسکولار بر صفات اندازه گیری شده در پپینو

منابع تغییرات	درجه آزادی	تعداد گل	تعداد میوه	وزن میوه	میزان کلنیزاسیون ریشه
ورمی کمپوست	۱	۲۸/۴۴**	۲۷/۳۹**	۲۳۲۱/۴۷**	۶۷**
قارچ میکوریزا آربوسکولار	۲	۰/۱۶^{ns}	۴/۶۴^{ns}	۵۱۳/۸۷*	۲۶**
ورمی کمپوست × قارچ میکوریزا آربوسکولار	۲	۰/۷۵^{ns}	۴/۹۹^{ns}	۱۸/۱۶^{ns}	۱۲*
خطا	۳۰	۰/۸۷	۲/۴۶	۱۳۰/۲۱	۰/۰۰۴

*معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد، * معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد و ns عدم وجود اختلاف معنی دار

جدول٤- مقایسه میانگین اثر ورمی کمپوست و قارچ میکوریزا آربوسکولار برصفات مورد مطالعه

منابع تغییرات	**تعداد گل**	تعداد میوه	وزن میوه(g)	میزان کلنیزاسیون ریشه
بدون قارچ میکوریزا آربوسکولار	۸/۳۵ a	۳/۲۲ a	۳۲/۶۴ b	۰/۱۵ b
قارچ میکوریزا آربوسکولار ورسیفورم	۸/۱۲ a	۲/۰۰ a	۳۵/۴۱ b	۰/۳۷ a
قارچ میکوریزا آربوسکولار اتونیکاتوم	۸/۲۷ a	۲/۸۳ a	۴۵/۱۰ a	۰/۴۲ a
بستر بدون ورمی کمپوست	۷/۳۶ b	۱/۸۱ b	۲۹/۶۹ b	۰/۱۸ b
بستر حاوی ورمی کمپوست	۹/۱۴ a	۳/۵۶ a	۴۵/۷۵ a	۰/۴۵ a

در هر ستون تیمارهای دارای حداقل یک حرف مشترک بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار نمی‌باشند.

نتایج این آزمایش با نتایج پژوهش (Gajalakshmi and Abbasi, 2002) بررسی تاثیرکاربرد کمپوست و ورمی کمپوست روی رشد و گلدهی بامیه، بادمجان و گوجه فرنگی مطابقت داشت.

با مطالعه (Moraditochaee *et al.*, 2011) بر کاربرد اثرات ورمی کمپوست و کود نیتروژنه بر عملکرد، تعداد میوه در بوته، ارتفاع گیاه و طول میوه در زمان رسیدگی بادمجان و پژوهش (Mena-Violante *et al.*, 2006) روی تاثیر قارچ‌های میکوریز آربوسکولار بر کیفیت میوه فلفل شیرین و همچنین با پژوهش (Abdel Latef and Chaoxing, 2010) روی اثرات تلقیح گوجه فرنگی با قارچ *گلوموس موسه‌ای* میزان رشد، سطح برگ، کلروفیل، وزن تر میوه, عملکرد مطابقت داشت.

منابع

ناصری، م، ت،۱۳۸۲. بررسی همزیستی میکوریز با گیاه زیره سبز، گزارش طرح پژوهشی، دانشگاه فردوسی مشهد

نصیری محلاتی، م. ع. کوچکی، پ. رضوانی، ع. بهشتی، ۱۳۸۰، اگرواکولولوژی، چاپ اول، انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد

نعمتی،ح. و تهرانی فر، ع، ۱۳۸۶. بررسی روش‌های ازدیاد جنسی و رویشی سبزی جدید پیپنو. مجله علوم و صنایع کشاورزی، ویژه علوم باغبانی. ش۲۱(۲):۱۰-۳

Abdel Latef, A. A. H. and H. Chaoxing (2010). "Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on growth, mineral nutrition, antioxidant enzymes activity and fruit yield of tomato grown under salinity stress." Scientia Horticulturae **127**: 228-233.

Arancon, N. Q., C. A. Edwards, et al. (2004). "Effects of vermicomposts produced from food waste on the growth and yields of greenhouse peppers." Bioresource Technology **93**(2): 139-144.

Innovation, N. R. C. A. C. o. T. (1989). Lost crops of the incas: Little-known plants of the andes with promise for worldwide cultivation. Washingtoon, Natl Academy Pr.

Gajalakshmi, S. and S. Abbasi (2002). "Effect of the application of water hyacinth compost/vermicompost on the growth and flowering of *Crossandra undulaefolia*, and on several vegetables." Bioresource Technology **85**(2): 197-199.

Gutierrez-Miceli, F. A., J. Santiago-Borraz, et al. (2007). "Vermicompost as a soil supplement to improve growth, yield and fruit quality of tomato (*Lycopersicum esculentum*)." Bioresource Technology **98**(15): 2781-2786

Mena-Violante, H. G., O. Ocampo-Jiménez, et al. (2006). "Arbuscular mycorrhizal fungi enhance fruit growth and quality of chile ancho (*Capsicum annuum* L. cv San Luis) plants exposed to drought." Mycorrhiza **16**(4): 261-267.

Moraditochaee, M., H. R. Bozorgi, et al. (2011). "Effects of Vermicompost Application and Nitrogen Fertilizer Rates on Fruit Yield and Several Attributes of Eggplant (Solanum melongena L.) in Iran." World Applied Sciences Journal **15**(2): 174-178.

Prohens, J., J. J. Ruiz, et al. (1996). "The pepino (*Solanum muricatum*, Solanaceae): A "new" crop with a history." Economic Botany **50**(4): 355-368.

بررسی تاثیر قارچ میکوریزا (VAM) بر جذب عنصر آهن در زمان ۷ و ۸ برگی در گیاه ذرت در شمال خوزستان

سیدامین علوی[۱]،عبدالامیرمعزی[۲]،سعیدسلیم پور[۳]،پریابلیغ[٤]،خدیجه کلی[٥]
۱-دانش آموخته کارشناسی ارشد خاکشناسی دانشگاه علوم و تحقیقات خوزستان seyedaminalavi@yahoo.com
۲- عضوهیئت علمی و دانشیار دانشگاه شهید چمران اهواز
۳-عضوهیئت علمی مرکزتحقیقات کشاورزی صفی آباد
٤-دانشجوی دکتری خاکشناسی دانشگاه آزاد خوراسگان
٥-دانشجوی دکتری خاکشناسی دانشگاه علوم وتحقیقات خوزستان

مقدمه

از دیدگاه تکامل، یکی از عوامل مؤثر در گزینش طبیعی، توانایی موجودات زنده در بقاء نسل تا تولید مثل بعدی است. بر این اساس می‌توان میکوریزا را بعنوان یک ساختار سازنده که در آن همزیستی بین قارچ و ریشه بوجود آمده و منجر به افزایش توان ماندگاری هر دو موجود می گردد، نام برد(اصغرزاده و همکاران،۱۳۸۰). وانگ و همکاران(۲۰۰۸) گزارش نمودند که تلقیح قارچ آربوسکولار مایکوریزا با گیاه خیار باعث افزایش غلظتN, P در ریشه و Mg, Cu, Zn ساقه شد. پووس (۲۰۰۵) نشان داد در خاک‌هایی که میزان فسفر آنها کم است، بکارگیری قارچهای مایکوریزا باعث افزایش جذب فسفر و همچنین افزایش مقاومت به تنش شوری در گیاه گوجه فرنگی می‌شود. همزیستی قارچ با ریشه گیاه باعث افزایش جذب عناصر کم تحرک (ارتاس و همکاران۲۰۰۱) بویژه فسفر جذب عناصر کم مصرف مانند Zn, Cu و همچنین جذب آب می‌شود. قارچ آربسکولار مایکوریزا باعث افزایش رشد گیاه از طریق افزایش فتوسنتز، بهبود اسمتیک در شرایط شوری و خشکی و افزایش مقاومت گیاه می‌شود(ال_کراکی ۲۰۰۶). اهمیت مصرف کودهای شیمیایی از جمله ازت، فسفر و پتاس برای اکثر گیاهان زراعی و کاهش منابع اولیه تولید کودها علل الخصوص کودهای فسفره و همچنین افزایش هزینه های تولید و استفاده بیش ازحد مقادیر توصیه شده توسط کشاورزان طی سال های متمادی سبب انباشتگی این عنصر در بسیاری از اراضی کشاورزی شده است. ازآنجایی که هر ساله حدود یکصد هزار هکتار از اراضی خوزستان زیر کشت محصول بسیار مهم ذرت می رود و با توجه به اینکه خوزستان یکی از بیشترین تولید کنندگان ذرت در کشور می‌باشد و همچنین کود فسفر بعد از ازت یکی از اصلی ترین نیازهای غذایی کشت ذرت در این منطقه می‌باشد، برای اینکه بتوان با شرایط و اقلیم موجود در منطقه به حداکثر محصول و همچنین محصولات ارگانیک دست یافت این تحقیق انجام پذیرفت.

مواد و روشها

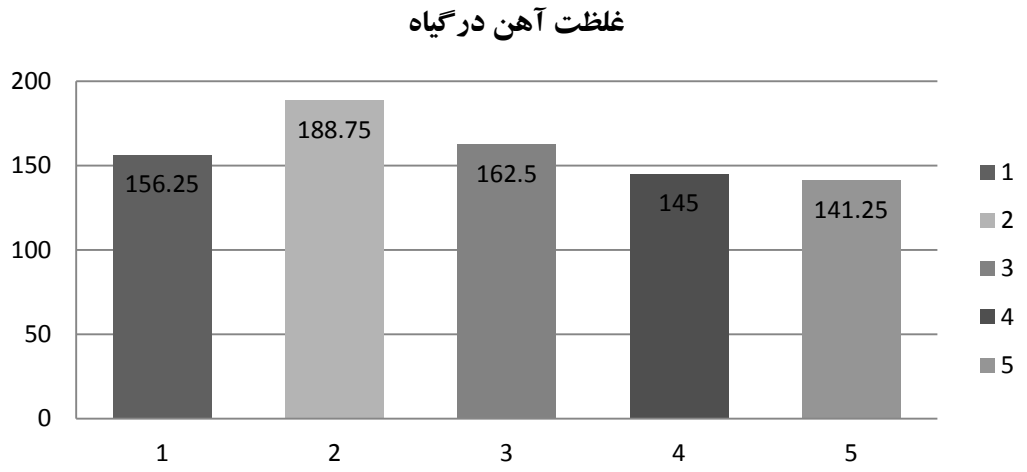
این تحقیق در قالب آزمایش بلوکهای کامل تصادفی در ۴ تکرار و ۵ تیمار در مزرعه صورت پذرفت. تیمار ها شامل قارچ مایکوریزا دریک سطح وجود و فسفر در دو سطح بر اساس آزمون خاک(شاهد مثبت) و ۶۵٪ آزمون خاک می باشد. یک کرت نیز به عنوان شاهد منفی در نظر گرفته شده است. در این تحقیق کلیه عملیات کود دهی و کاشت بوسیله دست انجام شد. برای انجام آزمایش از بذر ذرت رقم ۷۰۴ استفاده گردید که فاصله بوته ها ۱۷ سانتی متر و در هر چاله ۳ بذر قرار گرفت. برای کاشت تیمارهایی که کود بیولوژیک مایکوریزا در آنها بکار رفته بود ابتدا مایه تلقیح مایکوریزا که مخلوطی از محیط کشت آن به همراه قطعه هایی از ریشه های میکوریزی شده بود را در چاله

قرار داده و سپس بذور مورد نظر را بر روی آن قرار دادیم و سطح آن با خاک پوشانده شد. ملاک کار برای مقدار مصرف کود بیولوژیک بر اساس توصیه مؤسسه تحقیقات آب وخاک که برای هر ۳۰ کیلوگرم بذر ذرت مصرفی ۱۰۰ کیلوگرم از کود بیولوژیک میکوریزی استفاده شود محاسبه گردید و مصرف شد. جهت آماده سازی نمونه ها ، نمونه های گیاهی خشک شده در آون ، آسیاب شد و یک گرم از هر نمونه به مدت ۴ ساعت در دمای ۵۷۰ درجه سانتی گراد در کوره الکتریکی خاکستر شد . پس از سرد شدن مقدار ۱۰ میلی لیتر اسید کلریدریک ۲ نرمال به آن اضافه گردید. سپس با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد و به وسیله کاغذ صافی عصاره گیری شد . از عصاره‌ها جهت اندازه گیری عناصر میکرو در آزمایشگاه خاکشناسی استفاده شد . نتایج حاصل از تجزیه نمونه ها با استفاده از نرم افزارMSTATC و مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون دانکن انجام گرفت. نمودارها نیز با استفاده از نرم افزار Excel رسم گردید.

نتایج و بحث

جدول ۱ - خلاصه نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارها بر روی جذب آهن در گیاه ذرت در زمان ۷و۸ برگی

منابع تغییرات	تکرار	تیمار	خطا	%cv
آهن	۲۴۷۷,۹۱۷	۱۴۱۵,۶۲۵	۲۶,۴۱	۸,۹



شکل ۱- غلظت آهن جذب شده در زمان ۷و۸ برگی(۱-فسفرشاهد مثبت ۲- قارچ میکوریزا به همراه فسفرشاهدمثبت ۳- فسفر٦٥٪ ٤- قارچ میکوریزا به همرا فسفر٦٥٪ ٥- شاهد منفی)

نتایج تجزیه آماری نشان داد که استفاده از میکوریزا و فسفر در زمان ۷ و ۸ برگی بر روی هیچکدام از عناصر میکرو (آهن، روی، مس، منگنز) تأثیر معنی داری نداشت(جدول۱) ولی با توجه به میانگین غلظت های بدست آمده می

توان دید که تیمار استفاده از قارچ میکوریزا به همراه فسفر شاهد مثبت درجذب آهن نقش بیشتری داشته و غلظت آهن بیشتر از سایر تیمارها می باشد(شکل۱). افزایش غلظت آهن در اندام هوایی گیاهان میکوریزی(هگو و همکاران،۱۹۹۳. پوراکایاستا و همکاران،۱۹۹۸) و نیز کاهش آن در بعضی آزمایش ها مشاهده شده است(ترفدار و همکاران،۱۹۹۴) و همچنین در یک بررسی تلقیح با قارچ های میکوریزی تأثیر معنی داری در غلظت آهن در اندام هوایی نداشته است(کاریس و همکاران،۱۹۹۸). اما باید به این نکته نیز دقت نمود که در بحث کشاورزی همواره فاکتورهای متعددی می‌تواند رشد گیاه را تحت تاثیر قرار دهند لذا پیشنهاد می‌گردد که اولا دوستان و همکاران دیگر ادامه این تحقیق را بر روی واریته‌های دیگر و حتی با گونه‌های دیگر قارچ میکوریزا دنبال کنند و ثانیا تحقیقات گلخانه‌ای به سمت تحقیقات مزرعه‌ای توسعه یابد.

منابع

اصغر زاده، ن. ع. ۱۳۸۰. اثر قارچ های میکوریز ویزیکولار آربوسکولار در رشد ذرت، جذب فسفر و برخی عناصر کم مصرف. ضرورت تولید صنعتی کودهای بیولوژیک در کشور(مجموعه مقالات).

نادیان، ح. ۱۳۷۷. نقش میکوریزا در کشاورزی پایدار. پنجمین کنگره زراعت و اصلاح نباتات ایران، کرج، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر.

رجالی ، ف. ۱۳۸۲. تهیه مایه تلقیح قارچهای مایکوریزا آربوسکولار به روش درون شیشه ای و بررسی اثر آن در افزایش جذب عناصر غذایی در گیاه گندم با تنش خشکی . پایان نامه دکتری دانشگاه تربیت مدرس.

AL-Karaki, G.N. 2006. Nursery inoculation of tomato with arbuscular mycorrhizal fungi and subsequent performance under irrigation with saline water. Scientia Horticulture, 109: 1-7.

Moawad, H., EL-Maksoud. H. K. A. 1996. Response of berseem clover (Trifolium alexandrium) to rock phosphate fertilization and dule inoculation whith rhhizobium and VAM. Egy. J. of. Microbiology. 31: 13-23

Morton, J. B., Yarger, J. E., Wright, S. F. 1990. Soil solution P concentrations necessary for nodulation and nitrogen fixation in mycorrhizal and non mycorrhizal red clover (Trifolium pretense L.). Soil. Bio. And. Bioc. 22: 127-129

Poss, J. A., E. Pond, J. A., Menge and Harrell, W. M., 2005. Effect of salinity on mycorrhizal onion and tomato idn soil with and without additional phosphate. Plant Soil: 88:307-319.

Leopold, H. J., ofner, W.1991. Improvement of clover yield and quality by inoculation with VAM fungi and rhhizobium bacteria. Ange. Bota. 65: 23-33

Lin-X. G., W. Y. Hao. 1993. Response of white clover to rhhizobium and VA mycorrhizal dual inoculation. Cras- of. Chi. 3: 20-25

Wang, C. Zhou, J. Wang, G. Dong, Y. 2008. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on growth and yield of cucumber plants. Comm Soil Sci Plant Anal, 39:499-509.

Ortas, I. Kaya, Z. Çakmak, I. 2001. Influence of VAmycorrhiza inoculation on growth of maize and green pepper plants in phosphorus and zinc deficient soils. In: Plant nutrition- Food security and sustainability of agroecosystems (Horst W.J. et al., eds). Kluwer Acad Publ, Dordrecht. pp. 632-633.

بررسی پتانسیل کلنیزاسیون و تأثیر میکوریز همزیست ریشه پیاز بر برخی شاخص‌های رشدی دانهال پسته

فهیمه سلاجقه تذرجی[1]، مهدی سرچشمه‌پور[2] و حمید محمدی[3]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه شهید باهنر کرمان ۲- استادیار گروه خاکشناسی، دانشگاه شهید باهنر کرمان ۳- استادیار گروه گیاهپزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

مقدمه

هدف اصلی کشاورزی پایدار کاهش نهاده‌های مصرفی، افزایش چرخه داخلی عناصر غذایی خاک از طریق کاهش خاک‌ورزی و استفاده از کودهای زیستی بجای کودهای شیمیایی در جهت افزایش عملکرد محصولات کشاورزی و تولید غذای بیشتر است (Abbott و Murphy، ۲۰۰۷). منشاء تولید هر یک از انواع کودهای زیستی متفاوت بوده و یکی از مهم‌ترین آن‌ها، قارچ‌های میکوریز هستند (Sharma و Johri، ۲۰۰۲). قارچ‌های میکوریز توانایی تشکیل رابطه همزیستی با اغلب گونه‌های گیاهی را داشته و به عنوان یک نوع کود زیستی، در افزایش تولید محصولات کشاورزی اهمیت قابل توجهی دارند (Iniobong و همکاران، ۲۰۰۸). قارچ‌های میکوریزا تقریباً در تمامی انواع خاک‌ها قادر به رشد هستند با ریشه اکثر گیاهان زراعی رابطه همزیستی دارند (علوی و آهون-منش، ۱۳۷۶). قارچ‌های میکوریز موجب افزایش جذب عناصر غذایی (به خصوص فسفر)، کاهش تنش‌های محیطی از جمله تنش‌های خشکی و شوری و رشد بهتر گیاه میزبان می‌شوند (Thompson، ۱۹۹۰). تحقیقات خالد و الخیدر (۱۹۹۳) نشان داد که رشد نشاءهای گوجه‌فرنگی میکوریزی با *Glomus mosseae* در خاکی با فسفر کم، بهتر از نشاهای بدون میکوریزا بوده است. گوجه‌فرنگی‌های میکوریزی وزن خشک بالاتری داشتند و درصد بقاء نشاءهای آنها نیز بیشتر بود. گیاه پیاز می‌تواند با قارچ میکوریزا همزیستی خوبی برقرار کند (توسلی و علی‌اصغرزاده، ۱۳۸۸). Mahaveer و Alok (۲۰۰۰) گزارش کردند تلقیح پیاز با قارچ‌های میکوریز موجب افزایش معنی‌دار وزن تر و خشک اندام هوایی، مقدار فسفر اندام هوایی و عملکرد نسبت به گیاهان تلقیح نشده می‌گردد. در این تحقیق با توجه به درصد بالای همزیستی پیاز با قارچ میکوریز و تأثیر آنها بر افزایش رشد گیاهان، نمونه‌هایی از ریشه و خاک ریزوسفری پیاز با درصد همزیستی بالا در شرایط گلخانه با دانهال پسته کشت داده شدند و پس از رشد درصد کلنیزاسیون و برخی شاخص‌های رشد مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به منظور بررسی پتانسیل کلنیزاسیون میکوریز همزیست ریشه پیاز با دانهال پسته و تأثیر آن بر برخی صفات رشدی دانهال پسته در قالب یک طرح آماری کاملاً تصادفی در شرایط گلخانه‌ای انجام گرفت. آزمایش گلخانه‌ای شامل ۵ جدایه دارای درصد کلنیزاسیون بالای ۸۰ درصد و یک تیمار شاهد بود که با ۳ تکرار اجرا شد. ابتدا ریشه‌ها در آزمایشگاه با آب شسته شدند و سپس ریشه‌های مویین آنها جداسازی و مجدداً با آب مقطر شسته شدند. ریشه‌ها با استفاده از هیدروکسید پتاسیم ۱۰٪ رنگ‌بری و با محلول رنگی تریفان‌بلو، رنگ-آمیزی شدند (Phillips و Hayman، ۱۹۷۰) و درصد کلنیزاسیون از روش تلاقی خطوط شبکه Giovannetti و Mosse (۱۹۸۰) تعیین گردید. طبق این روش ریشه‌های رنگ‌آمیزی شده به قطعات یک سانتیمتری تقسیم شده و در سطح یک تشتک پتری مشبک پخش گردیدند سپس درصد همزیستی با استفاده از میکروسکوپ با بزرگ-نمایی ۴۰ محاسبه گردید. گلدان‌های مورد استفاده حاوی یک کیلوگرم خاک استریل بودند که به هر یک از آنها

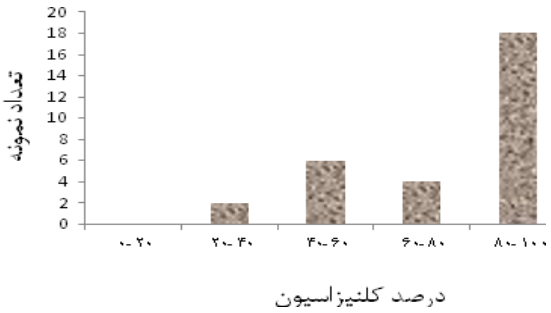
۱۰۰ گرم خاک ریزوسفری حاوی ریشه‌های آلوده به جدایه‌های مورد نظر اضافه گردید و کشت پسته در آن صورت گرفت. گلدان‌ها به مدت ۲ ماه نگهداری شدند و آبیاری آن‌ها به صورت یک روز در میان تا حد ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه انجام شد. در پایان دوره رشد، ریشه نهال‌ها به آرامی شستشو داده شد و درصد کلنیزاسیون میکوریزی تعیین و شاخص‌های ارتفاع ساقه، وزن تر ساقه و ریشه و وزن خشک ساقه و ریشه اندازه‌گیری شد.

نتایج و بحث

درصد کلنیزاسیون نمونه‌های پیاز از حداقل ۳۲ تا حداکثر ۹۶ درصد متغیر بودند. بیشترین فراوانی مربوط به محدوده ۱۰۰-۸۰ (شکل ۱) درصد بود. از بین نمونه‌های مورد مطالعه، تعداد ۵ جدایه با درصد کلنیزاسیون بیشتر برای کشت گلخانه‌ای انتخاب شد. نتایج درصد کلنیزاسیون جدایه‌های انتخابی در جدول ۱ آمده است.

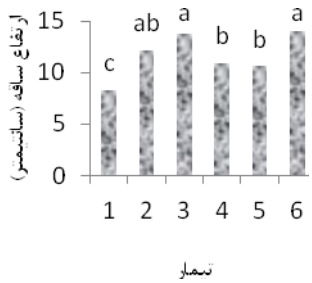
جدول ۱- درصد کلنیزاسیون جدایه‌ها انتخابی

شماره جدایه	درصد کلنیزاسیون پیاز
۱	۹۴
۲	۹۵
۳	۸۱
۴	۹۳
۵	۹۰

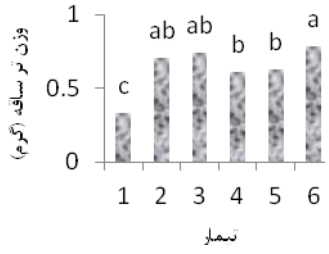


شکل ۱- نمودار فراوانی درصدکلنیزاسیون پیاز

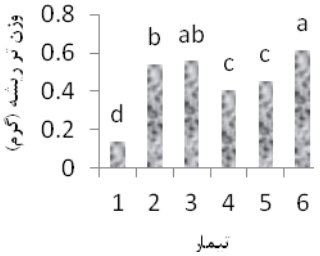
با توجه به نتایج تجزیه واریانس، تأثیر تیمار جدایه‌ها بر صفات اندازه‌گیری شده در سطح ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۲). بر اساس نتایج به دست آمده صفات اندازه‌گیری شده تمامی جدایه‌ها نسبت به شاهد بدون تلقیح اختلاف معنی‌داری را نشان داد. بیشترین ارتفاع ساقه مربوط به جدایه‌های ۶ و ۳ بود و سایر جدایه‌ها اختلاف معنی‌داری نداشتند (شکل ۲). از نظر وزن تر ساقه و ریشه جدایه ۶ بیشترین اثر را داشت ولی از این نظر با جدایه ۳ اختلاف معنی‌داری نداشت (شکل ۳و ۴). سوبرامانیان و کارست (۱۹۹۷) گزارش کردند که تلقیح قارچ‌های میکوریزا به گیاهان باعث افزایش وزن اندام‌های هوایی گیاه می‌شود (سوبرامانیان و کارست، ۱۹۹۷).



شکل ۲- مقایسه میانگین ارتفاع ساقه نهال‌های پسته



شکل ۳- مقایسه میانگین وزن تر ساقه نهال‌های پسته



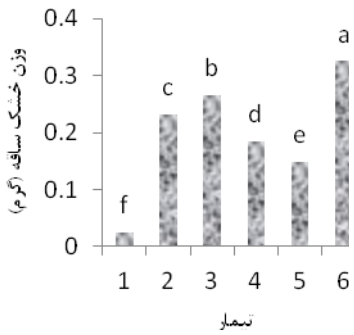
شکل ٤- مقایسه میانگین وزن تر ریشه نهال‌های پسته

از نظر وزن خشک ساقه و ریشه همچنین جدایه ۶ دارای بالاترین اثر بود (شکل ۵ و ۶). در مجموع تیمار شاهد کمترین مقادیر عددی اندازه‌گیری شده در مورد تمامی صفات اندازه‌گیری شده را به خود اختصاص داد. Pozo و همکاران (۱۹۹۹) گزارش کردند که وزن خشک ریشه و ساقه گیاهان بادام زمینی تلقیح شده با میکوریز به طور معنی‌داری نسبت به گیاهان شاهد افزایش یافته است. همچنین طی مطالعه‌ای Estaun و همکاران (۱۹۹۰) نشان دادند که گونه‌های مختلف پسته که با میکوریز مایه‌زنی شده‌اند نسبت به گیاهان شاهد از وزن خشک اندام هوایی بیشتری برخوردارند. تأثیر جدایه‌ها بر درصد کلنیزاسیون میکوریزا روی سطوح ریشه‌ای در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۲) تمامی جدایه‌ها توانستند با ریشه‌ها همزیستی برقرار کنند. درصد کلنیزاسیون ریشه پسته با جدایه‌های مورد استفاده در این تحقیق از حداقل ۷۰ تا حداکثر ۹۱ درصد متغیر بود. جدایه‌های ۵ و ۶ پیاز توانستند بالاترین میزان همزیستی را با ریشه دانهال پسته ایجاد کنند و با سایر جدایه‌ها تفاوت معنی‌داری داشتند (شکل ۷).

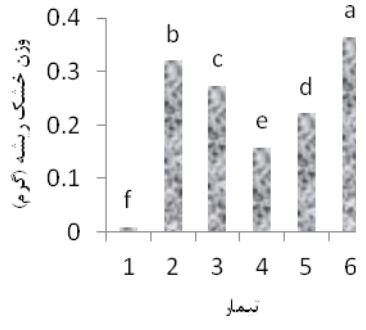
جدول۲- نتایج تجزیه واریانس تأثیر تیمارها بر شاخص‌های اندازه‌گیری شده در کشت گلخانه‌ای

منابع تغییرات	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات (MS)					
		ارتفاع ساقه	وزن تر ساقه	وزن تر ریشه	وزن خشک ساقه	وزن خشک ریشه	درصد کلنیزاسیون
تیمار	۵	۱۳/۵۸**	۰/۰۸**	۰/۰۹**	۰/۰۳۲**	۰/۰۵**	۳۳۱**
خطا	۱۲	۱/۳	۰/۰۰۵	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰۰۶	۰/۰۰۰۳	۱۱
ضریب تغییرات C.V		۱۰	۱۱	۷/۸	۴	۸/۴	۵/۱

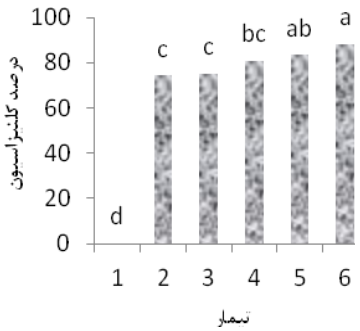
**= معنی دار در سطح یک درصد



شکل ۵- مقایسه میانگین وزن خشک ساقه نهال‌های پسته



شکل ٦- مقایسه میانگین وزن خشک ریشه نهال‌های پسته



شکل ۷- مقایسه میانگین درصد کلنیزاسیون نهال‌های پسته

نتایج مربوط به داده‌های کشت گلخانه‌ای نشان داد که اولاً تلقیح ریشه پسته با جدایه‌های میکوریز پیاز توانست در اکثر موارد اختلاف معنی‌داری را نسبت به شاهد بدون تلقیح ایجاد کند و جدایه‌های همزیست پیاز توانستند با

پسته همزیستی خوب و بالایی برقرار کنند. ثانیاً بین جدایه‌های مورد استفاده از نظر درصد کلنیزاسیون و میزان تاثیر بر صفات رویشی دانهال نیز اختلاف معنی‌داری وجود داشت. از طرفی جدایه‌ها بر شاخص‌های رشدی تأثیر قابل توجهی داشتند و باعث بهبود رشد دانهال‌های پسته نسبت به شاهد شده بودند.

منابع

توسلی، ع. و علی‌اصغرزاد، ن. ۱۳۸۸. اثر قارچ‌های میکوریز آربوسکولار بر جذب عناصر غذایی و عملکرد پیاز در یک خاک شور در شرایط مزرعه‌ای. مجله دانش آب و خاک. جلد ۱۹. شماره ۱.

علوی، ا. و آهون‌منش، ع. ۱۳۷۶. کنترل بیولوژیکی عوامل بیماریزای گیاهی خاکزاد (ترجمه). جلد دوم. انتشارات نشر آموزش کشاورزی کرج.

Abbott, L.K. and Murphy, D.V. 2007. Soil Biological Fertility: A key to sustainable land use in agriculture. Springer 268 pp.

Estaun, V., Calvet, C. and Camprubi, A. 1990. Vesicular-arbuscular mycorrhizae on *Pistacia* sp. Symbiosis 9: 309-313.

Iniobong, O.E., Solomon, M.G. and Osonubi, O. 2008. Effects of arbuscular mycorrhizal fungus inoculation and phosphorus fertilization on the growth of Gliricidia sepiom in sterile and non-sterile soil. Research Journal of Agronomy. 2(1): 23-27.

Khalied, A.S. and Eikhider, R.A. 1993. Vesicular-arbuscular mycorrhizas and soil salinity. Mycorrhiza 4:45-57.

Mahaveer, P. S. and Alok, A. 2000. Enhanced growth and productivity following inoculation with indigenous AM fungi in four varieties of onion (*Allium cepa* L.) in an alfisol. Biological Agriculture and Horticulture 18: 1-14.

Phillips, J. M. and Hayman, D. S. 1970. Improved procedures for cleaning roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions of the Mycological Society 55:158-160.

Pozo, M. J., Azcon-Aguilar, C., Dumas-Gaudot, E. and Barea, J. M. 1999. β-1,3-Glucanase activities in tomato roots inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi and/or *Phytophtora parasitica* and their possible involvement in bioprotection. Journal of Plant Science 141: 149-157.

Rajapakse, S. Ghton, C. and Miller, J. 1992. Methods for studing vesicular-arbuscular mycorrhizal root colonization and related root physical properties. Methods in microbiology 24: ISBN 0-12-521524-X.

Sharma, A.K. and Johri, B.N. 2002. Arbuscular Mycorrhizae, Interaction in plants, Rhizosphere and Soils. Science Publisher. INC, ENFILD, NH, USA.

Subramanian, K.S. and Charest, C. 1997. Nutritional, growth and reproductive responses of maize (Zea mays L.) to arbuscular mycorrhizal inoculation during and after drought stress at tasselling. Mycorrhiza 7: 25-32.

Thompson, J.P. 1990. Soil sterilization methods to show VA-mycorrhizae aid P and Zn nutrition of wheat in vertisols. Soil Biology and Biochemistry. 22(2): 229-240.

بررسی اثر کلونیزاسیون میکوریزا بر جذب فسفر گیاه گندم در خاک استریل و غیر استریل در خوزستان

*سیدمحمدرضا آبسالان[1]، حبیب اله نادیان[2]، سیروس جعفری[3]
۱ – دانشجوی کارشناسی ارشد علوم خاک دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان
۲ – دانشیار گروه خاکشناسی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان
۳ – استادیار گروه خاکشناسی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان
Email: m.absalan1363@gmail.com

مقدمه

گندم (*Triticum aestivum L*) از مهمترین محصولات زراعی کشور بوده و نقش مهمی در تامین غذای مردم دارد که ۴/۷ میلیون هکتار اراضی ایران زیر کشت گندم می باشد (رجالی و همکاران،۱۳۸۲). فسفر یکی از عناصر غذایی مهم در تغذیه گیاهی بوده و پس از نیتروژن و پتاسیم بیشترین مصرف را در دنیا دارد، به طوریکه سالانه ۸۰۰ هزار تن در ایران مصرف می شود (سالاردینی،۱۳۹۰). به دلیل اینکه فسفر در خاک عنصر متحرکی نیست ، محل جذب آن محدود به مناطق باریک اطراف ریشه می شود که از چند میلیمتر تجاوز نمی کند. از طرف دیگر میزان فسفری که در گیاهان مختلف از خاک برداشت می شود با نوع گیاه فرق می کند و این تفاوت با افزایش سن گیاه بیشتر می شود که علت این تفاوت محل های گیرنده خاص فسفر روی ریشه است که جذب فعال این عنصر را با پدیده حامل باعث می شود (هینسینگر و همکاران، ۲۰۰۵) . فقر فسفر یکی از عوامل اصلی گرسنگی کشورهای در حال توسعه آسیا می باشد و نیاز به مصرف کودهای فسفری در این قاره مشهود است (سالاردینی،۱۳۹۰). قارچهای میکوریزا از مهمترین همزیستهای گیاهان زراعی هستند. گیاهان مختلف به علت داشتن خصوصیات منحصر به فرد از جمله مشخصات مورفولوژیکی ریشه دارای همزیستی متفاوتی با این قارچها می باشند به همین علت کارایی همزیستی برای هر گیاه با دیگری متفاوت است (هانی و نادیان،۱۳۸۶). ریشه های میکوریزایی قادرند نسبت به ریشه های غیر میکوریزایی، فسفر بیشتری در واحد طول ریشه جذب کنند(نادیان،۲۰۰۱). از طرف دیگر جذب فسفردر گیاه گندم تلقیح شده توسط قارچ میکوریزا بیشتر از جذب فسفر توسط گیاهان شاهد (تلقیح نشده) بود (رجالی و همکاران، ۱۳۸۶). نقش میکوریزا در افزایش جذب عناصر غذایی (مخصوصاً فسفر) و افزایش رشد گیاه آشکار است، اما عموما آزمایش های میکوریزایی در خاک استریل انجام می شوند و تا کنون بر روی تاثیر این همزیستی بر جذب فسفر در خاک غیر استریل مطالعه دقیقی صورت نگرفته است .در این آزمایش تاثیر این همزیستی برروی غلظت فسفر در گیاه گندم در خاک استریل و غیر استریل بررسی گردید.

این آزمایش با هدف مقایسه میزان فسفر جذب شده در گیاه گندم با نام علمی (*Triticum aestivum*) ، تحت تاثیر قارچ میکوریزا در خاک استریل و غیر استریل انجام شد. این آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار و دو سطح استفاده و عدم استفاده از قارچ میکوریزا گونه (*Glomusintraradices*) و دو سطح خاک استریل و غیر استریل در گلخانه دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان در سال ۹۲-۹۱ اجرا گردید.

مواد و روشها

این آزمایش در سال ۹۲-۱۳۹۱ در گلخانه دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین واقع در شهر ملاثانی اجرا گردید. شهر ملاثانی در ۳۶ کیلومتری شمال شرقی اهواز و درحاشیه شرقی رودخانه کارون با عرض جغرافیایی ۳۱ درجه و ۳۶ دقیقه و طول جغرافیایی ۴۸ درجه و ۵۳ دقیقه با ارتفاع ۵۱ متر از سطح دریا واقع شده است. آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا گردید. گیاهان مورد آزمایش عبارت بودند از : گندم و سطوح مورد آزمایش شامل دو سطح میکوریزا (تلقیح نشده، تلقیح شده با گلوموس اینترارادیسیز) و دو سطح خاک (استریل و غیر استریل) که در چهار تکرار و در مجموع ۱۶ گلدان را شامل گردید. خاک و ماسه مورد استفاده در آزمایش برای نمونه های استریل با استفاده از اتوکلاو و در دمای ۱۲۱درجه سانتی‌گراد و فشار ۱۵PSI به مدت ۲ ساعت استریل گردید. خاک استفاده شده دارای بافت شن رسی با اسیدیته ۷/۵ ، هدایت الکتریکی ۲/۳ دسی زیمنس بر متر و فسفر قابل جذب ۴/۳ میلی گرم در کیلوگرم بود. بذور گیاهان پس از جوانه زنی در پتری دیش به گلدانها انتقال داده شد و در تیمارهای تلقیح شده با قارچ ، مقداری مایه تلقیح به گلدانها اضافه گردید. با توجه به فقیر بودن خاک از عناصر غذایی، هر هفته مقدار ۱۰ میلیگرم در لیتر محلول غذایی اسمیت – اسمیت به گلدانها اضافه گردید (اسمیت و اسمیت،۱۹۸۱). اندازه گیری فسفر از روش خاکسترگیری خشک و با استفاده از مولیبدات آمونیوم و توسط دستگاه اسپکتروفتومتر صورت گرفت.

نمودارها با استفاده از نرم افزار EXCEL رسم شد. برای آنالیز داده ها از نرم افزار SAS استفاده شد و مقایسه میانگین ها توسط روش LSD صورت پذیرفت.

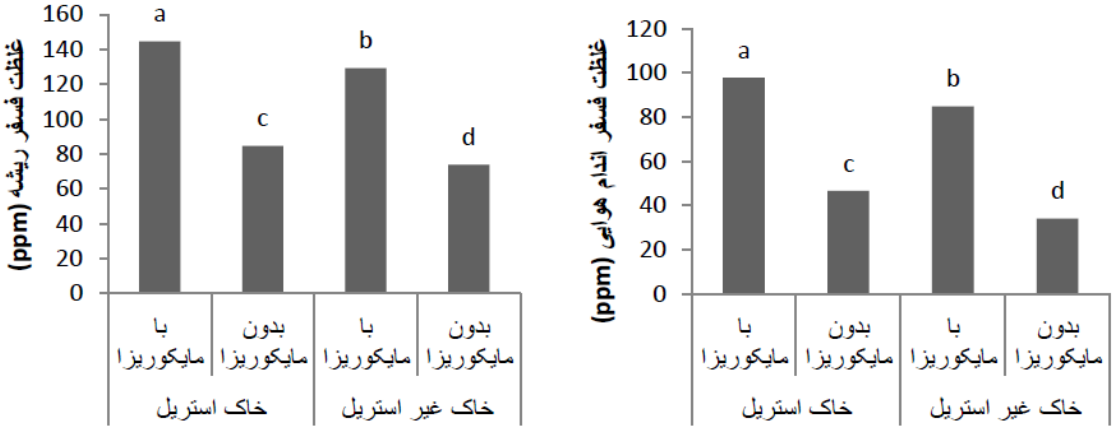
نتایج و بحث

تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱)، نشان داد که میکوریزا بر روی جذب فسفر ریشه و اندام هوایی گندم در سطح یک درصد تفاوت معنی دار ایجاد کرد . همچنین تجزیه واریانس داده ها (جدول ۱) نشان داد که جذب فسفر ریشه و اندام هوایی تیمارهای میکوریزایی - استریل تفاوت معنی داری با تیمارهای غیر مایکوریزایی – غیر استریل در سطح یک درصد دارد . اثر متقابل میکوریزا و استریل خاک بر روی فسفر ریشه و اندام هوایی معنی دار نمی باشد. همانگونه که در شکل ۱ مشاهده می شود بهترین میزان جذب فسفر مربوط به گیاه میکوریزایی تلقیح شده با قارچ گلوموس اینترارادیسیزدر خاک استریل است. علت بالا بودن جذب فسفر در گیاهان میکوریزایی ممکن است به خاطر رشد بیشتر میسیلیومهای خارجی به ازاء واحد طول ریشه گیاه میزبان بوده باشد. از طرفی در محیط خاک ریشه های میکوریزایی فسفر را از مناطقی دورتر از مناطق تخلیه فسفر در اطراف ریشه توسط توسعه هیف‌ها جذب می‌کنند و جذب فسفر از محلول خاک را بطور مشهودی افزایش می‌دهند. همچنین علت کاهش جذب فسفر در تیمارهای غیر استریل می تواند به علت وجود سایر میکروارگانیسم های خاک و ایجاد رقابت با میکوریزا باشد که باعث کاهش رشد میسیلیومهای خارجی نسبت به تیمارهای استریل می شود .

جدول ۱- تجزیه واریانس جذب فسفر ریشه و اندام هوایی در گیاه گندم تحت تاثیر قارچ میکوریزا در خاک استریل

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		فسفر ریشه	فسفر شاخساره
میکوریزا	۱	۱۳۳٤۰**	۱۰٤۰٤**
استریلیزاسیون	۱	٦۷٦**	٦٥۰**
میکوریزا*استریلیزاسیون	۱	۲۰ns	۰/۳ns
خطای آزمایش	۹	۸/۳	۱/٤

ns، * و ** به ترتیب به منزله عدم تفاوت معنی‌دار، تفاوت در سطح ۵ درصد و تفاوت در سطح ۱ درصد می‌باشد.



شکل ۱- مقایسه میزان جذب فسفر در اندام هوایی و ریشه گیاه گندم تحت تاثیر میکوریزا در خاک استریل و غیر استریل

منابع

رجالی،ف. علیزاده،ع.صالح راستین،ن و ملکوتی،م. ۱۳۸۲ . بررسی پتانسیل همزیستی قارچ های میکوریزای آربسکولار و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک در برخی دیم زارهای گندم استان آذربایجان شرقی. مجله علوم خاک و آب . جلد۱۷. شماره ۱ .

رجالی،ف . علیزاده، ع. ملکوتی،م و صالح راستین ، ن.۱۳۸۶ . بررسی تأثیر رابطه همزیستی میکوریز اربسکولار در رشد، عملکرد و جذب عناصر معدنی در گیاه گندم تحت تنش خشکی. مجله علوم خاک و آب. جلد۲۱ . شماره ۲

هانی، الف. نادیان،ح. و برزگر، ع. ۱۳۸۶ . بررسی وابستگی میکوریزی و عملکرد دو نوع شبدر در سطوح مختلف فسفر. مجله علوم خاک و آب.جلد۲۲. شماره ۲ . صفحه ۲۷۶

سالاردینی ع، ۱۳۹۰ . حاصلخیزی خاک ، انتشارات دانشگاه تهران. صفحه های ۱۲۴–۱۱۹

Hinsinger, P., Gobran, G. R., Gregory, P. J. and Wenzel, W. W., 2005. Rhizosphere geometry and heterogeneity arising from root mediated physical and chemical processes. New Phytologist., 168: 293-303.

Smith, F. A. and Smith, S. E., 1981. Mycorhizal infection and growth of *Trifoliumsubterraneum*: Use of sterilized soil as a control treatment. New Phytologist, 88: 299-309.

Nadian, H., 2001. Inoculation effect of three arbuscularmycorrhizal fungi on P inflow in berseem clover. Iranian Congress of Soil Science. Shahrekord University, 25-29 August. pp. 135-138.

بررسی اثر کلونیزاسیون میکوریزا بر جذب فسفر گیاه گلرنگ در خاک استریل و غیر استریل در خوزستان

سیدمحمدرضا آبسالان[1]، حبیب اله نادیان[2] ، سیروس جعفری[3]
۱ – دانشجوی کارشناسی ارشد علوم خاک دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان
۲ - دانشیار گروه خاکشناسی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان
۳ – استادیار گروه خاکشناسی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان
Email: m.absalan1363@gmail.com

مقدمه

قارچهای میکوریزا از مهمترین همزیستهای مفید در ریشه اکثر گیاهان بوده و نقش کلیدی در چرخه عناصر غذایی دارند. از آنجایی که قارچهای آربسکولار – میکوریزا نقش اساسی در جذب فسفر برای بسیاری از گونه های گیاهی بازی می کنند ، اما بر روی تاثیر این همزیستی بر جذب فسفر در گیاهان دارویی مطالعات اندکی صورت گرفته است .

فسفر یکی از عناصر غذایی مهم در تغذیه گیاهی بوده و پس از نیتروژن و پتاسیم بیشترین مصرف را در دنیا دارد، به طوریکه سالانه ۸۰۰ هزار تن در ایران مصرف می شود (سالاردینی،۱۳۹۰). به دلیل اینکه فسفر در خاک عنصر متحرکی نیست ، محل جذب آن محدود به مناطق باریک اطراف ریشه می شود که از چند میلیمتر تجاوز نمی کند. از طرف دیگر میزان فسفری که در گیاهان مختلف از خاک برداشت می شود با نوع گیاه فرق می کند و این تفاوت با افزایش سن گیاه بیشتر می شود که علت این تفاوت محل های گیرنده خاص فسفر روی ریشه است که جذب فعال این عنصر را با پدیده حامل باعث می شود (هینسینگر و همکاران، ۲۰۰۵) . فقر فسفر یکی از عوامل اصلی گرسنگی کشورهای در حال توسعه آسیا می باشد و نیاز به مصرف کودهای فسفری در این قاره مشهود است (سالاردینی،۱۳۹۰). قارچهای میکوریزا از مهمترین همزیستهای گیاهان زراعی هستند. گیاهان مختلف به علت داشتن خصوصیات منحصر به فرد از جمله مشخصات مورفولوژیکی ریشه دارای همزیستی متفاوتی با این قارچها می باشند به همین علت کارایی همزیستی برای هر گیاه با دیگری متفاوت است (هانی و نادیان،۱۳۸۶). ریشه های میکوریزایی قادرند نسبت به ریشه های غیر میکوریزایی، فسفر بیشتری در واحد طول ریشه جذب کنند(نادیان،۲۰۰۱). از طرف دیگر جذب فسفردر گیاه دارویی رازیانه تلقیح شده توسط گلوموس اینترارادیسیز بیشتر از جذب فسفر توسط گیاهان شاهد (تلقیح نشده) بود (کاپور و همکاران، ۲۰۰۴). نقش میکوریزا در افزایش جذب عناصر غذایی (مخصوصاً فسفر) و افزایش رشد گیاه آشکار است و تا کنون مطالعات در مورد اثر قارچ میکوریزا بر روی گیاهان زراعی بوده و در مورد تاثیر همزیستی میکوریزا بر روی گیاهان دارویی مطالعات اندکی صورت گرفته است. عموما آزمایش های میکوریزایی در خاک استریل انجام می شوند و تا کنون بر روی تاثیر این همزیستی بر جذب فسفر در خاک غیر استریل مطالعه دقیقی صورت نگرفته است .در این آزمایش تاثیر این همزیستی برروی غلظت فسفر در گیاه گلرنگ در خاک استریل و غیر استریل بررسی گردید.

این آزمایش با هدف مقایسه میزان فسفر جذب شده در گیاه دارویی گلرنگ با نام علمی (*Carthamustinctorius*) ، تحت تاثیر قارچ میکوریزا در خاک استریل و غیر استریل انجام شد. این آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار و دو سطح استفاده و عدم استفاده از قارچ

میکوریزا گونه (*Glomusintraradices*) و دو سطح خاک استریل و غیر استریل در گلخانه دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان در سال ۹۲-۹۱ اجرا گردید

مواد و روشها

این آزمایش در سال ۹۲-۱۳۹۱ در گلخانه دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین واقع در شهر ملاثانی اجرا گردید. شهر ملاثانی در ۳۶ کیلومتری شمال شرقی اهواز و درحاشیه شرقی رودخانه کارون با عرض جغرافیایی ۳۱ درجه و ۳۶ دقیقه و طول جغرافیایی ۴۸ درجه و ۵۳ دقیقه با ارتفاع ۵۱ متر از سطح دریا واقع شده است. آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا گردید. گیاهان دارویی مورد آزمایش عبارت بودند از : گلرنگ و سطوح مورد آزمایش شامل دو سطح میکوریزا (تلقیح نشده، تلقیح شده با گلوموس اینترارادیسیز) و دو سطح خاک (استریل و غیر استریل) که در چهار تکرار و در مجموع ۱۶ گلدان را شامل گردید. خاک و ماسه مورد استفاده در آزمایش برای نمونه های استریل با استفاده از اتوکلاو و در دمای ۱۲۱درجه سانتی‌گراد و فشار ۱۵PSI به مدت ۲ ساعت استریل گردید. خاک استفاده شده دارای بافت شن رسی با اسیدیته ۷/۵ ، هدایت الکتریکی ۲/۳ دسی زیمنس بر متر و فسفر قابل جذب ۴/۳ میلی گرم در کیلوگرم بود. بذور گیاهان دارویی پس از جوانه زنی در پتری دیش به گلدانها انتقال داده شد و در تیمارهای تلقیح شده با قارچ ، مقداری مایه تلقیح به گلدانها اضافه گردید. با توجه به فقیر بودن خاک از عناصر غذایی، هر هفته مقدار ۱۰ میلیگرم در لیتر محلول غذایی اسمیت – اسمیت به گلدانها اضافه گردید (اسمیت و اسمیت،۱۹۸۱). اندازه گیری فسفر از روش خاکسترگیری خشک و با استفاده از مولیبدات آمونیوم و توسط دستگاه اسپکتروفتومتر صورت گرفت.
نمودارها با استفاده از نرم افزار EXCEL رسم شد. برای آنالیز داده ها از نرم افزار SAS استفاده شد و مقایسه میانگین ها توسط روش LSD صورت پذیرفت.

نتایج و بحث

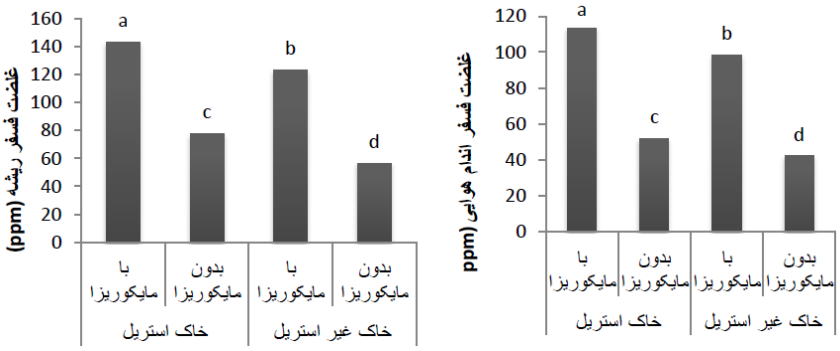
تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱)، نشان داد که میکوریزا بر روی جذب فسفر ریشه و اندام هوایی گلرنگ در سطح یک درصد تفاوت معنی دار ایجاد کرد . همچنین تجزیه واریانس داده ها (جدول ۱) نشان داد که جذب فسفر ریشه و اندام هوایی تیمارهای میکوریزایی – استریل تفاوت معنی داری با تیمارهای غیر مایکوریزایی – غیر استریل در سطح یک درصد دارد . اثر متقابل میکوریزا و استریل خاک بر روی فسفر ریشه معنی دار نبوده و برای فسفر اندام هوایی در سطح پنج درصد معنی دار می باشد. همانگونه که در شکل ۱ مشاهده می شود بهترین میزان جذب فسفر مربوط به گیاه میکوریزایی تلقیح شده با قارچ گلوموس اینترارادیسیزدر خاک استریل است. علت بالا بودن جذب فسفر در گیاهان میکوریزایی ممکن است به خاطر رشد بیشتر میسیلیومهای خارجی به ازاء واحد طول ریشه گیاه میزبان بوده باشد. از طرفی در محیط خاک ریشه های میکوریزایی فسفر را از مناطقی دورتر از مناطق تخلیه فسفر در اطراف ریشه توسط توسعه هیف‌ها جذب می‌کنند و جذب فسفر از محلول خاک را بطور مشهودی افزایش می‌دهند. همچنین علت کاهش جذب فسفر در تیمارهای غیر استریل

می تواند به علت وجود سایر میکروارگانیسم های خاک و ایجاد رقابت با میکوریزا باشد که باعث کاهش رشد میسیلیومهای خارجی نسبت به تیمارهای استریل می شود .

جدول ۱- تجزیه واریانس جذب فسفر ریشه و اندام هوایی در گیاه دارویی گلرنگ تحت تاثیر قارچ میکوریزا در خاک استریل

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		فسفر ریشه	فسفر اندام هوایی
میکوریزا	۱	۱۷۳۵۸**	۱۳۸۰۶**
استریلیزاسیون	۱	۱۷۰۲**	۶۲۵**
میکوریزا*استریلیزاسیون	۱	۱/۶ns	۳۰*
خطای آزمایش	۹	۵/۳	۴/۳

ns، * و ** به ترتیب به منزله عدم تفاوت معنی‌دار، تفاوت در سطح ۵ درصد و تفاوت در سطح ۱ درصد می‌باشد.



شکل ۱- مقایسه میزان جذب فسفر در اندام هوایی و ریشه گیاه دارویی گلرنگ تحت تاثیر میکوریزا در خاک استریل و غیر استریل

منابع

هانی، الف. نادیان،ح. و برزگر،ع. ۱۳۸۶ . بررسی وابستگی میکوریزی و عملکرد دو نوع شبدر در سطوح مختلف فسفر. مجله علوم خاک و آب. جلد۲۲.شماره ۲ . صفحه ۲۷۶

سالاردینی ع، ۱۳۹۰ . حاصلخیزی خاک ، انتشارات دانشگاه تهران. صفحه های ۱۲۴-۱۱۹

Hinsinger , P., Gobran, G. R., Gregory, P. J. and Wenzel, W. W., 2005. Rhizosphere geometry and heterogeneity arising from root mediated physical and chemical processes. New Phytologist. , 168: 293-303.

Kapoor, R., Giri, B. and Mukerji, K. G. 2004. Improved growth and essential oil yield and quality in (*Foeniculumvulgare mill*) on mycorrhizal inoculation supplemented with P-fertilizer. Bioresource Technology, 93:307-311.

Smith, F. A. and Smith, S. E., 1981. Mycorhizal infection and growth of *Trifoliumsubterraneum*: Use of sterilized soil as a control treatment. New Phytologist, 88: 299-309.

Nadian, H., 2001. Inoculation effect of three arbuscularmycorrhizal fungi on P inflow in berseem clover. Iranian Congress of Soil Science. Shahrekord University, 25-29 August. pp. 135-138.

بررسی اثر کلونیزاسیون میکوریزا بر جذب فسفر گیاه شبدر برسیم در خاک استریل و غیر استریل در خوزستان

سیدمحمدرضا آبسالان[۱]، حبیب اله نادیان[۲] ، سیروس جعفری[۳]

۱ – دانشجوی کارشناسی ارشد علوم خاک دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

۲ – دانشیار گروه خاکشناسی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

۳ – استادیار گروه خاکشناسی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

Email: m.absalan1363@gmail.com

مقدمه

قارچهای میکوریزا از نظر اکولوژیک اهمیت بسیاری دارند، زیرا این موجودات در داخل و روی ریشه های گیاهان میزبان روابط همزیستی ایجاد می نمایند. گیاه میزبان منابع کربن مورد نیاز قارچ را فراهم می کند و قارچ نیز سبب افزایش ظرفیت جذب آب و عناصر غذایی گیاه میزبان می شود (باگو و همکاران،۲۰۰۰) فسفر یکی از عناصر غذایی مهم در تغذیه گیاهی بوده و پس از نیتروژن و پتاسیم بیشترین مصرف را در دنیا دارد، به طوریکه سالانه ۸۰۰ هزار تن در ایران مصرف می شود (سالاردینی،۱۳۹۰). به دلیل اینکه فسفر در خاک عنصر متحرکی نیست ، محل جذب آن محدود به مناطق باریک اطراف ریشه می شود که از چند میلیمتر تجاوز نمی کند. از طرف دیگر میزان فسفری که در گیاهان مختلف از خاک برداشت می شود با نوع گیاه فرق می کند و این تفاوت با افزایش سن گیاه بیشتر می شود که علت این تفاوت محل های گیرنده خاص فسفر روی ریشه است که جذب فعال این عنصر را با پدیده حامل باعث می شود (هینسینگر و همکاران، ۲۰۰۵) . فقر فسفر یکی از عوامل اصلی گرسنگی کشورهای در حال توسعه آسیا می باشد و نیاز به مصرف کودهای فسفری در این قاره مشهود است (سالاردینی،۱۳۹۰). قارچهای میکوریزا از مهمترین همزیستهای گیاهان زراعی هستند. گیاهان مختلف به علت داشتن خصوصیات منحصر به فرد از جمله مشخصات مورفولوژیکی ریشه دارای همزیستی متفاوتی با این قارچها می باشند به همین علت کارایی همزیستی برای هر گیاه با دیگری متفاوت است (هانی و نادیان،۱۳۸۶). از دیگر اثرات قارچ میکوریزی در تغذیه فسفری گیاه، فراهم نمودن شرایط برای جذب فسفر بیشتری از منابع با حلالیت کم است. به نظر میرسد سیستم انتقال غشایی قارچها نسبت به ریشه های میزبان دارای میل ترکیبی بیشتری با فسفر است (کرس و همکاران،۱۹۸۶) ریشه های میکوریزایی قادرند نسبت به ریشه های غیر میکوریزایی، فسفر بیشتری در واحد طول ریشه جذب کنند(نادیان،۲۰۰۱). اصغری اضهار داشت قارچ میکوریزا فسفر قابل دسترس خاک را برای گیاه شبدر افزایش می دهد (اصغری ۱۳۸۶) . نقش میکوریزا در افزایش جذب عناصر غذایی (مخصوصاً فسفر) و افزایش رشد گیاه آشکار است، اما عموما آزمایش های میکوریزایی در خاک استریل انجام می شوند و تا کنون بر روی تاثیر این همزیستی بر جذب فسفر در خاک غیر استریل مطالعه دقیقی صورت نگرفته است .در این آزمایش تاثیر این همزیستی بر روی غلظت فسفر در شبدر برسیم در خاک استریل و غیر استریل بررسی گردید.

این آزمایش با هدف مقایسه میزان فسفر جذب شده در گیاه شبدر برسیم با نام علمی (*TrifoIium aIexandrinum*) ، تحت تاثیر قارچ میکوریزا در خاک استریل و غیر استریل انجام شد. این آزمایش به صورت

فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار و دو سطح استفاده و عدم استفاده از قارچ میکوریزا گونه (*Glomusintraradices*) و دو سطح خاک استریل و غیر استریل در گلخانه دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان در سال ۹۲-۹۱ اجرا گردید

مواد و روشها

این آزمایش در سال ۹۲-۱۳۹۱ در گلخانه دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین واقع در شهر ملاثانی اجرا گردید. شهر ملاثانی در ۳۶ کیلومتری شمال شرقی اهواز و درحاشیه شرقی رودخانه کارون با عرض جغرافیایی ۳۱ درجه و ۳۶ دقیقه و طول جغرافیایی ۴۸ درجه و ۵۳ دقیقه با ارتفاع ۵۱ متر از سطح دریا واقع شده است. آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا گردید. گیاهان مورد آزمایش عبارت بودند از : شبدر برسیم و سطوح مورد آزمایش شامل دو سطح میکوریزا (تلقیح نشده، تلقیح شده با گلوموس اینترارادیسیز) و دو سطح خاک (استریل و غیر استریل) که در چهار تکرار و در مجموع ۱۶ گلدان را شامل گردید. خاک و ماسه مورد استفاده در آزمایش برای نمونه های استریل با استفاده از اتوکلاو و در دمای ۱۲۱درجه سانتی‌گراد و فشار ۱۵PSI به مدت ۲ ساعت استریل گردید. خاک استفاده شده دارای بافت شن رسی با اسیدیته ۷/۵ ، هدایت الکتریکی ۲/۳ دسی زیمنس بر متر و فسفر قابل جذب ۴/۳ میلی گرم در کیلوگرم بود. بذور گیاهان پس از جوانه زنی در پتری دیش به گلدانها انتقال داده شد و در تیمارهای تلقیح شده با قارچ ، مقداری مایه تلقیح به گلدانها اضافه گردید. با توجه به فقیر بودن خاک از عناصر غذایی، هر هفته مقدار ۱۰ میلیگرم در لیتر محلول غذایی اسمیت – اسمیت به گلدانها اضافه گردید (اسمیت و اسمیت،۱۹۸۱). اندازه گیری فسفر از روش خاکسترگیری خشک و با استفاده از مولیبدات آمونیوم و توسط دستگاه اسپکتروفتومتر صورت گرفت.

نمودارها با استفاده از نرم افزار EXCEL رسم شد. برای آنالیز داده ها از نرم افزار SAS استفاده شد و مقایسه میانگین ها توسط روش LSD صورت پذیرفت.

نتایج و بحث

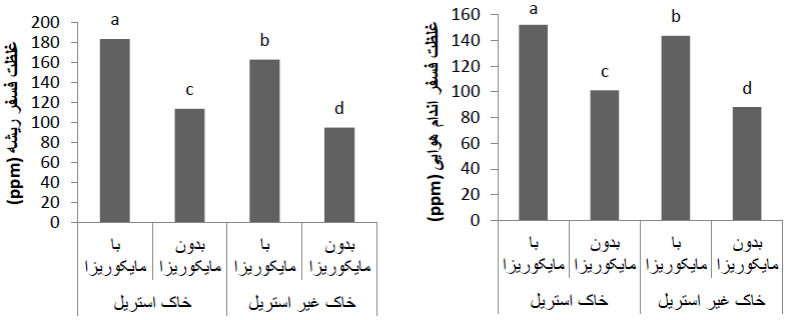
تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱)، نشان داد که میکوریزا بر روی جذب فسفر ریشه و اندام هوایی شبدر برسیم در سطح یک درصد تفاوت معنی دار ایجاد کرد . همچنین تجزیه واریانس داده ها (جدول ۱) نشان داد که جذب فسفر ریشه و اندام هوایی تیمارهای میکوریزایی – استریل تفاوت معنی داری با تیمارهای غیر مایکوریزایی – غیر استریل در سطح یک درصد دارد . اثر متقابل میکوریزا و استریل خاک بر روی فسفر ریشه معنی دار نبوده و برای فسفر اندام هوایی در سطح پنج درصد معنی دار می باشد. همانگونه که در شکل ۱ مشاهده می شود بهترین میزان جذب فسفر مربوط به گیاه میکوریزایی تلقیح شده با قارچ گلوموس اینترارادیسیزدر خاک استریل است. علت بالا بودن جذب فسفر در گیاهان میکوریزایی ممکن است به خاطر رشد بیشتر میسیلیومهای خارجی به ازاء واحد طول ریشه گیاه میزبان بوده باشد. از طرفی در محیط خاک ریشه های میکوریزایی فسفر را از مناطقی دورتر از مناطق تخلیه فسفر در اطراف ریشه توسط توسعه هیف‌ها جذب می‌کنند و جذب فسفر از

محلول خاک را بطور مشهودی افزایش می‌دهند. همچنین علت کاهش جذب فسفر در تیمارهای غیر استریل می تواند به علت وجود سایر میکروارگانیسم های خاک و ایجاد رقابت با میکوریزا باشد که باعث کاهش رشد میسیلیومهای خارجی نسبت به تیمارهای استریل می شود .

جدول۱- تجزیه واریانس جذب فسفر ریشه و اندام هوایی در گیاه شبدر برسیم تحت تاثیر قارچ میکوریزا در خاک استریل

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		فسفر ریشه	فسفر شاخساره
میکوریزا	۱	۱۸۹۷۵**	۱۱۳۴۲**
استریلیزاسیون	۱	۱۵۴۱**	۴۶۲**
میکوریزا*استریلیزاسیون	۱	۳/۱ns	۲۰*
خطای آزمایش	۹	۶/۸	۳/۱

ns ، * و ** به ترتیب به منزله عدم تفاوت معنی‌دار، تفاوت در سطح ۵ درصد و تفاوت در سطح ۱ درصد می‌باشد.



شکل۱- مقایسه میزان جذب فسفر در اندام هوایی و ریشه گیاه شبدر برسیم تحت تاثیر میکوریزا در خاک استریل و غیر استریل

منابع

هانی، الف. نادیان،ح. و برزگر، ع. ۱۳۸۶ . بررسی وابستگی میکوریزی و عملکرد دو نوع شبدر در سطوح مختلف فسفر. مجله علوم خاک و آب. جلد۲۲.شماره ۲ . صفحه ۲۷۶

اصغری، ح.۱۳۸۶ . بررسی اثر همزیستی قارچ میکوریزا با گیاه شبدر در میزان فسفر قابل دسترس خاک . دهمین کنگره علوم خاک ایران

سالاردینی ع، ۱۳۹۰ . حاصلخیزی خاک ، انتشارات دانشگاه تهران. صفحه های ۱۲۴-۱۱۹

Bago, B., Pfeffer, P. E., and Shachar-Hill, Y. 2000. Carbon metabolism and transport in arbuscular mycorrhizas. Plant Physiology 124: 949-957.

Cress, W. A., G.V. Johnson, & L.L.Barton.1986.The role of endomycorrhizal fungi in iron uptake of Hilaria jamesii.J. Plant Nutr. 9: 547-556.

Hinsinger, P., Gobran, G. R., Gregory, P. J. and Wenzel, W. W., 2005. Rhizosphere geometry and heterogeneity arising from root mediated physical and chemical processes. New Phytologist., 168: 293-303.

Nadian, H., 2001. Inoculation effect of three arbuscularmycorrhizal fungi on P inflow in berseem clover. Iranian Congress of Soil Science. Shahrekord University, 25-29 August. pp. 135-138.

Smith,F. A. and Smith, S. E.,1981. Mycorhizal infection and growth of *Trifoliumsubterraneum*: Use of sterilized soil as a control treatment. New Phytologist, 88: 299-309.

تأثیر کاربرد قارچ میکوریزا آربسکولار بر اجزای عملکرد کمی و کیفی گندم رقم تجن

عاطفه پورعبداله[1]، سید کاظم صباغ[2]، علیرضا سیروس‌مهر[3]، احمد غلامعلی‌زاده آهنگر[4]
۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم خاک دانشگاه زابل، ۲- استادیار گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه زابل، ۳- استادیار گروه زراعت دانشگاه زابل، ٤- استادیار گروه علوم خاک دانشگاه زابل

مقدمه

خانواده غلات حدود ۷ درصد از غذای مردم کره زمین را تأمین می‌نماید. در این میان گندم به عنوان مهمترین غله محسوب می‌شود (محسن نسب، ۱۳۸۹). گندم به عنوان مهمترین گیاه زراعی جهان، با اختصاص بیشترین سطح زیر کشت در بین تمام گیاهان زراعی، بیشترین اهمیت را در تأمین غذای مورد نیاز انسان دارد (Sinclair and Jamieson, 2006). افزایش تولید گندم در واحد سطح از طریق راههایی مثل مصرف کود، مناسب‌ترین گزینه نسبت به افزایش سطح زیر کشت می‌باشد. مدیریت مصرف کود یک عامل مهم در موفقیت کشت گیاهان می‌باشد و در این بین شناسایی کودهای بیولوژیک سازگار با طبیعت و مناسب برای رشد و نمو گیاهان می‌تواند اثرات مطلوبی بر شاخص‌های کمی و کیفی محصول داشته باشد. از جمله این کودهای بیولوژیک، قارچ‌های میکوریزا هستند. گرچه استفاده از کودهای بیولوژیک در کشاورزی قدمت زیادی دارد ولی بهره‌برداری علمی از اینگونه منابع سابقه چندانی ندارد (آستارایی و کوچکی، ۱۳۷۵). امروزه با توجه به مشکلاتی که مصرف بی‌رویه کودهای شیمیایی در مزارع و خاک‌ها به وجود آورده است، استفاده از منابع بیولوژیک کودی در کشاورزی بیش از پیش مطرح است. واژه میکوریزا به معنی قارچ ریشه، به طور کلی به همزیستی بین ریشه گیاهان و میسیلیوم‌های قارچی اطلاق می‌شود (عموآقایی و همکاران، ۱۳۸۲). قارچ‌های میکوریزا آربسکولار سبب تغییرات فیزیکی، شیمیایی یا میکروبیولوژیکی در محیط ریزوسفری شده که نتیجه آن، جذب بعضی عناصر توسط هیف‌های همزیست با ریشه می‌باشد (Azcon, 1998 وAzcon-Lazcano). امروزه عقیده بر این است که روابط متقابل بین ریشه گیاه و ریز موجودات خاک توسط مداخلات انسان از طریق فعالیت‌های کشاورزی و صنعتی تحت تأثیر قرار گرفته است (Lynch, 2002).

(Subramanian and Charest, 1997) طی تحقیقی دریافتند که در شرایط تلقیح ذرت با میکوریزا (*Glomus intraradaices*) عملکرد دانه افزایش یافته و محتوی Mn, Mg, NPK و Zn در دانه گیاه تلقیح شده نسبت به شاهد بیشتر بود. همچنین در یک آزمون گلخانه‌ای، تأثیر ده تیمار قارچی میکوریزا آربسکولار بر رشد گیاه گندم رقم پیشتاز مورد بررسی قرار گرفته است که بر طبق نتایج گزارش شده، همزیستی خوبی بین تیمارهای قارچی با گیاه گندم وجود داشته و افزایش وزن خشک ریشه و اندام هوایی گیاه گردیده است (Rejali et al., 2007). از آنجایی که امروزه کشاورزی بیشتر به سمت کشاورزی پایدار و کاهش استفاده از نهاده‌های شیمیایی در تولید محصولات پیش می‌رود، در نتیجه هدف از انجام تحقیق حاضر نیز بررسی کاربرد قارچ میکوریزا آربسکولار با هدف بهینه سازی مصرف کود شیمیایی و نیل کشاورزی در راستای زراعت پایدار گندم می‌باشد.

مواد و روشها

این تحقیق در سال زراعی ۹۲-۹۱ در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه زابل به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با ۴ تکرار و به صورت گلدانی اجرا گردید. برای این کار، گلدان‌های پلاستیکی با حجم ۲ کیلوگرم

خاک انتخاب و سپس گلدان‌ها کاملا با الکل استریل شدند. برای تهیه محیط کشت مناسب، ابتدا خاک لازم برای گلدان‌ها به صورت ۵۰ درصد خاک زراعی که از عمق (۳۰-۰) سانتی‌متری خاک گلخانه تهیه و برای تجزیه و تشخیص عناصر موجود در آن آزمایش شد که در جدول ۱ برخی از خصوصیات مورد بررسی قرار گرفته است. گلدان‌ها در گلخانه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری و رطوبت گلدان‌ها پس از اندازه‌گیری به روش صفحات فشاری به حد ظرفیت مزرعه رسانیده شد و این رطوبت در طول دوره رشد گیاه نیز حفظ گردید. در مرحله ۴-۳ برگی، تعداد ۳ عدد بوته در هر گلدان نگهداری و گیاهچه‌های اضافی تنک شده و تا زمان سنبله‌دهی کامل، به طور مرتب و بر اساس نیاز گیاه آبیاری شدند. بعد از پایان دوره رویشی و پر شدن سنبله‌ها بخش هوایی گیاه گندم از محل طوقه جدا شد و جهت اندازه‌گیری پارامترهای طول ریشه، طول سنبله، وزن خشک ریشه، کلروفیل a و کلروفیل b به آزمایشگاه منتقل شدند. همچنین اندازه‌گیری میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a و b) بر اساس روش آرنون (Arnon, 1967) انجام گرفت. بر اساس این روش ۰/۲ گرم بافت تازه برگی با ترازویی با دقت ۰/۰۰۱ گرم وزن و در هاون چینی حاوی ۱۰ میلی‌لیتر استن ۸۰ درصد ساییده شد. سپس محلول در دستگاه سانتریفیوژ (با دور ۶۰۰۰) قرار داده شد. سپس ۳ میلی‌لیتر از این محلول که حاوی کلروفیل a و b بود در کووت دستگاه اسپکتوفتومتر قرار داده شد و به ترتیب در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر قرائت گردید. غلظت این رنگیزه‌ها با استفاده از معادلات [۱] و [۲] (Arnon, 1967) محاسبه شد. صفات کمی و کیفی که در این تحقیق مورد ارزیابی قرار گرفتند شامل: طول ریشه، طول سنبله، وزن خشک گیاه، کلروفیل a و کلروفیل b بوده است. نتایج این تحقیق در نهایت با نرم‌افزار MSTAT-C مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها نیز با آزمون دانکن در سطح ۵ درصد صورت گرفت.

$$Chl_a(mg.g^{-1})=(19.3\times A_{665}-0/86\times A_{645})\ V/100w \qquad [۱]$$

$$Chl_b(mg.g^{-1})=(19.3\times A_{645}-3/6\times A_{663})\ V/100w \qquad [۲]$$

که در این معادلات Chl_a، Chl_b: به ترتیب غلظت کلروفیل a، کلروفیل b و A_{663}، A_{645} به ترتیب نشان دهنده‌ی شدت جذب در طول موج‌های 663 (کلروفیل a)، 645(کلروفیل b) نانومتر می‌باشد.

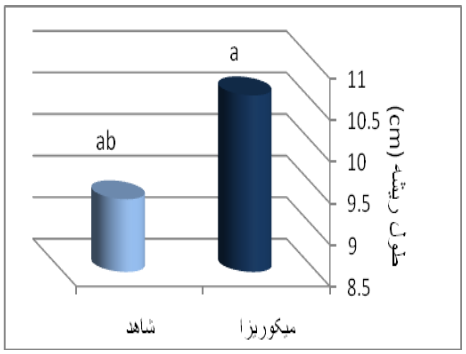
نتایج و بحث

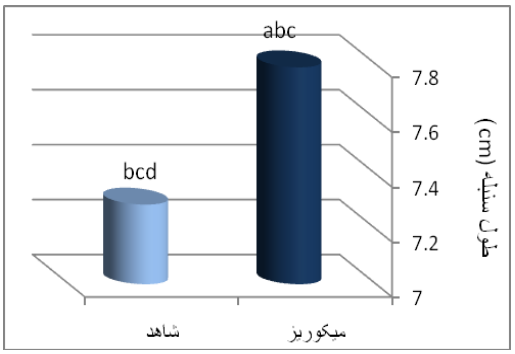
نتایج تجزیه فیزیکی و شیمیایی خاک در جدول شماره [۱] گزارش شده است و این خاک از نظر کشت محدودیتی ندارد.

جدول ۱- نتایج تجزیه فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش در عمق ۳۰-۰ سانتی‌متری

بافت خاک	شن	رس	لای	Mn	Zn	Fe	K	P	N	pH	Ec
		درصد				ppm		Mg.kg	%		ds/m
لومی‌شنی	٤١	٣٢	٢٧	٣/١	٤/٨	٢/٢	١٨٥	١٢	٦/٣	٧/١	١/٨

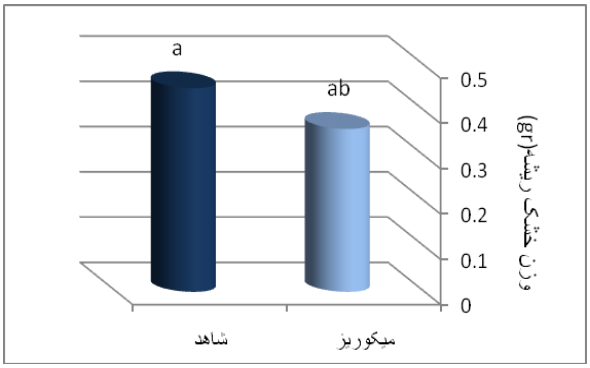
تجزیه و تحلیل نتایج حاصل از این طرح نیز نشان داد که مصرف میکوریزا بر اجزای عملکرد کمی، شامل طول سنبله و طول ریشه، نسبت به شاهد تأثیر معنی‌داری (در سطح اطمینان ۵ درصد) داشت. (شکل ۱و۲). دلیل این امر مکانیزم عمل قارچ میکوریزی در جذب فسفر می‌باشد. این نتایج با نتایج تحقیقات (Khalvati et al., 2005) مطابقت دارد.





شکل۱-مقایسه میانگین اثر میکوریزا بر طول ریشه **شکل۲- مقایسه میانگین اثر میکوریزا بر طول سنبله**

ولی از نظر رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیلb) و وزن خشک ریشه (شکل ۳)، میزان شاهد (عدم تلقیح با قارچ میکوریزا) نسبت به مصرف قارچ میکوریزا بیشتر شد. استفاده از میکوریزا سبب افزایش ماده خشک گیاه به دلیل افزایش جذب آب و مواد غذایی می‌شود. نتیجه این نقش میکوریزا، افزایش فعالیت فتوسنتزی و تثبیت CO_2 و تولید سطح برگ بیشتر می‌باشد (Smith and Read, 2008). نتایج این تحقیق با نتایج (Antunes et al., 2007) که دریافتند که در گیاهان تیمار شده با منابع مختلف فسفات بدون تلقیح با میکوریزا، وزن خشک و طول ریشه و وزن خشک اندام هوایی بیش از گیاهانی بود که با میکوریزا تیمار شده بودند. اما بر خلاف آنتونس و همکاران، پژوهشگران دیگری مانند (Bago et al., 1996) و (Villegas et al., 1996) گزارش کردند که تلقیح با میکوریزا سبب افزایش فعالیت میکوریزا آربسکولار در محیط ریشه می‌شود. همچنین در میزان کلروفیل a از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بین شاهد و مصرف قارچ میکوریزا مشاهده نشد. به طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که کاربرد قارچ میکوریزا به لحاظ جذب فسفر تأثیر به‌سزایی بر عملکرد کمی گندم رقم تجن داشت.



شکل۳-مقایسه میانگین اثر میکوریزا بر وزن خشک ریشه

منابع

آستارایی، ع. و کوچکی، ع. ۱۳۷۵. کاربرد کودهای بیولوژیکی در کشاورزی پایدار، انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. صفحه ۲۵۰.

عموآقایی، ر.، مستأجران، الف. و امتیازی، گ. ۱۳۸۲. تأثیر باکتری آزوسپریلیوم بر برخی شاخص‌های رشد و عملکرد سه رقم گندم. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، شماره ۲، صفحه‌های ۱۲۷ تا ۱۳۹.

محسن نسب، ف.، ۱۳۸۹. اثرات فرسودگی بذر بر جوانه‌زنی و استقرار و عملکرد ارقام مختلف گندم در شرایط آب و هوایی خوزستان. مقالات همایش منطقه‌ای دستاوردهای نوین در زراعت و نانو تکنولوژی. دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر قدس. شهر قدس.

Amora-Lazcano, E., M. M. Vazquez, R. Azcon. 1998. Response of nitrogen transforming microorganisms to arbuscular mycorrhizal fungi. Biology and fertility of soils, 27: 65-70.

Antunes, P.M., Schneider, K., Hillis, D. and Klironomos, J.N. 2007. Can the arbuscular mycorrhizal fungus Glomus intraradices actively mobilize P from rock phosphates Pedobiologia. 51:281-286.

Arnon, D. I., physiol. Rev., 47, 317(1967).

Bago, B., Vierheilig, H., Piche, Y. and Azcon-Aguilar, C. 1996. Nitrate depletion and Ph Changes induced by the extraradical mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus Glomus Intraradices grown in monoxenic culture. New Phytol. 133: 2-273.

Khalvati, M. A., Mozafar, A, and Schmidhalter, U. 2005. Quantification of water uptakeby arbuscular mycorrhizal hyphae and its significance for leaf growth, water Relations, anddgas exchange of barley subjected to drought stress. Plant Biology Stuttgart. 7:706-712.

Lynch, J. M. 2002. Resilience of the Rhizosfer to anthropogenic disturbance. Biodegradation. 13: 21-27.

Rejali, F., Alizadeh, A., Malakuti, M. and Salehrastin, N. 2007. Effect of mycorrhiza symbiotic relationship arbescular on growth yield and nutrient uptake in wheat plants under drought stress. Journal of Soil and Water Sciences. 21(2): 241-259.

Sinclair, T. R., Jamieson, P. D. 2006. Grain number, Wheat yield and bottling beer: An analysis. Field Crops Res. 98: 60-67.

Smith, S.E., and Read, D.J. 2008. Mycorrhizal Symbiosis, third ed. Academic Press, London, UK.

Subramanian, K. S., and Charest, C. 1997. Nutritional, growth and reproductive response of maize (Zea mays L.) to arbuscular mycorrhizal inoculation during and after drought stress at tasseling. Mycorrhiza, 7(1): 25-32.

Villegas, J., Williams, R.D., Nantais, L., Archambault, J. and Fortin, J.A. 1996. Effect of N source on pH and nutrient exchange of extramatrical mycelium in a mycorrhizal Ri T-DNA transformed root system. Mycorrhiza. 6: 247-251.

تاثیر کاربرد قارچ میکوریز آربوسکولار و کودهای آلی بر میزان جذب عناصر غذایی دو رقم گندم بولانی و کراس بولانی

بصیرا کرمانی زاده[۱]،سیدکاظم صباغ*[۲]، احمد غلامعلی زاده[۳] و علیرضا سیروس مهر[٤]
۱- دانشجوی کارشناسی ارشد خاکشناسی دانشگاه زابل
*۲- استادیار گروه گیاهپزشکی دانشگاه زابل
۳- استادیار خاکشناسی دانشگاه زابل
٤- استادیار گروه زراعت دانشگاه زابل

مقدمه:

به دلیل در نظر نگرفتن اهمیت و تاثیرات مثبت مواد آلی در اراضی کشاورزی، اغلب خاکهای کشور از این لحاظ دچار کمبودگشته و باعث کاهش چشمگیری در حاصلخیزی خاک شده است(Adediran, J. et. al; 2004). کمپوست کودی است که حاوی اکثر عناصر مورد نیاز گیاهان است و جایگزین مناسبی برای کودهای شیمیایی می‌باشد (الماسیان و همکاران، ۱۳۸۵). ورمی‌کمپوست از تجزیه میکروبی و ثبات مواد آلی در اثر فعالیت مشترک کرمهای خاکی *Eisentia foetida* و میکروارگانیسم‌های مختلف بدست می‌آید.(Atiyeh, R. et. al; 2000) در پژوهشی که در خصوص تاثیر ورمی‌کمپوست بر روی گیاه گوجه فرنگی انجام شد، ملاحظه شد غلظت نیتروژن، فسفر و پتاسیم در میوه و عملکرد محصول این گیاه نسبت به تیمار شاهد به طرز چشمگیری افزایش یافت (Zaller, J.; 2007). قارچ‌های میکوریز قادرند نیاز گیاه به فسفر و عناصر دیگر نظیر نیتروژن، پتاسیم، مس و روی را تامین کنند و در مقابل گلوکز مورد نیاز خود را از گیاه دریافت نمایند. ارقام گندم بولانی و کراس بولانی از جمله رقم‌هایی با عملکرد نسبتاً بالا در منطقه زابل می‌باشند. با توجه به وضعیت فیزیکی و شیمیایی نسبتاً ضعیف خاک‌های کشاورزی استان از نظر مواد آلی، در این تحقیق تاثیر سه کود کمپوست، ورمی‌کمپوست، میکوریز و تلفیق این کودها بر میزان جذب برخی عناصر غذایی توسط ارقام ذکر شده برای اولین بار در منطقه مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

پژوهش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در سه تکرار در دانشگاه زابل در سال ۱۳۹۱ انجام شد. تیمارها شامل فاکتور کود : ورمی‌کمپوست (F1) ، ورمی‌کمپوست+ کمپوست (F2)، ورمی‌کمپوست+ میکوریز (F3)، ورمی‌کمپوست+ میکوریز+ کمپوست (F4)، کمپوست (F5)، کمپوست + میکوریز (F6)، میکوریز (F7) و شاهد (عدم کاربرد کود F8) و فاکتور رقم گندم شامل ارقام بولانی(C_1) و کراس بولانی(C_2) در نظر گرفته شد. تعداد ۱۵ – ۱۰ عدد بذر از هر رقم، پس از ضد عفونی در گلدان‌های پلاستیکی به ابعاد ۱۴ × ۱۹ سانتی‌متر، حاوی ۲/۵ کیلوگرم خاک استریل شده، کشت گردید. آزمایش تجزیه خاک وتشخیص عناصر

موجود در آن انجام شد (احیائی و بهبهانی‌زاده، ۱۳۷۲) که نتایج آن در جدول ۱ آمده است. کودهای کمپوست و ورمی‌کمپوست بر اساس نتایج به دست آمده از آزمون خاک به ترتیب به مقدار۵ و ۱۵ تن در هکتار، قبل از کاشت به خاک اضافه گردید جهت تیمار میکوریز از اسپورهای قارچ گونه *Glumos intraradices* به صورت مخلوط با ماسه با بافت ریز که از پارک علم و فن‌آوری نیشابور تهیه شده بود استفاده شد. برای هر گلدان، تعداد ۱۰۰۰ اسپور (۲۰۰ گرم خاک حاوی میکوریز) در محل قرار گرفتن بذر قرار داده شد. گلدان‌ها در گلخانه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری و رطوبت گلدان‌ها پس از اندازه‌گیری به روش صفحات فشاری به حد ظرفیت مزرعه رسانیده شد و این رطوبت در طول دوره رشد گیاه نیز حفظ گردید. در مرحله ۴ – ۳ برگی، تعداد ۳ عدد بوته در هر گلدان نگهداری و تا زمان سنبله‌دهی کامل، به طور مرتب و بر اساس نیاز گیاه آبیاری شدند. بعد از پایان دوره رویشی و پر شدن سنبله ها بخش هوایی گیاه گندم از محل طوقه جدا شد و جهت انجام تجزیه شیمیایی و اندازه گیری میزان عناصر موجود در دانه به آزمایشگاه منتقل شدند.

جدول ۱: برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک، کمپوست و ورمی‌کمپوست استفاده شده

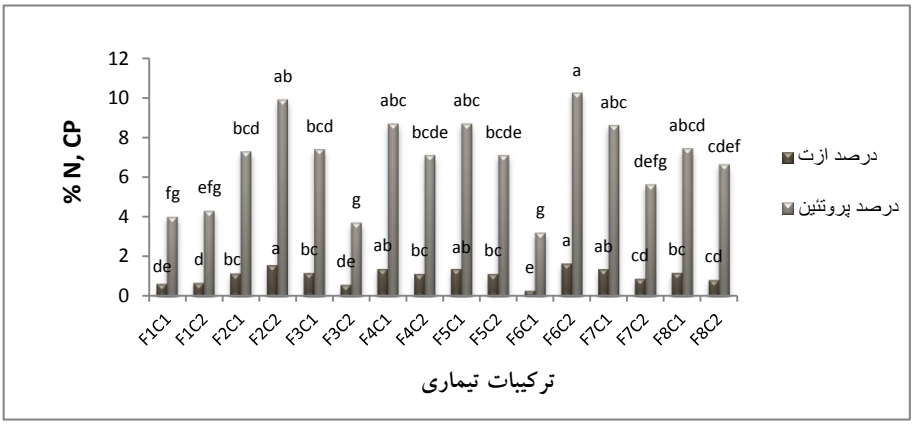
	بافت خاک	کربن آلی	نیتروژن کل	pH	هدایت الکتریکی EC	فسفر	پتاسیم
		(درصد)		(دسی زیمنس بر متر)		(میلی گرم بر کیلوگرم)	
خاک	لومی شنی	۰/۸۱	۰/۰۵	۸/۱	۱/۵	(قابل جذب) ۹/۴۵	(قابل جذب) ۱۱۹
کمپوست	–	۱۹/۶	۱	۷/۷	۸/۱	(کل) ۳۸۰۰	(کل) ۱۷۷۰
ورمی‌کمپوست	–	۳۸	۱/۶	۸/۱	۵/۶	(کل) ۱۳۰۰	(کل) 626

برای تعیین غلظت عناصر مورد نظر نمونه‌های گیاهی به روش اکسایش تر (اسید سولفوریک، اسید سالسیلیک، سلنیم و آب اکسیژنه) هضم شدند (Benton *et al*, 1990). سپس در عصاره تهیه شده درصد ازت و پروتئین خام با دستگاه کجلدال (امامی، ۱۳۷۵) وغلظت فسفر با روش رنگ سنجی نیترو وانادو مولیبدات با دستگاه اسپکتروفوتومتر (Cottenie, 1980)، همچنین غلظت پتاسیم با دستگاه فلیم فوتومتر (امامی، ۱۳۷۵). غلظت کل عناصر موجود در کمپوست و ورمی‌کمپوست بر اساس اطلاعات گرفته شده از کارخانه تولیدی بود. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم افزارآماری MSTATC و از آزمون LSD جهت مقایسات میانگین استفاده شد.

نتایج و بحث

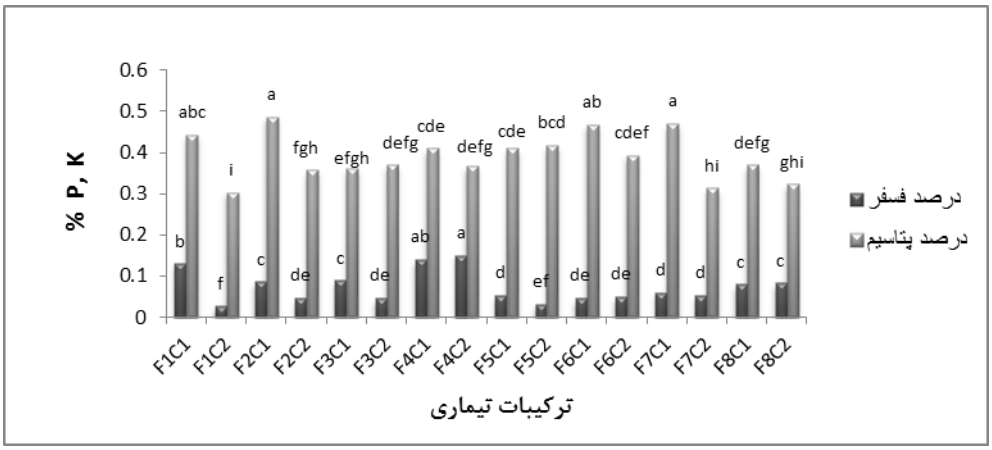
نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها تاثیر تیمارهای مختلف کودی و رقم برای تمام صفات درسطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود. اثرات متقابل دو تیمار هم برای صفات درصد ازت، فسفر، پتاسیم و درصد پروتئین در سطح احتمال ۱٪ معنی دار بود (جدول نشان داده نشده است). بر همکنش اثر متقابل کود و رقم برای درصد ازت قابل جذب اندازه‌گیری شده (شکل۲) نشان داد که بیشترین مقدار از کاربرد کودهای کمپوست+ میکوریز و رقم کراس بولانی به دست آمد. قارچ‌های میکوریزا آربوسکولار، تثبیت نیتروژن به روش همزیستی و همیاری را تحت تأثیر قرار می‌دهند، و فرض بر آن است که میکوریزا با جذب آب و مواد غذایی، شرایط گیاه را از نظر فیزیولوژیکی جهت تثبیت نیتروژن بهینه می‌سازد (Quarles,W. 1999). در درصد پروتئین خام (شکل ۲)

بیشترین مقدار از کاربرد کود کمپوست+ میکوریز و رقم کراس بولانی ۱۰/۲۷۷ به دست آمد. امیرآبادی و همکاران (۱۳۹۱) بیان کردند که قارچ میکوریزی با توجه به کمک در جذب و تسریع در تثبیت نیتروژن توسط گیاه در بالا بردن غلظت عناصرمعدنی همچون سدیم، درصد پتاسیم، درصد نیتروژن و درصد پروتئین در اندامهای هوایی تأثیر معنی‌داری داشت.



شکل۲- مقایسه میانگین اثرات متقابل کود * رقم بر میانگین درصد ازت و پروتئین جذب شده

برای درصد فسفر قابل جذب (شکل۳) نیز بیشترین مقدار از کاربرد کودهای ورمی‌کمپوست+ میکوریز+ کمپوست و رقم کراس بولانی به میزان ۰/۱۵۰ به دست آمد. گیاهان میکوریزائی با جذب راحت‌تر فسفر باعث عملکرد بهتری می‌گردند. حضور مکانیسم فراوانی چون افزایش سطح جذب، کاهش pH در سطح ریشه، و فعالیت زیاد آنزیم فسفاتاز در سطح مسیلیوم های قارچ باعث می‌شود تا میکوریز آربوسکولی از منابعی غیر قابل استفاده فسفر گیاه مثل فسفات آلی، فسفات کلسیم و مانند اینها استفاده نماید و آنرا به فرم قابل جذب برای گیاه تبدیل کند (خلدبرین و اسلام زاده، ۱۳۸۰). برای درصد پتاسیم قابل جذب (شکل ۳) هم بیشترین مقدار از کاربرد کودهای ورمی‌کمپوست+ میکوریز و رقم بولانی به میزان ۰/۴۸۷ به دست آمد.



شکل۳- مقایسه میانگین اثر متقابل کود * رقم بر میانگین درصد فسفر و پتاسیم جذب شده

بر اساس نتایج این آزمایش با توجه به نقش مهم و بیشتر نیتروژن بر گیاهان، کاربرد کمپوست با میکوریز یا کمپوست با ورمی‌کمپوست در دو رقم گندم مورد آزمایش مناسب به نظر می‌رسد.

منابع

الماسیان، ف.، آستارایی، ع. و نصیری محلاتی، م. ۱۳۸۵. تاثیر شیرابه کمپوست زباله شهری بر عملکرد و اجزاء عملکرد گیاه گندم. مجله بیابان. جلد ۱ .شماره ۱۱. صفحات ۹۰ تا۹۸.

امامی، ع. ۱۳۷۵. روش های تجزیه گیاه جلد اول. نشریه ۹۸۲ ، موسسه تحقیقات خاک و آب. صفحه ۱۳۰

امیرآبادی، م.، م. سیفی.، ف. رجالی. و م. اردکانی. ۱۳۹۱. بررسی غلظت عناصر معدنی پرمصرف در ذرت علوفه‌ای (*Zea mays L.*) (رقم سینگل کراس ۷۰۴) تحت تاثیر تلقیح قارچ میکوریزی و *Azotobacter chroococcum* در سطوح مختلف نیتروژن. مجله بوم شناسی کشاورزی. جلد ۱.شماره ۴. صفحات۳۱ تا۰

خلدبرین، ب.، ط. اسلام زاده. ۱۳۸۰. تغذیه معدنی گیاهان عالی، (ترجمه) انتشارات دانشگاه شیراز.

Adediran J.A, Taiwo R, Akande M and Idowu O, 2004. Application of organic and inorganic fertilizer for sustainable maize and cowpea yields in Nigeria. Journal of Plant Nutrition. 27: 1163-1181.

Atiyeh R, Subler M, Edwards C, Bachman G and Metzger JD, 2000. Effects of vermicomposts and composts on plant growth in horticultureal container media and soil. Pedobiologia. 47: 741-744.

Benton J, Jones JR and. Case VW, 1990. Sampling, handling and analyzing plant tissue sample. PP. 389-429. In: Westerman RL, (Ed.), Soil Testing and Plant Analysis. SSSA, No.3, Madison, WI.

Cottenie A, 1980. Soil and plant testing as a basis of fertilizer recommendation. FAO Soils.

Quarles W, 1999. Plant disease biocontrol and VAM fungi the IPM. Practitioner. 9(4):1-9.

Zaller J, 2007. Vermicompost as a substitute for peat in potting media: Effects on germination, biomass allocation, yields and fruit quality of three tomato varieties. Sci. Horticulturae. 112: 191-199.

بررسی پتانسیل کاربرد نانو ذره نانوپروسیل-۱(lus-1) به عنوان حامل باکتری حل کننده فسفات در فرایند تولید زادمایه نانوبیولوژیک

شایان شریعتی[۱]، حسینعلی علیخانی[۲]، احمد علی پوربابائی[۲]
۱- کارشناسی ارشد بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک دانشگاه تهران
۲- به ترتیب دانشیار و استادیار گروه مهندسی علوم خاک دانشگاه تهران

مقدمه

استفاده از نانوکودها می تواند ساده ترین شیوه به منظور کاهش هدر رفت عناصر غذایی و افزایش کارایی مصرف کودهای شیمیایی باشد (هابکینز و الزورت، ۲۰۰۵). مطالعات کمی بر روی فعالیت های آنتی باکتریایی SiO_2 انجام شده است. لی یانگ و همکاران (۲۰۰۴) نشان دادند که نانو ذرات SiO_2 اثر سوئی در رشد باکتری ها ندارد. لائورا و همکاران (۲۰۰۶) تاثیر نانو ذرات TiO_2, SiO_2 و ZnO_2 بر روی باکتری های *E.coli* و *B.subtilis* بررسی نمودند که نشان داد نانو ذره TiO_2 بیشترین سمیت و نانو ذره SiO_2 کمترین سمیت را داشت. البته سمیت نانوذره SiO_2 در غلظت های خیلی بالا در حد ppm ۵۰۰۰ رخ داده است و اثر این سمیت بر روی باکتری گرم مثبت *B.subtilis* بیشتر بوده است. طی بررسی که هولاندا و همکاران (۲۰۱۱) انجام دادند مشاهده شده که نانوذره سیلیکاته SBA-15,SBA-16,SBA-15/p, تاثیری منفی بر روی رشد باکتری *Neisseria meningitides* نداشته است. طبق جستجوهای به عمل آمده تا کنون مطالب زیادی به عنوان نقش نانوذرات به عنوان حامل و نگهدارنده باکتری ها به چاپ نرسیده است. بنابراین با توجه به گستردگی، سودمندی و پتانسیل بالای نانو مواد در بخش های مختلف و سمیت کم نانو ذرات سیلیسی بر روی باکتری، هدف از این پژوهش بررسی پتانسیل نانوذره نانوپروسیل-۱ (lus-1) به طور مجزا و ترکیب با سایر مواد (ورمی کمپوست، خاک فسفات و بنتونیت) به عنوان حامل باکتری بوده است. نانوپروسیل -۱ نوعی سیلیکات دارای آرایش هگزاگونال یک بعدی و متوسط اندازه حفرات ۳ نانومتر است که در آن استحکام بالاتری نسبت به سایر مزوپورهای سیلیکاتی مشاهده می شود.

مواد و روشها

در این پژوهش از چهار ماده شامل: نانوپروسیل-۱ ، ورمی کمپوست، خاک فسفات، بنتونیت و ترکیبی از آنها (نانوپروسیل-۱+ بنتونیت+ ورمی کمپوست+ خاک فسفات، نانوپروسیل-۱+ بنتونیت + ورمی کمپوست، نانوپروسیل-۱+ بنتونیت + خاک فسفات) به عنوان حامل استفاده گردید. نانو ذره سیلیکاته متخلخل (lus-1) ازگروه شیمی معدنی دانشگاه تهران تهیه گردید، که به صورت اختراع در سال ۲۰۰۱ در دانشگاه تهران و دانشگاه لاوال کانادا ثبت شده است (بنویت ۲۰۰۱) و فرم هیدروفیل آن مورد استفاده قرار گرفت. برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی این مواد مطابق جدول ۱ اندازه گیری شد. برای استریل کردن حامل ها مقدار ۵۰ گرم از نانوپروسیل-۱، بنتونیت و خاک فسفات خشک شده به مدت یک ساعت در اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد و فشار ۱/۳۴اتمسفر نگهداری شد (پزنتی و همکاران، ۱۹۹۱). آنگاه به منظور خشک کردن، مواد مذکور به مدت ۳ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد در داخل آون (از قبل استریل شده با دمای ۲۰۰ درجه

سانتیگراد) قرار داده شد. همچنین سترون سازی ورمی کمپوست به روش استریل کردن با بخار (steam sterilization) و به مدت یک ساعت (طی دو نوبت) انجام شد (استریدوم و رزنبرگ،۱۹۸۱). در مرحله بعد حامل ها به کیسه های پلی اتیلنی استریل شده اضافه گردید و درب آن دوخته شد. سپس سوسپانسیون باکتری *سودوموناس فلورسنس* تهیه و با استفاده از روش کدورت سنجی و جدول مک فارلند جمعیت سوسپانسیون، 10^9باکتری به ازای هر میلی لیتر تنظیم شد. سوسپانسیون کشت تازه باکتری با توجه به رطوبت FC مواد حامل به هر بسته (۵۰ گرمی) اضافه گردید و درب آنها دوخته شد. آنگاه بسته های مواد حامل به مدت ۱۵ روز در انکوباتور و دمای ۲۸ درجه، سپس تا پایان ۱۸۰ روز در یخچال در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شدند (مشهدی و همکاران، ۲۰۰۴). شمارش باکتری بر حسب $CFU\ gr^{-1}$ در زمان های ۰، ۱۵، ۳۰، ۴۵، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰، ۱۵۰و ۱۸۰ روز با سه تکرار انجام گرفت (آلبرادا و همکاران، ۲۰۰۸). این آزمایش بصورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملا تصادفی با دو فاکتور زمان (هشت زمان) و ماده حامل (۷ نوع) اجرا گردید. نتایج حاصل از شمارش باکتری با نرم افزار SAS 9.2 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و میانگین تیمارها با استفاده از روش آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد محاسبه شدند.

نتایج و بحث

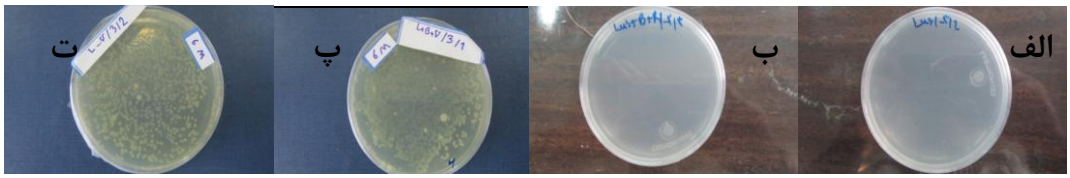
همانطور که در جدول شماره یک ملاحظه می شود، خصوصیات متفاوت مواد حامل از لحاظ درصد کربن آلی، رطوبت FC و فسفر قابل جذب، باعث شد که فرمولاسیون متفاوتی از این مواد نیز به عنوان یک تیمار حامل مورد استفاده قرار گیرد.

جدول شماره۱- برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی مواد حامل باکتری

	ماده حامل			
ویژگی	نانوپروسیل-۱	ورمی کمپوست	خاک فسفات	بنتونیت
فسفر قابل جذب(ppm)	۰	۱۳۷۵	۰	۰
سدیم محلول(ppm)	۱۱۲۰	۱۷۳/۴	۱۶/۹	۲۵۵/۵۳
کربن آلی(٪)	۰	۱۷/۷	۰	۰
جرم مخصوص ظاهری (g/cm^3)	۰/۱۶	۰/۷	۱/۶۵	۰/۹۷
EC (dSm^{-1})	۳/۹۵	۱/۷۲	۰/۵۵۸	۰/۹۶
pH	۹/۳	۷/۳۴	۷/۶۴	۸/۰۲
FC	۴۸	۴۳	۷	۳۵

نتایج تجزیه واریانس اثر اصلی و اثر متقابل فاکتورهای زمان و ماده حامل بر جمعیت باکتری ها نشان داد تیمارها بر جمعیت باکتری در سطح ۱ درصد معنی دار شده است. همانطور که در شکل ۱ ملاحظه می شود بعد از ۱۵ روز انکوباسیون جمعیت باکتری ها در حامل های نانوپروسیل-۱(L) و نانوپروسیل-۱+ بنتونیت+ خاک فسفات (L+B+R) به شدت کاهش یافته و رشد باکتری بر روی پلیت ها مشاهده نشد. دلیل افت شدید جمعیت در این حامل ها شماره ممکن است به دلیل pH و EC و سدیم بالا این نانوذره در شرایط نگهداری باشد. دلیل دیگر کاهش جمعیت را می توان به دلیل هتروتروف بودن باکتری *سودوموناس فلورسنس* و کمبود مواد آلی در

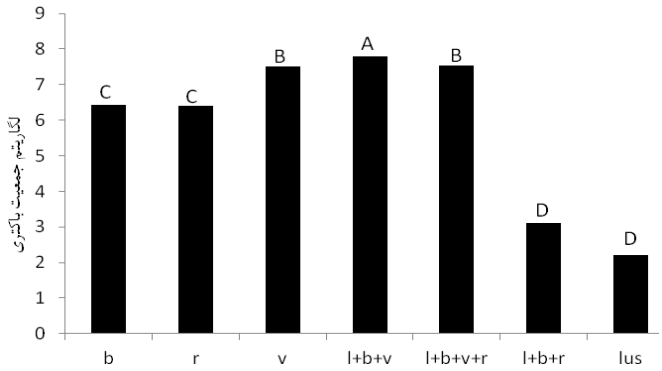
این مواد دانست، زیرا هنگامی که باکتری ها در شرایط رشد (۱۵ روز انکوباسون) قرار بگیرند به فاز رشد لگاریتمی رفته و پس از اتمام مواد غذایی (ماده آلی)، دچار کاهش شده و این امر باعث افت جمعیت باکتری می شود و همچنین فرایند خشک شدن (desiccation) و تولید مواد سمی در این دما نیز می توانند دلایل این کاهش باشند (سیگدم و مری، ۲۰۰۵). از سوی دیگر دلیل انتخاب دوره انکوباسیون طبق بررسی هایی بود که کالجیت و همکاران (۲۰۱۱) و مندز و همکاران (۲۰۰۵) انجام دادند که در آن نگهداری باکتری ها در دمای ۲۸ درجه سانتیگراد موجب افزایش تعداد سلول های زنده باکتری در حامل ها گردید.



حامل LUS-1 بعد از ۱۵ روز حامل L+B+R بعد از ۱۵ روز حامل L+B+V بعد از ۶ ماه حامل L+B+R+V بعد از ۶ ماه

شکل ۱- وضعیت محیط کشت های حاوی نانو ذره نانوپروسیل-۱ در زمان های مختلف

در پایان ۶ ماه دوره نگهداری مقایسه میانگین بین حامل ها در سطح ۵ درصد نشان داد (شکل ۲)، حامل‌های نانوپروسیل-۱+ بنتونیت+ ورمی کمپوست، نانوپروسیل-۱+ بنتونیت+ ورمی کمپوست+ خاک فسفات و ورمی کمپوست به ترتیب با لگاریتم جمعیت ۷/۸۰۹، ۷/۶۲۲ و ۷/۳۸۳ و حامل‌های بنتونیت و خاک فسفات به ترتیب با لگاریتم جمعیت۵/۹۲ و ۵/۷۳۹ بیشترین و کمترین جمعیت را دارا بودند. محققین بیان کردند که به دلیل جذب سطحی نانو ذرات بوسیله ماده آلی تحرک نانوپروسیل ها کاهش یافته و بنابراین تاثیر آنها روی فعالیتهای میکروبی کاهش چشمگیری دارد (برار و همکاران،۲۰۱۰). همچنین لی و همکاران (۲۰۱۱) بیان کردند وقتی از محیط های ایزوتون و یا همراه با مواد مغذی استفاده شود اثر سمیت نانوذره کاهش می یابد. بنابراین می توان بیان کرد ترکیب نانو ذره و ورمی کمپوست اثر نامطلوب ناشی از غلظت نانو ذره را کاهش می دهد. بنتونیت علاوه بر ماده آلی کم بعد از جذب آب، حالت چسبنده و خمیری پیدا کرده و شرایط تهویه ای مناسبی برای باکتری های هوازی *سودوموناس فلورسنس* ایجاد نمی کند (بشارتی و همکاران، ۲۰۰۴) خاک فسفات نیز به دلیل فقدان مواد آلی، عناصر غذایی و ظرفیت نگهداری رطوبت بسیار پائین در ابتدا هم مقدار کمتری باکتری دریافت کرد و نتوانست حامل مناسبی باشد و ضعیف ترین حامل بود.



شکل ۲- مقایسه میانگین بین توانایی نگهداری باکتری بوسیله حامل های مختلف

نتایج بدست آمده نشان داد استفاده از این نانوذره به تنهایی مناسب نبوده ولی با توجه به برتری تیمارهای ترکیبی نانوذره نانوپروسیل-۱ و ورمی کمپوست نسبت به تیمار مجزای ورمی کمپوست استفاده از این ماده به عنوان ماده حامل و در مقادیر کمتر همراه با موادی چون ورمی کمپوست می تواند منجر به تولید کودهای نانوبیولوژیک با توان نگهداری بالای باکتری شود.

منابع

Albareda M, Rodriguez-Navarro DN, Camacho M and Temprano, FJ, 2008. Alternatives to peat as a carrier for rhizobia inoculants: solid and liquid formulations. Soil Biology and Biochemistry 40: 2771-2779.

Besharati H, Saleh rastin N, Malakouti M and Alizade A, 2004. The investigation on viability potential of *Thiobacillus* on several kinds of carriers, the journal of soil and water sciences18(2):170-181.

Bonneviot L, Morin M and Badie A, 2003.US 0133868. (US Patent).

Brar SK, Verma M, Tyagi RD and Surampalli RY, 2010. Engineered nanoparticles in wastewater and wastewater sludge – Evidence and impacts. Waste Management 30:504-520.

Cigdem K and Merih K, 2005. Effect of formulation on the viability of biocontrol agent, *Trichoderma harzianum* conidia. African Journal of Biotechnology 85: 483–486.

Dearmon IA, Orlando MD, Rosenwald AJ, Albert FK, Ralph LF and Paul RM, 1962. Viability and estimation of shelf-life of bacterial populations. Journal of Applied Microbiology 10: 422–427.

Griffith G and Roughly A, 1992. The effect of moisture potential on growth and survival of root nodule, bacteria in peat culture and on seed. Journal of Applied Bacteriology 73: 7-13.

Holland LM, Cury GC, Periera RF, Ferreira GA, Sousa A, Souse EM and Lancellotti M, 2011. Effect of mesoporous silica under Neisseria meningitides transformation process: Enviromental effects under meningococci transformation. Journal of nanobiotechnology 9:28.

Hopkins BG and Ellsworth JW, 2005. Trace metal toxicity from manure in Idaho: Emphasis on copper. P. In K. Copeland et al. (ed) Proc. Winter Commodity Schools. Idaho Coop. Ext., Moscow Univ 37: 1-36.

Kaljet S, Keyeo F and Amir HG, 2011.Influence of carrier materials and storage temperature on survivability of *rhizobium* inoculants.Asian journal of plant sciences10 (6):331-337.

Laura K, Lion DY and Alvarez JJA, 2006.Comparative eco-toxicity of nanoscale TiO2, SiO2, and ZnO water suspention.Water research 40: 3527-3532.

Li, M., Zhu, L. and Lin, L. 2011.Toxity of ZnO nanoparticles to Escherchia coli: Mechanism and the influence of medium component. Enviroment science and technology. 45: 1977-1983.

Liang J, Wu R, Huang TS and Worley SD, 2004. Polymerization of a hydantionylsicloxane on particles of silicon dioxide to produce a biocidalsand. J. Appl. polym. sci 97:1161-1166.

Mashhadi SH and Asgharzadeh AN, 2004. The comparison on effectiveness of some carriers for bacteria *Sinorhizobium meliloti in* order to alfa alfa inoculants production. The journal of agriculture and natural resources sciences and technologies, 8th year 63-74.

Mendes F and Videira I, 2005. Residues of the Cork Industry as Carriers for the Production of Legume Inoculants. Av. Silva Lusitana 13(2):159-167.

Pesenti BB, Ferdani E, Mosti M and innocent DF, 1991. Survival of *Agrobacterium radiobacter* K84 on Various Carriers for Crown Gall Control. Applied and environmental microbiology 57 (7): 2047-2051.

Strijdom BW and Rensburg HJ, 1981. Effect of Steam Sterilization and Gamma Irradiation of Peat on Quality of *Rhizobium* Inoculants. Applied and environmental microbiology 41(6): 1344-1347

مطالعه تنوع سیدروفورها با استفاده از روش‌های ساختارشناسی در باکتری‌های ریزوسفری گیاه کلزا

نازنین قوامی [۱]، حسینعلی علیخانی [۲]،احمدعلی پوربابایی [۳]
۱-دانشجوی کارشناسی ارشد گروه مهندسی علوم خاک پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
۲-دانشیار گروه مهندسی علوم خاک پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
۳ -استادیار گروه مهندسی علوم خاک پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

مقدمه

در شرایط تهویه و pH سازگار با رشد گیاهان، به واسطه اکسیداسیون سریع آهن و در پی آن تشکیل هیدروکسیدهای غیر محلول ، آهن آزاد و قابل جذب گیاه در خاک بسیار اندک است(Haas, Eisendle and Turgeon.,2008). جبران این کمبود با استفاده از کودهای شیمیایی رایج (کلات آهن)، اغلب مقرون به صرفه نیست و اثرات زیست محیطی نامطلوبی به همراه دارد. به همین دلیل امکان استفاده از پتانسیل گروه‌های میکروبی تولیدکننده سیدروفور با قابلیت جذب آهن در محیط های تهویه شده و pH غیر اسیدی، مورد توجه قرار گرفته است(Neiland and Bandleong.,1986). سیدروفورها گروهی ازترکیبات شیمیایی با وزن ملکولی کم و میل ترکیبی بسیار شدید با آهن فریک می باشند. مهم‌ترین گروه‌های عاملی در سیدروفورها، هیدروکسامات، کاتکولات، هیدروکسی کربوکسیلات و اتیلن دی‌امین دی‌کربوکسیل می‌باشند(Winkelmann., 2002. Hider and Kong.,2010). ازجمله روش‌های شناسایی انواع سیدروفورها می‌توان به آزمون‌های رنگ سنجی ساکی[۱] (Payne.,۱۹۹۴) ،آرنو (Arnow.,1937) و نیز روش اسپکتروفتومتریک شنکر(Shenker et al.,1992) اشاره نمود. در این مطالعه برای نخستین بار در کشور از آزمون‌های فوق به منظور شناسایی ماهیت شیمیایی و گروه‌های عاملی سیدروفورها با هدف مطالعه تنوع سیدروفور در باکتری‌های جدا شده از ریزوسفر گیاه کلزا استفاده گردید.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری و جداسازی باکتری‌ها

از قسمت‌های مختلف مزارع کلزا اطراف شهر کرج و از عمق ۰-۳۰ سانتیمتری ریزوسفر این گیاه جهت جداسازی باکتری‌های مولد سیدروفور ، نمونه‌برداری انجام شد و سپس نمونه‌ها در محیط کشت NA[۲] به روش خطی کشت داده شدند. پس از گرما گذاری در دمای ۲۸°C، باکتری‌های رشد یافته و خالص شده، با انجام آزمایشات کیفی و کمی مورد بررسی قرار گرفتند.

آزمون کیفی و کمی تولید سیدروفور

توانایی تولید سیدروفور توسط جدایه‌ها صرف نظر از گروه عاملی و ساختار شیمیایی آن‌ها، از نظر کیفی و کمی به ترتیب به روش کشت در محیط CAS-Agar و CAS solution (Schwyn and Neilands., 1987 Machuca and Milagres., 2003.) بررسی شد. قطر کلنی باکتری رشد یافته در محیط CAS-Agar و قطر هاله

[1] Csaky
[2] Nutrient Agar

نارنجی، در فواصل زمانی ۷، ۱۴ و۲۱ روز اندازه‌گیری و باکتری‌هایی با قطر هاله‌ی بیشتر، جهت انجام آزمون کمی، به روش CAS solution، بررسی شدند. از مقایسه میزان تولید سیدروفور نمونه‌های منتخب نسبت به نمونه شاهد، مطابق رابطه[1]، درصد تولید سیدروفور تعیین گردید(جدول۱).

$$\frac{Ar-As}{Ar} \times 100 \qquad [1]$$

Ar = میزان جذب محلول شاهد(رفرنس) در ۶۳۰ نانومتر As= میزان جذب نمونه‌ها در ۶۳۰ نانومتر

آزمون تعیین نوع سیدروفور بر اساس ساختار شیمیایی آن‌ها

به منظور تعیین انواع سیدروفور از طریق تعیین نوع گروه‌های عاملی، از آزمون‌های رنگ سنجی آرنو(Arnow.,1937)، به منظور تشخیص گروه عاملی[3] کاتکولات، ساکی(Payne., ۱۹۹۴)، برای تشخیص گروه عاملی [4]هیدروکسامات و روش اسپکتروفتومتریک شنکر(Shenker et al.,1992)، به منظور تعیین گروه عاملی[5]کربوکسیلات، استفاده گردید (جدول ۲).

شناسایی نسبی جدایه‌ها

جهت شناسایی باکتری‌ها به طور نسبی از آزمون‌های بیوشیمیایی و صفات مورفولوژی از جمله: رنگ‌آمیزی گرم، آزمون اکسیداز، کاتالاز، لسیتیناز، سیتراتاز، تولید رنگدانه فلورسنت روی محیط S1 ،تولید H_2S و ایندول و حرکت (SIM[6])، OF[7] و تخمیر قند لاکتوز روی محیط EMB[8] مطابق روش‌های استاندارد (کتاب سیستماتیک باکتری-شناسی برجی (Bergey's Manual) انجام شد(جدول 3).

نتایج و بحث

از میان۵۰ جدایه رشد یافته در محیط NA، ۹۰٪ آن‌ها از توانایی تولید سیدروفور برخوردار بودند که در این بین، نتایج حاصل از آزمون‌های ذکر شده، برای ۷ جدایه برتر (از لحاظ قطر هاله و درصد تولید سیدروفور) با کدهای Ca_1،Ca_2..... Ca_7، در جداول ارائه می‌گردد. از میان جدایه‌های مولد سیدروفور، ۳۰٪ جدایه‌ها دارای گروه عاملی هیدروکسامات، ۱۵٪ دارای گروه عاملی کربوکسیلات و نیز ۲٪ دارای گروه عاملی کاتکولات بودند. سایر جدایه‌ها در این سه آزمون رنگ سنجی پاسخ مثبتی نشان ندادند و انجام آزمون‌های دیگری از جمله آزمون فریک پر کلرات $FeCl_3$ (Neilands.,1981)، آزمون Tetrazolium(Snow.,1954) و روش‌های زیستی[9] (Haselwander.,1998) توصیه می‌گردد. نتایج نشان داد که بیش‌ترین تنوع گروه‌های عاملی در میان مولدین سیدروفور ریزوسفر گیاه کلزا، مختص به گروه عاملی هیدروکسامات و سپس کربوکسیلات بود. خصوصیات بیوشیمیایی جدایه‌ها نیز نشان داد که جدایه‌های برتر در بین گرم مثبت‌ها متعلق به جنس *Bacillus* و جدایه‌های گرم منفی متعلق به خانواده Enterobacteriaceae و جنس *Pseudomonas* می‌باشند. مشاهده هر سه نوع گروه عاملی در میان جدایه‌های باکتری و همچنین وجود گروه عاملی کاتکولات در باکتری جنس *Pseudomonas* در

[3] Catecholate
[4] Hydroxamate
[5] Carboxylate
[6] Sulfur Indole Motility
[7] Oxidative-Fermentative
[8] Eosin-Methylene Blue
[9] Bioassays

این تحقیق همسو با مشاهدات Cornelis و Matthisj در سال ۲۰۰۷ و Crowley در سال ۲۰۰۶ می‌باشد. نتایج همچنین نشان داد که تعداد زیادی از باکتری‌های ریزوسفر گیاه کلزا توانایی سنتز سیدروفور را دارند و تولید سیدروفور محدود به جنس یا گونه خاصی از باکتری‌ها نیست. از آنجایی که هدف کاربردی این تحقیق به‌کارگیری سویه‌های مولد به عنوان باکتری محرک رشد گیاه و تأمین‌کننده آهن قابل استفاده می‌باشد، بایستی با توجه به عملکرد سیدروفور در گیاه نسبت به انتخاب باکتری مولد سیدروفور خاصی اقدام نمود. مطالعات بیشتر در خصوص میزان تأثیر این ۷ جدایه بر گیاهان استراتژی I و II در دست بررسی است.

جدول1-آزمون‌های کیفی و کمی تولید سیدروفور در جدایه‌های منتخب

آزمون‌های کیفی و کمی	جدایه						
	Ca_1	Ca_2	Ca_3	Ca_4	Ca_5	Ca_6	Ca_7
نسبت قطر هاله به قطر کلنی (Cas-Agar)	۱/٦۹	۲	۱/٥٦	۱/۳٦	۱/۳٤	۱/٦۲	۱/۸۸
درصد تولید سیدروفور (Cas solution)	۱۸/۸۱	۱۰/۲٤	۱۲/۹۲	۲۱/٥۱	۸/۷٤	۱۲/۸٥	۱۱/۹۲

جدول2-تنوع سیدروفورها درمیان جدایه‌های منتخب

آزمون‌های رنگ سنجی	جدایه						
	Ca۱	Ca۲	Ca۳	Ca٤	Ca٥	Ca٦	Ca۷
کاتکولات (Arnow)	−	+	−	−	−	−	−
هیدروکسامات (Csaky)	−	−	+	−	−	+	−
کربوکسیلات (Shenker)	+	−	−	−	+	−	+

جدول3-برخی از صفات بیوشیمیایی جدایه‌های منتخب

صفات	جدایه						
	Ca۱	Ca۲	Ca۳	Ca٤	Ca٥	Ca٦	Ca۷
رنگدانه فلورسنت	−	+	−	−	−	+	+
واکنش گرم	−	−	+	+	+	−	−
کاتالاز	+	+	+	+	+	+	+
اکسیداز	−	−	−	−	−	+	+
لسیتیناز	+	−	+	+	+	+	+
سیتراتاز	−	+	−	+	+	+	+
O/F	+/+	+/−	+/−	+/+	+/−	+/−	+/−
S	−	−	−	−	−	−	−
I	−	−	−	−	−	−	−
M	−	−	−	−	−	−	−
EMB	+	−	−	+	−	+	−

منابع

Arnow LE, 1937. Colorimetric determination of the components of 3,4-dihydroxyphenylalanine tyrosine mixtures. J. Biol. Chem. 118: 531 – 537.

Cornelis P and Matthisj S, 2007. Pseudomonas siderophores and their biological significance. In: Ajit V, Chincholkar SB (eds)Microbial siderophores (Soil Biology) , pp 193–200. Heidelberg, Berlin,Germany.

Crowley DE, 2006 . Microbial siderophores in the plant rhizospheric.In: Barton LL, Abadı´a J (eds) Iron nutrition in plants and rhizospheric microorganisms , pp 169–198. Springer, Netherlands.

Haas H, Eisendle M and Turgeon, 2008. Siderophores in fungal physiology and virulence. Annu Rev Phytopathol 46:149–87.

Haselwandter K, 1998. Identification and characterization of siderophores of mycorrhizal fungi. In: Varma, A.(Ed.), Mycorrhiza Manual, p. 243. Springer, Verlag, Berlin.

Hider RC and Kong X, 2010. Chemistry and biology of siderophores. Nat Prod Rep 27:637–57.

Machuca A and Milagres AM, 2003. Use of CAS-agar plate modified to study the effect of different variables on the siderophore production by Aspergillus. Lett. Appl. Microbiol 36: 177–181.

Neilands J, BandLeong SA, 1986. siderophores in relation to plant growth and disease .Ann.Rev.plant.physiol 37:187-208.

Neilands JB, 1981. Microbial iron compounds. Annu. Rev. Biochem 50: 715– 731.

Payne SM, 1994. Detection, isolation and characterization of siderophore Methods Enzymol 235:329-344.

Schwyn B and Neilands JB, 1987. universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. Anal.Biochem 160:47-56.

Shenker M, Oliver I, Helmann M, Hadar Y and Chen Y, 1992. Utilization by tomatoes of iron mediated by a siderophore produced by Rhizopus arrhizus. J. Plant Nutr 15: 2173–2182.

Snow GA, 1954. Mycobactin, a growth factor for Mycobacterium johnei: II. Degradation and identification of fragments. J. Chem. Soc., 2588–2596.

Winkelmann G, 2002. Microbial siderophores-mediated transport. Biochem. Soc. Trans 30: 691–695.

ارزیابی توان انحلال فسفات‌های نامحلول معدنی توسط باکتری‌های بومی

نسترن اسمعیل خو[1]، حسینعلی علیخانی[2]
۱-دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی علوم خاک، دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران N.Esmailkhoo@ut.ac.ir
۲-دانشیار گروه مهندسی علوم خاک، دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران

مقدمه

علم بیوتکنولوژی یا زیست فناوری خاک سعی دارد تا موجودات زنده و بویژه ریزسازواره‌های خاکزی که به نحوی در افزایش قابلیت استفاده گیاه از عناصر غذایی، بهبود خواص فیزیکی، شیمیایی و زیستی خاک و بطور کلی افزایش عملکرد گیاه نقش دارند را انتخاب و به صورت کودهای زیستی یا انواع زادمایه در اختیار زارعین قرار دهد، این ریزسازواره‌ها به خاک، بذر گیاه و یا نشاء گیاهان اضافه گشته و اصطلاحاً تلقیح خاک، بذر و ... نامیده می‌شوند (زارع و همکاران، ۱۳۸۵). فسفر به عنوان یک عنصر غذایی ضروری برای فتوسنتز، انتقال انرژی، بیوسنتز ماکرومولکول‌ها و تنفس گیاهان لازم است. به نظر می‌رسد کمبود فسفر قابل جذب گیاه تنها عاملی است (به جز آب) که می‌تواند تولید مثل گیاه را دچار مشکل اساسی نماید (علیخانی و همکاران، ۱۳۸۲). استفاده از ریزسازواره‌های حل‌کننده فسفات (PSM) یکی از راهکارهای افزایش حلالیت و کارایی فسفات‌های نامحلول است. در میان باکتری‌های حل‌کننده فسفات جنس‌های *Pseudomonas*، *Bacillus* و *Rhizobium* از جمله برترین حل کننده‌های فسفات به شمار می‌روند (خان و همکاران ۲۰۰۹). این گروه از باکتری‌ها قادر به اسیدی کردن محیط اطراف خود هستند و نیز به کمک فرآیندهای آنزیمی (فسفاتازها)، فسفات‌های نامحلول آلی را قابل جذب نموده و تحرک این عنصر را در خاک افزایش می‌دهند (چن و همکاران، ۲۰۰۶). هدف از انجام این تحقیق، شناسایی باکتری‌هایی با توانایی حل‌کنندگی فسفات‌های معدنی از طریق انجام آزمون‌های کمی و کیفی توان حل فسفات، به منظور افزایش استفاده از این باکتری‌ها به عنوان کود زیستی به منظور بهبود و افزایش رشد و عملکرد و افزایش جذب عناصر غذایی بویژه فسفر توسط گیاه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این مقاله به بررسی ۱۲ باکتری (۵ جدایه *Rhizobium*، ۶ جدایه *Pseudomonas* و ۱ جدایه *Bacillus*) از ۶۰ جدایه جداسازی شده از خاک ریزوسفر گیاه کلزا در مزرعه کشاورزی واقع در محمد شهر کرج پرداخته شد. برای انجام هر آزمون ابتدا مایه تلقیح کشت تازه هر جدایه باکتری در محیط کشت YMBو NB تهیه گردید. سپس جمعیت باکتری در تمامی سوسپانسیون‌ها در حد 5×10^{8} cfu mL^{-1} تنظیم و مورد استفاده قرار گرفت.

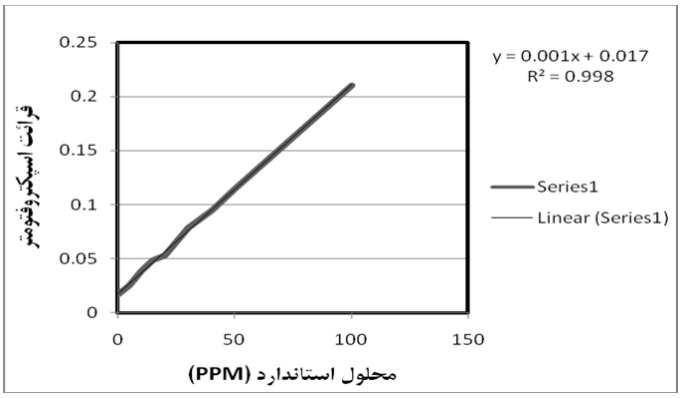
آزمون کیفی توان انحلال فسفات معدنی:

برای این منظور از محیط کشت اسپربر که حاوی تری کلسیم فسفات به عنوان تنها منبع فسفر می‌باشد، استفاده شد. برای هر جدایه‌ی باکتری یک ظرف پتری در نظر گرفته شد، و سطح پتری به چهار قسمت مساوی تقسیم گردید و مرکز هر قسمت با ۷ میکرو لیتر از سوسپانسیون باکتری تلقیح گردید. ظروف پتری تلقیح شده درون انکوباتور با دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. تمامی پلیت‌ها در چهار نوبت ۳، ۶، ۹ و ۱۲ روز پس از

تلقیح از انکوباتور خارج شده و قطر کلنی رشد یافته، (CD)[1] و نیز قطر هاله شفاف حاصل از انحلال فسفات، (HD)[2] که در اطراف هر کلنی تشکیل شده بود به دقت اندازه‌گیری شدند، سپس متوسط نسبت قطر هاله به قطر کلنی (HD/CD) در روز دوازدهم برای هر جدایه محاسبه گردید.

آزمون کمی توان انحلال فسفات معدنی:

در این مرحله برای بررسی دقیق‌تر فسفر انحلال یافته، جدایه‌هایی که نسبت HD/CD آنها بالاتر از ۲/۵ بود انتخاب شدند و در محیط کشت مایع اسپربر از هر جدایه با سه تکرار کشت صورت گرفت. ارلن‌های حاوی محیط مایع تلقیح شده و نمونه شاهد در انکوباتور شیکردار و با سرعت ۱۲۰ rpm و دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲۰ ساعت قرار گرفتند. از سوسپانسیون‌های حاصل، مقدار ۱۲ میلی‌لیتر برداشته و در دور ۵۰۰۰ rpm و به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند، سپس یک میلی‌لیتر از محلول صاف رویی با ۳ میلی‌لیتر آب مقطر و یک میلی‌لیتر معرف آمونیوم مولیبدات وانادات مخلوط گردید. میزان جذب نور با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۷۰ نانومتر قرائت شد و مقدار فسفر آزاد شده توسط هر جدایه بر اساس میزان جذب نور مربوط به آن با استفاده از منحنی استاندارد تهیه شده از KH_2PO_4 محاسبه گردید (شکل ۱).



شکل ۱-منحنی استاندارد تهیه شده با KH_2PO_4 برای تعیین میزان حل فسفات نامحلول معدنی

نتایج و بحث

نتایج تجزیه خاک ریزوسفر گیاه کلزا نشان داد که خاک دارای بافت لومی شنی و دارای pH بازی بوده و مقدار فسفر خاک ۱۲/۸۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌باشد (جدول ۱).

جدول ۱-خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک

نام منطقه	٪رس	٪سیلت	٪ شن	بافت خاک	EC (mmho/cm)	pH	٪ کربن آلی	فسفر قابل جذب
محمدشهر	۱۸	۲۵	۵۷	Sandy loam	۰/۷۷	۸/۵	۰/۶	۱۲/۸۷

[1]. Colony Diameter
[2]. Halo diameter

نتایج نشان می‌دهند که حداکثر و حداقل نسبت HD/CD به ترتیب مربوط به جدایه‌های ۴۱ (۳/۸ mm) و ۴۲۰(۲/۱۵ mm) می‌باشد، همچنین بیشترین مقدار حلالیت فسفر مربوط به جدایه ۴۱ (۸۵/۲۰ppm) و کمترین مقدار متعلق به جدایه ۹ (۴۰/۷۲ ppm) می‌باشد. بنابراین با توجه به این نتایج جدایه ۴۱ (مربوط به جنس باسیلوس) را می‌توان به عنوان ایزوله برتر در این تحقیق دانست (جدول ۲).

جدول ۲- میانگین نسبت HD/CD و توان حل فسفاتهای معدنی به صورت کمی

گروههای مختلف باکتری		شماره ایزوله	HD/CD (mm)	غلظت فسفر قابل دسترس(ppm)	pH
Rhizobium	*Bradyrhizobium* sp	۲۳۸	۳/۲۵	۷۶/۴۶	۳/۳۸
	Mesorhizobium cicero	۴۲۰	۲/۱۵	۶۴/۲۴	۴/۲۶
	Rhizobium leguminosarum bv. *Viciea*	۴۹۷	۳/۴	۶۴/۰۳	۴/۳۷
	Mesorhizobium cicero	۴۰۷	۲/۳۴	۴۱/۱۴	۵/۳۶
	Sinorhizobium meliloti	R_1	۳	۷۲/۱۹	۳/۹۷
	Bacillus	۴۱	۳/۸	۸۵/۲۰	۳/۲۶
	Pseudomonas Flourescens	۱۷	۲/۱۷	۵۷/۴۳	۴/۶۷
		۳۳	۲/۲۱	۵۴/۷۸	۴/۸۷
		۹	۲/۶۰	۴۰/۷۲	۵/۴۷
		۱۴	۲/۷۵	۴۱/۲۵	۵/۳۱
		۳۷	۲/۵۴	۵۳/۳۲	۴/۹۱
		۲۶	۲/۲۷	۴۲/۳۰	۵/۱۶
	شاهد R			۳۹/۷۸	۵/۴۹
	شاهد SP، Ba			۳۶/۲۱	۵/۵۷

R: *ریزوبیوم*، Ba: *باسیلوس*، SP: *سودوموناس*.

مقایسه pH سوسپانسیون سویه‌های مختلف با pH محیط شاهد (pH شاهد *ریزوبیومی*: ۵/۴۹ و pH شاهد، SP Ba: ۵/۵۷) که بدون باکتری بودند نشان داد که رابطه منفی بین میزان تری کلسیم فسفات حل شده با pH محیط حاوی PSB وجود دارد، به طوری که با افزایش میزان انحلال، pH محیط بیشتر کاهش می‌یابد.

باکتری‌های مورد مطالعه از لحاظ توان انحلال حداقل فسفات (I)، توان انحلال نسبتاً زیاد فسفات (II) و توان انحلال حداکثر فسفات (III) طبقه‌بندی شدند که نتایج آن را در جدول شماره ۳ مشاهده می‌نمایید.

جدول ۳- توانایی حل‌کنندگی فسفات معدنی توسط باکتریهای مورد مطالعه

	کد باکتری	۴۰۷	۹	۱۴	۲۶	R_1	۲۳۸	۴۲۰	۴۹۷	۳۷	۱۷	۳۳	۴۱
سطوح مختلف توان انحلال فسفات معدنی*	I	+	+	+	+								
	II					+	+	+	+	+	+	+	
	III												+

*I= توان انحلال حداقل فسفات *II= توان انحلال نسبتاً زیاد فسفات *III= توان انحلال حداکثر فسفات

پس از انجام آزمایشات مربوط به توانایی حل‌کنندگی فسفات و شناسایی جدایه برتر، تست‌های بیوشیمیایی مختلف برای شناسایی هر چه بهتر آن صورت گرفت (جدول ۴).

جدول ٤- تست های بیوشیمیایی

شماره ایزوله	رنگ آمیزی گرم	O/F	سیترات	اکسیداز	کاتالاز	SIM	لسیتیناز	Starch Agar
۴۱	گرم مثبت	+/-	-	-	+	-	-	-

همچنین طبق آزمایشی که بر روی توانایی تحمل جدایه ۴۱ در غلظت‌های مختلف نمک (Nacl) صورت گرفت، مشاهده شد که این باکتری قادر به رشد در غلظت‌های ۲، ۵، ۷، ۱۰، ۱۲ و ۱۵ درصدی از نمک (Nacl) می‌باشد.

جداسازی ریزسازواره‌های حل‌کننده فسفات و استفاده از آنها به عنوان کود، در واقع راهکاری برای کاهش مصرف کودهای شیمیایی و در نتیجه کاهش آلودگی‌های زیست محیطی به شمار می‌رود. مطالعات انجام گرفته در مورد بکارگیری ریزسازواره‌های حل‌کننده فسفات حاکی از کارائی بالای برخی از آن‌ها در افزایش قابلیت جذب فسفر است، بطوریکه این ریزسازواره‌ها قادرند در منطقه ریزوسفر فعالیت نموده و با کمک ترشحات ریشه، ترکیبات نامحلول فسفات نظیر تری کلسیم فسفات را به صورت محلول و قابل جذب گیاه درآورند. نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که افزایش مصرف کودهای فسفر، نه تنها عملکرد محصولات زراعی را چندان افزایش نداده بلکه در نتیجه برهم زدن تعادل عناصر غذایی، باعث کاهش محصولات نیز شده است. در این راستا یکی از بهترین راهکارها برای رفع این مشکلات توجه هر چه بیشتر به کودهای زیستی برای تأمین بخشی از نیازهای تغذیه‌ای گیاهان می‌باشد.

منابع

زارع، محمدجواد ،. قلاوند، امیر ،. رجالی، فرهاد،. ۱۳۸۵، پاکسازی آلایندهای خاک توسط کرم خاکی، قارچ میکوریزا آربسکولار و گیاه، اولین همایش تخصصی مهندسی محیط زیست. دانشگاه تهران.

علیخانی، ح،. صالح راستین، ن. آنتون، هانی،. ۱۳۸۲. رساله دوره دکتری(Ph.D) . بررسی پتانسیل کاربرد سویه های بومی ریزوبیومی به عنوان عوامل محرک رشد گیاه (PGPR) و تعیین اثرات تلقیح انواع برتر آنها بر شاخص‌های رشد گندم، ذرت و یونجه. پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران.

Chen, Y.P., Rekha, P.D., Arunshen, A.B., Lai, W.A., and Young, C.C. 2006. Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. Appl.Soil Ecol. 34:33-41.

Khan, M.S., Zaidi, A., and Wani, P.A. 2009. Role of phosphate-solubilizing microorganisms insustainable agriculture-a review.Agronomy for sustainable development. Agron. Sustain. 27:29–43.

تأثیر کمپوست و ورمی کمپوست بر قدرت میکوریزه شدن و جذب فسفر در دو رقم گندم هیرمند و چمران

شاهو ولی زاده[1] و سید کاظم صباغ[2]*
۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی دانشگاه زابل
۲- استادیار گروه گیاه پزشکی و پژوهشکده زیست فناوری کشاورزی دانشگاه زابل
* sk.sabbagh@uoz.ac.ir

مقدمه

ارقام مختلف گندم سازگاری بالایی به تنش‌ها و اقلیم‌های متفاوت دارد، از این رو گندم در مناطق خشک و نیمه خشک همچون کشور ما از اهمیت اقتصادی به سزایی برخوردار است و بیش از ۷۰ درصد از اراضی زیر کشت در ایران به کشت غلات و به خصوص گندم اختصاص دارد (Anon, 2006). در سیستم‌های ارگانیک، مدیریت خاک باید بر اساس حفظ سلامت و فعالیت بیولوژیکی آن و همچنین فراهم آوردن محیطی مناسب برای رشد گیاه باشد. در این راستا کاربرد کودهای آلی و بیولوژیک می‌تواند به عنوان جایگزینی مناسب و مطلوب برای کودهای شیمیایی تلقی گردد (کوچکی، ۱۳۷۴). کمپوست یکی از انواع کودهای آلی است که به طور طبیعی از فرآیندهای بیولوژیکی موثر بر زباله‌هایی با منشأ آلی از قبیل ضایعات غذایی و گیاهی و در اثر فعالیت موجودات ذره بینی و میکرو ارگانیسم‌هایی نظیر قارچ‌ها و باکتری‌های مزوفیلیک حاصل می‌شود (Dominguez *et al.*, 1997). یکی دیگر از راه‌های دستیابی به کشاورزی پایدار، استفاده از میکرو ارگانیسم‌هایی است که نقش مهمی در تأمین نیاز غذایی گیاهان دارند (Jacson et al,) که از آن جمله می‌توان به قارچ‌های میکوریز اشاره نمود. قارچ‌های میکوریز از عوامل ضروری در سیستم پایدار خاک گیاه محسوب می‌شوند که با ریشهٔ بیش از 97 درصد گیاهان همزیستی دارند(Smith and Read, 2008). قارچ‌های میکوریز در خاک‌هایی که غلظت عناصر غذایی به ویژه فسفر کم تا متوسط باشد، قادرند نیاز گیاه به فسفر و عناصر دیگر نظیر نیتروژن، پتاسیم، مس و روی را تأمین کنند و در مقابل گلوکز مورد نیاز خود را از گیاه میزبان دریافت نمایند (Marschner, 1995; Smith and Read, 1997). در مطالعه قبلی نشان دادیم که ارقام گندم هیرمند و چمران بیشترین و کمترین میزان کلنیزه شدن به میکوریز را از خود نشان دادند. در این تحقیق سعی شد تا تأثیر سه کود کمپوست، ورمی کمپوست و میکوریز و تلفیق این کودها بر عملکرد و اجزاء عملکرد رقم‌های ذکر شده همچنین روند توسعه قارچ در ریشه و کلنیزه کردن ریشه به صورت داخلی برای اولین بار در منطقه مورد بررسی قرار گرفت تا بتوان بهترین ترکیب کودی را حداقل برای سه کود مورد استفاده معرفی نمود.

مواد روش‌ها

در این بررسی از ۲ رقم از گندم بومی منطقه سیستان و بلوچستان از مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی شهرستان زابل تهیه شد به صورت کاشت گلدانی و شرایط گلخانه ای استفاده شد. خاک مورد استفاده در این تحقیق از مزارع کشت گندم دز منطقه چاه نیمه تهیه و ضد عفونی گردید. بذور گندم مورد استفاده در ابتدا قبل از کشت با

محلول هیپوکلریت سدیم۱/۵ درصد ضدعفونی سطحی و با آب مقطر ۳ بار شست و شو داده شدند. در هر گلدان از یک کیلو گرم خاک و ایناکلوم قارچ میکوریز *Glomus intraradices* به نسبت $\frac{2}{3}$ از گلدان‌ها خاک استریل شده همراه با کودها و$\frac{1}{3}$ دیگر آن خاک حاوی ایناکلوم قارچ میکوریز استفاده گردید. تعداد ۳ عدد از بذر گندم در هر گلدان کاشته شد و برای تیمار شاهد از گلدان‌های بذر به همراه ایناکلوم و بدون کاربرد کود های کمپوست و ورمی کمپوست استفاده شد. گلدان‌ها پس از کشت در شرایط رطوبتی مناسب قرار داده و به طور مرتب و به صورت دوره ای ۳ بار در هفته آبیاری شدند. برای تیمارهای حاوی میکوریز از محیط غذایی مایع حاوی ریز و درشت مغزی‌ها (محیط لانگشتون) استفاده شد. جهت تعیین شاخص‌های میزان کلنیزاسیون میکوریزایی ابتدا ریشه های رنگ آمیزی به قطعات ۰/۵ سانتی متری برش داده و از هر نمونه تعداد ۱۰ قطعه آماده شد و با تهیه اسلاید وضعیت حضور ریسه های قارچ زیر میکروسکوپ با بزرگنمایی ×۱۰ مورد بررسی و مشاهده قرار گرفته و شاخص درصد همزیستی مورد بررسی قرار گرفت. داده های حاصل مشاهدات را در فرمول‌های مربوطه قرار داده شد و درصد همزیستی و میزان فراوانی قارچ در ریشه تعیین گردید (Trouvelot, 1986) برای تعیین غلظت فسفر مورد نظر در نمونه‌های گیاهی به روش اکسایش تر (اسید سولفوریک، اسید سالسیلیک، سلنیم و آب اکسیژنه) هضم شدند (Benton *et al*, 1990). سپس در عصاره تهیه شده غلظت فسفر با روش رنگ سنجی نیترو وانادو مولیبدات با دستگاه طیف سنج انجام شد (Cottenie, 1980).

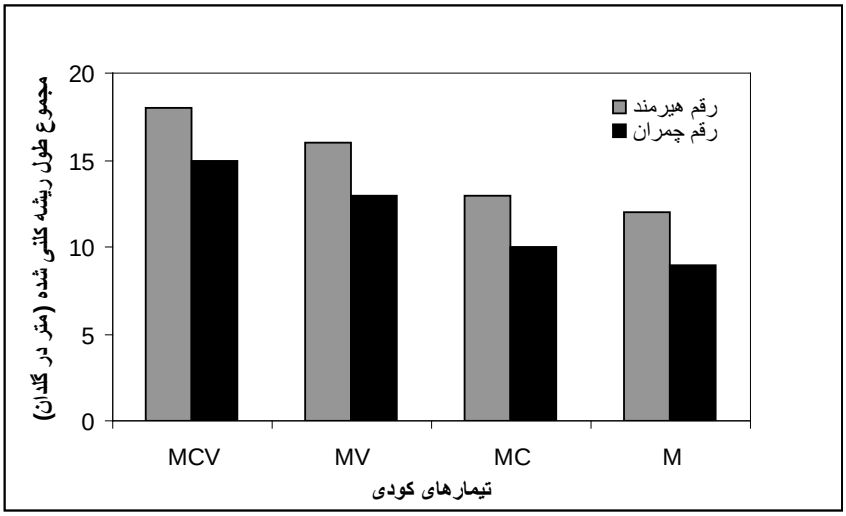
نتایج و بحث

با توجه به نتایج به دست آمده نشان داده شد که هر دو رقم گندم هیرمند و چمران نسبت به همزیستی با قارچ اندومیکوریز *Glomus intraradices* واکنش نشان داده و با این قارچ همزیستی برقرار کرده‌اند که آمار مربوط به هر دو رقم در جدول شماره یک آمده است.در این جدول میانگین میزان کلنیزاسیون هر رقم و کمینه و بیشینه همزیستی مربوط به هر رقم نشان داده شده است. نتایج حاصل نشان می هد که ترکیب کودی ورمی کمپوست، کمپوست و میکوریز باعث افزایش میزان کلنیزه شدن ریشه هر دو رقم مورد مطالعه شده است (جدول ۱) . میسیلیوم قارچ‌های میکوریزی از طریق ارتباط ریشه گیاه به محیط‌های اطراف ریشه، سبب افزایش حجمی از خاک می‌شوند که در اختیار ریشه گیاه قرار می‌گیرد. این مسئله سبب بقای گیاه در محیط‌هایی که با کمبود آب و عناصر غذایی مواجه می‌باشند می‌گردد (Marschener and.Dell, 1994).

جدول۱-درصد فراوانی قطعات مورد بررسی دارای آلودگی میکوریزایی برای هر دو رقم گندم منطقه سیستان هیرمند و چمران

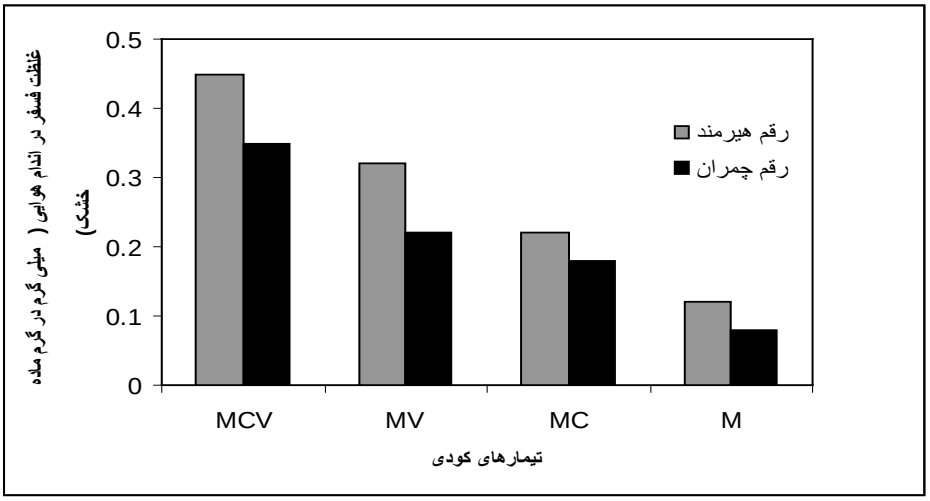
رقم هیرمند (درصد)	رقم چمران (درصد)	سطح کودی
%۷۵	%٤٦	ورمی کمپوست+میکوریز (M V)
%۸۵	%٦٥	کمپوست، ورمی کمپوست+ میکوریز(M CV)
%۳۳	%۲۵	کمپوست+میکوریز(CM)
%۳۳	%۲۸	میکوریز (V)

کاربرد ۱۰ تن در هکتار ورمی کمپوست در مقایسه با عدم کاربرد آن، سبب افزایش قابل توجه عملکرد در محصول جو شده است و از این نتایج چنین استدلال شده است که استفاده از کود ورمی کمپوست تواند از طریق تحریک میکروارگانیسم های خاک و عرضه مداوم و پایدار عناصر معدنی به گیاه موجب این افزایش عملکرد شود (Sainz et al,. 1998). نتایج این تحقیق همچنین نشان داد که کاربرد توأم کمپوست، ورمی کمپوست و قارچ میکوریز میزان کلنیزه شدن ریشه را برای ارقام هیرمند و هامون به ترتیب به میزان ۸۵ و ۶۵ درصد افزایش داد که این نشان دهنده نقش میکروارگانیسم های مختلف در ایجاد شرایط مناسب برای میکوریزه شدن ریشه دارد. بررسی اندازه طولی قطعاتی ز ریشه های همراه با میکوریز نشان داد ترکیبی کودی سه‌گانه (MVC) باعث افزایش ریسه های قارچ در بافت ریشه شد ولی در دو رقم این مقدر با هم اختلاف داشتند. نتایج این تحقیق نشان داد که کود کمپوست به تنهایی تأثیر چندانی در روند کلنیزه شدن ریشه ندارد در حالی که تیمار ورمی کمپوست تأثیر بیشتری داشته است. (شکل۱)



شکل ۱-مجموع طول هیف های میکوریز در ریشه های تیمار شده با فرمول کودهای مختلف

نتایج بعضی تحقیقات نشان داده که سرعت جریان فسفر به درون گیاه میکوریزایی ۳ الی ۶ مرتبه بیشتر از گیاهان غیر میکوریزایی است (آقا بابایی و همکاران، ۱۳۸۹؛ حسن‌زاده، ۱۳۸۶). بررسی میزان جذب فسفر ارقام کاشته شده در تیمارهای کودی به همراه میکوریز نشان داد که میزان جذب فسفر در تیمار سه‌گانه کمپوست، ورمی کمپوست و میکوریز میزان جذب فسفر را به میزان قابل توجهی افزایش داد به طوری که مقدار فسفر به ترتیب ۰/۳۵۰ و ۰/۲۵ برای ارقام هیرمند و چمران ۰/۰۲۷ به دست آمد. کمترین میزان فسفر اندازه گیری شده برای هر دو رقم در تیمار میکوریز تنها بود (شکل۲).



شکل۲- غلظت فسفر در اندام‌های هوایی در تیمارهای مختلف کودی

گیاهان میکوریزایی با جذب راحت‌تر فسفر باعث عملکرد بهتری می‌گردند. حضور مکانیسم فراوانی چون افزایش سطح جذب، کاهش pH در سطح ریشه، و فعالیت زیاد آنزیم فسفاتاز در سطح مسیلیوم های قارچ باعث می‌شود تا میکوریز آربوسکولی از منابعی غیر قابل استفاده فسفر گیاه مثل فسفات آلی، فسفات کلسیم و مانند این‌ها استفاده نماید و آن‌را به فرم قابل جذب برای گیاه تبدیل کند (خلدبرین و اسلام زاده، ۱۳۸۰).نتایج این تحقیق نشان داد که هر دو رقم هیرمند و چمران در حالت کاربرد کود در بستر کشت به همراه میکوریز نتیجه نزدیک بهم و قابل توجهی از نظر همزیستی و جذب فسفر از خود نشان دادند. بنابراین چنین می‌توان نتیجه گیری نمود که با غنی سازی خاک کشت گندم با کودهای بیولوژیک، درصد همزیستی با قارچ میکوریز را می‌توان افزایش داد و در نتیجه عملکرد بهتر محصول را در پی خواهد داشت. برای توصیه فرمول کودی به همراه درصدهای قابل قبول عملیات میدانی لازم و ضروری می‌باشد.

منابع

کوچکی ع.، راشد محصل م.ح.، نصیری م.، و صدرآبادی ر. ۱۳۷۴. مبانی فیزیولوژیکی رشد و نمو گیاهان زراعی (ترجمه). چاپ سوم . انتشارات دانشگاه امام رضا. مشهد، ۲۳۰-۲۲۸.

حسن‌زاده، ا. ۱۳۸۶. تأثیر انواع کودهای بیولوژیک حاوی باکتری‌های تسهیل کننده جذب فسفر بر مقادیر مصرف کود شیمیایی فسفر بر عملکرد و اجزای عملکرد جو. پایان نامه کارشناسی ارشد، گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه تهران. صفحه ۱۰۳.

خلدبرین، ب.، ط. اسلام زاده. ۱۳۸۰. تغذیه معدنی گیاهان عالی، (ترجمه) انتشارات دانشگاه شیراز

Anon Y, 2006. Annual report of agriculture in 2004- 2005. Statistics and information technology office. *Ministory of gihad-e-Agricalture*, Iran- Tehran.

Dominguez J, Edwards CA and Subler S, 1997. A comparison of vermicomposting and composting. *BioCycle*,38: 57-59.

Jackson A. Jakobsen I and Jensen ES, 1992. Hyphal transport of N-labelled nitrogen by a vesiculararbuscular mycorrhizal fungus and its effect on depletion of inorganic soil N. New Phytologist. 123: 61 - 68.
Sainz MJ, Taboada-Castro MT and Vilarino A, 1998. Growth, mineral nutrition and mycorrhizal colonization of red clover and cucumber plants grown in a soil amended with composted urban wastes. Plant and Soil. 205: 85-92.
Smith SE and Read DJ, 1997. Mycorrhizal Symbiosis. Academic Press,London, pp 453-469.
Smith, S. E. and Read, D. J. 2008. Mycorrhizal symbiosis: Academic Pr.
Trouvelot A, 1986. Mesure du taux de mycorhization VA d'un systeme radiculaire. Recherche de methodes d'estimation ayant une significantion fonctionnelle. *Mycorrhizae: physiology and genetics*: 217-221.

تأثیر آتش و چرا بر کربن آلی کل، کربن آلی ویژه، تنفس پایه و بیوماس میکروبی خاک در مراتع خشک و نیمه‌خشک استان چهارمحال و بختیاری

معصومه پژمان بنه کهل[1]، فایز رئیسی گهرویی[2]، پژمان طهماسبی[3]، جواد گیوی[4]
۱- دانشجوی کارشناسی ارشد خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد
۲- استاد گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد
۳- استادیار گروه مرتع و آبخیزداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه شهرکرد
٤- دانشیار گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد

مقدمه

چرای مفرط و آتش‌سوزی‌های عمدی و غیرعمدی در اکوسیستم‌های مرتعی معمولاً دو عامل اصلی و مهم تخریب پوشش گیاهی و خاک، و در پی آن فرسایش خاک و کاهش پایداری سیستم در این عرصه‌ها محسوب می‌شوند (جدی و چائیب، ۲۰۱۰؛ استوف و همکاران، ۲۰۱۰). دام و سایر اجزای اکوسیستم‌های مرتعی همواره در کنش متقابل با یکدیگر هستند و تا زمانی که جمعیت دام در هر اکوسیستم متناسب با ظرفیت مراتع باشد، به منابع با ارزش آن همچون آب، خاک و گیاه خساراتی وارد نمی‌شود. بنابراین، اعمال مدیریت صحیح و اتخاذ روش‌های مناسب احیای مرتع به منظور افزایش سطح تولید و احیای مراتع مستلزم داشتن اطلاعات و دانش کافی در خصوص اکوسیستم‌های مرتعی می‌باشد (جدی و چائیب، ۲۰۱۰). عدم تعادل بین ظرفیت مرتع و تعداد دام از یک طرف و چرای مفرط، که در اغلب نقاط جهان به ویژه در ایران به‌طور گسترده صورت می‌گیرد، موجب ایجاد تغییرات زیادی در پوشش گیاهی و خصوصیات گوناگون خاک در مقیاس اکوسیستم می‌شود (رئیسی و همکاران، ۱۳۸۴). سطوح پایین و یا متوسط چرا اثرات اندک بر کربن خاک داشت ولی سطوح بالای چرا اغلب تأثیرات منفی بر کربن خاک گذاشت (رایس و اونس‌بای، ۲۰۰۷). چرای شدید ممکن است سبب کاهش کیفیت لاشبرگ، کاهش شدید فعالیت میکروبی و کاهش قابل توجه میزان بیوماس میکروبی خاک گردد (بارجر و همکاران، ۲۰۰۴). علاوه بر چرا، آتش‌سوزی باعث ایجاد آشفتگی و تغییراتی در اجزای اکوسیستم‌های مرتعی از جمله ماده آلی خاک می‌گردد (استوف و همکاران، ۲۰۱۰؛ نوارا و همکاران، ۲۰۱۰). آتش‌سوزی در طولانی مدت بر ذخیره ماده آلی خاک و پویایی آن تأثیر منفی دارد (استوف و همکاران، ۲۰۱۰؛ نوارا و همکاران، ۲۰۱۰). آتش‌سوزی مراتع ممکن است اثرات زیان‌آوری بر ماده آلی و متعاقب آن بر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک داشته باشد. آتش‌سوزی پوشش گیاهی و لایه لاشبرگ را به‌طور مستقیم از بین می‌برد و با سوختن ماده آلی و گرم شدن خاک سطحی، ماده آلی خاک کاهش می‌یابد. کاهش ماده آلی بر اثر آتش‌سوزی، کاهش پایداری خاکدانه‌ها، کاهش تهویه و افزایش جرم ویژه ظاهری را به دنبال خواهد داشت (استوف و همکاران، ۲۰۱۰). کربن بیوماس میکروبی و تنوع میکروبی بر اثر آتش‌سوزی کاهش می‌یابد (جونامی و همکاران، ۲۰۰۶). با این حال، اثر همزمان آتش‌سوزی و چرای دام بر کربن آلی کل و اجزای ناپایدار آن هنوز مشخص نمی‌باشد. بنابراین هدف این تحقیق بررسی اثرات همزمان آتش‌سوزی و شدت‌های مختلف چرا بر میزان ماده آلی خاک و اجزای مختلف آن بود.

مواد وروش‌ها

به منظور بررسی اثرات چرا و آتش‌سوزی بر کربن آلی کل، کربن آلی ویژه، تنفس پایه و بیوماس میکروبی خاک، مراتع کرسنک، بارده، ارجنک، مرغملک، هرچگان و پردنجان در شمال غربی استان چهارمحال و بختیاری برای این تحقیق انتخاب شده‌اند.

نمونه‌برداری در هر تیمار از دو عمق ۱۰cm–۰ و ۲۰cm–۱۰ به صورت تصادفی در اوایل بهار با ایجاد یک ترانسکت به طول ۱۰۰ متر صورت گرفت. در هر منطقه نمونه‌برداری خاک به صورت جفتی از نقاط شاهد (بدون آتش‌سوزی) و آتش‌سوزی شده با ایجاد یک ترانسکت در فواصل ۲۵ متر برای هر دو عمق صورت گرفت. نقاط شاهد نقاطی هستند که دارای چرای سبک و یا سنگین می‌باشند. سطوح مختلف چرا توسط اداره منابع طبیعی استان چهارمحال و بختیاری تعیین شده است. برای هر عمق، نمونه‌های منفرد مخلوط و یک نمونه مرکب برای هر تیمار آتش‌سوزی و شاهد (چرا شده و بدون آتش‌سوزی) در هر منطقه تهیه شد. پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه، خاک هواخشک و از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شد. کربن آلی کل خاک بر اساس روش والکلی و بلاک اندازه‌گیری شد (نلسون و سامرز، ۱۹۸۲). برای اندازه‌گیری کربن آلی ویژه ۲۵ گرم خاک را توزین و سپس ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول هگزامتافسفات سدیم ۰/۰۵ درصد (۵ گرم بر لیتر) به نمونه اضافه شد و به مدت ۱۶ ساعت روی شیکر با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه قرار گرفت. سپس سوسپانسیون خاک از الک ۰/۰۵۳ میلی‌متر عبور داده شد و کربن آلی ویژه به روش والکلی و بلاک اندازه‌گیری شد (نلسون و سامرز، ۱۹۸۲). به منظور اندازه‌گیری کربن بیوماس میکروبی، از روش تدخین–انکوباسیون استفاده شد. در این روش اختلاف CO_2 تولید شده ناشی از تنفس میکروبی در دو خاک تدخین شده با کلروفرم (کلروفرم بدون اتانول) و تدخین نشده، پس از اعمال راندمان تجزیه کربن بیوماس میکروبی (۰/۴۵)، به‌عنوان کربن موجود در بیوماس میکروبی در نظر گرفته شد و بر حسب میلی‌گرم در کیلوگرم خاک گزارش گردید (جورجنسن و بروکس، ۱۹۹۰).

نتایج و بحث

نتایج نشان می‌دهد که کاهش کل کربن آلی خاک (OC) بر اثر آتش‌سوزی (۲۱ درصد) تنها در لایه بالایی خاک‌ها در شرایط چرای سنگین معنی‌دار ($P\leq$۰/۱) بود (جدول ۱). این کاهش را می‌توان به علت سوختن پوشش گیاهی و کاهش ورودی سالانه ماده آلی در مناطق سوخته شده تحت چرای سنگین نسبت داد. همین‌طور کربن آلی خاک در پلات‌های سوخته کمتر از پلات‌های کنترل شده بود (نوارا و همکاران، ۲۰۱۰). غلظت کربن آلی ویژه (POC) و نسبت آن به کل کربن آلی خاک (POC/OC) بر اثر آتش‌سوزی در لایه بالایی و پایینی مناطق با شدت چرای سبک و سنگین تغییر محسوسی نشان نداد ($P\leq$۰/۱).

کاهش کربن بیوماس میکروبی (MBC) بر اثر آتش‌سوزی در عمق سطحی خاک‌های مناطق با شدت چرای سبک و سنگین نیز معنی‌دار ($P\leq$۰/۱) بود (جدول ۱). با این حال، کاهش MBC بر اثر آتش‌سوزی در عمق زیرین تنها در خاک‌های مناطق با شدت چرای سنگین معنی‌دار بود ($P\leq$۰/۱)، به‌طوری که مقدار MBC در تیمار چرای سبک پس از آتش نسبت به شاهد در لایه سطحی ۱۸/۴ درصد و در لایه زیر سطحی ۲۴/۶ درصد کاهش یافت. افزون بر آن، در تیمار چرای سنگین پس از آتش نسبت به شاهد در لایه سطحی و زیر سطحی به

ترتیب ۳۲ و ۲۲ درصد کاهش نشان داد. کاهش MBC بر اثر آتش‌سوزی می‌تواند ناشی از کاهش کربن آلی خاک باشد. جونامی و همکاران (۲۰۰۶) نیز بیان نمودند که میزان کربن بیوماس میکروبی در خاک‌های آتش‌سوزی شده نسبت به خاک‌های فاقد آتش‌سوزی کمتر بود. با این وجود، اثر آتش‌سوزی بر نسبت کربن بیوماس میکروبی به کربن آلی خاک (MBC/OC) در هر دو لایه خاک و شدت‌های مختلف چرا معنی‌دار نبود ($P\leq$۰/۱). همین طور اثر آتش بر کاهش تنفس پایه (۲۵ درصد) در مقایسه با شاهد تنها در لایه زیر سطحی خاک‌های با شدت چرای سنگین معنی‌دار ($P\leq$۰/۱) بود (جدول ۱).

جدول (۱) نتایج تجزیه آماری (آماره *t*) و مقایسه میانگین اثر آتش‌سوزی و شدت چرا بر کربن آلی کل (OC)، کربن آلی ویژه (POC)، تنفس پایه (BR) و کربن بیوماس میکروبی (MBC) خاک‌های مورد مطالعه در عمق ۱۰-۰ و ۲۰-۱۰ سانتی‌متر (مقادیر انحراف استاندارد در پرانتز نشان داده شده‌اند)

ویژگی خاک	شدت چرا	0-10 cm			10-20 cm		
		C	F	آماره *t* (*P*)	C	F	آماره *t* (*P*)
OC (g kg^{-1} soil)	LG	۱۱/۸(۱/۷۱)a	۹/۷۳(۱/۹۶)a	−۱/۳۵(۰/۲۴۸)	۱۰/۷(۲/۱۰)a	۹/۴۰(۱/۹۱)a	−۰/۸۱۴(۰/۴۶۱)
	HG	۱۱/۳(۰/۶۴۳)a	۸/۹۷(۰/۹۲۹)b	−۳/۵۳(۰/۰۲۴)	۹/۱۷(۱/۰۲)a	۸/۱۰(۱/۰۱)a	−۱/۲۸(۰/۲۶۹)
POC (g kg^{-1} soil)	LG	۱/۶۰(۱/۱۱)a	۱/۲۵(۰/۷۹۴)a	−۰/۴۵۰(۰/۶۷۶)	۱/۶۱(۰/۹۱۹)a	۱/۱۷(۰/۶۳۷)a	−۰/۶۷۸(۰/۵۳۵)
	HG	۱/۹۴(۰/۷۰۲)a	۱/۱۳(۰/۱۴۶)a	−۱/۹۵(۰/۱۲۳)	۱/۵۶(۰/۵۷۵)a	۰/۹۳۵(۰/۲۹۶)a	−۱/۶۷(۰/۱۷۰)
MBC (mg MBC kg^{1} soil)	LG	۲۸۲(۲۹/۹)a	۲۳۰(۱۵/۹)b	−۲/۶۴(۰/۰۵۷)	۲۴۸(۲۱/۳)a	۱۸۷(۴۷/۹)a	−۲/۰۰(۰/۱۱۶)
	HG	۲۵۹(۳/۵۲)a	۱۷۶(۲۹/۵)b	−۴/۸۵(۰/۰۳۸)	۱۹۲(۲۱/۴)a	۱۵۰(۷/۴۷)b	−۳/۲۲(۰/۰۳۲)
BR (mg C-CO$_2$ kg^{-1} soil day^{-1})	LG	۱۰/۳(۲/۹۶)a	۸/۶۴(۲/۰۶)a	−۰/۷۹۴(۰/۴۷۲)	۱۱/۵(۱/۰۵)a	۱۲/۰(۲/۰۰)a	۰/۳۲۹(۰/۷۵۹)
	HG	۱۵/۷(۲/۱۳)a	۱۴/۹(۲/۳۴)a	−۰/۴۳(۰/۶۸۹)	۸/۲۴(۰/۶۱۰)a	۶/۱۹(۰/۱۱۰)b	−۵/۷۲(۰/۰۲۵)
POC/OC (%)	LG	۱۳/۰(۷/۱۴)a	۱۲/۱(۵/۱۱)a	−۰/۱۷۶(۰/۸۶۹)	۱۴/۳(۵/۵۸)a	۱۱/۹(۳/۹۴)a	−۰/۵۹۴(۰/۵۸۵)
	HG	۱۷/۲(۶/۳۵)a	۱۲/۸(۲/۷۶)a	−۱/۱۰(۰/۳۳۱)	۱۷/۵(۶/۲۹)a	۱۱/۸(۴/۶۴)a	−۱/۰۵(۰/۳۵۴)
MBC/OC (%)	LG	۲/۴۳(۰/۴۸۰)a	۲/۴۵(۰/۵۹۰)a	۰/۰۵۰(۰/۹۶۳)	۲/۳۹(۰/۶۸۰)a	۲/۱۰(۰/۸۴۰)a	−۰/۴۷۲(۰/۶۶۱)
	HG	۲/۳۰(۰/۰۹۶)a	۱/۹۷(۰/۳۴۰)a	−۱/۶۶(۰/۲۲۱)	۲/۱۲(۰/۳۲۰)a	۱/۸۸(۰/۳۱۰)a	−۰/۹۱۹(۰/۴۱۰)

✓ LG: چرای سبک، HG:چرای سنگین، C: شاهد (فاقد آتش‌سوزی)، F: آتش‌سوزی شده

به‌طور خلاصه، نتایج تحقیق حاضر نشان داد آتش‌سوزی سبب کاهش ماده آلی خاک و بیوماس میکروبی می‌گردد ولی تأثیری روی ماده آلی ویژه خاک ندارد. با این حال، اثر آتش‌سوزی بر ماده آلی و بیوماس میکروبی خاک به عمق نمونه برداری و شدت چرا بستگی دارد. به نظر می‌رسد اثر آتش‌سوزی بر این دو ویژگی خاک در لایه سطحی محسوس‌تر باشد.

منابع

رئیسی ف. محمدی ج. و اسدی ا.، ۱۳۸۴. اثر چرای طولانی مدت بر پویایی کربن لاشبرگ در اکوسیستم مرتعی سبزکوه استان چهارمحال و بختیاری. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، شماره ۳. صفحات ۹۲-۸۱.

Barger NN, Ojima DS, Belnap J, Shiping W, Yanfen W and Chen Z, 2004. Change in plant functional groups، litter quality and soil carbon and nitrogen mineralization with sheep grazing in an Inner Mongolian grassland. Journal of Range Management 57: 613-619.

Jeddi K and Chaieb M, 2010. Changes in soil properties and vegetation following livestock grazing exclusion in degraded arid environments of South Tunisia. Flora 205: 184-189.

Jhonamie A, Nobukazu N and Yuji I, 2006. Soil microbial biomass, abundance, and diversity in a Japanese red pine forest: first year after fire. Journal Forest Research 11: 165-173.

Jorgensen RG and Brookes PC, 1990. Ninhydrin reactive nitrogen measurement of microbial biomass in 0.5M K_2SO_4 soils extracts. Soil Biology and Biochemistry 22: 1023-1027.

Nelson DW and Sommers LE, 1982. Total carbon, organic carbon and organic matter. In: A. L. Page R.H. Miller and D.R. Keeney (Eds), Methods of Soil Analysis, Part 2. Chemical and Microbiological Properties, American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, USA, pp. 539-577.

Novora A, Gristinal L, Bodi MB and Cerda A, 2010. The impact of fire on redistribution of soil organic matter on a Mediterranean hillslope under maquia vegetation type. Land degradation and development 10: 102-117.

Rice CW and Owensby CE, 2007. The effects of fire and grazing on soil carbon in rangelands. In: R.F. Follett. J.M. Kimble and R. Lai. (Eds), The potential of U.S. grazing lands to sequester carbon and mitigate the greenhouse effect. CRC/Lewis Publishers, Boca Raton, Florida, pp. 323-341.

Stoof CR, Wesseling JG and Ritsema CJ, 2010. Effects of fire and ash on soil water retention. Geoderma 10: 1-10.

بررسی تاثیر کاربرد باکتری‌های آزوسپریلیوم و ازتوباکتر بر میزان عملکرد و درصد پروتئین گیاه ذرت

علی شکوری[1]، خدیجه کلی[2]، محسن اسکندری[3]
۱دانش آموخته کارشناسی ارشد زراعت دانشگاه آزاد خرم آباد
۲دانشجوی دکتری خاکشناسی دانشگاه علوم وتحقیقات خوزستان
۳دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی و اصلاح گیاهان دارویی دانشگاه آزاد واحد ساوه

مقدمه

محدودیت اراضی مستعد وقابل کشت همراه با افزایش تقاضا برای موادغذایی محققین بخش کشاورزی رابا چالش بزرگی روبرو نموده است. به همین جهت، در شرایطی که عملاً توسعه اراضی کشاورزی مقدور نیست بیشتر نگاه‌ها به افزایش عملکرد در واحد سطح معطوف شده است. ازمولفه‌های اساسی افزایش عملکرد محصولات، مصرف بیشتر انواع نهاده‌ها بویژه کودهای شیمیایی است؛ هرچند کاربرد آنها مشکلاتی چون برهم زدن تعادل موادغذایی درخاک، اختلال درحلالیت وجذب عناصر غذایی وآلودگی رودخانه‌ها وآب‌های زیرزمینی را ایجاد می‌کند. از راه‌های اساسی فائق آمدن به این مشکلات که علاوه برصرفه جویی در مصرف کودهای شیمیایی، درحفظ توازن طبیعی محیط نیز نقش دارد، استفاده ازکودهای زیستی و نانو کودهاست. به همین لحاظ، در سالهای اخیر، تمایل به مصرف محصولات غذایی (دامی و کشاورزی) حاصل از علم نانو افزایش یافته و روز به روز نیز در حال فزونی است. رشد مطلوب این گیاه مستلزم وجود مقدار کافی و متعادلی از عناصر پرمصرف و کم مصرف در خاک است. اهمیت نانو ذرات به دلیل سطح ویژه و سرعت واکنش بالا همچنین واکنش پذیری در دمای پایین می باشد (تیواری، ۲۰۰۵). نگرانی از ورود باقیمانده‌های سموم دفع آفات نباتی، آنتی بیوتیک ها و سایر داروهای دامی، کودهای شیمیایی، ترکیبات هورمونیف مواد نگهدارنده و غیره در مواد غذایی مصرفی، یکی از چالش‌های جدی فرا روی جوامع و دغدغه‌های فکری بشر امروزی است .مطالعات اولیه در زمینه باکتریهای محرک رشد تنها برروی ریشه گیاهانی مانند سیب زمینی وچغندرقند (کاکمک و همکاران، ۲۰۰۶) انجام شد، در اواخر دهه ۱۹۷۰این تحقیقات گسترش یافت واولین کاربرد آنها توسط کلوپر وکراکر (سوسلو و همکاران، ۱۹۹۷) پیشنهاد شد. ازجمله باکتریهای محرک رشد گیاه می‌توان به جنس‌های *azospirillum* و *azetobacter* اشاره نمود که دارای پتانسیل همراهی با گیاهان زراعی هستند ودراین رابطه مزایایی همانند بهبود جذب عناصر غذایی، افزایش عملکرد گیاهان و نیز مقابله با بیماری‌های خاکزی را فراهم می‌سازند. به همین دلیل استفاده از آنها به عنوان کود زیستی درسالهای اخیر مورد توجه بوده و تأثیر کاربرد سویه‌های مختلف *azetobacter* و *azospirillum* به صورت مایه تلقیح بر محدوده وسیعی از گیاهان میزبان مانند غلات، بقولات و... مورد مطالعه وارزیابی قرار گرفته است. بر این اساس اهداف زیر در تحقیق حاضر مورد مطالعه قرارمی گیرد:

-ارزیابی تأثیر باکتری های آزوسپیریلوم وازتوباکتر برعملکرد و درصد پروتئین در ذرت

-تعیین وجود اثر متقابل در بین ریزموجودات مورد بررسی

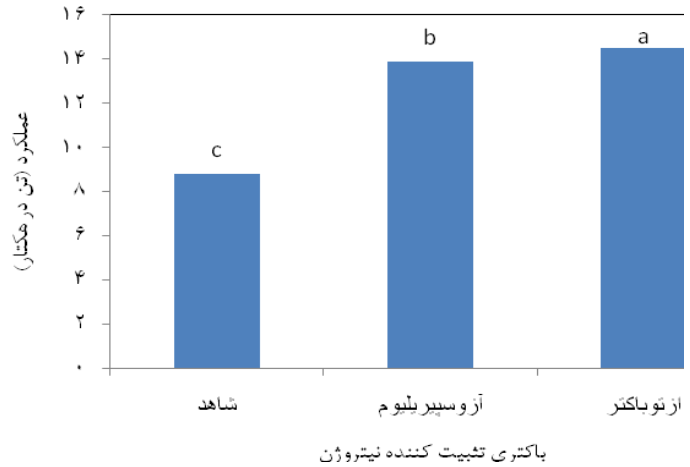
با دستیابی به اهداف فوق علاوه برشناسایی سویه‌های سازگار به شرایط محیطی منطقه و موثر بر رشد گیاه ذرت برای تلقیح بذور می توان اثرات نامطلوب کودهای شیمیایی بر محیط زیست را کاهش داده و بدینوسیله در حفظ تعادل اکوسیستم خاک و پایداری بلند مدت آن گام برداشت.

مواد و روشها

این تحقیق به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی در ۳ سه تکرار انجام شد. باکتری‌های محرک رشد به عنوان فاکتور اصلی در سه سطح (a0 = عدم کاربرد باکتری و a1 = کاربرد باکتری‌های جنس آزوسپیریلوم *Azospirillum sp* و a2 = کاربرد باکتری‌های جنس ازتوباکتر *Azotobacter* به کار برده می‌شود. کرت‌های آزمایش مشتمل بر ۴ ردیف به طول ۶ متر و با فاصله ۷۰ سانتیمتر از یکدیگر تهیه شدند. فاصله بذور در ردیف‌ها ۲۰ سانتیمتر و عمق کاشت ۵ سانتیمتر در نظر گرفته شد. پیش از اقدام به کاشت، برای اطمینان از عدم آغشته بودن به هر گونه آلودگی ، بذور چندین بار با محلول هیپوکلریت سدیم ۲ درصد شستشو و ضد عفونی شدند. به منظور جلوگیری از کاهش جمعیت باکتری‌ها حداقل فاصله زمانی بین زمان تلقیح بذور تا کاشت (کمتر از۲۴ ساعت) در نظر گرفته شد. مناسب با سطح کاشت در تیمارهای مختلف مشخصی از بذور توزیع شده و با محلول ۲۰ درصد صمغ عربی آغشته گردید. در مرحله بعد مقدار تعیین شده از هرمایه تلقیح (با جمعیت تقریبی ۱۰ باکتری در هر میلی لیتر) به بذور افزوده و بطور کامل مخلوط شدند. پس از فرآیند تلقیح، بذور در سایه خشک و برای کشت به مزرعه منتقل شدند. در زمان برداشت عملکرد دانه و درصد پروتئین اندازه گیری شد. تجزیه داده ها به کمک نرم افزار SAS و MSTAT-C انجام شد و مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD صورت گرفت.

نتایج و بحث

عملکرد دانه : اثر باکتری تثبیت کننده نیتروژن بر عملکرد دانه معنی‌دار بود (جدول ۱). بیشترین عملکرد به میزان ۱۴,۴۹ تن در هکتار در بوته‌های تلقیح یافته با باکتری ازتوباکتر و کمترین عملکرد به میزان ۸,۸۸ تن در هکتار از بوته‌های تلقیح نیافته حاصل شد (شکل ۱).



شکل ۱- تاثیر باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن بر عملکرد دانه

باکتری‌های PGPR از طریق تغییر در فیزیولوژی و مورفولوژی ریشه گیاهان تلقیح شده، موجب افزایش جذب عناصر و رشد بیشتر گیاهان می‌شوند. اثرات تشدید کننده‌ی رشد گیاهانی که با باکتری رایزوبیوم تلقیح شده‌اند، به دلیل تولید فیتوهورمون، محدود شدن رشد، قارچ‌های پاتوژن، تثبیت نیتروژن مولکولی افزایش کارآیی منابع نیتروژن‌دار و سایر عناصر دیگر، تولید و ترشح سیدروفورها و ایجاد مقاومت در برابر تنش‌های محیطی بوده‌اند

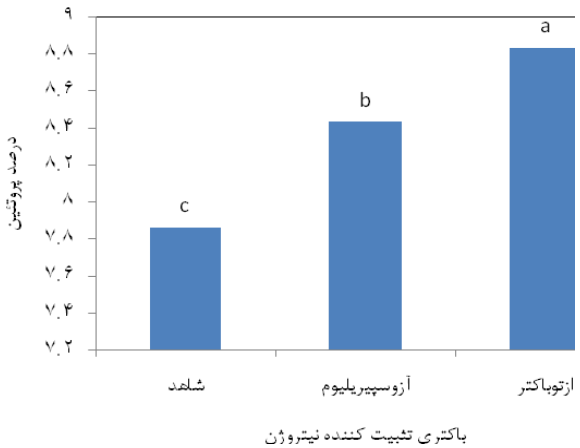
(حمیدی و همکاران، ۱۳۸۴). تلقیح توام سویه‌های از *Psedomunas. striata*، *Bacillus. polymyxa* و *Arbascular. brasilense* موجب افزایش معنی‌دار در عملکرد دانه، میزان تولید ماده خشک و جذب N و P در سورگوم شد (الجوادی و گائور، ۱۹۹۲).

جدول ۱- میانگین مربعات صفات تحت تاثیر باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن

منابع تغییر	درجه آزادی	عملکرد دانه	درصد پروتیین
تکرار	۲	۰,۴۶	۱,۳۶**

* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح اطمینان ۵ و ۱ درصد

درصد پروتئین: پروتئین‌ها که ذخیره ازت بذر می‌باشند، پلیمرهایی از اسیدهای آمینه هستند و برای رشد گیاهچه ضرورت دارند. از نظر فیزیولوژیکی پروتئین‌ها موطن حیات در بذر و سایر سلول‌های زنده هستند. نتایج تجزیه واریانس در این آزمایش نشان داد اثر باکتری حل کننده فسفات بر درصد پروتئین بذور معنی‌دار بود (جدول ۱). پروتئین بیشتر در شرایطی به دست آمد که بوته‌ها با باکتری ازتوباکتر پاسخ مثبت دادند (شکل ۲). همچنین باکتری آزوسپیریلیوم افزایش ۷,۶۴ درصدی نسبت به شاهد نشان داد. ولی در رده پایینتری از ازتوباکتر قرار گرفت. لوکاس–گارسیا و همکاران (۲۰۰۴) معتقدند، تولید هورمون‌های گیاهی توسط باکتری‌های محرک رشد با تاثیر بر فرآیند تخصیص مواد در گیاه موجب تغییر در اندازه محصول می‌شود. تحقیقات نشان داده است که باکتری‌های محرک رشد، نظیر سودوموناس، ازتوباکتر و باسیلوس قادر به تولید موادی مانند هورمون‌ها و ویتامین‌های گروه B هستند. این مواد می‌توانند توسط ریشه گیاه جذب شده و ترکیبات مورد نیاز برای رشد ریشه، ساقه، پروتیین و ماده خشک گیاه را فراهم آورند. اگامبردیوا و همکاران (۲۰۰۳)، نشان دادند که تلقیح گندم با سویه‌های مختلف *Pseudomonas* ، *Bacillus* و *Arthrobacter* موجب افزایش رشد گیاه می‌گردد. در مطالعه این محققین طول ساقه و ریشه در گندم تلقیح یافته با *Arthrobacter simplex* افزایش ۲۲٪ و ۱۷٪ درصدی نسبت به شاهد بدست آمد.



شکل ۲- تاثیر باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن بر درصد پروتئین

منابع

حمیدی، آ.، قلاوند، ا.، دهقان شعار، د.، ملکوتی، م.ج.، جوکان، ر. و اصغرزاده، ا. (۱۳۸۴). "تاثیر کاربرد باکتری‌های افزاینده رشد گیاه (PGPR) بر عملکرد دانه و برخی ویژگی‌های مرتبط با دورگ‌های دیررس ذرت" چکیده مقالات اولین همایش ملی گیاهان علوفه‌ای کشور، پردیس تهران، ۲۰-۱۸ مرداد ۱۳۸۴. صفحات ۱۷۱-۱۷۲.

Alagawadi, A.R. and A.C. Gaur. (1992). “Inoculation of Azospirillum brasilense and phosphate solubilizing bascteria on yield of sorghum (Sorghum biocor L.) in dry land” Trop. Agric. 69:347-50.

Lucas-Garcia, J.A., A.Probanza., B.Ramos., M.Ruiz-Palomino and F.J.GutierrezManero. 2004. Effect of inoculation of Bacillus licheniformis on tomato and neDDerAgron.24: 169-176.

Thalooth, A.T., Tawfik, M.M., and Magda Mohamed, H. 2006." A comparative stady on the effect of foliar application of zinc, potassium, and magnesium on growth, yield and some chemical constituents of Mungbean plants growth under water stress condition". World Journal and Agricultural Science, 2:1. 37-46.

Kandan, A. (2000). “Induction of systemic resistance against tomato spotted wilt viruus (TSWV) in tomato by fluorescent Pseudomonas strains” M. Sc. (Ag.)Thesis. Tamil Nadu. Agri. Uni. Combatore. Ind.

Tewari, R.K., Kumar, P. and Sharma, P.N. 2005. Sing of oxidative stress in the chlorotic leaves of iron starved plants. Plant sci. 169:1037.1045.

تاثیر سطوح مختلف فسفر، پتاسیم و قارچ های میکوریز آربوسکولار در باغ‌های چای

حسن رمضانپور[1]، طاهره گاشائیان[2] و صفورا اسدی کپورچال[3]
1و3- دانشیار و استادیار گروه علوم خاک، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان2-دانش آموخته دانشگاه گیلان و کارشناس مدیریت زراعت سازمان جهاد کشاورزی هرمزگان

مقدمه

با توجه به مشکلات ناشی از محدودیت منابع آب و خاک در ایران، امکان توسعه سطح زیر کشت برای افزایش تولیدات کشاورزی مقدور نبوده و افزایش تولید در واحد سطح یکی از راه‌های عملی برای خودکفایی در تولید محصولات کشاورزی است. اهمیت قارچ‌های میکوریزی در کشاورزی پایدار، اساساً به نقش این قارچ‌ها به عنوان عامل رابط بین گیاه و خاک مربوط می شود. از آنجایی که قارچ‌های میکوریز وزیکولار–آربوسکولار فاقد میزبان اختصاصی هستند، شرایط بهره برداری از آنها را ویژگی های اکولوژیکی تعیین می کند (McGonigle and Miller, 1993). عوامل مختلفی از جمله میزان مواد آلی خاک، نوع کشت، مصرف کودهای فسفره، خصوصیات اقلیمی منطقه و به ویژه مدیریت مزرعه بر تعداد و فعالیت قارچ‌های میکوریزی تاثیر گذاشته و موجب تغییر جمعیت اسپور در خاک‌های مختلف می‌باشد (توسلی و همکاران، ۱۳۷۹). افزون بر نوع گیاه، درصد کلنیزاسیون ریشه و ویژگی‌های شیمیایی و فیزیکی خاک نیز بر جمعیت اسپور موثر می باشد(علی اصغرزاده و همکاران، ۱۳۸۰). مطالعه اثرات متقابل کلنیزاسیون میکوریزی، غده زایی و رشد نهال گیاه کلیاندرا کالتیرسوس[1] با غلظت‌های مختلف فسفر محلول نشان داد که بالاترین میزان کلنیزاسیون میکوریزی در سطح صفر میلی‌گرم بر کیلوگرم بوده و با افزایش سطح فسفر کاربردی، مقدار کلنیزاسیون کاهش یافت (Ingleby, *et al*., 2001). همچنین، تحقیقات نشان داد که گیاهان تلقیح شده با قارچ میکوریز آربوسکولار دارای ماده خشک بیشتر، رشد بهتر و زمان گل‌دهی زودتری نسبت به گیاهان بدون تلقیح بوده اند (Gaur and Adholeya, 2000). در این پژوهش فراوانی اسپور این قارچ‌ها در خاک‌های باغ چای و رابطه آنها با ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه قرار گرفته است.

مواد و روشها

این پژوهش در قالب طرح بلوک کامل تصادفی و به صورت فاکتوریل با سه فاکتور، شامل قارچ میکوریزی در دو سطح (بدون تلقیح و تلقیح قارچ میکوریز آربوسکولار گلوموس اتونیکاتوم)، پتاسیم در دو سطح (۰ و ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) و فسفر در چهار سطح (۰، ۸، ۱۵ و ۳۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) و سه تکرار انجام شد. نمونه خاک از ایستگاه تحقیقاتی چای رضوانشهر انتخاب شد. ویژگی‌های مختلف فیزیکی و شیمیایی خاک شامل pH (به روش عصاره ۱: ۲/۵ خاک به کلرور کلسیم یکصدم مولار)، EC (به روش عصاره ۱:۵ خاک به آب)، ماده آلی (به روش والکلی و بلاک گرم) و بافت خاک (روش هیدرومتری) اندازه گیری شد (جدول ۱).

[1] Clliandra Calthyrsus

جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمون

sand	Silt	Clay	O.M	Soil texture	pH	$K_{ava.}$	N_t	$P_{ava.}$	EC
%						mg/kg			dS/m
۲۱/۰	۳۵/۷	۴۳/۳	۳/۲۹	Clay	۵/۴۷	۲۱۰	۱۸/۸	۷/۷	۰/۴۹۷

برای تکثیر این گونه قارچی از خاک شنی استفاده شده و خاک‌ها پس از آماده سازی با استفاده از دستگاه اتوکلاو در فشار ۱/۲ اتمسفر و دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد برای یک ساعت استریل شدند. قارچ مورد نظر توسط کشت تله گلدانی[۲] با گیاه میزبان ذرت به مدت پنج ماه در بستر شن استریل تکثیر شده و پس از این مدت اندام هوایی گیاهان از سطح خاک قطع و مخلوط داخل گلدان ها که شامل خاک بستر کشت همراه با هیف‌های برون ریشه‌ای، اسپورها و ریشه های میکوریزی بوده به‌عنوان مایه تلقیح خاک به‌کار گرفته شد. به هر گلدان حدود ۳۰۰۰ اسپور همراه با شن استریل و ریشه گیاه اضافه گردید. برای کشت از قلمه های ریشه دار شده چای کلون ۱۰۰ ایران استفاده شد. قلمه های مذکور به مدت شش ماه در گلدان‌های حاوی خاک و شن استریل ریشه‌دار شدند. به‌منظور ضدعفونی کردن ریشه‌ها، پیش از کشت نهال‌ها، سطح خارجی ریشه‌ها ابتدا به مدت یک دقیقه در اتانول ۵۰ درصد قرار داده شد و سپس سه بار با آب مقطر شسته شدند. برای اینکه عمل کلنیزاسیون بهتر انجام شود مایه تلقیح تهیه شده در عمق یک سانتیمتری زیر ریشه قرار داده شد و سپس لایه نازکی از خاک روی آن قرار گرفت و نهال‌ها روی آن کاشته شد. به‌خاطر اختلاف در تعداد اسپور مایه تلقیح‌ها، پس از شمارش اسپورها، مقداری اینو کولوم با تعداد مساوی اسپور به گلدان‌ها افزوده شد. برای حصول یکنواختی در کلیه تیمارهای مورد آزمون، پس از استریل کردن مایه تلقیح، مقدار مساوی از آن به تیمارهای بدون تلقیح (شاهد) اضافه شد. گلدان‌ها در گلخانه نگهداری شده و عمل آبیاری با آب معمولی و تا حد ۷۰ درصد ظرفیت زراعی صورت گرفت. در انتهای هفته شانزدهم رشد، گیاهان برداشت شده و برای آنالیزهای شیمیایی آماده شدند. برای اندازه گیری غلظت عناصر غذایی فسفر، پتاسیم، کلسیم و منیزیم در گیاه از هضم به روش سوزاندن خشک و ترکیب با اسید کلریدریک استفاده شده و پس از تهیه عصاره، فسفر به روش نور سنجی، پتاسیم به روش فیلم فتومتری، ازت کل گیاه به روش کجلدال و کلسیم و منیزیم به روش جذب اتمی شعله‌ای اندازه گیری شدند.

برای شمارش تعداد اسپور در خاک، از هر خاک سه نمونه ۱۰ گرمی انتخاب شد و اسپورها به روش اصلاح شده الک مرطوب و گرادیان ساکارز و با استفاده از سانتریفیوژ، از خاک استخراج و بر روی کاغذ شطرنجی قرار داده و به کمک بینی کولار با بزرگنمایی ۳۰× شمارش شده و بدین ترتیب، میانگین تعداد اسپورهای مربوط به سه تکرار برای هر خاک محاسبه شد. به‌منظور تعیین درصد کلنیزاسیون ریشه، برای رنگ آمیزی ریشه ها با استفاده از محلول ۱۰ درصد KOH ، به مدت ۴۸ ساعت حرارت داده شدند. برای سفید کردن ریشه های دارای رنگدانه‌های زیاد، بعد از غوطه ور سازی ریشه ها در محلول KOH ، به مدت ۶۰ دقیقه در محلول آب اکسیژنه قلیایی در دمای اتاق قرار داده شدند. سپس، ریشه ها با آب شسته شدند تا اثر آب اکسیژنه از بین برود. جهت اسیدی شدن ریشه ها، آنها را به مدت ۳ دقیقه در محلول اسید کلریدریک ۱ درصد قرارداده، سپس بدون شستشو با آب، به مدت دو تا سه روز در محلول تثبیت کننده اسید فوشین با ترکیب اسید لاکتیک، گلیسیرین و

[2]Trap Culture

آب (۱:۱:۱) و ۰/۰۲ درصد اسید فوشین قرار داده شدند (Liu, et al., 2000). عمل رنگزدایی ریشه ها با استفاده از محلول اسید لاکتیک بدون اسید فوشین صورت گرفت. درصد کلنیزاسیون ریشه ها با استفاده از روش تقاطع شبکه بدست آمد(Sylvia, 1999). برای ارزیابی روابط بین پارامترهای مختلف شیمیایی و فیزیکی خاک و جمعیت اسپور قارچهای میکوریز آربوسکولار ضریب همبستگی بین فاکتورهای مورد آزمایش توسط نرم افزار SPSS محاسبه گردید.

نتایج و بحث

ضریب همبستگی بین جمعیت اسپور با ویژگی‌های مختلف فیزیکی و شیمیایی خاک در جدول شماره ۲ آمده است.

جدول ۲- ضریب همبستگی ساده بین جمعیت اسپور قارچهای میکوریز آربوسکولار با برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک

متغیر	Spores	O.M.	pH	P ava.	EC	Clay	Silt
Spores							
O.M	n.s. ۰/۱۶۱						
pH	n.s. ۰/۹۴	* ۰/۴۶۴					
P ava	* ۰/۵۰۳	n.s. ۰/۰۰۶	n.s. ۰/۱۸۸				
EC	n.s. ۰/۹۵	n.s. ۰/۱۱۵	n.s. ۰/۲۲۹	n.s. ۰/۲۷۸			
Clay	n.s. ۰/۱۶۷	n.s. ۰/۱۸۷	n.s. ۰/۱۴۶	n.s. ۰/۳۲۸	n.s. ۰/۲۳۸		
Silt	n.s. ۰/۳۳۸	n.s. ۰/۳۶۱	n.s. ۰/۲۵۷	* ۰/۴۸۶	n.s. ۰/۱۵۴	n.s. ۰/۳۳۶	
Sand	n.s. ۰/۱۷۲	n.s. ۰/۱۷۹	n.s. ۰/۱۲۱	* ۰/۵۱۴	n.s. ۰/۲۲۶	** ۰/۷۱۸	** ۰/۸۹۷

$P<0.05^{*}$, $P<0.01^{**}$ و n.s.غیر معنی دار

همان طور که در جدول دیده می شود ماده آلی، pH، EC، درصد شن، لای و رس همبستگی معنی داری با تعداد اسپور نشان ندادند. تنها عاملی که همبستگی مثبت و معنی دار با جمعیت اسپور در خاک دارد، مقدار فسفر قابل دسترس خاک می‌باشد ($P<0.05$، $r=0.503$). به طور کلی جمعیت اسپور در خاکهای مورد مطالعه بسیار پایین است. تعداد اسپور قارچهای میکوریز آربوسکولار با افزایش pH خاک، افزایش اندکی نشان داد که از لحاظ آماری معنی دار نمی باشد و با نتایج علی اصغرزاده و همکاران (۱۳۸۰) مطابقت دارد ولی با نتایج حاصل از بررسی های یحیی آبادی و زنگنه (۱۳۸۲) مغایرت دارد. pH خاک می تواند نقش مهمی در گسترش برخی از قارچهای میکوریز وزیکولار–آربوسکولار داشته باشد به طوری که رشد و توسعه بسیاری از قارچهای میکوریز وزیکولار–آربوسکولار در خاکهای اسیدی محدود می شود. فراوانی قارچهای میکوریز آربوسکولار با افزایش میزان فسفر قابل دسترس خاک، افزایش معنی دار یافته است. این نتایج با یافته های زاکا وهمکاران(۱۹۹۵) تطبیق می کند اما با نتایج یحیی آبادی و زنگنه (۱۳۸۲) و علی اصغرزاده و همکاران(۱۳۸۰) همخوانی ندارد. کودهای فسفری، اثرات متفاوتی روی همزیستی میکوریز وزیکولار–آربوسکولار و خود قارچها دارند. همزیستی میکوریزی در نمونه های ریشه چای مشاهده نشد و فقط در یکی از نمونه های ریشه چای، کمتر از یک درصد

ریشه با قارچ میکوریزی کلنیزه شده بود. کلنیزاسیون ریشه ممکن است در مقادیر خیلی بالا یا خیلی پایین فسفر قابل دسترس خاک کاهش یابد، در حالی که تولید اسپور عموما در مقادیر فسفر قابل دسترس خاک، بالاتر از سطحی که گیاهان میزبان از کلنیزاسیون میکوریز وزیکولار–آربوسکولار سود می برند، کاهش می یابد. از آنجا که قارچهای میکوریز آربوسکولار هوازی می باشند و بافت خاک باغهای چای مورد آزمایش نسبتا سنگین می باشد این عامل نیز می تواند مانع فعالیت قارچهای میکوریزی شود. در نهایت، تلقیح قارچ مورد نظر همراه با مصرف یا عدم مصرف کود پتاسیمی از جذب بیشتر ازت توسط گیاه ممانعت به عمل آورده لیکن، با افزایش فسفر به خاک مقدار ازت گیاه افزایش یافته و حداکثر مقدار آن در سطح ۱۵ میلی‌گرم فسفر بر کیلوگرم خاک مشاهده گردید. فسفر گیاه هم به دنبال تلقیح قارچ بهبود یافته که با نتایج کهنه و همکاران (۱۳۸۲) همخوانی داشته است. همچنین، تلقیح قارچ همراه با افزایش فسفر به خاک در حالت عدم مصرف کود پتاسیمی، بر مقدار پتاسیم گیاه اثر افزایشی داشته که این اثر مثبت به دنبال افزایش کود پتاسیمی به خاک کاهش یافته است. همچنین، نتایج به دست آمده نشان داده است که تلقیح قارچ میکوریزی با مصرف هم زمان پتاسیم و فسفر در سطوح مختلف، اثر مثبتی بر مقدار کلسیم گیاه نداشته و تنها در تیمار شاهد (بدون کاربرد پتاسیم و فسفر) کلسیم گیاه با تلقیح قارچ به خاک افزایش معنی داری داشته است. تلقیح قارچ بر میزان منیزیم گیاه اثر افزایشی نداشته لیکن، افزایش فسفر به خاک اثر مثبتی بر مقدار منیزیم گیاه داشته است.

منابع

توسلی، ع. صالح راستین، ن. و علی اصغرزاده، ن.، ۱۳۷۹. اثر قارچهای میکوریز وزیکولار–آربوسکولار در رشد ذرت، جذب فسفر و برخی از عناصر کم مصرف، مجله خاک و آب، شماره ۷: صفحه های ۴۴ تا ۵۴.

علی اصغرزاده، ن. صالح راستین، ن. توفیقی، ح. و علیزاده، ع.، ۱۳۸۰. پراکنش قارچهای میکوریز آربوسکولار در خاکهای دشت تبریز و رابطه آن با برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک. مجله علوم کشاورزی ایران، جلد ۳۲، شماره ۱: صفحه‌های ۸۹ تا ۹۹.

کهنه، ا.، ۱۳۸۲. تأثیر سه گونه از قارچهای میکوریز وزیکولار آربوسکولار روی رشد و جذب عناصر فسفر، روی، آهن و مس در نهال چای. پایان نامه کارشناسی ارشد خاکشناسی، دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان.

یحیی آبادی، م. و زنگنه، س.، ۱۳۸۲. بررسی همزیستی میکوریزایی در مزارع سیب زمینی مبتلا به کمبود روی در استان چهارمحال و بختیاری. صفحه‌های ۱۰۰ تا ۱۰۲. هشتمین کنگره علوم خاک ایران، رشت.

Ingleby, K., Fahmer, A., Wilson, J., Newton, A. C., Mason, P. A. and Smith, R. I. 2001. Interactions between mycorrhizal colonization, nodulation and growth of Clliandra calothyrsus seedling supplied with different concentrations of phosphorus solution. Symbiosis, 30: 15-28.

Gaur, A. and Adholeya, A. 2000. Growth and flowering in Pentunia hybrida, Callistephus chinesis and Impatiens balsamina inculated with mixed AM inocula or chemical fertilizers in a soil of low P fertilily. Scientia Horticulture. 84: 151-162.

Liu, A., Hamel, C., Hamilton, R. I. and Ma, B. L. 2000. Acquistion of Cu, Zn, Mn and Fe by mycorrhizal maize (*Zea mays* L.) grown in soil at different P and micronutrient levels. Mycorrhiza. 9: 331-336.

McGonigle, T. P. and Miller, M. H. 1993. Mycorrhizal development and phosphorus absorption in maize under conventional and reduced tillage. Soil Sci. Soc. Am. J. 57:1002-1006.

Sylvia, D. M., 1999. Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. In: C. R. W. Weaver et al. (ed.) methods of soil analysis, part 2. Microbiological and Biochemical properties. Soil Science Society of America, Inc.

استخراج اسید هیومیک از ورمی کمپوست در زمان های مختلف استخراج و تاثیر آن بر گروه های عاملی و نسبت های اسپکتروفوتومتری

ندا جدیدالاسلام[1] ، شاهین شاهسونی [2]
۱-دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم خاک دانشگاه صنعتی شاهرود
۲-استادیار گروه علوم خاک دانشگاه صنعتی شاهرود

مقدمه

در سال های اخیر، استفاده ازاصلاح کننده‌های آلی، برای ترمیم ماده آلی خاک نسبت به کودهای سنتی افزایش یافته است. مواد هوموسی مخلوطی ناهمگن از بقایای گیاهی و حیوانی هستند که دارای منشا میکروبی می باشند. اسید هیومیک بخش خاص و با ثباتی از مواد هوموسی است که دارای تعامل با طیف گسترده ای از مواد از جمله فلزات و آلاینده‌های آلی موجود در آب و خاک می باشد (یاتس وهمکاران ،۱۹۹۷). ورمی‌کمپوست یک کود زیستی محرک رشد گیاه است که دارای مقادیر زیادی اسید هیومیک است (ادوارد و همکاران، ۱۹۹۸). مطالعات بر روی تاثیر اسید هیومیک بر روی رشد گیاهی اثرات مثبتی را نشان داده است برای نمونه، کاربرد اسید هیومیک در خاک ها، عملکرد ماده خشک جوانه های ذرت و یولاف (آلبوزیو، ۱۹۹۴)، تعداد و طول ریشه های تنباکو (میلوناس، ۱۹۸۰) و رشد رویشی گیاهان کاسنی را افزایش می دهد (وال دریگی، ۱۹۹۴) اسید هیومیک از گروه های عاملی مختلف اسیدی (اسیدیته کل ، کربوکسیلیک اسید و گروه ه ای OHفنلی) و بازی (هیدروکسیلی) تشکیل شده است.

استخراج مواد هیومیک همیشه برای محققین مساله چالش برانگیزی بوده است (هاییز، ۲۰۰۰) معمولا بیشترین مقدار استخراج از روش های معمولی قلیایی با پیش تیمار اسید رقیق شده بدست می آید. با این حال، عصاره گیرهای پایه ممکن است واکنش اکسیداسیون، هیدرولیز را در ساختار مواد هیومیک ایجاد کند که مقدار این تغییرات به منبع، نوع عصاره گیر، شرایط و زمان استخراج بستگی دارد (استیونسون، ۱۹۹۴). طبق قرارداد موجود بین متخصصین، اسید هیومیک استخراج شده با توجه به خصوصیاتی مثل رنگ، وزن مولکولی، گروه های عاملی، حلالیت در اسید و باز و غیره از اسید فولویک و هیومین جدا می شود. همچنین وضعیت مواد هیومیک استخراج شده با توجه به نوع استخراج کننده، نوع منبع و زمان و شرایط استخراج، متفاوت است کیفیت اسید هیومیک را با توجه به شاخص هایی مثل نسبت E_4/E_6، E_3/E_5، اسیدیته کل، گروه های عاملی و غیره ارزیابی می کنند (اشنیتزر و همکاران، ۱۹۷۲) و هرچه این نسبت ها بیشتر باشد در واقع اسید هیومیک استخراج شده دارای درجه اشباع و واکنش پذیری بالاتری می باشد (کمپیتل و همکاران، ۲۰۰۶). با توجه به اینکه زمان استخراج مساله بسیار مهمی در استخراج اسید هیومیک می باشد، در تحقیق حاضر تاثیر زمان استخراج بر مقدار اسید هیومیک و همچنین گروه های عاملی و نسبت های اسپکتروفتومتری در اسید هیومیک حاصله بررسی گردید.

مواد و روشها

در این پژوهش از ورمی کمپوست هوا خشک ، تولید شده در حضور کرم کمپوستر *Eisenia fetida* برای استخراج اسید هیومیک استفاده گردید.

استخراج اسید هیومیک

اسید هیومیک (HA) در تیمار های آزمایشی با روش کی و همکاران، (۲۰۰۴) استخراج شد. برای این منظور نمونه های ورمی کمپوست با نسبت ۱:۱۰ (مایع/ جامد) با سود نیم مولار مخلوط و به مدت یک، هفت و نه روز (زمان استخراج) در اتاق تاریک با شدت ۱۶۰ دور در دقیقه شیک شدند. فاز محلول از فاز رسوب با سانتریفیوژ(۶۰۰۰ rpm) جداسازی و با HCl شش مولار به pH کمتر از دو رسانده شد تا اسید هیومیک رسوب کرده و از اسید فولویک جداسازی شود. اسید هیومیک جداسازی شده با HCl/HF (با غلظت ۰/۱ مولار HCL و ۰/۳ مولار HF) خالص سازی و با آب مقطر تا زمانی که pH به حدود ۵– ۴ برسد، شسته شد و در نهایت در دمای زیر ۵۰ درجه سلسیوس خشک گردید.

اندازه گیری گروههای عاملی اسید هیومیک

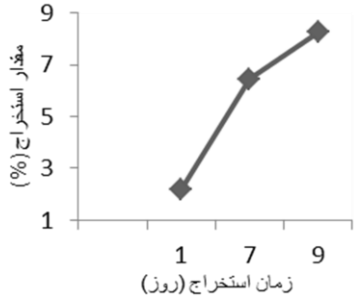
اسیدیته کل و گروههای کربوکسیلی طبق روش پیشنهادی پیج، (۱۹۸۲) اندازه گیری شد و همچنین گروههای عاملی OH–فنلی نیز از تفاضل بین اسیدیته کل و گروههای کربوکسیلی محاسبه گردید.

اندازه گیری های اسپکتروسکوپی

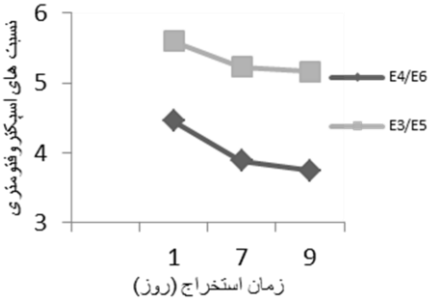
برای اندازه گیری نسبت های اسپکتروفوتومتری نیزابتدا ۳میلی گرم از هر نمونه اسید هیومیک استخراج شده در ۱۰میلی لیتر بافر بی کربنات سدیم ۰/۰۵ مولار حل شد و سپس برای تعیین نسبت هایE_4/E_6، E_3/E_5 میزان جذب در طول موج های ۳۵۰، ۴۶۵، ۵۵۰ و ۶۶۵ نانومتر با استفاده از دستگاه JENWAY 6705 UV/VIS اندازه گیری شد (چن و همکاران، ۱۹۷۷)

نتایج و بحث

نتایج نشان داد با افزایش زمان استخراج مقدار اسید هیومیک استخراج شده افزایش می یابد. بیشترین مقدار اسید هیومیک در مدت زمان استخراج نه روز حاصل شد و کمترین مقدار نیز در مدت یک روز مشاهده گردید (شکل ۱). اسید هیومیک استخراج شده به نوع استخراج کننده و زمان استخراج بستگی دارد و با افزایش زمان استخراج مقدار استخراج بیشتری از اسید هیومیک حاصل می گردد (استونسون، ۱۹۹۴).

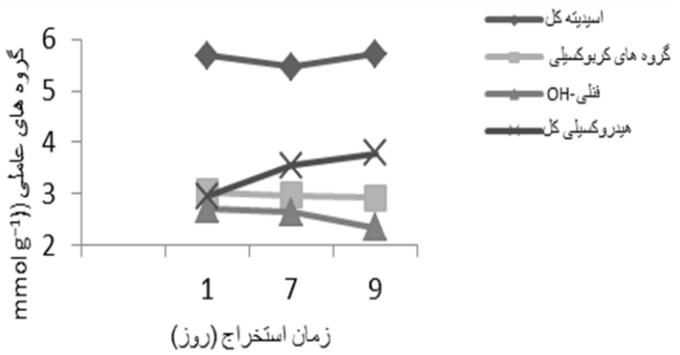


شکل **۱**– **اسید هیومیک استخراج شده در زمان های مختلف**



شکل ۳– نسبت های اسپکتروفتومتری در زمان های مختلف

در اندازه گیری گروه های عاملی مشخص گردید با افزایش زمان استخراج مقادیر گروه های عاملی به جز گروه های هیدروکسیلی کاهش یافت و بیشترین مقدار گروه های عاملی در مدت زمان یک روز برای استخراج مشاهده شد (شکل



شکل ۲- گروه های عاملی اندازه گیری شده در زمان های مختلف

کاهش در گروه های عاملی می تواند ناشی از تغییرات ساختاری در اسید هیومیک استخراج شده می باشد. گروههای عاملی نقش مهمی در تامین عناصر غذایی توسط ریشه گیاهان دارند و موجب بهبود سیستم زیستی (بیولوژیکی) خاک می شود. بیشترین تاثیر ماده عالی در خاک مربوط به گروه های عاملی کربوکسیلی و هیدروکسیلی می باشد (اشنایتزر و دسجردینس، ۱۹۶۵).

طبق نتایج اسید هیومیک استخراج شده از زمان استخراج یک روز دارای بیشترین مقدار هر دو نسبت های اسپکتروفتومتری بودند و همچنین با افزایش زمان استخراج مقدار این نسبت ها کاهش یافت (شکل ۳). نسبت E_3/E_5 بیانگر اندازه مولکولی می باشد و با افزایش این نسبت مولکول های اسید هیومیک کوچک تر می شود و بر عکس با کاهش این نسبت اندازه مولکولی افزایش می یابد (هلال و همکاران، ۲۰۱۱). با افزایش زمان استخراج نیز این نسبت کاهش یافت که می تواند تغییر در ماهیت اسید هیومیک با افزایش زمان استخراج دلیل این افزایش مولکولی باشد (همتی و همکاران، ۲۰۱۲).

نسبت E_4/E_6 نیز نشانگر نسبت ترکیبات آلیفاتیک و آروماتیک می باشد و با افزایش این نسبت ترکیبات آلیفاتیک افزایش می یابد و ترکیبات آروماتیک کاهش می یابد و برعکس با کاهش این نسبت ترکیبات آروماتیک زیادتر می شود (کامپیتلی و همکاران، ۲۰۰۶). افزایش زمان استخراج منجر به به هم پیوستگی، جدا شدن و دوباره متصل شدن مولکولهای آلی می شود که منجر به واکنش های شیمیایی مختلف شده و سبب تشکیل ترکیبات جدیدی در طی زمان استخراج گردد (استونسون، ۱۹۹۴).

نتیجه گیری کلی

نتایج به طور کلی نشان داد با افزایش زمان استخراج، اسید هیومیک بیشتری استخراج می شود ولی این افزایش در مقدار استخراج خصوصیات نامطلوبی در مقادیر گروه های عاملی و همچنین نسبت های اسپکتروفتومتری می گذارد. افزایش زمان استخراج موجب تغییراتی در ساختار و مقادیر گروه های عاملی اسید هیومیک می شود. با

افزایش زمان استخراج، گروههای عاملی به طور کلی کاهش، اندازه اسید هیومیک افزایش و ترکیبات آروماتیکی کاهش و ترکیبات آلیفاتیک افزایش یافت.

منابع:

Helal Aly A., Murad GA. and Helal AA: Characterization of different humic materials by various analytical techniques. Arabian Journal of Chemistry, 2011; 4.

Albuzio, A., Concheri, G. Nardi, S. and Dell'Agnola,G.,1994. Effect of humic fractions of different molecular size on the development of oat seedlings grown in varied nutritional conditions. In: Senesi, N. and T.M. Miano (eds) Humic Substances in the Global Environment and Implications on Human Health. Elsevier Science B.V., pp. 199-204.

Campitelli, P.A., Velasco, M.I. and Ceppi, S.B., 2003. J. Chil. Chem. Soc., 91–96.

Edwards, C.A. and Burrows, I.,1988. The potential of earthworm composts as plant growth media. In: Edwards, C.A., Neuhauser, E. (eds) Earthworms in Waste and Environmental Management. SPB Academic Press, The Hague, The Netherlands, pp. 21–32.

Hayes, M.H.B. and Graham, C.L., 2000. Procedures for the isolation and fractionation of humic substances. In: Ghabbour, E.A., Davies, G. (Eds.), Humic Substances: Versatile Components of Plants, Soil and Water. Royal Society of Chemistry, Cambridge, pp. 91 – 110.

Hemati A., Alikhani HA., Bagheri Marandi G. and Mohammadi L: Assessment the possibility of humic acid extraction from vermicopost with urea. Intl. J. Agric: Res & Rev. 2012: Vol., 2 (6), 705-709.

Mylonas, V.A. and McCants, C.B., 1980. Effects of humic and fulvic acids on growth of tobacco. Plant Soil 54:485–490.

Page AL: Methods of Soil Analysis. Agronomi 9, ASA, SSSA, Madison, Wiscosin, USA. 1982.

Schnitzer M. and Desjardins JG: Carboxyl and phenolic hydroxyl groups in some organic soils and their relation to the degree of humification. Can. J. Soil Sci. 1965; Vol. 45.

Stevenson, F.J., 1994. Humic Chemistry: Genesis, Composition, Reactions, 2nd ed. Wiley, New York.

Valdrighi, M.M., Pear, A. Agnolucci, M., Frassinetti, S., Lunardi, D. and Vallini, G.,1996. Effects of compost-derived humic acids on vegetable biomass production and microbial growth within a plant (Cichorium intybus) soil system: a comparative study. Agric. Ecosyst. Environ. 58: 133-144.

Yates, L.M., Engebreston, R.R. and Haakenson, T.J., 1997. R. Von wandruszka, Anal. Chim. Acta 356, 295–301.

بررسی توان تولید ایندول استیک اسید توسط باکتری های قابل کشت سطوح مختلف بدن کرم خاکی *ایزینیا فتیدا*

بهنام توسن[1] و حسینعلی علیخانی[2]
۱- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه تهران، ۲. دانشیار دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران

مقدمه

ایزینیا فتیدا که در اصطلاح کرم قرمز، خزنده قرمز و یا کادیلاک کرم ها نامیده می شود در عمل کمپوست سازی بسیار ارزشمند است. کرم های کمپوست ساز ، به میزان زیادی با شرایط بومی آداپته شده و با استفاده از مواد آلی بومی به خوبی رشد می نمایند. این کرم ها از پسماندهای آلی مختلفی مصرف کرده و از خود موادی دفع می نمایند که همان ورمی کمپوست بوده که با مواد اولیه کاملا متفاوت می باشد و یک کود آلی و اصلاح کننده ی بسیار ارزشمند برای خاک می باشد. شاید بتوان گفت در کل جهان، گونه ی *ایزینیا فتیدا* در بین کرم های خاکی بیشترین مورد استفاده را در فناوری تولید ورمی کمپوست دارد. زیرا این کرم ها سازگاری بالایی دارند. برآورد کشت پذیری جمعیت میکروبی دستگاه گوارش کرم خاکی نشان می دهد که حداکثر ۱۰٪ از تعداد ریزسازواره های قابل شمارش مستقیم با میکروسکوپ را می توان کشت کرد، چنین وضعی در مطالعات اکولوژی میکروبی که در آن روش های مبتنی بر کشت باکتری، تنها اجازه نمونه برداری از بخش محدودی از جمعیت موجود در محیط های طبیعی را می دهد، غیر معمول نیست(اوکوما و همکاران، ۲۰۰۶).

تنوع جوامع باکتریایی دستگاه گوارش کرم خاکی بستگی به آب و هوا، نوع خاک و مواد آلی دارد. جامعه باکتریایی دستگاه گوارش کرم خاکی حداقل در ۴ گروه فیزیولوژیکیPGPR ها (باکتری های محرک رشد گیاه) ، تثبیت کننده های آزادزی نیتروژن، بیوساید ها و حل کننده های فسفات قرا می گیرند(هورتنسیا بریتو و همکاران، ۲۰۰۹).

مواد و روش ها

در این بررسی باکتری های قابل کشت پوست، روده کرم و کل بدن کرم خاکی در محیط کشت NA کشت شده سپس جدا سازی و خالص سازی شدند و از بین باکتری های خالص سازی شده تعداد ۱۰ جدایه برای هر سطح یعنی پوست، روده و کل بدن کرم خاکی با توجه به خصوصیات ظاهری انتخاب و برای ادامه ی آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند:

۱-جداسازی و خالص سازی باکتری های پوست کرم خاکی: برای این منظور، کرم خاکی از ورمی کمپوست جدا و حتی المقدور بقایای ورمی کمپوست از پوستکرم جدا شدند، سپس اقدام به شستشوی کرم خاکی با آب مقطر استریل شد. به ازای هر کرم ۱ میلی لیتر آب مقطر استریل اضافه گردید. در مرحله بعد اقدام به تلقیح محیط کشت NA با سوسپانسیون مذکور شد.

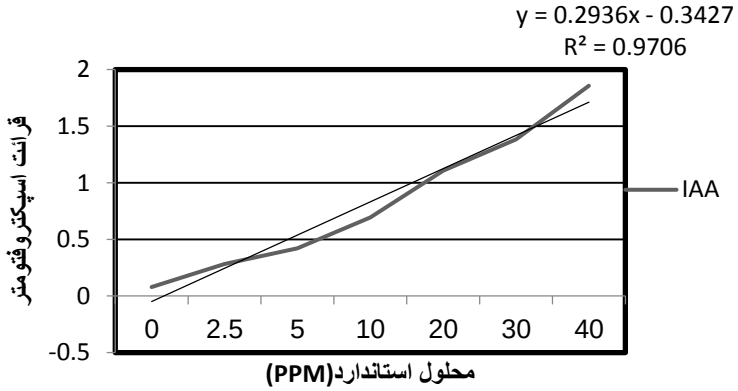
۲-جداسازی و خالص سازی باکتری های روده کرم خاکی: برای این مرحله کرم جدا شده از ورمی کمپوست به دقت

شستشو و توسط الکل ۹۵٪ و هیپو کلرید سدیم ۵٪ در دو مرحله ضد عفونی سطحی شد،هیپو کلرید سدیم اضافی طی ۵ نوبت با آب مقطر استریل شستشو گردید، سپس روده کرم خاکیدر زیر بینوکولر با تیغ اسکارپل جدا و به ازای روده ی هر یک کرم ۱ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد و سپس به صورت سوسپانسیون در آمد. در مرحله آخر اقدام به کشت سوسپانسیون باکتری بر روی محیط کشت NA و نهایتاً جداسازی و خالص سازی باکتری های مذکورشد.

۳-جداسازی و خالص سازی کل باکتری های بدن کرم خاکی: برای این مرحله کرم جدا شده از ورمی کمپوست به دقت شستشو و توسط الکل ۹۵٪ و هیپو کلرید سدیم ۵٪ در دو مرحله ضد عفونی سطحی شد، هیپو کلرید سدیم اضافی طی ۵ نوبت با آب مقطر استریل شستشو گردید، سپس کل کرم در آب مقطر استریل (به ازای هر کرم ۱ میلی لیتر) درون ویال های ۲/۵ml اپندورف کاملاً له شده و به صورت سوسپانسیون در آمد. در مرحله آخر اقدام به کشت سوسپانسیون باکتری بر روی محیط کشت NA و نهایتاً جداسازی و خالص سازی باکتری های مذکورشد.

۴- اندازه گیری خصوصیات محرک رشد گیاه (PGPs)باکتری های پوست، روده و کل بدن کرم خاکی: در این مرحله توان تولید IAA اندازه گیری آنالیز توانمندترین آنها انجام پذیرفت.

۵-آزمون کمی توان تولید IAA :مقدار تولید IAA توسط هر یک از جدایه ها با استفاده از محیط کشت LB مایع تعیین شد(پتن و گلیک، ۲۰۰۲).هر یک از باکتری های جداسازی شده به محیط کشت LB منتقل و سوسپانسیون تهیه شدهباکتری در ۱۲۰rpmطی سه روز شیک و سپس سانتریفیوژ شد. بعد از اضافه کردن معرف سالکوفسکی میزان جذب نور در طول موج ۵۳۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر قرائت و در مقایسه با منحنی استاندارد آن میزان تولید IAA تعیین گردید.



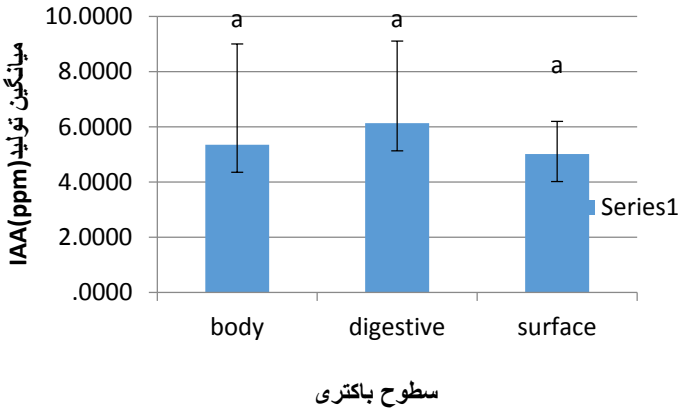
شکل۱-منحنی استاندارد تهیه شده برای تعیین میزان تولید IAA

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس و میانگین داده های میزان تولید هورمون ایندول استیک اسید در جداول زیر آمده است، همانطور که جدول شماره ۲ نشان می دهد میانگین تولید IAA در باکتری های روده کرم خاکی بیشتر از باکتری های پوستی و باکتری های کل بدن کرم خاکی می باشد، همچنین میانگین تولید IAA در باکتری های کل بدن کرم خاکی بیشتر از باکتری های پوست است، هر چند این افزایش از نظر آماری معنی دار نبوده است. انحراف معیار زیاد در باکتری های کل بدن هم نشان دهنده ی وجود باکتری های با توانمندی متفاوت از هم در بدن کرم خاکی می باشد(شکل ۲).

جدول۱-میانگین تولید IAA و انحرف معیار در سطوح مختلف

سطوح باکتری	میانگین تولید IAA(ppm)	انحراف معیار	تعداد نمونه
کل بدن	۵/۳۵۲۱	۳/۶۵۰۶۷	**۳۰**
روده	۶/۱۳۰۱	۲/۹۷۵۴۱	**۳۰**
پوستی	۵/۰۱۶۶	۱/۱۷۸۱۵	**۳۰**
کل	۵/۴۹۹۶	۲/۸۱۰۶۲	**۹۰**



شکل۲-میانگین تولید IAA و انحرف معیار در سطوح مختلف

جدول ۲ که از توزیع آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ به دست آمده است نشان داد که اختلاف معنی داری بین ۳ سطح باکتری در توان تولید ایندول استیک اسید وجود ندارد و همه ی آنها در یک سطح طبقه بندی شد.

جدول۲-توزیع دانکن

سطوح مختلف باکتری	تعداد نمونه	زیر مجموعه
		a
پوستی	۳۰	۵/۰۱۶۶
کل بدن	۳۰	۵/۳۵۲۱
روده	۳۰	۶/۱۳۰۱
Sig.		۰/۱۵۰

نتیجه گیری

نتایج حاصله از اندازه گیری توان تولید هورمون ایندول استیک در ۳ سطح باکتری های پوستی، روده و کل بدن کرم خاکی *ایزنیا فتیدا* نشان داد که اختلاف معنی داری در تولید این هورمون رشدی بین ۳ سطح وجود ندارد. همچنین نتایج نشان داد در بین ۳ سطح مورد بررسی، باکتری های کل بدن کرم خاکی دارای انحراف معیار بیشتر و تفاوت زیاد در تولید ایندول استیک استیک توسط این باکتری ها بودند، باکتری های پوستی نیز دارای انحراف معیار کمتری در تولید ایندول استیک اسید بودند. در این باکتری ها توانایی تولید این هورمون نزدیک به هم بود.

منابع

Edwards C.A., Bohlen, C.J. Biology and Ecology of Earthworms.3rded.london:champan& Hall, 1996.

Edwards C.A., Lofty, J.R. Biology of Earthworms. champanHall.London, 1972.

Horn, M.A, Scharmm, A., Drake, H.L. The earthworm gut:an ideal habitat for ingested N2O-producing microorganisms. Appl Environ Microbiol 69:1662-1669, 2003.

Jean, J.s. Lee, S.S. Kim, H.Y. Ahn, T.S, and song, H.G: plant growth promoting in soil by some inoculanted microorganisms. J. Microbial. 271-276, . 2003

Ohkuma, M., Hongoh, Y., Kudo, T. Diversity and Molecular Analyses of Yet-uncultivated Microorganisms.In:Konig, H., Varma, A. (Eds). Soil Biology. Volume, 6.p 317-331.Springer, Berlin,2006.

Patten, C. L., Glick, B. R.Role of Pseudomonas putidaindoleacetic acid in development of the host plant root system. Appliedand Environmental Microbiology, 68 (8), 3795 – 3801,2002.

Parle, J.N. Micro-organisms in the intestines of earthworms.Jurnal of General Microbiology 31:1-11, 1963.

تاثیر غنی سازی(نیتروژن، گوگردو فسفر) بر خصوصیات بیولوژیکی و شیمیایی ورمی کمپوست

آرش همتی [۱] ، حسینعلی علیخانی [۲]
۱-دانشجوی دکترا بیولوژی خاک دانشگاه تبریز
۲-دانشیار گروه علوم خاک دانشگاه تهران

مقدمه

یکی از دلایل اثرات مخرب کودهای شیمیایی تاثیر منفی بر روی شاخص های بیولوژیکی می باشد برای مثال کانالی و همکاران (2004) گزارش کردند کاربرد کودهای شیمیایی باعث کاهش تنفس خاک شده و بر عکس کاربرد کودهای آلی باعث افزایش شدید فعالیت جامعه زیستی خاک و تنفس گردیده است. کاربرد طولانی مدت کود آلی و شیمیایی بر خصوصیات خاک مورد بررسی گرفته و در تمام این بررسی ها زیست توده کربنی ناشی از مصرف کودهای زیستی و آلی بطور کاملا معنی داری اقزایش یافته است (حجتی و نوربخش، 2006). همچنین گزارشات متعددی مبنی بر اثرات سوء کودهای شیمیایی بر روی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک وجود دارد که علاوه بر برهم زدن تعادل تغذیه ای، باعث تخریب خصوصیات فیزیکی و از جمله افزایش فشردگی خاک می شوند (بروسارد و همکاران، ۱۹۹۷).

ورمی کمپوست کود زیستی محرک رشد گیاه است که محصول نهایی فرایند تجزیه مواد آلی در حضور کرم های خاکی کمپوستر بوده و با عبور مداوم مواد آلی از سیستم گوارش کرم، مواد اولیه تجزیه و به صورت نسبتا پایدار تبدیل می گردد. به دلیل کاهش سطح آلاینده ها و داشتن سطح بالای جمعیت میکروبی و عناصر غذایی، در حال حاضر به عنوان یکی از بهترین کودهای زیستی مطرح می باشد(راوین دران و همکاران، ۲۰۰۸)

یکی از دلایل عمده عدم رغبت کافی برای کاربرد گسترده ورمی کمپوست در مزرعه، نیاز به مقادیر نسبتا بالای ورمی کمپوست برای افزایش محسوس عملکرد می باشد. لذا یکی از راه هایی که می تواند اثر بخشی ورمی کمپوست را افزایش داد، غنی سازی آن می باشد. محققان نیز گزارش کردند که برای توسعه ی کشاورزی پایدار، غنی سازی پسماندهای آلی می تواند مفید واقع شود. غنی سازی ورمی کمپوست با باکتری های حل کننده فسفات و تثبیت کننده نیتروژن اخیرا انجام شده که موجب افزایش فسفر قابل جذب و همچنین افزایش نیتروژن کل در ورمی کمپوست گردیده است. افزایش جمعیت میکروبی، افزایش اسید هیومیک و کاهش pH ، کاهش ماده آلی و کاهش C/N در ورمی کمپوست غنی شده با تیمارهای باکتریایی گزارش شده است(کائوشیک و همکاران2008 ,بوساتو وهمکاران، 2012). غنی سازی کمپوست با سولفات آمونیم و اوره بصورتی که نیتروژن در ابتدای کمپوستینگ به فرم های جامد یا محلول به بستر اضافه گردد، انجام شده و در نهایت باعث افزایش نیتروژن کل و اثربخشی بیشتر شده است (آدامتی و همکاران، ۲۰۰۹).

لذا در این تحقیق سعی شد تا امکان و اثر غنی سازی ورمی کمپوست با عناصر غذایی بر روی کیفیت ورمی کمپوست بررسی شود و با اندازه گیری برخی از شاخص های شیمیایی، بیولوژیکی در ورمی کمپوست غنی شده امکان مصرف هدف مند و موثر ورمی کمپوست فراهم گردد.

مواد و روشها

برای این تحقیق سعی شد از عناصر غذایی و ضروری که بیشترین اهمیت و مصرف را در کشاورزی دارند استفاده شود. برای این منظورپنج تیمار بشرح زیر و در سه تکرار انتخاب شد:

۱- ورمی کمپوست بدون غنی سازی، ۲- ورمی کمپوست + ۱ درصد نیتروژن، ۳- ورمی کمپوست + ۱ درصد گوگرد عنصری، ۴- ورمی کمپوست+ ۱ درصد فسفر، ۵- ورمی کمپوست + ۱ درصد نیتروژن + ۱ درصد گوگرد عنصری + ۱ درصد فسفر(P_2O_5) (نیتروژن با کود اوره، فسفر با سوپر فسفات تریبل، گوگرد گوگرد عنصری تامین شد).

همه تیمارهاتا ۶۰ درصدظرفیتنگهداری‌با آب مقطر مرطوب شدند. در نهایت نمونه ها به مدت ۶۰ روز در انکوباتور در دمای ۲۸ درجه سانتیگراد نگهداری شدند و در پایان برخی از ویژگی های بیولوژیکی، شیمیایی اندازه گیری شد.

از شاخص های بیولوژیکی اندازه گیری شده در این تحقیق جمعیت میکروبی با روش CFU(Colony Forming Unit) و برای اندازه گیری شاخص های شیمیایی، نیتروژن کل با روش کجلدال، فسفر قابل جذب طبق روش اولسن ، سولفات محلول با روش باردسلی و لندکستر، کربن آلی با روش واکلی- بلک،pH با دستگاه pH متر در سوسپانسیون ۱:۵ (آب مقطر: ورمی کمپوست)استفاده شد(پیج ۱۹۸۲).

نتایج و بحث:

طبق جدول ۱، فرایند غنی سازی ورمی کمپوست با عناصر غذایی باعث افزایش معنی داری در زیست توده (جمعیت) میکروبی(CFU)در تیمارها شد و تیمار ۵ دارای بیشترین جمعیت میکروبی و تیمار ۱ دارای کمترین جمعیت میکروبی اندازه گیری شده با روش (CFU) بود. بیشترین جمعیت میکروبی (به روش CFU) در روز ۶۰ مشاهده شد. تیمارهای کودی اعمال شده با تامین عناصر مورد نیاز جامعه میکروبی از جمله نیتروژن، کربن و گوگرد و فسفر باعث افزایش جمعیت میکروبی می شوند(شازینگر و همکاران، ۲۰۰۰).

جدول ۱- مقایسه میانگین جمعیت باکتریایی حل کننده فسفات و تثبیت کننده نیتروژن در هر گرم از ورمی کمپوست غنی شده

Treatments	Days			
	0	20	40	60
1	1.28^{a}	2.37^{e}	2.73^{e}	2.4^{e}
2	1.27^{a}	4.85^{d}	8.43^{d}	12.3^{d}
3	1.28^{a}	5.53^{b}	13.80^{b}	29.3^{b}
4	1.28^{a}	5.30^{c}	12.00^{c}	26.0^{c}
5	1.29^{a}	12.23^{a}	23.97^{a}	35.3^{a}

حروف کوچک متفاوت a,b,c,... اختلاف معنی دار بین تیمارها در دمای ۲۸ درجه را نشان می دهد.

عناصر کودی غنی شده در طول انکوباسیون به جز گوگرد قابل جذب تغییرات مشابهی داشتند و با یک کاهش کمی همراه بودند. با توجه به غنی سازی تیمار ۳ و ۵ با گوگرد عنصری، گوگرد قابل جذب با افزایش زمان

انکوباسیون زیادتر شد. برای قابل استفاده شدن گوگرد، از راه تبدیل آن به سولفات، مهیا کردن چهار شرط شامل: رطوبت، مواد آلی، جایگذاری عمقی و میکروارگانیسمهای اکسیده‌کننده گوگرد الزامی می باشد(بروسارد و همکاران، ۱۹۹۷).و در طول انکوباسیون با مهیا شدن این شرایط گوگرد قابل جذب زیادتر شد ولی این افزایش در تیمار ۵ بیشتر بود که افزایش فعالیت بیولوژیکی می تواند در این تیمار علت این افزایش باشد(جدول ۲).

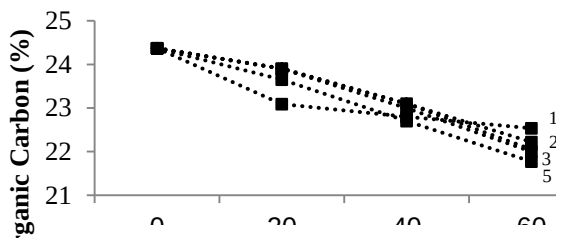
مقدار کل کربن آلی طی فرایند انکوباسیوندر تمام تیمارها کاهش یافت. تیمار ۵ بیشترین و تیمار ۱ کمترین، کاهش ماده آلی را داشتند(شکل۱). کاهش ماده آلی در طی فرایند غنی سازی ناشی از افزایش فعالیت باکتری ها و افزایش تنفس است که نشان دهنده هوموسی شدن و پایدار شدن مواد آلی در ورمی کمپوست با افزایش زمان غنی سازی می باشد **(**بوزاتو و همکاران ۲۰۱۲**)**. با افزایش زمان انکوباسیون کربن آلی با شیب بیشتری کاهش یافت که افزایش جمعیت میکروبی دلیل اصلی این کاهش می تواند باشد (شکل۱).

pHدر تیمار ۳ دارای کمترین مقدار بود که در طول انکوباسیون گوگرد عنصری با کاهش و اکسایش(یعنی با تولید H_2S و SO_4^{-2}) منجر به تولید H^+ و باعث کاهش pHدر این تیمار گردیده است (دروسچلت و همکاران2003)و pH این تیمار در طول انکوباسیون کاهش محسوسی یافت. بیشترین pH در تیمار ۲ مشاهده شد که احتمالا در طی انکوباسیون اوره به کربنات آمونیوم تبدیل شده که این فرم با هیدرولیز شدن به بی کربنات آمونیوم، آمونیوم و هیدروکسید آمونیوم تغییر شکل داده و باعث افزایش pHدر این تیمار شده است(آدامتی و همکاران، ۱۹۹۷).در تیمار ۴ نیز در طی انکوباسیون pH کاهش یافت که احتمالا افزایش جمعیت میکروبی و تولید اسید های آلی می تواند علت آن باشد.تیمار ۵ که با گوگرد و اوره غنی سازی شده بود تغییراتpHکمتری داشت و احتمالا گوگرد عنصری و اوره در طی انکوباسیون اثرات یکدیگر را خنثی کرده اند(شکل ۲).

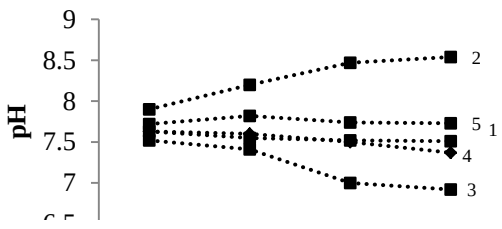
جدول ۲- مقایسه میانگین مقادیر نیتروژن، فسفر و سولفات قابل جذب در تیمارهای ورمی کمپوست غنی شده (گرم برکیلوگرم).

Treatments	N		S		P	
	Start	End	Start	End	Start	End
1	1.20^{b}	1.23^{b}	1.94^{b}	1.942^{c}	0.82^{b}	0.81^{c}
2	2.20^{a}	2.10^{a}	1.94^{b}	1.933^{c}	0.82^{b}	0.77^{d}
3	1.20^{b}	1.15^{c}	2.12^{a}	2.557^{b}	0.82^{b}	0.88^{b}
4	1.20^{b}	1.17^{c}	1.94^{b}	1.942^{c}	1.25^{a}	1.16^{a}
5	2.20^{a}	2.09^{a}	2.12^{a}	2.652^{a}	1.25^{a}	1.14^{a}

حروف کوچک متفاوت a,b,c,... اختلاف معنی دار بین تیمارها در دمای ۲۸ درجه را نشان می دهد



شکل ۱- تغییرات کربن آلی در تیمارهای آزمایشی در زمانهای مختلف



شکل ۲- تغییرات pH در تیمارهای آزمایشی در زمانهای مختلف

نتیجه گیری

در فراین غنی سازی ورمی کمپوست بطور کلی نتایج نشان داد ورمی کمپوست حامل و بستر مناسبی برای افزایش زیست فراهمی و قابلیت جذب عناصر غذایی اضافه شده و مستعد فرایند غنی سازی می باشد و یعنی می توان برای افزایش اثر بخشی و کاهش حجم مصرف ورمی کمپوست در خاک، آن را با عناصر شیمیایی غنی سازی کرد. نوع عناصر غیر آلی که به منظور غنی سازی به ورمی کمپوست اضافه می شوند بسیار مهم می باشد. اضافه کردن نیتروژن به ورمی کمپوست به شکل اوره با افزایش pH اثرات نامطلوبی بر روی خصوصیات بیولوژیکی و شیمیایی گذاشت و مفید نبود. افزایش اوره همراه گوگرد با متعادل کردن pHاثرات مفیدی داشت و لذا برای غنی سازی ورمی کمپوست از نظر نیتروژن، استفاده از اوره به همراه گوگرد توصیه می شود و همچنین می توان اثر استفاده از کودهایی نیتروژنی که باعث کاهش pH در محیط می شوند(مثل سولفات آمونیوم) نیز در آینده بررسی شود.

منابع:

Adamtey N, Cofie O, Ofosu-Budu GK, Danso SKA, Forster D, 2009. Production and storage of N-enriched co-compost. Waste Management. 29, 2429–2436.

Brussard L and Ferrera-Cenato R, 1997.Soil ecologyin sustainable arrigultural systems. New York: Lewispublishers, U. S. A.; 168 P.

BusatoJG, Lima LS, Aguiar NO, Canellas LP, Olivares FL, 2012.Changes in labile phosphorus forms during maturation of vermicompost enriched with phosphorus-solubilizing and diazotrophicbacteria.Biores. Technol. Accepted.

Canali S, Trinchera A, Intrigliolo F, Pompili L, Nisini, L, Mocali S, Torrisi, B., 2004. Effect of long term addition of composts and poultry manure on soil quality of citrus orchards in Southern Italy.Biol.andFertil. Soils 40: 206-210.

Druschel GK, Hamamers RJ, Banfield JF, 2003.Kinetics and mechanism of polythionate oxidation to sulfate at low pH by O2 and Fe 3+.GeochimicaetCosmochimicaActa, Vol. 67, No. 23, pp. 4457–4469.

Hojjati S, Nourbakhsh F, 2006. Enzyme activities and microbial biomass carbon in a soil amended with organic and inorganic fertil. J. Agron. 5: 563-579.

Ravindran B, Dinesh SL, John Kennedy L and Sekaran G, 2008. Vermicomposting of Solid Waste Generated from Leather Industries Using Epigeic Earthworm Eiseniafetida. Applied Biochemical Biotechnology. 151: 480–488.

Kaushik P, Yadav YK, Dilbaghi N, Garg VK, 2008. Enrichment of vermicomposts prepared from cow dung spiked solid textile mill sludge using nitrogen fixing and phosphate solubilizing bacteria. Environmentalist. 28:283–287.

Page AL, 1982.Methods of Soil Analysis.Agronomi 9, ASA, SSSA, Madison, Wiscosin, USA.Schlesinger WH, Andrews JA, 2000. Soil respiration and the global carbon cycle.Biogeochemistry. 48: 7–20.

جداسازی باکتری‌های حل‌کننده فسفات از مزارع برنج استان مازندران

اسماعیل بخشنده[1]، حشمت‌اله رحیمیان[2]، همت‌اله پیردشتی[3]، قربانعلی نعمت‌زاده[3]، سید محمد علوی[4]

۱- دانشجوی دکتری فیزیولوژی مولکولی، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۲- استاد گروه گیاهپزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۳- دانشیار و استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

٤- کارشناس آزمایشگاه میکروبیولوژی، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

مقدمه

برنج به عنوان یکی از محصولات مهم و راهبردی زراعی کشور از گذشته‌های دور در سبد مصرفی خانواده‌های ایرانی از اهمیت ویژه‌ایی برخوردار بود. امروزه با توجه به کمبود تولید و افزایش هزینه‌های نهاده‌های مصرفی در بخش کشاورزی (از قبیل کود و سم) و همچنین افزایش آلودگی‌های زیست‌محیطی، استفاده از کودهای زیستی در جهت بهبود تأمین عناصر غذایی برای رسیدن به کشاورزی پایدار را امری اجتناب‌پذیر ساخته است. فسفر دومین و مهم‌ترین عنصر مورد نیاز گیاهان و ریزجانداران بوده و بیشترین نقش آن در فرآیند تولید و انتقال انرژی است (فلاح نصرت‌آبادی و همکاران، ۱۳۸۲). به‌طور کلی، در اکثر خاک‌ها فسفر معدنی و یا منابع تأمین‌کننده فسفر برای گیاه به حد کافی وجود دارد، اما تنها بخش بسیار ناچیزی (حدود ۰/۱ درصد) از این عنصر برای گیاهان قابل استفاده می‌باشد (زیو و همکاران، ۲۰۱۱). علت آن را می‌توان تثبیت سریع این عنصر در خاک و تبدیل آن به ترکیبات نامحلول (از قبیل فسفات آهن، آلومینیوم، کلسیم و منیزیم) دانست (فلاح نصرت‌آبادی و همکاران، ۱۳۸۲). در چند دهه اخیر کاربرد ریزجانداران حل‌کننده فسفات (از جمله باکتری‌ها و قارچ‌ها) در قالب کود زیستی به عنوان یک راه‌حل مناسب برای رفع این مشکل معرفی شده است. در این بین، باکتری‌های حل‌کننده فسفات (PSB) از اهمیت قابل توجهی برخوردارند. این ریزجانداران از طریق اسیدی‌کردن، کلات‌کردن، تبادلی‌کردن و معدنی‌کردن قابلیت آزادسازی فسفر نامحلول و تثبیت‌شده توسط ذرات خاک را دارند (آرکاند و اسجنیدر، ۲۰۰۶). کارایی PSBها به تعامل بین باکتری و خصوصیات منطقه ریزوسفر ریشه گیاه میزبان وابسته است. در نتیجه برای جداسازی این گونه از باکتری‌ها می‌توان از باکتری‌های منطقه ریزوسفر ریشه گیاه میزبان، کلنی‌ها با جمعیت بالا و استقرار مناسب استفاده نمود (آرژل و همکاران، ۲۰۰۰). در مجموع، پس از بررسی ۶۳ مورد از مقالات ارائه شده در همایش‌های ملی و مجلات علمی و پژوهشی کشور مشاهده شد که تنها ۱۰ درصد از مطالعات صورت گرفته در این حوزه در خصوص جداسازی و شناسایی باکتری‌های حل کننده فسفات بوده است. در صورتی که برای رسیدن به موفقیت و خودکفایی در زمینه تولید کودهای زیستی، انجام مطالعات اولیه و پایه‌ای (یعنی جداسازی و شناسایی) از جمله مهم‌ترین مراحل است که متأسفانه در کشور کمتر مورد توجه قرار گرفته شده است. بنابراین، به دلیل عدم وجود مطالعات جامع در خصوص شناسایی و جداسازی PSBها از منطقه ریزوسفر ریشه برنج در کشور، هدف این مطالعه مقدماتی شناسایی، جداسازی و

ارزیابی PSB های کارآمد و معرفی جهت بررسی‌های تکمیلی برای رفع مشکل کمبود فسفر گیاه برنج در خاک‌هایی با قابلیت استفاده فسفر پایین در نظر گرفته شد.

مواد و روش‌ها

تعداد ۴۶ نمونه خاک در بهمن‌ماه سال ۱۳۹۱ از مزارع برنج استان مازندارن با حداقل ۵ تا ۱۰ سال سابقه کشت برنج یا تناوب برنج با شبدر و جو جمع‌آوری شد. از هر مزرعه چند بوته برنج باقیمانده از سال قبل به همراه خاک اطراف ریشه نمونه‌برداری و در کیسه‌های پلاستیکی استریل قرار گرفت. نمونه‌ها بلافاصله به آزمایشگاه میکروبیولوژی، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان منتقل و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا انجام مراحل بعدی آزمایش نگهداری شدند. برای جداسازی باکتری‌ها، ابتدا یک گرم خاک از هر نمونه به نه میلی‌لیتر آب نمک استریل (کلرید سدیم ۰/۸۵ درصد) در فالکون‌های ۱۵ میلی‌لیتری (استریل شده) اضافه و سوسپانسیونی به نسبت (۱:۱۰) تهیه گردید. سوسپانسیون‌ها به مدت دو ساعت روی شیکر (۱۵۰ دور در دقیقه) و در دمای اتاق تکان داده شدند (فلاح نصرت‌آبادی و همکاران، ۱۳۸۲). در پایان، رقت‌دهی تا 10^{-4} یا 10^{-5} در آب استریل حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر سیکلوهگزیمید انجام شد. از این رقت به مقدار ۶۵ میکرولیتر با دو تکرار بر روی تشتک‌های (با قطر ۹ سانتی‌متر) حاوی محیط کشت آگار غذایی سوکروزدار (NAS) پخش شد. تشتک‌ها در دمای ۱±۲۹ درجه‌سانتی‌گراد نگهداری شده و جداسازی باکتری‌ها بر اساس اندازه، رنگ و ارتفاع کلنی، ۴۸ ساعت بعد از زمان کشت انجام شد. برای شناسایی و ارزیابی باکتری‌های حل‌کننده فسفات، هر ایزوله به طور جداگانه بر روی محیط کشت پیکوفسکی (۱۹۴۸) (PVK حاوی گلوکز ۱۰ گرم، تری‌کلسیم فسفات ۵ گرم، عصاره مخمر ۰/۵ گرم، سولفات آمونیوم ۰/۵ گرم، کلرید پتاسیم ۰/۲ گرم، کلرید سدیم ۰/۲ گرم، سولفات منیزیم ۰/۱ گرم، سولفات آهن ۰/۰۰۰۳ گرم، سولفات منگنز ۰/۰۰۰۳ گرم و آگار ۱۰ گرم در لیتر با اسیدیته ثابت ۷ (محیط کشت جامد) کشت داده شد. تشتک‌ها در دمای ۱±۲۹ درجه‌سانتی‌گراد به مدت ۵ روز نگهداری شدند. برای شناسایی باکتری‌های حل‌کننده فسفات از خصوصیات شفاف‌سازی محیط پیرامون کلنی آن‌ها استفاده گردید. بعد از شناسایی و جداسازی این گونه از باکتری‌ها از محیط کشت جامد پیکوفسکی، برای ارزیابی میزان قابلیت آن‌ها به عنوان باکتری‌های حل‌کننده فسفات، هر ایزوله به صورت جداگانه در محیط کشت مایع پیکوفسکی به مدت ۱۰۰ ساعت روی شیکر (۱۰۰ دور در دقیقه) و در دمای ۱±۲۹ درجه‌سانتی‌گراد کشت داده شد (۲۵ میلی‌لیتر محیط کشت مایع در فالکون‌های ۵۰ میلی‌لیتری استریل شده با دو تکرار). در پایان، ۲ میلی‌لیتر محیط کشت از هر فالکون برداشت و به ویال‌های ۲ میلی‌لیتری انتقال داده شد. سپس برای حذف باکتری و مواد جامد موجود در محیط کشت، ویال‌ها به مدت ۱۰ دقیقه، در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شدند، محلول شفاف بالای هر ویال به ویال‌های جدید منتقل شد. در نهایت فسفر قابل استفاده با روش پیشنهاد شده توسط واتانابی و السن (۱۹۶۵) اندازه‌گیری شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ استفاده گردید.

نتایج و بحث

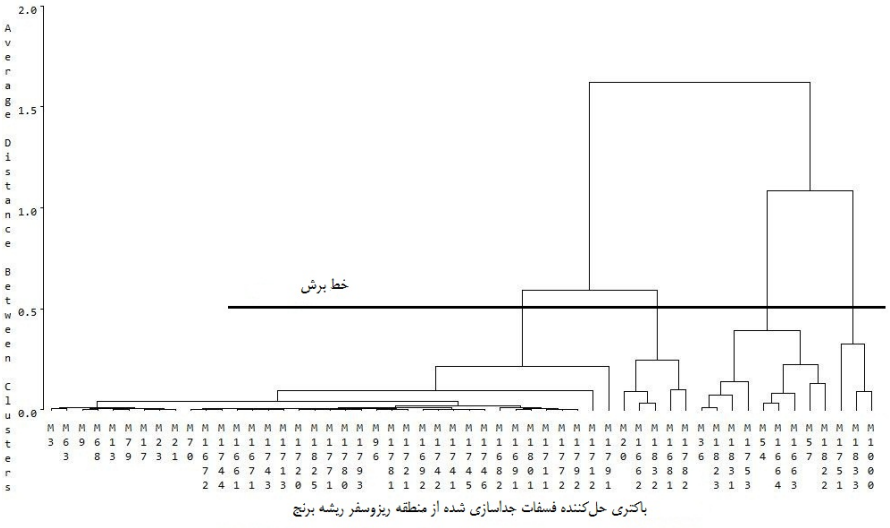
در مجموع ۳۰۰ ایزوله باکتری از منطقه ریزوسفر ریشه برنج جداسازی و خالص‌سازی شد. جهت شناسایی اولیه، توانایی باکتری‌ها برای حل‌کنندگی فسفات روی محیط کشت PVK مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که تنها ۱۸ درصد از ایزوله‌ها (۵۴ ایزوله) قادر به تولید هاله شفاف (حل‌کردن تری‌کلسیم فسفات نامحلول) در محیط

کشت جامد بودند. بعد از کشت این ایزوله‌ها در محیط کشت مایع، نتایج تجزیه واریانس نشان داد که از نظر مقدار حل‌کنندگی فسفات بین ایزوله‌ها جداسازی‌شده در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری وجود داشت. تجزیه کلاستر، ایزوله‌های حل‌کننده فسفات را بر اساس مقدار و قدرت حل‌کنندگی فسفات در چهار گروه خیلی خوب (> ۲۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر)، خوب (< ۲۵۰ و > ۱۱۵ میکروگرم در میلی‌لیتر)، متوسط (< ۱۱۵ و > ۵۴ میکروگرم در میلی‌لیتر) و ضعیف (< ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) دسته‌بندی نمود. در جدول ۱ و شکل ۱ مقدار حل‌کنندگی فسفات هر یک از ایزوله‌ها و گروه‌بندی آن‌ها (تجزیه کلاستر) نشان داده شده است. بر اساس نتایج ارائه شده در جدول شماره یک تنها ۳، ۹، ۵ و ۳۷ ایزوله به ترتیب در گروه اول، دوم، سوم و چهارم قرار گرفتند. در همین زمینه نیز گوپالایشنان و همکاران (۲۰۱۰) اظهار داشتند که ریزجانداران جداسازی‌شده از منطقه ریزوسفر ریشه گیاه میزبان ممکن است نسبت به ریزجانداران جداسازی‌شده از منابع یا مناطق دیگر بهتر با گیاه میزبان سازگاری داشته باشند، که علت آن را می‌توان به سازگاری باکتری‌ها با سیستم ریشه گیاه و شرایط محیطی منطقه نسبت داد. بنابراین، از نتایج این مطالعه می‌توان در جهت معرفی مناسب‌ترین جدایه‌های از باکتری‌های حل‌کننده فسفات با قدرت حل‌کنندگی بالا (به عنوان مثال گروه اول از باکتری‌های جداسازی شده) به منظور استفاده از آن‌ها مطالعات بعدی از جمله در تولید کودهای زیستی قابل استفاده در مزارع برنج شمال کشور استفاده نمود.

جدول ۱- مقدار حل‌کنندگی فسفات ایزوله‌های باکتری جداسازی شده از منطقه ریزوسفر ریشه برنج و گروه‌بندی آن‌ها.

گروه‌بندی	خطای استاندارد ± مقدار حل‌کنندگی فسفات (میکروگرم در میلی‌لیتر)						
اول	M1751	M1833	M1000				
(خیلی خوب)	۲۹۴/۶±۸/۱۷	۲۵۴/۲±۱۰/۲	۲۶۳/۸±۰/۴۷				
دوم	M54	M1664	M1663	M57	M1822	M36	M1823
(خوب)	۱۴۷/۵±۱/۹۲	۱۵۰/۹±۵/۲۹	۱۴۰/۸±۶/۷۳	۱۳۰/۲±۱/۹۲	۱۱۶/۳±۹/۱۳	۱۷۱/۸±۱۲/۷	۱۷۰/۸±۰/۲۴
	M1831	M1753					
	۱۷۹/۰±۸/۹۰	۱۸۸/۴±۳/۸۵					
سوم	M20	M1662	M1832	M1681	M1782		
(متوسط)	۵۴/۵۴±۵/۷۶	۶۶/۰۸±۴/۰۸	۶۲/۴۸±۱/۴۴	۸۱/۲۲±۸/۱۷	۹۲/۱۵±۰/۳۶		
چهارم	M3	M63	M9	M68	M13	M79	M17
(ضعیف)	۹/۸۵±۰/۱۵	۹/۵۶±۰/۰۵	۱۰/۶۶±۰/۲۹	۱۰/۸۶±۰/۷۷	۱۱/۰۰±۰/۴۳	۱۱/۱۰±۵/۸۲	۱۰/۴۷±۰/۱۰
	M23	M21	M70	M1672	M1744	M1661	M1671
	۱۰/۴۳±۰/۰۵	۱۰/۱۸±۰/۸۶	۵/۶۲±۰/۳۸	۵/۶۷±۱/۱۵	۵/۶۷±۰/۱۴	۵/۹۴±۰/۳۶	۵/۹۴±۰/۲۶
	M1720	M1825	M1771	M1780	M1793	M96	M1781
	۵/۵۰±۰/۶۰	۵/۴۸±۰/۰۰	۳۸/۵±۰/۱۹	۵/۲۸±۰/۱۹	۵/۳۳±۰/۱۹	۶/۱۲±۰/۴۱	۶/۲۵±۰/۱۴
	M1692	M1742	M1741	M1745	M1746	M1682	M1691
	۴/۷۸±۰/۲۲	۴/۹۰±۰/۳۳	۵/۰۹±۰/۳۳	۵/۰۷±۰/۱۲	۴/۹۹±۰/۰۵	۸/۵۳±۱/۶۱	۷/۷۶±۰/۱۲
	M1711	M1772	M1792	M1712	M1791	M1743	M1713
	۷/۳۵±۰/۶۷	۷/۳۰±۰/۰۹	۷/۳۳±۲/۰۴	۱۷/۱۶±۴/۰۸	۳۰/۹۹±۰/۰۰	۵/۹۵±۰/۵۷	۵/۸۶±۰/۴۸
	M1721	M1801					
	۶/۰۰±۰/۶۰	۷/۶۲±۰/۷۹					

نام ایزوله با حروف لاتین و مقدار حل کنندگی فسفات با عدد نشان داده شده است.


Average Distance Between Clusters
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
خط برش
M3693 M8396 M1739 M7123 M2731 M1067 M1111 M1111 M1111

بررسی تأثیر مواد آلی و معدنی بر روی خصوصیات بیولوژیکی خاک‌های سدیمی دشت ملایر، استان همدان

آرمان نادری*[1]، محمد امیر دلاور[2]
۱-دانشجوی دکتری پیدایش، رده¬بندی و ارزیابی خاک، دانشگاه زنجان
۲-استادیار پیدایش، رده¬بندی و ارزیابی خاک ، دانشگاه زنجان
***armannaderi@znu.ac.ir**

مقدمه

اضافه کردن مواد آلی از منابع مختلف نظیر کود سبز و کود دامی باعث بهبود خصوصیات شیمیایی و بیولوژیکی خاک‌های سدیمی شده است (ونگ و همکاران، ۲۰۰۹). مصرف گچ و سولفات آلومینیوم توأم با ماده آلی در مقایسه با کاربرد جداگانه آن‌ها تا حدی تعدیل کننده اثرات منفی چون افزایش هدایت الکتریکی می‌باشد (مورفی و همکاران، ۱۹۹۸؛ توال، ۲۰۰۰؛ رایتز و هاینس، ۲۰۰۳). از طریق کاربرد مواد نسبتاً ارزان قیمت و فراوان موجود در کشور نظیر گچ، سولفات آلومینیوم و به ویژه روش‌های اضافه کردن مواد آلی (کاه و کلش، کود سبز، ضایعات کارخانجات و فاضلاب) تأثیر بسیار زیادی در اصلاح و بهره‌وری این اراضی به‌همراه خواهد داشت، لذا در این تحقیق تأثیر مواد آلی و معدنی بر خصوصیات بیولوژیکی خاک‌های سدیمی دشت ملایر به عنوان یکی از مناطقی که خاک‌های سدیمی گسترش بسیار زیادی دارد مورد بررسی قرار می‌گیرد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تاثیر ماده آلی شامل کاه و کلش خرد شده یونجه (C:N=18) ترکیبات کلسیم دار نظیر گچ معدنی ($CaSO_4.2H_2O$) و سولفات آلومینیم ($Al_2 (SO_4)_3$) بر تنفس میکروبی و کربن آلی در آزمایش گلدانی در قالب طرح پایه کاملا تصادفی با ۹ تیمار و ۳ تکرار به اجرا در آمد. تیمارها شامل: ۱- شاهد (B) ۲- کاه و کلش به میزان ۲/۵ درصد (O_1) ۳ - کاه و کلش به میزان ۵ درصد (O_2) ۴- گچ به میزان نیاز گچی (G) ۵- گچ به اندازه نیاز گچی + ۲/۵ درصد ماده آلی ($G+O_1$) ۶- گچ به اندازه نیاز گچی + ۵ درصد ماده آلی ($G+O_2$) ۷- سولفات آلومینیم به اندازه نیاز گچی (AS) ۸- سولفات آلومینیم + ۲/۵ درصد ماده آلی ($AS+O_1$) ۹- سولفات آلومینیم + ۵ درصد ماده آلی ($AS+O_2$) می‌باشند. در فواصل دو و چهار ماه پس از اعمال تیمارها بر روی نمونه‌های خاک خصوصیات بیولوژیکی مختلف خاک اندازه‌گیری شد. نیاز گچی از رابطه GR (meq/100g)=ESPi- ESPf/100×CEC (Cmol+/kg) محاسبه گردید. اندازه‌گیری تنفس میکروبی به روش اندرسون طی ۱۷ هفته انجام شد. کربن آلی به روش والکلی بلاک (نلسون و سامرز، ۱۹۸۲) اندازه‌گیری شد. نتایج حاصل از اندازه گیری‌های مختلف در قالب طرح پایه کاملا تصادفی توسط نرم افزارهای SPSS و MSTATC مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

نتایج و بحث

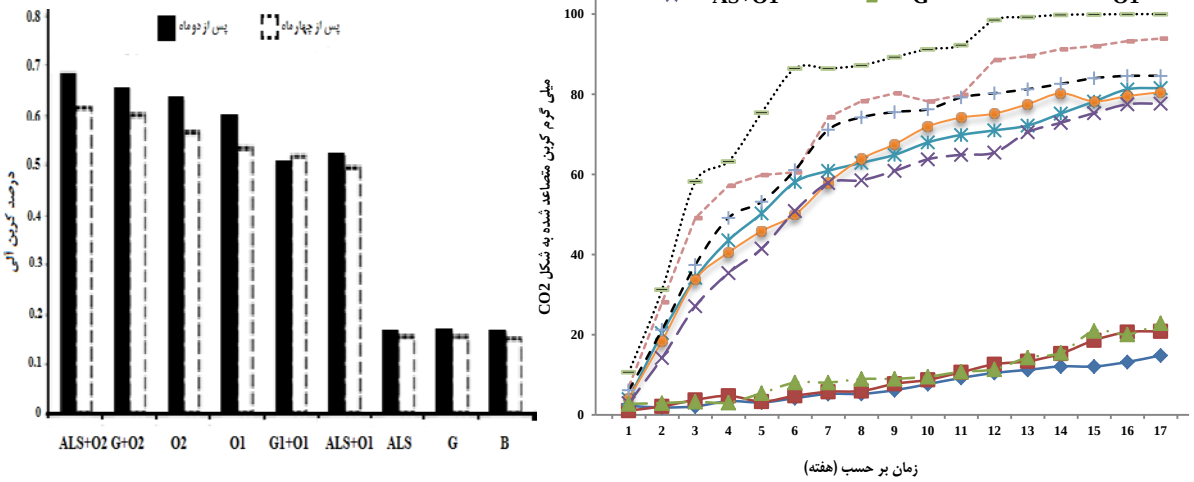
۱-تأثیر تیمارهای مختلف بر خصوصیات بیولوژیکی در خاک مورد مطالعه

اثر تیمارها بر فعالیت بیولوژیکی و درصد کربن آلی خاک در هر دو زمان در سطح یک درصد آماری معنی‌دار گردیده است (جدول ۱).

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس تأثیر تیمارها بر خصوصیات بیولوژیکی خاک اول پس از دو و چهار ماه

	فعالیت بیولوژیکی		درصد کربن آلی	
تیمار	پس از چهار ماه	پس از دو ماه	پس از چهار ماه	پس از دو ماه
	**	**	**	**
CV	۲/۸۵	۳/۴۵	۳/۶۰	۱/۲۹
LSD در سطح ۵٪	۰/۰۱۵	۰/۰۱۸۹۵	۱/۱۷۲	۱/۲۸۳

شکل ۱-الف) تغییرات تجمعی میزان دی‌اکسیدکربن ب) تغییرات درصد کربن آلی (دو و چهار ماه)



سطوح مختلف کاه و کلش یونجه، به ترتیب در ۵ و ۲/۵ درصد، در مقایسه با سایر تیمارها دارای بیشترین تأثیر بر فعالیت بیولوژیکی دو خاک پس از دو ماه داشتند که به ترتیب تنفس میکروبی را از ۷/۸۹۰ در شاهد به ترتیب به ۹۱/۸۸ و ۸۴/۸۵ در ۲۰ گرم خاک افزایش دادند. سپس تیمارهای گچ با ۵ درصد ماده آلی، گچ با ماده آلی ۲/۵ درصد و سولفات آلومینیوم با ۵ درصد ماده آلی به ترتیب مؤثرترین تیمارها در افزایش تنفس میکروبی بودند. کمترین تأثیر

نیز به ترتیب توسط تیمارهای سولفات آلومینیوم و گچ نسبت به شاهد مشاهده گردید. چهار ماه پس از اعمال تیمارها به طور کلی روند تغییر تنفس میکروبی در همه تیمارها به طور چشمگیر نسبت به دو ماه قبل (دوره قبل) کاهش یافته است. ولی در بین تیمارها در افزایش تنفس میکروبی تفاوت معنی‌دار نسبت به شاهد و تیمارها مشاهده می‌شود (شکل ۱ الف). چهار ماه پس از اعمال تیمارها، ماده آلی ۵ درصد به عنوان موثرترین تیمار تنفس میکروبی را نسبت به شاهد ۷/۵۲۵ درصد افزایش داده که این مقدار نسبت به دوره قبل به میزان ۱/۷۹ درصد کاهش یافته است. سپس به ترتیب تیمارهای گچ با ماده آلی ۵ درصد، ماده آلی ۲/۵ درصد، سولفات آلومینیوم با ماده آلی ۵ درصد به ترتیب تنفس میکروبی را نسبت به شاهد افزایش دادند. کمترین تأثیر این دوره به ترتیب در تیمار سولفات آلومینیوم، گچ و شاهد مشاهده گردید. سولفات آلومینیوم نسبت به گچ تأثیر منفی‌تری در هر دو دوره بر تنفس میکروبی داشت. وجود مواد غذایی کافی یکی از مهم‌ترین عوامل مؤثر بر افزایش ریزجانداران به خاک به حساب می‌آید و زمانی که مواد غذایی پاسخگوی جامعه میکروبی نباشد (چهار ماه پس از اعمال تیمارها) ریزجانداران حساس از بین خواهند رفت (چاندر و همکاران، ۲۰۰۶). بالا بودن سرعت تجزیه در سطوح ماده آلی به تنهایی شاید به دلیل شوری کم و یا دیسپرس شدن ذرات باشد، که هر دو این موارد در خاک مورد آزمایش مشاهده شد. در این آزمایش همبستگی بین رس قابل انتشار با تنفس میکروبی برابر با ۰/۲۳۱ می‌باشد، هر چند که معنی‌دار نمی‌باشد ولی نشان دهنده رابطه مستقیم بین این دو ویژگی می‌باشد. علت کاهش معنی‌دار میزان دی‌اکسیدکربن در اثر مصرف توأم مواد آلی و گچ و سولفات آلومینیوم پس از دو ماه را می‌توان افزایش فشار اسمزی و هدایت الکتریکی (به ترتیب به ۹/۷۷۳ و ۸/۶۵۰ دسی زیمنس بر متر) محلول خاک در اثر حل شدن گچ دانست. در تیمارهایی که این مواد معدنی با ماده آلی بکار رفته‌اند، تأثیر شوری به وجود آمده توسط مواد معدنی (گچ و سولفات آلومینیوم) بر روی کاهش تنفس میکروبی، کمتر می‌باشد. مصرف توأم مواد آلی و گچ یا سولفات آلومینیوم باعث کاهش میزان تجزیه این مواد (کاهش دی-اکسیدکربن متصاعد شده) و کاهش هدایت الکتریکی گردید. بنابراین می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که کاربرد توأم این مواد علاوه بر تسریع در بهبود خصوصیات مختلف خاک‌های سدیمی با کاهش سرعت تجزیه مواد آلی تأثیر مفید این مواد را تداوم بخشید. کاربرد گچ و سولفات آلومینیوم در مجموع تأثیری بر فعالیت میکروبی (دی‌اکسیدکربن متصاعد شده) نداشت ولی کاربرد سولفات آلومینیوم چهار ماه پس از اعمال تیمارها باعث کاهش میزان دی-اکسیدکربن متصاعد شده در مقایسه با شاهد گردید. شاید علت کاهش میزان دی‌اکسیدکربن متصاعد شده در تیمارهای حاوی سولفات آلومینیوم در مقایسه با تیمارهای حاوی گچ علاوه بر شوری تولید شده بیشتر توسط سولفات آلومینیوم (تفاوت در شوری بین تیمارهای حاوی سولفات آلومینیوم و گچ معنی‌دار می‌باشد) و یا سمیت ناچیزی که توسط آلومینیوم تولید می‌شود، باشد.

۲- درصد کربن آلی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها در جدول ۱ نشان می‌دهد که اثر تیمارها بر روی درصد کربن آلی در تیمارهای مختلف در خاک مورد مطالعه پس از دو و چهار ماه از اعمال تیمارها در دو خاک معنی‌دار می‌باشد. . اثر تیمارها بر روی درصد کربن آلی در تیمارهای مختلف در خاک مورد آزمایش پس از دو و چهار ماه از اعمال تیمارها در دو خاک معنی‌دار

می‌باشد. دو ماه پس از اعمال تیمارها، بیشترین میزان کربن آلی مربوط به اثر سولفات آلومینیوم با ماده آلی ۵ درصد می‌باشد؛ و پس از چهار ماه تیمار گچ با ماده آلی ۵ درصد بیشترین میزان کربن را در بین تیمارها دارد. نکته قابل توجه در تغییرات این پارامتر این است که با گذشت زمان از دو ماه به چهار ماه میزان دی‌اکسیدکربن در همه تیمارها نسبت به قبل کاهش می‌یابد و در تیمارهایی که با ماده آلی همراه می‌باشند. شدت این تغییرات نسبت به تیمارهای شاهد و گچ و سولفات آلومینیوم به تنهایی بیشتر می‌باشد. کمترین مقدار کربن آلی مربوط به تیمارهای شاهد، سولفات آلومینیوم و گچ می¬باشد. در روندی کاملاً مشابه بترتیب پس از سولفات آلومینیوم با ماده آلی ۵ درصد، گچ با ماده آلی ۵ درصد، تیمارهای ماده آلی ۵ درصد و ۲/۵ درصد در افزایش کربن آلی مؤثر واقع گردیدند، تفاوت این تیمارها با شاهد در سطح یک درصد آماری معنی¬دار گردید. و با مشاهده مقایسه میانگین¬ها بین اثر این تیمارها با یکدیگر با آزمون دانکن تفاوت معنی¬دار وجود دارد (شکل ۱ ب). دلیل احتمالی این نتایج را می‌توان به کیفیت مواد آلی موجود در کاه و کلش نسبت داد. غنی بودن کاه و کلش از پلی‌ساکاریدهای گیاهی (سلولز و همی‌سلولز) باعث می‌شود که این ماده در مقابل حمله میکروبی مقاومت کمی از خود نشان می‌دهد، چون پلی‌ساکاریدها از جمله پلیمرهای گیاهی هستند که در مراحل اول تجزیه به سرعت از بین می‌روند (بالدوک و همکاران، ۱۹۹۲)، از طرف دیگر کاربرد توأم گچ و سولفات آلومینیوم با ماده آلی باعث انعقاد رس‌ها شده و با بهبود خصوصیات فیزیکی و در نتیجه افزایش تهویه موجبات اکسیداسیون سریع مواد آلی را فراهم می‌آورند. وقتی بقایای گیاهی به خاک اضافه می-شوند در ابتدا سرعت تجزیه آن‌ها زیاد بوده و بیشترین اتلاف کربن به صورت دی‌اکسیدکربن در مراحل اول تجزیه اتفاق می‌افتد. مقدار کربن آلی در تیمارهایی که در آن‌ها مقدار بیشتری کاه و کلش مصرف شده بود، بیشتر بود. اثر زمان بر میزان کربن آلی تولیدی به شکل دی‌اکسیدکربن تولیدی مؤثر بوده است به نحوی که در مراحل اولیه انکوباسیون بیشترین مقدار کربن به شکل دی‌اکسیدکربن اندازه‌گیری شد. ولی با گذشت زمان میزان دی‌اکسیدکربن کاهش می‌یابد به طوری که در پایان انکوباسیون به کمترین مقدار خود رسید با مرور زمان و با کاهش ترکیبات سهل‌التجزیه از میزان دی‌اکسیدکربن تولیدی کاسته می‌شود. به طور کلی در تیمارهایی که تنفس میکروبی زیادتر شده، میزان کربن آلی کمتر می‌باشد و بالعکس.

منابع

Baldock JA, Oades JM, Waters AG, Peng X, Vassallo AM and Wilson MA, 1992. Aspects of the chemical structure of soil organic materials as revealed by solid-state 13C NMR spectroscopy. Biogeochemistry 16: 1-42.

Rietz DN, and RJ Haynes, 2003. Effects of irrigation-induced salinity and sodicity on soil microbial activity. Soil Biology and Biochemistry 35(6): 845–854

Walkley A, and Black IA, 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. Soil Science 37,29–38.

Wong V, Dalal, R and Greene, R, 2009. Carbon dynamics of sodic and saline soils following gypsum and organic material additions: A laboratory incubation', Applied Soil Ecology 41(1): 29-40.

کمی‌سازی و تعیین دامنه تحمل باکتری‌های حل‌کننده فسفات جداسازی شده از ریزوسفر ریشه برنج به تغییرات اسیدیته

اسماعیل بخشنده[1]، حشمت‌اله رحیمیان[2]، همت‌اله پیردشتی[3]، قربانعلی نعمت‌زاده[3]

۱- دانشجوی دکتری فیزیولوژی مولکولی، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۲- استاد گروه گیاهپزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۳- دانشیار و استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

مقدمه

فسفر بعد از نیتروژن به عنوان دومین عنصر ضروری برای گیاهان محسوب می‌شود. معمولاً این عنصر در خاک به مقدار کافی وجود دارد، اما در اکثر موارد به صورت نامحلول و به فرم‌های فسفات آهن و آلومینیوم (در خاک‌های اسیدی) و فسفات کلسیم و منیزیم (در خاک‌های قلیایی) موجود می‌باشد (فلاح نصرت‌آبادی و همکاران، ۱۳۸۲). هریپراساد و نیرانجانا (۲۰۰۹) به نقل از گلدستین (۱۹۸۶) گزارش نمود که ۷۵ درصد از کودهای فسفاته اضافه شده به خاک ممکن است با یون‌ها آزاد کلسیم، آهن و آلومینیوم واکنش داده و به فرم نامحلول و غیرقابل‌استفاده برای گیاه تبدیل شوند. به طور کلی، میکروارگانیسم‌ها از اجزای مهم خاک محسوب می‌شوند که به طور مستقیم و یا غیرمستقیم از طریق فعالیت‌های مفید و یا مضرشان بر سلامت خاک تأثیرگذار هستند. از جمله این میکروارگانیسم‌ها می‌توان به باکتری‌های حل‌کننده فسفات اشاره نمود که در منطقه ریزوسفر ریشه گیاه فعالیت داشته و باعث افزایش قابلیت استفاده این عنصر برای گیاه میزبان خواهند شد. در مجموع توانایی میکروارگانیسم‌های حل‌کننده فسفات برای حل‌کردن منابع حاوی فسفر به توانایی زنده ماندن آن‌ها در مقابل تغییرات اسیدیته محیط اطرافشان وابسته است. از جمله علل تغییرات یا کاهش اسیدیته می‌توان به تولید و آزادسازی اسیدهای آلی (از قبیل اسید سیتریک، لاکتیک، سوکسینیک و ...) یا پروتون‌ها توسط این گونه میکروارگانیسم‌ها اشاره نمود (هریپراساد و نیرانجانا، ۲۰۰۹). از آنجایی که حساسیت میکروارگانیسم‌ها به خصوص باکتری‌های حل کننده فسفات به تغییرات اسیدیته زیاد می‌باشد، در نتیجه برای دستیابی و موفقیت در زمینه تولید کودهای زیستی، یافتن باکترهایی که در مقابل تغییرات اسیدیته مقاوم باشند و یا تعیین و کمی‌سازی دامنه تحمل این گونه از باکتری‌ها مفید خواهد بود. در بسیاری از موارد محققین مختلف واکنش و دامنه تحمل باکتری‌های حل کننده فسفات به تغییرات اسیدیته را مورد بررسی قرار دادند. از جمله آن، سون و همکاران (۲۰۰۶) پس از بررسی دامنه تحمل باکتری حل‌کننده فسفات (*Pantoea agglomerans* R-42) جداسازی شده از ریزوسفر سویا گزارش نمودند که این باکتری قادر به تحمل اسیدیته در محدوده ۳ تا ۱۱ می‌باشد. همچنین، زیو و همکاران (۲۰۱۱) در مورد باکتری *Kushneria sp.* YCWA18 گزارش نمودند که بالاترین قدرت حل کنندگی این باکتری حدود ۲۴۰ میکروگرم در میلی‌لیتر در اسیدیته ۷ بدست آمد و با افزایش و کاهش اسیدیته از توانایی این باکتری کاسته شد به طوری که بعد از گذشت حدود چهار روز اسیدیته محیط کشت حاوی تری‌کلسیم فسفات از ۷/۲۱ به ۴/۲۴ کاهش یافت، در این مقدار اسیدیته قدرت حل‌کنندگی این باکتری به صفر رسید (مرگ باکتری). با توجه به مطالبی که پیش‌تر اشاره شد، هدف این مطالعه تعیین اسیدیته مطلوب (بالاترین

قدرت حل کنندگی فسفات) و کمی‌سازی دامنه تحمل باکتری‌های حل کننده فسفات جداسازی شده از مزارع برنج (منطقه ریزوسفر) استان مازندران بود.

مواد و روش‌ها

در بهمن‌ماه سال ۱۳۹۱ از مزارع برنج استان مازندارن تعداد ۴۶ نمونه خاک جمع‌آوری شد. در هر مزرعه چند بوته برنج باقیمانده از سال قبل به همراه خاک اطراف ریشه نمونه‌برداری و در کیسه‌های پلاستیکی استریل قرار گرفت. نمونه‌ها بلافاصله به آزمایشگاه میکروبیولوژی، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان منتقل و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا انجام مراحل بعدی آزمایش نگهداری شدند. برای جداسازی باکتری‌ها، ابتدا یک گرم خاک از هر نمونه به نه میلی‌لیتر آب نمک استریل (کلرید سدیم ۰/۸۵ درصد) در فالکون‌های ۱۵ میلی‌لیتری (استریل شده) اضافه و سوسپانسیونی به نسبت (۱:۱۰) تهیه گردید. سوسپانسیون‌ها به مدت دو ساعت روی شیکر (۱۵۰ دور در دقیقه) و در دمای اتاق تکان داده شدند (فلاح نصرت‌آبادی و همکاران، ۱۳۸۲). در پایان، رقت‌دهی تا 10^{-4} یا 10^{-5} در آب استریل حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر سیکلوهگزیمید انجام شد. از این رقت به مقدار ۶۵ میکرولیتر با دو تکرار بر روی تشتک‌های (با قطر ۹ سانتی‌متر) حاوی محیط کشت آگار غذایی سوکروزدار (NAS) پخش شد. تشتک‌ها در دمای ۱±۲۹ درجه‌سانتی‌گراد نگهداری شده و جداسازی باکتری‌ها بر اساس اندازه، رنگ و ارتفاع کلنی، ۴۸ ساعت بعد از زمان کشت انجام شد.

برای شناسایی باکتری‌های حل‌کننده فسفات از خصوصیات شفاف‌سازی محیط پیرامون کلنی آن‌ها استفاده گردید. در مرحله بعد، هر ایزوله به صورت جداگانه در محیط کشت مایع پیکوفسکی (PVK حاوی گلوکز ۱۰ گرم، تری‌کلسیم فسفات ۵ گرم، عصاره مخمر ۰/۵ گرم، سولفات آمونیوم ۰/۵ گرم، کلرید پتاسیم ۰/۲ گرم، کلرید سدیم ۰/۲ گرم، سولفات منیزیم ۰/۱ گرم، سولفات آهن ۰/۰۰۰۳ گرم و سولفات منگنز ۰/۰۰۰۳ گرم) به مدت ۱۰۰ ساعت روی شیکر (۱۰۰ دور در دقیقه) و در دمای ۱±۲۹ درجه‌سانتی‌گراد کشت داده شد (۲۵ میلی‌لیتر محیط کشت مایع در فالکون‌های ۵۰ میلی‌لیتری استریل شده با دو تکرار). در پایان، ۲ میلی‌لیتر محیط کشت از هر فالکون برداشت و سپس برای حذف باکتری و مواد جامد موجود در محیط کشت، ویال‌ها به مدت ۱۰ دقیقه، در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شدند، فسفر قابل استفاده در محلول شفاف بالای هر ویال با روش پیشنهاد شده توسط واتانابی و السن (۱۹۶۵) اندازه‌گیری شد.

در مجموع از ۱۱ ایزوله با قدرت حل کنندگی فسفات بیش از ۱۱۵ میکروگرم در میلی‌لیتر به نام‌های M36، M54، M57، M1663، M1664، M1753، M1822، M1823، M1831، M1833 و M1000 برای این آزمایش استفاده گردید. هر ایزوله به طور جداگانه در محیط کشت مایع پیکوفسکی و در اسیدیته‌های ثابت ۵، ۵/۷۵، ۶/۶، ۷/۵، ۹ و ۱۰ با دو تکرار کشت داده شدند. برای تنظیم اسیدیته از اسید کلریدریک و هیدروکسیدسدیم استفاده گردید. پس از کشت باکتری در فالکون‌های حاوی محیط کشت به مدت ۱۰۰ ساعت روی شیکر (۱۰۰ دور در دقیقه) و در دمای ۱±۲۹ درجه‌سانتی‌گراد، دو میلی‌لیتر محیط کشت از هر فالکون برداشت شد. ویال‌ها به مدت ۱۰ دقیقه، در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شدند، محلول شفاف بالای هر ویال به ویال‌های جدید منتقل شد. در نهایت فسفر قابل استفاده با روش پیشنهاد شده توسط واتانابی و السن (۱۹۶۵) اندازه‌گیری شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ استفاده گردید.

نتایج و بحث

نتایج نشان داد که در بین ایزوله‌ها از نظر قدرت حل کنندگی فسفات اختلاف معنی‌داری وجود داشت. به خصوص در زمانی که اسیدیته در حد مطلوب بود (شکل ۱). برای کمی‌سازی و تعیین دامنه تحمل باکتری‌های حل‌کننده فسفات از تابع پیشنهادی توسط سلطانی و همکاران (۲۰۰۶) استفاده شد. به طور کلی، در اکثر موارد از این تابع برای توصیف رابطه بین سرعت جوانه‌زنی و دما استفاده می‌شد. اما برای اولین‌بار از این تابع برای توصیف رابطه بین قابلیت حل‌کنندگی فسفات و تغییرات اسیدیته استفاده گردید. از این تابع به شکل زیر استفاده شد:

$$P = f(pH)/f_o \qquad [۱]$$

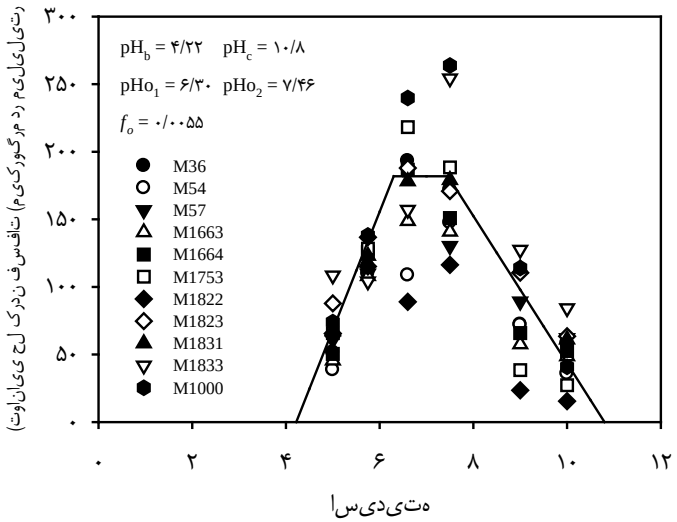
که در آن P برابر توانایی حل کردن فسفات، $f(pH)$ برابر با یک مدل توصیف‌کننده تغییرات pH که محدوده آن بین صفر (اسیدیته پایه و سقف) و یک (اسیدیته مطلوب) می‌باشد (بر اساس معادله دندان مانند زیر محاسبه خواهد شد) و $1/f_o$ نشان‌دهندهٔ حداکثر توانایی باکتری برای حل کردن فسفات می‌باشد.

$$\begin{aligned} f(pH) &= ((pH - pH_b)/(pH_{o1} - pH_b)) \quad \text{if} \quad pH_b<pH<pH_o \\ f(pH) &= ((pH_c - pH)/(pH_c - pH_{o2})) \quad \text{if} \quad pHo_2<pH<pH_c \\ f(pH) &= 1 \text{ if } pH_{o1} \le pH \le pH_{o2} \text{ and } 0 \text{ if } pH \le pH_b \text{ or } pH \ge pH_c \end{aligned} \qquad [۲]$$

که در آن اسیدیته (pH)، اسیدیته پایه (pH_b) یعنی حداقل اسیدیته‌ای که باکتری می‌تواند در آن زنده بماند و در پایین‌تر از این حد باکتری از بین خواهد رفت، اسیدیته مطلوب تحتانی (pH_{o1}) و اسیدیته مطلوب فوقانی (pH_{o2}) یعنی اسیدیته‌هایی که باکتری در این محدوده حداکثر توانایی برای حل کردن فسفات را دارد و اسیدیته سقف (pH_c) یعنی اسیدیته‌ای که بالاتر از این حد باعث مرگ باکتری خواهد شد، می‌باشند.

پس از برازش معادله به کل داده‌ها، به طور میانگین مقادیر اسیدیته پایه، مطلوب فوقانی، مطلوب تحتانی و سقف به ترتیب ۴/۲۲، ۶/۳۰، ۷/۴۶ و ۱۰/۸ برای همه باکتری‌های حل کننده فسفات جدا سازی شده از منطقه ریزوسفر ریشه برنج برآورد شد. به عبارتی باکتری‌های مورد مطالعه بالاترین توانایی حل کردن فسفات را در محدوده بین اسیدیته ۶/۳۰ تا ۷/۴۶ داشتند و هر چه به دو طرف، یعنی اسیدیته‌های کمتر از ۶/۳۰ و بیشتر از ۷/۴۶ پیش رویم از توانایی این باکتری‌ها برای حل کردن فسفات کاسته خواهد شد، به گونه‌ای که در زیر اسیدیته ۴/۲۲ و بالای اسیدیته ۱۰/۸ دیگر این باکتری‌ها قادر به فعالیت نبودند. نکته جالب توجه دیگر اینکه در زمانی که این باکتری‌ها در محدوده اسیدیته مطلوب برای رشد قرار داشتند از نظر توانایی حل کردن فسفات بین آن‌ها اختلاف شدیدتر وجود داشت که علت آن ممکن است به خاطر اختلاف این باکتری‌های از نظر جنس و گونه باشد. اما با دور شدن از دامنه مطلوب اسیدیته مشاهده گردید که اختلاف بین این باکتری‌ها از نظر قدرت حل‌کردن فسفات کاهش یافته و به یک ثبات و پایداری نزدیک شدند (شکل ۱). به نظر می‌رسد که ریزجانداران جداسازی‌شده از منطقه ریزوسفر ریشه گیاه میزبان ممکن است نسبت به ریزجانداران جداسازی‌شده از منابع یا مناطق دیگر بهتر با گیاه میزبان سازگاری داشته باشند، که علت آن را می‌توان به سازگاری باکتری‌ها با سیستم ریشه گیاه و شرایط محیطی منطقه (از جمله تغییرات اسیدیته) نسبت داد (گوپالایشنان و همکاران، ۲۰۱۰). بنابراین، با توجه به نتایج این مطالعه و گزارش محققین دیگر (سون و همکاران، ۲۰۰۶ و زیو و همکاران، ۲۰۱۱) می‌توان پیشنهاد نمود که حداکثر توانایی حل کردن فسفات توسط این گونه از باکتری‌های (به خصوص

باکتری‌های مورد مطالعه) در زمانی که از آن‌ها به عنوان کودهای زیستی استفاده شود، زمانی حادث خواهد شد که اسیدیته خاک در محدوده بین ۶/۵ تا ۷/۵ باشد. مطالعات بعدی برای شناسایی دقیق باکتری‌های مورد استفاده در این مطالعه ادامه دارد.



شکل ۱- رابطه بین توانایی حل کردن فسفات و تغییرات اسیدیته در باکتری‌های حل کننده فسفات جداسازی شده از منطقه ریزوسفر برنج

منابع

فلاح نصرت‌آبادی، ع.، رحیمیان، ح.ا.، راستین، ن.ص. و ملکوتی، م.ج، ۱۳۸۲. بررسی پراکنش ریزجانداران حل کننده فسفات در تعدادی از خاک‌های استان گیلان. مجله علوم خاک و آب، جلد ۱۷، صفحه‌های ۱۶۲ تا ۱۷۶.

Gopalakrishnan S, Humayun P, Kiran BK, Kannan IGK, Vidya MS, Deepthi K and Rupela O, 2010. Evaluation of bacteria isolated from rice rhizosphere for biological control of charcoal rot of sorghum caused by *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. World Journal of Microbiology and Biotechnology 27: 1313-1321.

Hariprasad P and Niranjana SR, 2009. Isolation and characterization of phosphate solubilizing rhizobacteria to improve plant health of tomato. Plant Soil 316: 13-24.

Pikovskaya RI, 1948. Mobilization of phosphate in soil in connection with their vital activities of some microbial species. Microbiologiya 17: 362-370.

Son HJ, Park GT, Cha MS and Heo MS, 2006. Solubilization of insoluble inorganic phosphates by a novel salt- and pH-tolerant *Pantoea agglomerans* R-42 isolated from soybean rhizosphere. Bioresource Technology 97: 204-210.

Watanabe FS and Olsen SR, 1965. Test of an ascorbic acid method for determining phosphorous in water and NaHCO3 extracts from soil. Soil Science Society of America Proceedings 29: 677-678.

Zhu F, Qu L, Hong X and Sun X, 2011. Isolation and characterization of a phosphate-solubilizing halophilic bacterium *Kushneria sp.* YCWA18 from Daqiao Saltern on the coast of Yellow Sea of China. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 1-6.

بررسی و تعیین قدرت میکوریزه شدن شش رقم گندم استان سیستان و بلوچستان توسط *Glomus intraradices*

شاهو ولی زاده[1] و سید کاظم صباغ [2*]
۱-دانشجوی کارشناسی ارشد بیماری شناسی دانشگاه زابل
۲-استادیار گروه گیاه پزشکی و پژوهشکده زیست فناوری دانشگاه زابل
***Sk.sabbagh@uoz.ac.ir**

مقدمه

اولین تاریخچه همزیستی مربوط به ۴۰۰ میلیون سال به هنگام توسعه گیاهان بر روی کره خاکی بوده است. در واقع زمانی که گیاهان فاقد سیستم توسعه یافته ریشه جهت جذب مواد و عناصر معدنی از خاک بوده‌اند. در عوض اهلی شدن گیاهان مربوط به ۱۰۰۰۰سال پیش است (Remy, *et al*., 1994). تاریخچه تکاملی توزیع و تاکسونومی تعامل مایکوریز– گیاه پیشنهاد می‌کند که اجداد محصولات غلات مدرن ما توانایی و ظرفیت تعامل با قارچ‌های مایکوریز را به توارث برده بودند (Alkan, *et al*., 2006). برای گیاهان ارزشی کلنیزه شدن توسط مایکوریز ۲۰–۴ درصد کل کربن تثبیت شده در فتوسنتز است. در تحقیقی که بر روی گندم‌های وحشی انجام گرفت. با کلنیزه کردن ریشه ای گندم مدرن و وحشی وزن خشک گندم مدرن بین ۱۰–۲۹ درصد افزایش یافت. در حالی که این رقم برای گندم‌های وحشی بالاتر بود (Zhu, *et al*., 2001). امروزه گندم حیاتی‌ترین کالا در الگوی مصرفی خانوارهای جهان به شمار می‌آید. در ایران نیز مانند بسیاری از کشورها ، نقش استراتژیک محصول گندم در نظام مصرفی کشور و رسالت سنگینی که در رسیدن به خودکفایی و پیشبرد اهداف توسعه‌ی ملی وجود دارد ، بر اهمیت و لزوم برنامه ریزی و مدیریت بهینه‌ی منابع و عامل‌های تولید می‌افزاید (یزدانی، ۱۳۷۸). اهمیت میکوریزا در کشاورزی بر پایهٔ نقش ویژه آن به عنوان حلقهٔ ارتباطی بین خاک و گیاه استوار است .قارچ‌های میکوریزا به دلیل افزایش موثر سطح جذب ریشه از طریق ایجاد هیف، سبب افزایش جذب آب و مواد غذایی به وسیلهٔ گیاهان می‌شوند (Marschner and Dell 1994) . مزیت قارچ میکوریزا افزایش منطقهٔ تخلیه عناصر غذایی به وسیله ریشه های میکوریزایی نسبت به گیاهان غیر میکوریزایی می‌باشد (Smith and Read 2008). قارچ‌های میکوریزا راهکاری ارزان و کم انرژی جهت کمک به افزایش اثربخشی زراعی سنگ فسفات می‌باشند .شواهد زیادی وجود دارد که نشان می‌دهد که ریشه های گیاهان میکوریزایی قادر به استفاده از منابع نامحلول فسفر در خاک که قابل دسترس ریشه گیاه نیستند می‌باشند (Gyaneshwar, *et al*. 2002). با توجه به اهمیت گندم در استان و فقیر بودن خاک‌های زراعی از نظر مواد معدی، در این تحقیق سعی شد تا قدرت میکوریزه شدن مهم‌ترین ارقام گندم استان در شرایط آزمایشگاهی بوسیله *Glomus intraradices* مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

این بررسی به صورت کاشت گلدانی و شرایط گلخانه ای انجام گردید.که تعداد ۶ رقم رایج از گندم‌های منطقه سیستان و بلوچستان (سیستان، هیرمند،چمران، هامون، ارگ و کلک افغانی) از ایستگاه تحقیقات کشاورزی شهرستان زابل تهیه شد. خاک مورد استفاده از مناطق زراعی زابل تهیه و پس ازدو دفعه ضدعفونی به مدت ۲ ساعت در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد مورد استفاده قرار گرفت (Ortas *et al*., 1999) سپس بذرها با محلول هیپوکلریت سدیم۴ درصد ضدعفونی و با آب مقطر استریل ۳ بار شست و شو داده شدند.در هر گلدان مقدار ۳۰۰ گرم خاک و ایناکلوم قارچ میکوریز *Glomus intraradices* به نسبت $\frac{1}{3}$ مخلوط و تعداد ۳ عدد بذر گندم در آن‌ها کاشته شد. انجام مراحل آبیاری به صورت دوره ای ۳ بار در هفته و به همراه آن ۲ بار در هفته محلول غذایی لانگ اشتون که فاقد فسفر می‌باشد به گلدان‌ها انجام شد . سپس پس از طی مراحل رشدی و قبل از خوشه دهی، ریشه گیاهان از محل طوقه جدا و در داخل آب مقطر استریل برای مطالعات بعدی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. برای ارزیابی میکوریزه شدن ریشه‌ها، قسمت‌هایی از بافت ریشه به وسیله محلول رنگی کاتن بلو رنگ آمیزی و سپس بوسیله اسیدلاکتیک رنگ بری بافت‌های ریشه انجام گردید. ریشه های رنگ آمیزی شده به روش تروولت و همکاران(1986) جهت تعیین شاخص‌های میزان کلنیزاسیون میکوریزایی مورد ارزیابی قرار گرفتند. بدین منظور ابتدا ریشه های رنگ آمیزی شده را به قطعات ۰/۵ سانتی متری و به تعداد ۱۰ قطعه برش داده شد. بعد از تهیه اسلاید از نمونه‌ها، میزان ریسه های قارچی در ریشه با استفاده از میکروسکوپ با بزرگنمایی ×۱۰ مشاهده و شاخص درصد همزیستی مورد بررسی قرار گرفت. داده های حاصل مشاهدات در فرمول زیر قرار داده و درصد همزیستی برای هر رقم گندم با فرمول زیر محاسبه گردید (Yücel, *et al*., 2009)

$$\%M = \frac{[(95 \times n_5) + (70 \times n_4) + (30 \times n_3) + (5 \times n_2) + (1 \times n_1)]}{N}$$

در این رابطه، M تراکم میکوریزایی برای هر رقم، n_5 تعداد قطعات موجود در کلاس ۵ (کلاس ۵ قطعات بالای ۹۰٪ آلودگی میکوریزایی)، n_4 تعداد قطعات موجود در کلاس ۴ (کلاس ۴ قطعات بالای ۵۰٪ آلودگی میکوریزایی)، n_3تعداد قطعات موجود در کلاس ۳ (کلاس ۳ قطعات زیر ۵۰٪ آلودگی میکوریزایی)، n_2تعداد قطعات موجود در کلاس (کلاس ۲ قطعات بالای ۱۰٪ آلودگی میکوریزایی)، n_1 تعداد قطعات موجود در کلاس۱(کلاس ۱ قطعات زیر ۱۰٪ آلودگی میکوریزایی)، N تعداد قطعات مورد مشاهده، فرمول محاسبه فراوانی قطعات میکوریزه شده $\%F=100\frac{(N-n_0)}{N}$ ، %F فراوانی قطعات میکوریزه شده و N تعداد قطعات مورد بررسی،

n_0 تعداد قطعات بدون آلودگی میکوریزایی، که در جدول یک درصد فراوانی قطعات مورد بررسی برای هر رقم آمده است.

نتیجه و بحث

مشاهده ریشه های میکوریزه رنگ آمیزی شده نشان داد که درصد همزیستی بین قارچ و ریشه تلقیح شده در حد نسبتاً خوبی می‌باشد ولی نسبت به گیاهان دیگر نظیر هویج و شبدر بسیار کم می‌باشد. در بین ارقام مورد بررسی رقم چمران کمترین میزان همزیستی (۲۸٪) را نشان داد در حالی که رقم هیرمند بیشترین میزان همزیستی (۳۶٪) را در شرایط آزمایشگاهی به خود نسبت داد (شکل ۱). ارقام سیستان و ارگ به میزان مساوی (۳۳٪) به میکوریزه شدن واکنش نشان دادند. مطالعات متعددی نشان داده است که گندم‌های مدرن امروزی قدرت میکوریزه شدن کمتری نسبت به گندم‌های تتراپلوئیدی و دیپلوئیدی در شرایط مزرعه دارا می‌باشند (Yücel, *et al*., 2009) که این می‌تواند به علت تجمع سه سری کروموزوم در گندم‌های هگزاپلوئیدی باشد. این فرضیه با نتایج این تحقیق تا حدودی مطابقت دارد به طوری که در نتایج به دست آمده مشخص شد قدرت میکوریزه شدن ارقام گندم نان در حد بالایی نمی‌باشد که البته این نتایج نسبتاً متوسط می‌تواند ناشی از شرایط کار آزمایشگاهی و وجود میزان بالایی از ایناکلوم قارچ در حضور ریشه در حال رشد می‌باشد.



شکل ۱: درصد همزیستی ریشه ارقام مختلف گندم سیستان به قارچ میکوریز *Glomus intraradceis*

در این مطالعه از تمام قسمت‌های ریشه برای بازبینی و بررسی حضور قارچ در ریشه استفاده شد که بدین ترتیب می‌توان همزیستی و حضور قارچ را به کل ریشه تعمیم داد. با محاسبه حضور قارچ در قطعات مختلف استحصال شده از ریشه های میکوریزه شده مشخص گردید که پراکنش و توسعه قارچ در طول ریشه یکنواخت است. با توجه به تناسب اعداد بدست آمده بین درصد همزیستی و فراوانی قارچ در قطعات بررسی شده، داده های حاصل می‌تواند در ارزیابی ارقام مورد مطالعه مورد استفاده قرار گیرد و تخمین دقیق درصد همزیستی با قارچ *Glomus*

intraradices برای هر رقم تعیین گردد. فراوانی ریسه های قارچ در ریشه های میکوریزه ارقام مختلف در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱:فراوانی قطعات میکوریزه شده برای هر رقم گندم منطقه سیستان در میان قطعات مورد بررسی

تعداد قطعات مورد بررسی	فراوانی تعداد قطعات میکوریزه شده	رقم گندم
۳۰	۶۳	رقم هیرمند
۳۰	۸۳	رقم کلک افغانی
۳۰	۸۳	رقم ارگ
۳۰	۸۶	رقم سیستان
۳۰	۸۶	رقم هامون
۳۰	۹۰	رقم چمران
۱۸۰ قطعه	**۶رقم**	**جمع**

همان طور که در داده های ارایه شده مشاهده می‌شود ارقام بومی مورد مطالعه واکنش‌های نسبتاً مشابهی را در برقراری همزیستی داشته‌اند. البته همه ارقام با قارچ میکوریز ارتباط همزیستی برقرار کرده‌اند. با این بررسی دید بهتری نسبت به ارقام گندم منطقه سیستان در برقراری ارتباط همزیستی نشان داده و در آینده برای تحقیقات بعدی به سهولت می‌توان بهترین رقم را برای واکنش‌های تعاملی بین گیاه و قارچ انتخاب نمود. برای درک صحیح ارتباط قارچ با گیاه لازم است مطالعات ژنتیکی در ارتباط با ژن‌های دخیل در میکوریزه شدن مورد بررسی قرار گیرد که برای این منظور ابتدا لازم است از ارقام دیپلوئید گندم و گندم‌های وحشی برای تعیین قدرت میکوریزه شدن استفاده شود تا بتوان محل واقعی ژن‌های مسئول پاسخ به میکوریز را ردیابی و به عنوان ژن یا ژن‌های کاندیدا جهت انتقال به گیاهان میکوریز منفی مورد استفاده قرار گیرد..

منابع

یزدانی, س. ۱۳۷۸. «اعتبارات کشاورزی و زراعت گندم»، مجموعه مقالات پژوهش اقتصاد گندم از تولید تا مصرف، تهران:مؤسسه پژوهش‌های برنامه‌ریزی و اقتصاد کشاورزی ایران.

Alkan N, Gadkar O and Kapulnik Y, 2006. Analysis of quantitative interactions between two species of arbuscular mycorrhizal fungi, *Glomus mosseae* and *G. intraradices*, by real-time PCR. Applied and Environmental Microbiology 72(6): 4192-4194

Gyaneshwar P, Naresh Kumar G, Parekh L and Poole P,2002. Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. Plant and Soil 245(1): 83-93.

Marschner H and Dell B,1994. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. Plant and Soil 159(1): 89-102.

Ortas İ, Ergun B, Ortakci D, Ercan S and Kose O,1999. The Production Technique of Mycorrhizal Spore for Using in Large Arable Land. Tr. J. of Agriculture and Forestry 23: 959-968.

Remy W, Taylor TN, Hass H and Kerp H,1994. Four hundred-million-year-old vesicular arbuscular mycorrhizae. Proceedings of the National Academy of Sciences 91(25): 11841-11843.

Smith, SE and Read DJ, 2008. Mycorrhizal symbiosis, Academic Pr. 769 pp

Trouvelot A, 1986. Mesure du taux de mycorhization VA d'un systeme radiculaire. Recherche de methodes d'estimation ayant une significantion fonctionnelle. Mycorrhizae: physiology and genetics: 217-221.

Yücel C, Özkan H, Ortaş I and Yağbasanlar T, 2009. Screening of wild emmer wheat accessions (*Triticum turgidum subsp. dicoccoides*) for mycorrhizal dependency. Turk. J. Agric. For 33(5): 513-523.

Zhu YG, Smith SE, Barritt A and Smith FA,2001. Phosphorus (P) efficiencies and mycorrhizal responsiveness of old and modern wheat cultivars. Plant and Soil 237(2): 249-225.

بررسی تأثیر مواد آلی و معدنی بر روی خصوصیات بیولوژیکی خاک‌های سدیمی دشت ملایر، استان همدان

آرمان نادری*[1]، محمد امیر دلاور[2]

۱-دانشجوی دکتری پیدایش، رده¬بندی و ارزیابی خاک، دانشگاه زنجان،۲- استادیار پیدایش، رده¬بندی و ارزیابی خاک ، دانشگاه زنجان *armannaderi@znu.ac.ir

مقدمه

اضافه کردن مواد آلی از منابع مختلف نظیر کود سبز و کود دامی باعث بهبود خصوصیات شیمیایی و بیولوژیکی خاک‌های سدیمی شده است (ونگ و همکاران، ۲۰۰۹). مصرف گچ و سولفات آلومینیوم توأم با ماده آلی در مقایسه با کاربرد جداگانه آن‌ها تا حدی تعدیل کننده اثرات منفی چون افزایش هدایت الکتریکی می‌باشد (مورفی و همکاران، ۱۹۹۸؛ توال، ۲۰۰۰؛ رایتز و هاینس، ۲۰۰۳). از طریق کاربرد مواد نسبتاً ارزان قیمت و فراوان موجود در کشور نظیر گچ، سولفات آلومینیوم و به ویژه روش‌های اضافه کردن مواد آلی (کاه و کلش، کود سبز، ضایعات کارخانجات و فاضلاب) تأثیر بسیار زیادی در اصلاح و بهره‌وری این اراضی به‌همراه خواهد داشت، لذا در این تحقیق تأثیر مواد آلی و معدنی بر خصوصیات بیولوژیکی خاک‌های سدیمی دشت ملایر به عنوان یکی از مناطقی که خاک‌های سدیمی گسترش بسیار زیادی دارد مورد بررسی قرار می‌گیرد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تاثیر ماده آلی شامل کاه و کلش خرد شده یونجه (C:N=18) ترکیبات کلسیم دار نظیر گچ معدنی ($CaSO_4.2H_2O$) و سولفات آلومینیم ($Al_2(SO_4)_3$) بر تنفس میکروبی و کربن آلی در آزمایش گلدانی در قالب طرح پایه کاملا تصادفی با ۹ تیمار و ۳ تکرار به اجرا در آمد. تیمارها شامل: ۱- شاهد (B) ۲- کاه و کلش به میزان ۲/۵ درصد (O_1) ۳ - کاه و کلش به میزان ۵ درصد (O_2) ۴- گچ به میزان نیاز گچی (G) ۵- گچ به اندازه نیاز گچی + ۲/۵ درصد ماده آلی ($G+O_1$) ۶- گچ به اندازه نیاز گچی + ۵ درصد ماده آلی ($G+O_2$) ۷- سولفات آلومینیم به اندازه نیاز گچی (AS) ۸- سولفات آلومینیم + ۲/۵ درصد ماده آلی ($AS+O_1$) ۹- سولفات آلومینیم + ۵ درصد ماده آلی ($AS+O_2$) می‌باشند. در فواصل دو و چهار ماه پس از اعمال تیمارها بر روی نمونه‌های خاک خصوصیات بیولوژیکی مختلف خاک اندازه‌گیری شد. نیاز گچی از رابطه GR (meq/100g)=ESPi- ESPf/100×CEC (Cmol+/kg) محاسبه گردید. اندازه‌گیری تنفس میکروبی به روش اندرسون طی ۱۷ هفته انجام شد. کربن آلی به روش والکلی بلاک (نلسون و سامرز، ۱۹۸۲) اندازه‌گیری شد. نتایج حاصل از اندازه گیری‌های مختلف در قالب طرح پایه کاملا تصادفی توسط نرم افزارهای SPSS و MSTATC مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

نتایج و بحث

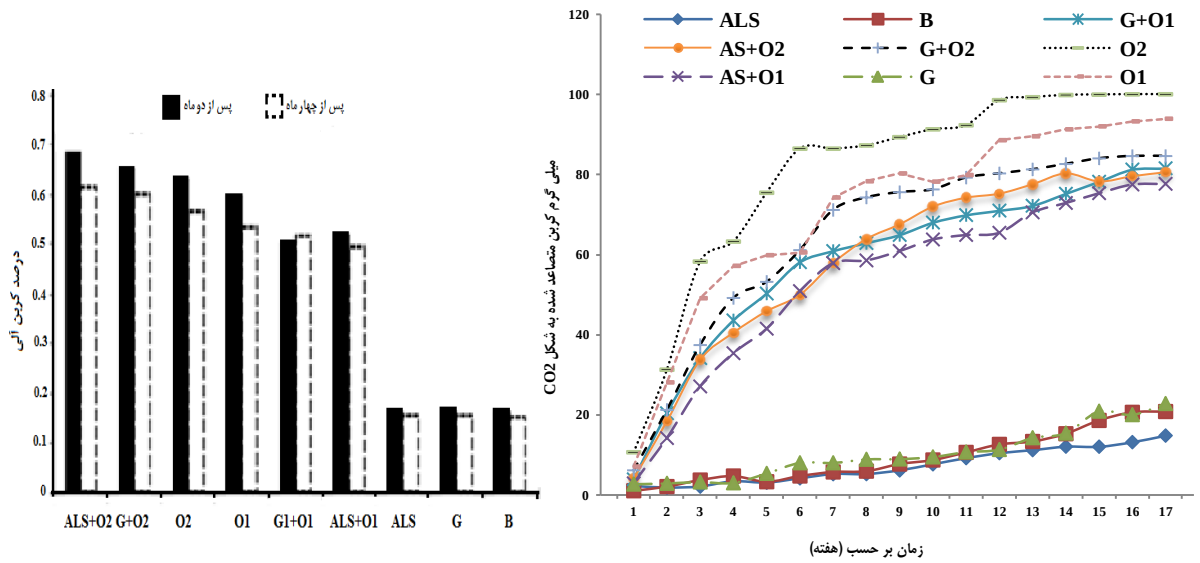
تأثیر تیمارهای مختلف بر خصوصیات بیولوژیکی در خاک مورد مطالعه

اثر تیمارها بر فعالیت بیولوژیکی و درصد کربن آلی خاک در هر دو زمان در سطح یک درصد آماری معنی‌دار گردیده است (جدول ۱).

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس تأثیر تیمارها بر خصوصیات بیولوژیکی خاک اول پس از دو و چهار ماه

	فعالیت بیولوژیکی		درصد کربن آلی	
تیمار	پس از چهار ماه	پس از دو ماه	پس از چهار ماه	پس از دو ماه
	**	**	**	**
CV	۲/۸۵	۳/۴۵	۳/۶۰	۱/۲۹
LSD در سطح ۵٪	۰/۰۱۵	۰/۰۱۸۹۵	۱/۱۷۲	۱/۲۸۳

شکل ۱-الف) تغییرات تجمعی میزان دی‌اکسیدکربن ب) تغییرات درصد کربن آلی (دو و چهار ماه)



سطوح مختلف کاه و کلش یونجه، به ترتیب در ۵ و ۲/۵ درصد، در مقایسه با سایر تیمارها دارای بیشترین تأثیر بر فعالیت بیولوژیکی دو خاک پس از دو ماه داشتند که به ترتیب تنفس میکروبی را از ۷/۸۹۰ در شاهد به ترتیب به ۹۱/۸۸ و ۸۴/۸۵ در ۲۰ گرم خاک افزایش دادند. سپس تیمارهای گچ با ۵ درصد ماده آلی، گچ با ماده آلی ۲/۵ درصد و سولفات آلومینیوم با ۵ درصد ماده آلی به ترتیب مؤثرترین تیمارها در افزایش تنفس میکروبی بودند. کمترین تأثیر نیز به ترتیب توسط تیمارهای سولفات آلومینیوم و گچ نسبت به شاهد مشاهده گردید. چهار ماه پس از اعمال تیمارها

به طور کلی روند تغییر تنفس میکروبی در همه تیمارها به طور چشمگیر نسبت به دو ماه قبل (دوره قبل) کاهش یافته است. ولی در بین تیمارها در افزایش تنفس میکروبی تفاوت معنی‌دار نسبت به شاهد و تیمارها مشاهده می‌شود (شکل ۱ الف). چهار ماه پس از اعمال تیمارها، ماده آلی ۵ درصد به عنوان موثرترین تیمار تنفس میکروبی را نسبت به شاهد ۷/۵۲۵ درصد افزایش داده که این مقدار نسبت به دوره قبل به میزان ۱/۷۹ درصد کاهش یافته است. سپس به ترتیب تیمارهای گچ با ماده آلی ۵ درصد، ماده آلی ۲/۵ درصد، سولفات آلومینیوم با ماده آلی ۵ درصد به ترتیب تنفس میکروبی را نسبت به شاهد افزایش دادند. کمترین تأثیر این دوره به ترتیب در تیمار سولفات آلومینیوم، گچ و شاهد مشاهده گردید. سولفات آلومینیوم نسبت به گچ تأثیر منفی‌تری در هر دو دوره بر تنفس میکروبی داشت. وجود مواد غذایی کافی یکی از مهم‌ترین عوامل مؤثر بر افزایش ریزجانداران به خاک به حساب می‌آید و زمانی که مواد غذایی پاسخگوی جامعه میکروبی نباشد (چهار ماه پس از اعمال تیمارها) ریزجانداران حساس از بین خواهند رفت (چاندر و همکاران، ۲۰۰۶). بالا بودن سرعت تجزیه در سطوح ماده آلی به تنهایی شاید به دلیل شوری کم و یا دیسپرس شدن ذرات باشد، که هر دو این موارد در خاک مورد آزمایش مشاهده شد. در این آزمایش همبستگی بین رس قابل انتشار با تنفس میکروبی برابر با ۰/۲۳۱ می‌باشد، هر چند که معنی‌دار نمی‌باشد ولی نشان دهنده رابطه مستقیم بین این دو ویژگی می‌باشد. علت کاهش معنی‌دار میزان دی‌اکسیدکربن در اثر مصرف توأم مواد آلی و گچ و سولفات آلومینیوم پس از دو ماه را می‌توان افزایش فشار اسمزی و هدایت الکتریکی (به ترتیب به ۹/۷۷۳ و ۸/۶۵۰ دسی زیمنس بر متر) محلول خاک در اثر حل شدن گچ دانست. در تیمارهایی که این مواد معدنی با ماده آلی بکار رفته‌اند، تأثیر شوری به وجود آمده توسط مواد معدنی (گچ و سولفات آلومینیوم) بر روی کاهش تنفس میکروبی، کمتر می‌باشد. مصرف توأم مواد آلی و گچ یا سولفات آلومینیوم باعث کاهش میزان تجزیه این مواد (کاهش دی-اکسیدکربن متصاعد شده) و کاهش هدایت الکتریکی گردید. بنابراین می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که کاربرد توأم این مواد علاوه بر تسریع در بهبود خصوصیات مختلف خاک‌های سدیمی با کاهش سرعت تجزیه مواد آلی تأثیر مفید این مواد را تداوم بخشید. کاربرد گچ و سولفات آلومینیوم در مجموع تأثیری بر فعالیت میکروبی (دی‌اکسیدکربن متصاعد شده) نداشت ولی کاربرد سولفات آلومینیوم چهار ماه پس از اعمال تیمارها باعث کاهش میزان دی-اکسیدکربن متصاعد شده در مقایسه با شاهد گردید. شاید علت کاهش میزان دی‌اکسیدکربن متصاعد شده در تیمارهای حاوی سولفات آلومینیوم در مقایسه با تیمارهای حاوی گچ علاوه بر شوری تولید شده بیشتر توسط سولفات آلومینیوم (تفاوت در شوری بین تیمارهای حاوی سولفات آلومینیوم و گچ معنی‌دار می‌باشد) و یا سمیت ناچیزی که توسط آلومینیوم تولید می‌شود، باشد.

درصد کربن آلی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها در جدول ۱ نشان می‌دهد که اثر تیمارها بر روی درصد کربن آلی در تیمارهای مختلف در خاک مورد مطالعه پس از دو و چهار ماه از اعمال تیمارها در دو خاک معنی‌دار می‌باشد. . اثر تیمارها بر روی درصد کربن آلی در تیمارهای مختلف در خاک مورد آزمایش پس از دو و چهار ماه از اعمال تیمارها در دو خاک معنی‌دار می‌باشد. دو ماه پس از اعمال تیمارها، بیشترین میزان کربن آلی مربوط به اثر سولفات آلومینیوم با ماده آلی ۵ درصد

می‌باشد؛ و پس از چهار ماه تیمار گچ با ماده آلی ۵ درصد بیشترین میزان کربن را در بین تیمارها دارد. نکته قابل توجه در تغییرات این پارامتر این است که با گذشت زمان از دو ماه به چهار ماه میزان دی‌اکسیدکربن در همه تیمارها نسبت به قبل کاهش می‌یابد و در تیمارهایی که با ماده آلی همراه می‌باشند. شدت این تغییرات نسبت به تیمارهای شاهد و گچ و سولفات آلومینیوم به تنهایی بیشتر می‌باشد. کمترین مقدار کربن آلی مربوط به تیمارهای شاهد، سولفات آلومینیوم و گچ می¬باشد. در روندی کاملاً مشابه بترتیب پس از سولفات آلومینیوم با ماده آلی ۵ درصد، گچ با ماده آلی ۵ درصد، تیمارهای ماده آلی ۵ درصد و ۲/۵ درصد در افزایش کربن آلی مؤثر واقع گردیدند، تفاوت این تیمارها با شاهد در سطح یک درصد آماری معنی¬دار گردید. و با مشاهده مقایسه میانگین¬ها بین اثر این تیمارها با یکدیگر با آزمون دانکن تفاوت معنی¬دار وجود دارد (شکل ۱ ب). دلیل احتمالی این نتایج را می‌توان به کیفیت مواد آلی موجود در کاه و کلش نسبت داد. غنی بودن کاه و کلش از پلی‌ساکاریدهای گیاهی (سلولز و همی‌سلولز) باعث می‌شود که این ماده در مقابل حمله میکروبی مقاومت کمی از خود نشان می‌دهد، چون پلی‌ساکاریدها از جمله پلیمرهای گیاهی هستند که در مراحل اول تجزیه به سرعت از بین می‌روند (بالدوک و همکاران، ۱۹۹۲)، از طرف دیگر کاربرد توأم گچ و سولفات آلومینیوم با ماده آلی باعث انعقاد رس‌ها شده و با بهبود خصوصیات فیزیکی و در نتیجه افزایش تهویه موجبات اکسیداسیون سریع مواد آلی را فراهم می‌آورند. وقتی بقایای گیاهی به خاک اضافه می-شوند در ابتدا سرعت تجزیه آن‌ها زیاد بوده و بیشترین اتلاف کربن به صورت دی‌اکسیدکربن در مراحل اول تجزیه اتفاق می‌افتد. مقدار کربن آلی در تیمارهایی که در آن‌ها مقدار بیشتری کاه و کلش مصرف شده بود، بیشتر بود. اثر زمان بر میزان کربن آلی تولیدی به شکل دی‌اکسیدکربن تولیدی مؤثر بوده است به نحوی که در مراحل اولیه انکوباسیون بیشترین مقدار کربن به شکل دی‌اکسیدکربن اندازه‌گیری شد. ولی با گذشت زمان میزان دی‌اکسیدکربن کاهش می‌یابد به طوری که در پایان انکوباسیون به کمترین مقدار خود رسید با مرور زمان و با کاهش ترکیبات سهل‌التجزیه از میزان دی‌اکسیدکربن تولیدی کاسته می‌شود. به طور کلی در تیمارهایی که تنفس میکروبی زیادتر شده، میزان کربن آلی کمتر می‌باشد و بالعکس.

منابع

Baldock JA, Oades JM, Waters AG, Peng X, Vassallo AM and Wilson MA, 1992. Aspects of the chemical structure of soil organic materials as revealed by solid-state 13C NMR spectroscopy. Biogeochemistry 16: 1-42.

Rietz DN, and RJ Haynes, 2003. Effects of irrigation-induced salinity and sodicity on soil microbial activity. Soil Biology and Biochemistry 35(6): 845–854

Walkley A, and Black IA, 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. Soil Science 37,29–38.

Wong V, Dalal, R and Greene, R, 2009. Carbon dynamics of sodic and saline soils following gypsum and organic material additions: A laboratory incubation', Applied Soil Ecology 41(1): 29-40.

غنی سازی ورمی کمپوست با باکتری های حل کننده فسفات و تثبیت کننده نیتروژن و تاثیر افزایش دما بر این فرایند

آرش همتی [1]، حسینعلی علیخانی [2]
۱- دانشجوی دکترا بیولوژی خاک دانشگاه تبریز
۲- دانشیار گروه علوم خاک دانشگاه تهران

مقدمه

در برخی از تحقیقات اخیرا تغییر جمعیت میکروارگانیسم ها در ورمی کمپوست و بهبود کیفیت کودهای آلی آزمون شده است(پادماواسیما و همکاران ۲۰۰۸). کمپوست کردن بقایای آلی همراه با سنگ فسفات و جامعه ی میکروبی موجب حل فسفات های نامحلول و در نتیجه باعث افزایش فسفر قابل جذب برای گیاهان می شود. برخی از باکتری های تثبیت کننده نیتروژن در کنار تثبیت نیتروژن، با تولید اسید های آلی فسفر را نیز حل می کنند(کومار و نارولا ۱۹۹۹). تعدادی از باکتری های دی ازوتروف مثل جنس های سودوموناس، بورخولدریا، آگروباکتریوم، ازتوباکتر و اروینیا قادر به افزایش فسفات قابل جذب و تثبیت زیستی نیتروژن هستند. افزایش دسترسی زیستی فسفر توسط این میکروارگانیسم ها با تولید اسیدهای آلی صورت می گیرد که فسفر معدنی را قابل جذب می سازد(اسچروینو و همکاران ۲۰۱۰) از طرف دیگر معدنی کردن فرم آلی فسفر توسط آنزیم های فسفاتاز صورت می گیرد که با تبدیل فرم آلی و غیر قابل جذب فسفر به یون های قابل جذب فسفات انجام می گیرد(عیوضی و طباطبایی ۱۹۷۷).

علاوه بر غنی سازی اخیرا تحقیقاتی مبنی بر تاثیرات مفید افزایش دما در فرایند ورمی کمپوستینگ و کمپوستینگ انجام شده است. دما از بحرانی ترین و مهمترین فاکتورها برای کنترل سرعت واکنش کمپوستینگ است و دلیل آن تاثیر بر جامعه میکروبی و ساختار جمعیتی آن ها می باشد. تولید گرما در طول فاز ترموفیلی باعث کشته شدن پاتوژن ها شده و در این شرایط محصول نهایی قابلیت بهتری برای استفاده به عنوان کود را دارد(لارنیت و همکاران، ۲۰۰۳). فریدریکسون و هاول، ۲۰۰۲گزارش کردند، در فرایند ورمی کمپوستینگ افزایش دما باعث افزایش تولید مثل و جمعیت کرم های خاکی در بستر اولیه می شود. همچنین تحقیقاتی که بر روی افزایش دما از حد مزوفیلیک به ترموفیلیک انجام شده افزایش تنوع میکرو ارگانیسم ها و افزایش جمعیت باکتری های جنس باسیلوس و قارچ ها را گزارش کرده اند.

تحقیق حاضر برای تعیین چگونگی اثر، تلقیح باکتری های تثبیت کننده نیتروژن و حل کننده فسفات بر غنی سازی ورمی کمپوست با افزایش دما انجام شد.

مواد و روشها

تلقیح باکتری به ورمی کمپوست

در این تحقیق تمامی جدایه‌های استفاده شده متعلق به بانک ژن میکروارگانیسم‌های مفید خاکزی گروه مهندسی علوم خاک دانشگاه تهران بود که در ضمن اجرای طرح‌های تحقیقاتی سال‌های قبل جداسازی، شناسایی و نگهداری شدند.سودوموناس فلورسنس سویه Ps 59 با توجه به بیشترین قدرت حل کنندگی فسفات و

ازتوباکترکوروم سویه Az21 نیز از نظر توان تثبیت نیتروژن مولکولی (BNF) انتخاب شد. بعد از تجدید کشت، جمعیت زادمایه کشت تازه هر جدایه باکتری بر اساس فاکتور رقت در حدود ۴×۱۰^{۹} cfu.ml^{-1} تنظیم گردید و سپس هر کیکوگرم ورمی کمپوست با ۲۵ میلی لیتر از هر زادمایه تلقیح شد(بوزاتو وهمکاران، ۲۰۱۲). برای این تحقیق سه تیمار بشرح زیر و در سه تکرار انتخاب شد:

1- ورمی کمپوست بدون تلقیح، ۲-ورمی کمپوست +ازتوباکتر کروکوکوم (21Az) و ۳- ورمی کمپوست +سودوموناس فلورسنس (Ps 59).همه تیمارهاتا ۶۰ درصدظرفیتنگهداری‌با آب مقطر مرطوب شدند. در نهایت نمونه ها به مدت ۶۰ روز در انکوباتور در دماهای ۲۸ و ۴۱ درجه سانتیگراد نگهداری شدند و در روزهای صفر، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ تیمارهای ورمی کمپوست غنی شده مورد تجزیه های شیمیایی و بیولوژیک قرار گرفتند.برای شمارش جمعیت باکتریایی از روش CFU (Colony Forming Unit) استفاده شد(پیج ۱۹۸۲). نیتروژن کل با روش کجلدال، فسفر قابل جذب طبق روش اولسن ، اندازه گیری شد(پیج ۱۹۸۲).

نتایج و بحث

جدول ۱ تغییرات جمعیت باکتری ها در تیمارهای آزمایشی به روش CFU را نشان می دهد. نتایج بدست آمده نشان داد در تیمارهای تلقیح شده با باکتری ها، با افزایش زمان ورمی کمپوستینگ، افزایش معنی داری در جمعیت باکتری ها(به روش CFU) حاصل شد و تیمار ۱ که بدون تلقیح باکتری بود جمعیت کمتری از باکتری ها را در هر مرحله از شمارش داشت. بیشترین جمعیت باکتری (به روش CFU) در روزهای ۴۰ و ۶۰ مشاهده شد و مطابق گزارشات قبلی، احتمالا دلیل عدم افزایش جمعیت باکتری ها با شیب قبلی، محدودیت در کربن آلی بستر، همچنین کمبود مواد غذایی می باشد، بعلاوه گزارش شده که بعد از این مرحله بدلیل کمبود منابع تغذیه، جمعیت باکتریایی کاهش و یا وارد دوره استراحت(کمون) می شوند(کوشیک و همکاران ۲۰۰۸).

جدول ۱- مقایسه میانگین جمعیت باکتریایی حل کننده فسفات و تثبیت کننده نیتروژن در هر گرم از ورمی کمپوست در روز های بعد از تلقیح

Incubationtime(days)	temp	Treatment1	Treatment2	Treatment3
0	28	1.23^{Ac}	12.33^{Ad}	7.33^{Ad}
	41	1.23^{Am}	12.33^{An}	7.33^{An}
20	28	2.36^{Ab}	29.33^{Ac}	21.33^{Ac}
	41	2.46^{Al}	22.00^{Bm}	14.00^{Bm}
40	28	2.73^{Ba}	48.33^{Ab}	35.33^{Ab}
	41	4.26^{Ak}	38.00^{Bl}	24.66^{Bl}
60	28	2.43^{Ba}	50.33^{Aa}	36.33^{Aa}
	41	4.23^{Ak}	42.33^{Bk}	26.66^{Bk}
C.V.		2.58	1.56	2.49
SEM±		0.039	0.28	0.31

حروف کوچک متفاوت a,b,c,... اختلاف معنی دار بین تیمارها در دمای ۲۸ درجه را نشان می دهد.

حروف کوچک متفاوت k,l,m,... اختلاف معنی دار بین تیمارها در دمای ۴۱ درجه را نشان می دهد.

حروف بزرگ متفاوت اختلاف معنی دار در دو دمای ۲۸ و ۴۱ درجه را نشان می دهد.

با افزایش دما جمعیت باکتری ها در همه تیمارها بجز تیمار ۱ کاهش نشان داد. بیشترین دما برای رشد ازتوباکتر ۵۵-۶۰ درجه سانتی گراد هست و کمترین دما برای رشد آن نزدیک صفر است. و فعال ترین دما برای ازتوباکتر ۲۰-۳۰ می باشد(گرین روبرت، ۱۹۳۲). همچنین سودوموناس فلورسنس در محدوده ۷/۵-۳۷ درجه دارای بیشترین تحرک می باشد(لینچ، ۱۹۸۰). لذا افزایش دما یک عامل محدود کننده برای باکتری های ازتوباکتر و سودوموناس می باشد و دمای ۲۸ درجه مناسب ترین دما برای رشد و تکثیر این باکتری ها بود. در تیمار ۱ برخلاف بقیه تیمارها افزایش جمعیت میکروبی دیده شد که این افزایش شاید از رشد باکتری های ترموفیلی باشد.

طبق نتایج بدست آمده محتویات نیتروژن در همه تیمارها با افزایش زمان ورمی کمپوستینگ زیاد شد و تیمارازتوباکتر بیشترین مقدار نیتروژن را با افزایش حدود ۸۰ و ۶۵ درصد نیتروژن بترتیب در دماهای ۲۸ و ۴۱ درجه سانتی گراد داشت. درصد نیتروژن در تیمارها تا روز ۴۰ با شیب بیشتری زیاد شد ولی تا روز ۶۰ سرعت افزایش کاهش یافت. افزایش ۲۰ و ۱۵ درصدی نیتروژن بترتیب در دماهای ۲۸ و ۴۱ درجه سانتی گراد در تیمار سودوموناس نشان دهنده ی قابلیت تثبیت نیتروژن در این باکتری ها بود(جدول ۲) (بوزاتو ۲۰۱۲).

نتایج نشان داد مقدار فسفر قابل جذب نیز با افزایش زمان ورمی کمپوستینگ در تیمارهای آزمایش افزایش یافت. بیشترین مقدار فسفر در تیمار سودوموناس با ۴۰ و ۳۶ درصد افزایش بترتیب در دماهای ۲۸ و ۴۱ درجه سانتی گراد نسبت به مقدار اولیه مشاهده شد و تیمار ازتوباکتر نیز ۲۵ و ۱۹ درصدافزایش بترتیب در دماهای ۲۸ و ۴۱ درجه سانتی گراد نشان داد که از توانایی متوسطی برای حل کنندگی فسفر برخوردار بود. مقدار فسفر نیز همانند نیتروژن در ۴۰ روز ابتدایی با سرعت زیادتری افزایش یافت ولی بعد از آن شیب افزایش کاهش یافت (جدول ۲). افزایش دما اثر کاهنده ای در تثبیت نیتروژن و حلالیت فسفر داشت و دمای ۲۸ درجه سانتی گراد بهترین دما برای تثبیت نیتروژن و حل کنندگی فسفات در این باکتری ها بود که احتمالا جمعیت زیاد باکتری در این دما دلیل این افزایش می باشد.

جدول ۲- مقایسه میانگین مقادیر نیتروژن و فسفر در تیمارهای ورمی کمپوست در روز های بعد از تلقیح (گرم بر کیلوگرم).

Incubationtime(days)	temp	Treatment1		Treatment2		Treatment3	
		P	N	P	N	P	N
0	28	8.20^{Ab}	12.00^{Ab}	8.20^{Ad}	12.00^{Ad}	8.20^{Ad}	12.00^{Ad}
	41	8.20^{Ak}	12.00^{Ak}	8.20^{An}	12.00^{An}	8.20^{An}	12.00^{An}
20	28	8.23^{Ab}	12.21^{Ab}	9.52^{Ac}	15.15^{Ac}	8.83^{Ac}	12.81^{Ac}
	41	8.20^{Ak}	12.00^{Ak}	8.46^{Bm}	14.44^{Bm}	8.71^{Bm}	12.63^{Bm}
40	28	8.14^{Aa}	12.22^{Aab}	9.72^{Ab}	20.74^{Ab}	11.11^{Ab}	13.82^{Ab}
	41	8.21^{Bk}	$11.9A8^{Ak}$	9.51^{Bl}	19.56^{Bl}	10.95^{Bl}	13.75^{Al}
60	28	8.12^{Aa}	12.40^{Aa}	10.22^{Aa}	21.76^{Aa}	11.63^{Aa}	14.54^{Aa}
	41	8.21^{Bk}	11.97^{Bk}	9.77^{Bk}	19.81^{Bk}	11.16^{Bk}	13.83^{Bk}
C.V.		0.27	1.84	0.57	0.48	0.45	0.35
SEM±		0.01	0.12	0.03	0.04	0.02	0.02

حروف کوچک متفاوت a,b,c,... اختلاف معنی دار بین تیمارها در دمای ۲۸ درجه را نشان می دهد.

حروف کوچک متفاوت k,l,m,... اختلاف معنی دار بین تیمارها در دمای ۴۱ درجه را نشان می دهد.

حروف بزرگ متفاوت اختلاف معنی دار در دو دمای ۲۸ و ۴۱ درجه را نشان می دهد.

نتیجه گیری

باکتری های ازتوباکتر کورکوروم(21Az) و سودوموناس فلورسنس(Ps 59) هر دو در دمای ۲۸ درجه ساتی گراد دارای بیشترین عملکرد بودند و دمای ۴۱ درجه سانتیگراد از کارایی این باکتری ها کاست و تمامی شاخص های اندازه گیری شده با افزایش دما تحت تاثیر قرار گرفتند. این باکتری ها با افزایش تثبیت نیتروژن و انحلال فسفات های نامحلول(افزایش فسفر قابل جذب)، موجب غنی سازی ورمی کمپوست شدند. با افزایش زمان ورمی کمپوستینگ علاوه بر افزایش در جمعیت باکتری ها، فسفر قابل جذب و نیتروژن کل نیز با سرعت بیشتری افزایش یافت. این تحقیق نشان داد دمایی که برای ورمی کمپوستینگ انتخاب می شود نباید دمای بالایی باشد. طول انکوباسیون یکی از معیار های مهم در غنی سازی می باشد و طبق نتایج بست آمده از این تحقیق و گزارشات دیگران، نشان داد ۴۵ الی ۶۰ روز می تواند نتایج بسیار خوبی بر روی خصوصیات شیمیایی و بیولوژیکی ورمی کمپوست داشته باشد و انکوباسیون به مدت کمتر از ۴۰ روز و بیشتر از ۶۰ روز اثرات مفید زیادی ندارد. در نهایت با توجه به تاثیر بسیار مهم دما در روند غنی سازی ورمی کمپوست پیشنهاد می شود تحقیقات بیشتری روی انواع جامعه میکروبی مفید خاک در پروسه ورمی کمپوستینگ و در دماهای مختلف انجام گیرد.

منابع

Busato JG, Lima LS, Aguiar NO, Canellas LP and Olivares FL, 2012. Changes in labile phosphorus forms during maturation of vermicompost enriched with phosphorus-solubilizing and diazotrophic bacteria. Bioresour. Technol. 110, 390–395.

Eivazi F andTabatabai M, 1977. Phosphatases in soils. Soil Biol. Biochem. 9 167–172.

Frederickson J and Howell G, 2002. Large-scale vermicomposting: emission of nitrous oxide and effects of temperature on earthworm populations. Pedobiologia.47, 724–730.

Greene R, 1932 The Applicability of the Azotobacter(Placque) Method for Determining the Fertility Requirements of Arizona Soils. Soil Sci. Vol. 34 - Issue 2 - ppg 83-94.

Kaushik P, Yadav Y, Dilbaghi N andGarg VK ,2008. Enrichment of vermicomposts prepared from cow dung spiked solid textile mill sludge using nitrogen fixing and phosphate solubilizing bacteria. Environmentalist. 28:283–287.

Kumar V and Narula N, 1990. Solubilization of inorganic phosphates and growth emergance of wheat as a.ected by Azotobacterchroococcum. Biol. Fertil. Soils.28, 301±305.

Larney F, Yanke L, Miller J and McAllister T, 2003. Fate of coliform bacteria in composted beef cattle feedlot manure. J Environ Qual. 32:1508–1515.

Lynch, W.H. (1980) Effect of Temperature on Pseudomonas fluorescensChemotaxis. J Bacteriol. p. 338-342

Padmavathiamma P, Li L and Kumari U, 2008. An experimental study of vermibiowaste composting for agricultural soil improvement. Biores. Technol. 99, 1672–1681.

Page A, 1982. Methods of Soil Analysis.Agronomi 9, ASA, SSSA, Madison, Wiscosin, USA.

تأثیر نوع خاک و بقایای گیاهی بر معدنی شدن خالص نیتروژن

محمد رحمانیان[۱]، الهیار خادم[۱]، مسلم زرینی بهادر[۱] و امین شجاعی[۲]

۱- دانشجوی دکتری خاکشناسی، دانشگاه شهرکرد Email; M.rahmanian10@yahoo.com

۲- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد گروه علوم خاک دانشگاه یاسوج

مقدمه

بازگشت بقایای گیاهی به خاک به ویژه در خاکهای مناطق خشک و نیمه خشک از ارکان مهم و اجتناب ناپذیر پایداری اکوسیستمهای کشاورزی است. دینامیک نیتروژن خاک پس از بازگشت بقایای گیاهی با کیفیت مختلف به طور متفاوت تحت تأثیر قرار گرفته و بر قابلیت جذب نیتروژن برای محصول بعدی اثر خواهد گذاشت. نیتروژن آلی خاک پس از شرکت در فرآیند معدنی شدن شامل آمونیفیکاسیون و نیتریفیکاسیون به صورت یونهای آمونیوم و نیترات در می آید تا برای گیاهان قابل جذب باشد (Tate, 2000). شواهد قابل توجهی در دست است که نشان می دهد جذب مولکولهای آلی نیتروژن دار به وسیله گیاهان در اکوسیستمهای کشاورزی مناطق معتدل چندان قابل توجه نیست (Aulakh et al., 2001)، بنابراین جذب نیتروژن به وسیله گیاهان عمدتاً محدود به یونهای معدنی است که در طی فرآیند معدنی شدن حاصل می شوند. فرآیند معدنی شدن نیتروژن یکی از فرایند های مهم چرخه نیتروژن است که طی آن نیتروژن آلی خاک ابتدا به اشکال معدنی آمونیوم و یا آمونیاک تغییر شکل می یابد (Paul, 2007). حدود ۹۵ درصد نیتروژن خاک به صورت آلی است و در اغلب خاک های معدنی با زهکشی مناسب، تنها ۵ درصد آن به شکل نیتروژن معدنی قابل جذب طی فصل رشد در اختیار گیاه قرار می گیرد (Eneji et al., 2002; Paul, 2007). معدنی شدن نیتروژن یک فرآیند میکروبی نسبتًا کند است که عوامل متعددی مانند تهویه، pH، نوع خاک و ترکیبات اضافه شده به آن، دما و رطوبت بر آن مؤثر می باشند (Paul, 2007). معدنی شدن نیتروژن به کیفیت بقایای گیاهی (Detritus quality) و ورودی های کربن گیاهی نیز بستگی دارد (Andrioli et al., 2010; Paul, 2007). کیفیت بالای بقایای گیاهی با میزان اندک لیگنین و ترکیبات فنل دار، نسبت C/N پایین و همچنین تحریک فعالیت میکروبی خاک بر اثر افزودن ماده آلی آسان تجزیه پذیر باعث افزایش معدنی شدن نیتروژن (معدنی شدن خالص، Net N mineralization) آلی می گردد، در حالی که ورود بقایای آلی با کیفیت پایین به خاک و فراوانی کربن سخت تجزیه پذیر و مقاوم به تجزیه میکروبی باعث افزایش توقف نیتروژن خاک (N immobilization) می گردد (Andrioli et al., 2010; Paul, 2007). افزودن بقایای گیاهی غنی از نیتروژن (مانند لگومها) باعث افزایش ذخایر نیتروژن آلی خاک و افزایش سرعت معدنی شدن نیتروژن شده و نیاز گیاه را به افزودن کودهای شیمیایی نیتروژن دار کاملاً برطرف می سازد (Isac et al., 2000)، لیکن از سوی دیگر افزودن بقایای گیاهی فقیر از نیتروژن (مانند بقایای غلات) باعث انتقال نیتروژن از فاز معدنی به بیوماس میکروبی خاک شده و امکان آبشویی آن را کاهش می دهد (Puget and Drinkwater, 2001). کاهش شدت آبشویی در اکوسیستمهای مرطوب و در اراضی تحت آبیاری سنگین از طریق نگهداری آن در بیوماس میکروبی خاک، راهکار زیست محیطی بسیار ارزشمندی است که در سال های اخیر مورد توجه قرار گرفته است. تأثیر نوع خاک نیز بر تحولات نیتروژن در خاکهای تیمار شده با بقایای گیاهی،

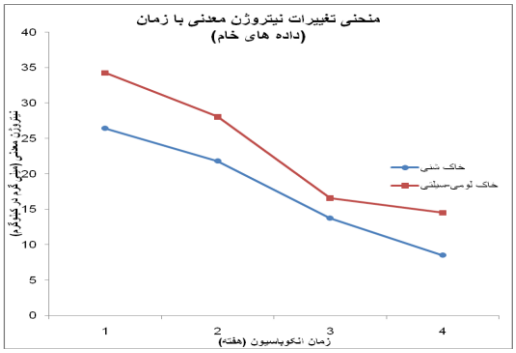
لازم است مورد توجه قرار گیرد. هدف از این مطالعه بررسی تأثیر نوع خاک و بقایای گیاهی بر شدت معدنی شدن خالص نیتروژن می باشد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در آزمایشگاه بیولوژی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد انجام شد. برای اندازه گیری معدنی شدن نیتروژن در شرایط آزمایشگاهی از روش انکوباسیون و سپس عصاره گیری با کلرید پتاسیم استفاده شد. برای اندازه گیری معدنی شدن ۱۰۰ گرم خاک آون خشک (دو نوع خاک رسی و شنی) عبور کرده از الک ۲ میلی متری به دقت وزن و در جار (قوطی) یک لیتری ریخته شد. یک گرم بقایای گیاهی (بقایای انگور و برنج) کاملا آسیاب شده که از الک ۱ میلی متری عبور داده شده بود به خاک ها اضافه شد و به طور کامل با خاک مخلوط شد. حدود ۲۰ تا ۴۰ سی سی آب مقطر جهت تعدیل رطوبت خاک در ۶۰ تا ۷۰ درصد ظرفیت زراعی (رطوبت مطلوب برای فعالیت میکروبی) به هر کدام از جارهای محتوی خاک اضافه شد. ظروف حاوی خاک در داخل انکوباتور در دمای ۱±۲۵ قرار داده شدند. روز اول آزمایش (t=0) و سپس هر هفته برای بررسی دینامیک نیتروژن، غلظت نیتروژن معدنی شدن در نمونه ها اندازه گیری شد (این کار به مدت ۵ هفته دنبال شد). برای این کار ۶ گرم خاک مرطوب (معادل ۵ گرم خاک هوا خشک) از هر نمونه وزن و ۳۰ سی سی KCl یک مولار (نسبت ۵:۱) جهت عصاره گیری به نمونه ها اضافه شد. نمونه ها به مدت یک ساعت بر روی دستگاه شیکر قرار داده شدند. پس از صاف کردن عصاره ها مقدار نیتروژن نیتراتی و آمونیاکی به روش رنگ سنجی به ترتیب در طول موج ۴۱۰ و ۶۶۰ نانومتر اندازه گیری شدند. برای اندازگیری NO_3-N ابتدا محلول های استاندارد ۰، ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ میلی گرم بر لیتر NO_3-N از نیترات پتاسیم تهیه شد. ۵۰۰ میکرو لیتر از عصاره نمونه های خاک و استانداردها برداشته و یک میلی لیتر اسید سالیسیلیک به آنها اضافه شد. پس از ۳۰ دقیقه ۱۰ سی سی سود ۴ مولار به آنها اضافه و پس از یک ساعت مقدار نیتروژن نیتراتی به روش رنگ سنجی در طول موج ۴۱۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکترومتر اندازه گیری شد. منحنی استاندارد رسم و غلظت نیترات در نمونه ها محاسبه گردید. برای اندازگیری NH_4-N ابتدا محلول های استاندارد ۰، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ میلی گرم بر لیتر NH_4-N از نیترات پتاسیم تهیه شد. ۱۰۰ میکرو لیتر از عصاره نمونه های خاک و استانداردها برداشته و پس از اضافه شدن ۵ میلی لیتر معرف رنگی مخلوط شدند. پس از ۱۵ دقیقه ۵ سی سی محلول قلیایی هیپوکلریت سدیم اضافه و پس از یک ساعت مقدار نیتروژن آمونیاکی به روش رنگ سنجی در طول موج ۶۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکترومتر اندازه گیری شد. منحنی استاندارد رسم و غلظت در نمونه ها محاسبه گردید.

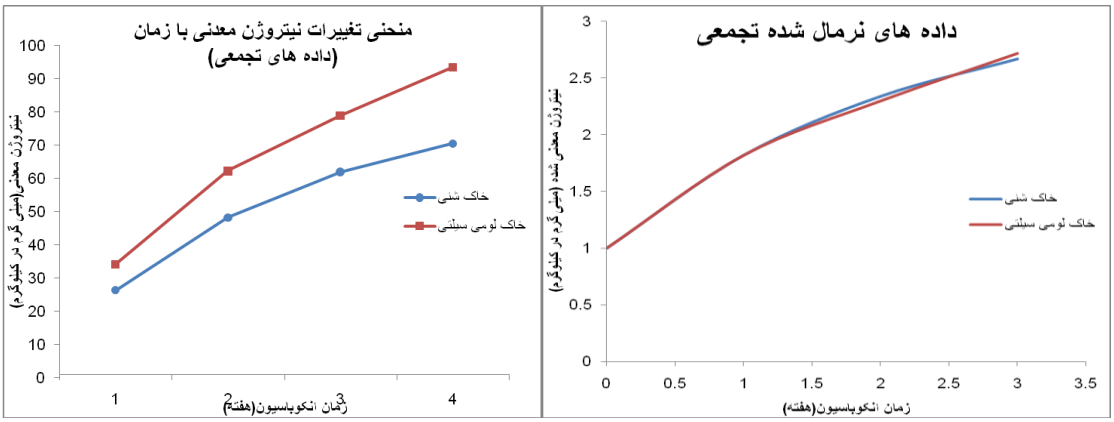
نتایج و بحث

نتایج آزمایشات انجام شده با نمونه های گیاه مورد استفاده نشان داد که نیتروژن در نمونه های خاک روند معدنی شدن نداشته و استفاده از بقایای گیاهی ذکر شده موجب توقف نیتروژن شده است(نمودار ۱). همانطور که در نمودار داده های خام مشاهده می شود استفاده از بقایای برنج و انگور موجب توقف نیتروژن گردیده است و کاهش نیتروژن معدنی خاک در خاک شنی شدیدتر بوده است.



شکل ۱: تغییر نیتروژن معدنی خاک با زمان انکوباسیون

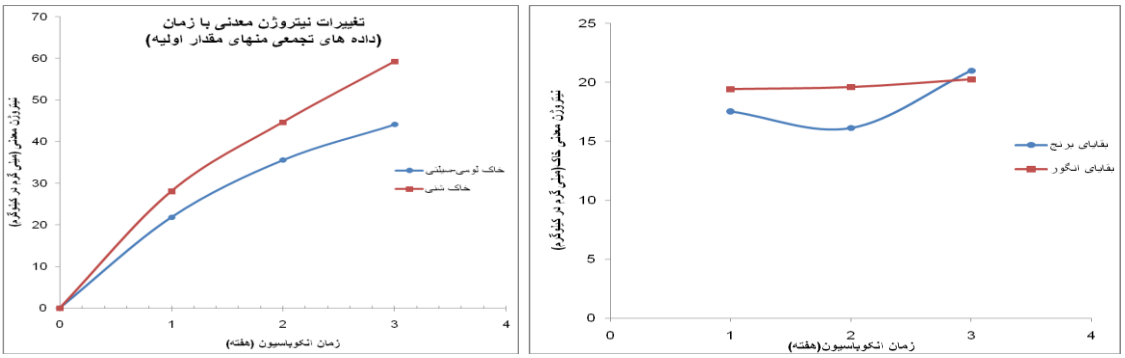
علت تفاوت اولیه در میزان نیتروژن معدنی دو خاک نیز می تواند به محتوای مواد آلی بالاتر در خاک لومی سیلتی و ویژگیهای مدیریتی اعمال شده به خاکها مرتبط باشد. این موضوع نشان دهنده آن است که مدیریت این بقایای گیاهی در مزرعه نیازمند بررسی سایر اقدامات مدیریتی، از قبیل افزودن کودهای آلی غنی از نیتروژن است تا کاهش معنی دار نیتروژن قابل جذب گیاه در خاکهای تیمار شده با این بقایا جبران گردد. Mubarak و همکاران (۲۰۰۲) در یک خاک اسیدی و شیخ حسینی و نوربخش (۱۳۸۶) نتایج مشابهی بدست آوردند. همچنین در روند معدنی شدن کربن نیز مشاهده گردید که سرعت خروج کربن از خاک شنی بیشتر است و این امر نشان می دهد تجزیه مواد آلی در خاک شنی بالاتر است و با توجه به نسبت زیاد کربن به نیتروژن در بقایای مورد استفاده میکروبهای هتروتروف خاک از نیتروژن معدنی خاک استفاده کرده و این امر موجب توقف سریعتر نیتروژن در این خاک می گردد. از نکاتی که باید به آن توجه شود طول کوتاه دوره انکوباسیون است که اجازه اندازه گیری بیشتر روند تغیرات نیتروژن را نمی دهد. منحنی روند معدنی شدن نرمال دو خاک نیز بسیار شبیه به هم بود (نمودار ۲).



شکل ۳: تغییر تجمعی نرمال شده نیتروژن معدنی خاک شکل ۲: تغییر تجمعی نیتروژن معدنی خاک با زمان

همچنین نتیجه آزمایشات انجام شده نشان می دهد که بین بقایای گیاهی مورد استفاده از نظر تأثیر بر میزان نیتروژن قابل دسترس خاک اختلاف وجود دارد (نمودار ۵). به دلیل تأثیر کیفیت بیوشیمیایی بقایای گیاهی بر

فرآیند معدنی شدن نیتروژن، در برخی موارد درصد نیتروژن، در شماری از موارد نیز نسبت C/N و در مواردی نسبت لیگنین به نیتروژن نقش اصلی در سرعت معدنی شدن نیتروژن خاکهای تیمار شده با بقایای گیاهی مختلف دارد.



شکل ٥: تأثیر بقایای گیاهی بر نیتروژن معدنی خاک شکل ٤: تغییر تجمعی نرمال شده نیتروژن معدنی خاک با زمان

نتایج مشابهی توسط شیخ حسینی و نوربخش (۱۳۸۶) بدست آمد. همانطور که در نمودار مربوطه دیده می شود بقایای برنج در دو هفته اول موجب کاهش نیتروژن خاک گردیده ولی در هفته سوم افزایش آن مشاهده می شود. با توجه به کوتاه بودن طول زمان انکوباسیون نمی توان نتیجه گیری قطعی در مورد تأثیر بقایای مورد استفاده بر نیتروژن خاک انجام داد.

منابع

شیخ حسینی، ا. ر. و نوربخش، ف.، ۱۳۸۶. تأثیر نوع خاک و بقایای گیاهی بر معدنی شدن خالص نیتروژن. نشریه پژوهش و سازندگی (زراعت و باغبانی). شماره ۷۵، صفحه‌های ۱۲۷ تا ۱۳۳.

Andrioli RJ, Distel RA and Didone NG, 2010. Influence of cattle grazing on nitrogen cycling in soils beneath Stipa tenuis, native to central Argentina. Journal of Arid Environ 74: 419-422.

Aulakh MS, Khera TS, Doran JW and Bronson KF, 2001. Managing crop residue whit green manure, urea and tillage in a rice-wheat rotation. Journal Soil Science Society of America Journal 65: 820-827.

Eneji AE, Honna T, Yamamoto S, Saito T and Masuda T, 2002. Nitrogen transformation in four Japanese soils following manure+urea amendment. Communications in Soil Science and Plant Analysis 33: 53-66.

Isac L, Wood CW and Shannon DA, 2000. Decomposition and nitrogen release of prunings from hedgerow species assessed for alley cropping in Haiti. Journal of Soil Science Society American 92: 501-511.

Mubarak AR, Rosenani AB, Anuar AR and Zanyah S, 2002. Decomposition and nutrient release of maize stover and groundnut haulm under tropical field condition of Malysia. Communications in Soil Science and Plant Analysis 33: 609-622.

Paul EA, 2007. Soil Microbiology, Ecology, and Biochemistry. 3rd ed., Academic Press-Elsevier, USA.

Puget P and Drinkwater LE, 2001. Short-term dynamics of root- and shoot-drived carbon from a leguminous green manure. Soil Science Society of America Journal 65: 771-779.

Tate III, 2000. Soil microbiology. 2nd Edition. John Wiley and Sons. NY.

تأثیر نوع خاک و بقایای گیاهی بر معدنی شدن ماده آلی خاک یا تنفس میکروبی

محمد رحمانیان[۱]، الهیار خادم[۱] و امین شجاعی[۲]
۱- دانشجوی دکتری خاکشناسی، دانشگاه شهرکرد Email; M.rahmanian10@yahoo.com
۲- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد گروه علوم خاک دانشگاه یاسوج

مقدمه

کربن یکی از عناصر مورد نیاز گیاه است که میزان آن در مقایسه با سایر عناصر در حد بالایی قرار دارد. نزدیک به ۴۰ درصد وزن ماده خشک گیاه را کربن تشکیل می دهد. سرچشمه مواد آلی خاک، بقایای حیوانی و بازمانده های گیاهی است. این مواد از ابتدای ورود به خاک تحت تاثیر مستقیم موجودات زنده و گروههای میکروبی آن قرار می گیرند و تغییرات زیادی می یابند. در اهمیت ماده آلی همین بس که آن را به عنوان قلب کشاورزی پایدار نام نهاده اند و همچنین نقش آن را در خاک همانند نقش خون در بدن دانسته اند. مواد آلی خاک یکی از اجزاء بسیار مهم آن است که بطور مستقیم و غیر مستقیم تغذیه گیاه، رشد و تولید محصول را تحت تاثیر قرار می‌دهد. فواید مواد آلی در خاک به اندازه ای متنوع و زیاد است که انسان را به یاد فواید نوشته شده بر روی برچسب داروهای قدیمی می اندازد ولی خوشبختانه این فواید در مورد مواد آلی کاملا واقعیت دارد.

به طور کلی فرایند تنفس بیان کننده فعالیت بیولوژیکی خاک است. تنفس میکروبی و تنفس خاک در بیشتر موارد به صورت مترادف به کار می روند ولی دو مفهوم متفاوت دارند. تنفس خاک تولید دی اکسید کربن یا مصرف اکسیژن در نتیجه فرایند های متابولیکی کلیه موجودات زنده در خاک است و تنفس میکروبی تولید دی اکسید کربن یا مصرف اکسیژن در نتیجه متابولیسم میکروارگانیسم هایی مانند باکتری ها، قارچ ها، جلبک ها و پروتزوئرهاست. شاخص تنفس خاک در ارزیابی کیفیت خاک عموما کاربرد بیشتری دارد زیرا بیانگر فعالیت بیولوژیکی تمام جانداران خاک است.

تنفس خاک یکی از قدیمی ترین پارامترهای تعیین فعالیت میکروبی در خاک است (Kieft and Rosacker, 1991) و یکی از اساسی ترین شاخص های بارروری خاک بوده که انجام آن نیازمند انرژی می باشد (Nanipieri et al., 1990). البته تنفس یک فرآیند کلی است که تنها محدود به ریزجانداران نمی باشد بلکه توسط همه موجودات ساکن در خاک نیز انجام می شود. رطوبت، دما، قابلیت دسترسی به مواد غذایی، ساختمان خاک (Kieft et al., 1987)، ذخیره کربن خاک (Fang and Moncrieff, 2005)، نوع پوشش گیاهی، کیفیت و کمیت سوبسترا، زیست توده و فعالیت میکروبی، مدیریت و کاربری اراضی به ویژه مصرف کودها از جمله عواملی هستند که بر تنفس مؤثر می باشند (Ding et al., 2007). بیش ترین میزان تنفس در بخش های سطحی خاک اتفاق می افتد و با افزایش عمق به دلیل کاهش کربن خاک کاهش می یابد (Fang and Moncrieff, 2005). تولید خالص CO_2 بستگی به تعادل بین سرعت ورود کربن از طریق مواد آلی و سرعت خروج آن توسط تجزیه کنندگان خاک دارد (Adl, 2003).

مقدار کربن معدنی شده به طور غیر مستقیم چرخه مواد غذایی را تحت تاثیر قرار می دهد و در خاک های کشاورزی مقادیر بالای تنفس میکروبی در مکان هایی مشاهده می شود که معدنی شدن کربن بالاترین مقدار را دارد. مقادیر بالای CO_2 آزاد شده نشانگر سرعت بالای تجزیه کربن خاک و افزایش منابع عناصر غذایی در دسترس گیاه است. از عوامل موثر بر معدنی شدن کربن (تجزیه مواد آلی) می توان به تهویه، میزان رطوبت، دما،

pH، بافت خاک، کمیت و کفیت بقایای گیاهی، نوع گیاه، سن گیاه، مدیریت بقایای گیاهی، نوع عملیات کشاورزی و غیره می توان اشاره کرد. تحقیقات مختلف نشان داده است که اندازه گیری فعالیت میکروبی یا فعالیت آنزیمی به تنهایی یا همراه با بیوماس میکروبی، شاخص مناسبی برای فراهمی ازت نیست، چرا که این میکروارگانیسم ها نیاز به مواد غذایی داشته که این مواد نیز تحت تأثیر مقدار باقی مانده گیاهان، بافت خاک، رطوبت و دما متفاوت خواهند بود. تأثیر نوع خاک نیز بر تحولات کربن در خاکهای تیمار شده با بقایای گیاهی، لازم است مورد توجه قرار گیرد. هدف از این مطالعه بررسی تأثیر نوع خاک و بقایای گیاهی بر شدت معدنی شدن کربن یا تنفس میکروبی می باشد.

مواد و روش‌ها

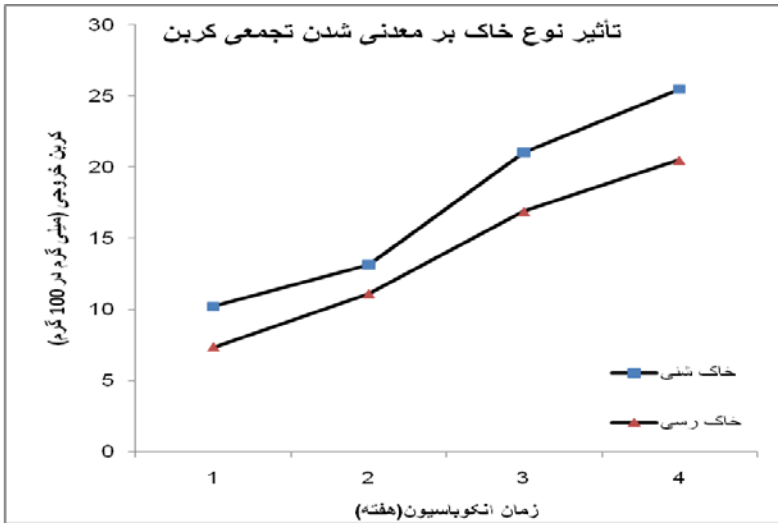
این مطالعه در آزمایشگاه بیولوژی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد انجام شد. اندازه گیری میزان CO_2 حاصل از تنفس میکروبی، هم در آزمایشگاه و هم در مزرعه، به روش های متفاوتی انجام می شود. برای اندازه گیری میزان CO_2 از روش تیتراسیون برگشتی با سود باقیمانده (Anderson, 1982) که روشی آزمایشگاهی و ساده و در عین حال از دقت زیادی هم برخوردار است، استفاده شد.

برای اندازه گیری تنفس میکروبی ۱۰۰ گرم خاک آون خشک (دو نوع خاک رسی و شنی) عبور کرده از الک ۲ میلی متری به دقت وزن و در جار (قوطی) یک لیتری ریخته شد. یک گرم بقایای گیاهی (بقایای انگور و برنج) کاملا آسیاب شده که از الک ۱ میلی متری عبور داده شده بود به خاک ها اضافه شد و به طور کامل با خاک مخلوط شد. حدود ۲۰ تا ۴۰ سی سی آب مقطر جهت تعدیل رطوبت خاک در ۶۰ تا ۷۰ درصد ظرفیت زراعی (رطوبت مطلوب برای فعالیت میکروبی) به هر کدام از جارهای محتوی خاک اضافه شد. مقدار ۱۵ سی سی سود ۰٫۵ مولار در یک ظرف پلاستیکی ۲۰ سی سی ریخته و بر روی سطح خاک گذاشته شد. این کار برای جمع آوری CO_2 ناشی از تنفس میکروبی در سود نیم مولار بود. ظروف حاوی خاک در داخل انکوباتور در دمای ۱±۲۵ درجه قرار داده شدند. پس از مدت یک هفته سود را برداشته و ۵ سی سی $BaCl_2$ ۱۰ ٪ به آن اضافه شد تا کربنات به صورت $BaCo_3$ رسوب کرد و همچنین چند قطره فنل فتالئین به آن اضافه و با اسیدکلرید ریک ۰٫۱ نرمال تیتر شد. در پایان حجم اسید مصرفی برای تیتراسیون شاهد و نمونه ها یادداشت گردید.

نتایج و بحث

در این مطالعه بافت یکی از خاک ها سیلتی– لومی و دیگری شنی بود. تاثیر نوع خاک بر معدنی شدن کربن در شکل (۱) نشان داده شده است. نتایج این مطالعه نشان می دهد که معدنی شدن کربن بین دو نوع خاک متفاوت بوده و در خاک شنی بیشتر از خاک سیلتی–لومی می باشد. همچنین معدنی شدن کربن در هر دو خاک با گذشت زمان روند صعودی را نشان می دهد. دلیل این امر را می توان به درصد بیشتر رس در خاک رسی که مانع تجزیه مواد آلی و خروج کربن می شود و همچنین میزان محتوای آب بیشتر در خاک رسی و انحلال دی اکسید کربن در آب و عدم خروج آن نسبت داد. در شرایط آزمایشگاهی و بهینه مواد آلی بلافاصله پس از ورود به خاک مورد تجزیه قرار می گیرند تا انرژی و عناصر غذایی مورد نیاز میکروبها تأمین گردد. مواد آلی مختلف دارای سرعت تجزیه متفاوتی هستند که بستگی به ترکیب شیمیایی و نوع مواد موجود در آنها دارد. موادی مانند

کاه و کلش برنج دارای نسبت کربن به نیتروژن بالایی هستند و پس از وارد شدن به خاک به علت کمبود نیتروژن در ساختمان آنها، میکروبها از نیتروژن بومی خاک برای تجزیه این مواد استفاده می نمایند و این امر به توقف نیتروژن منجر می گردد.

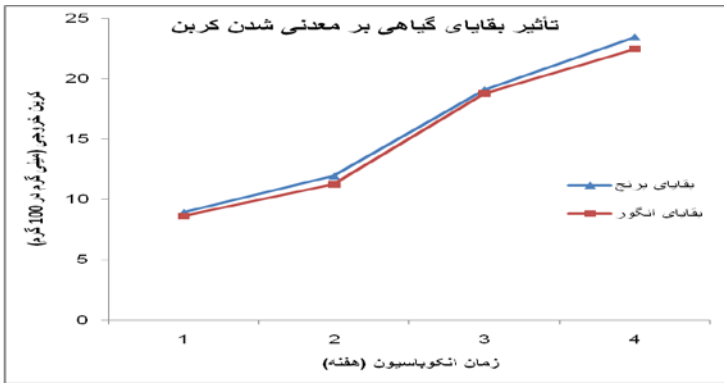


شکل ۱: تاثیر نوع خاک بر معدنی شدن تجمعی کربن

تاثیر بقایای گیاهی بر معدنی شدن کربن در شکل (۲) نشان داده شده است. نتایج این مطالعه نشان می دهد که تاثیر بقایای گیاهی بر معدنی شدن کربن متفاوت و معدنی شدن کربن در بقایای برنج بیشتر از بقایای انگور اتفاق افتاده است. همچنین معدنی شدن کربن در هر دو بقایا با گذشت زمان روند صعودی را نشان می دهد. آنچه مسلم است این موضوع می باشد که با ورود مواد آلی خارجی به خاک فعالیت میکروبی خاک تشدید یافته و این امر افزایش تجریه مواد آلی و در نتیجه افزایش خروج دی اکسید کربن از خاک را به دنبال دارد. نتایج مشابه توسط (Bertrand et al., 2007) و (Singh et al., 2006) گزارش شده است. همچنین رئیسی و آقابابایی (۱۳۹۰) در بررسی تجزیه پذیری برخی بقایای گیاهی و پیامد کاربرد آنها بر تنفس و زیست توده میکروبی به نتایج مشابهی دست یافتند. به طورکلی افزودن بقایای گیاهی به خاک موجب افزایش معنی دار فعالیت میکروبی در خاک می گردد. علاوه بر افزایش سرعت و میزان تنفس (معدنی شدن کربن)، زیست توده میکروبی خاک نیز افزایش معنی دار پیدا می کند که این افزایش فعالیت آنزیم های درون و برون سلولی را در پی خواهد داشت. با این حال، نوع و کیفیت بقایای گیاهی افزوده شده به خاک بر روند تغییرات ویژگیهای بررسی شده و C/N مؤثر می باشد. به گونه ای که ترکیب شیمیایی بقایا، نسبت میزان کربن سهل الوصول در بقایا می تواند نتایج را تغییر دهد. بنابراین پیشنهاد می گردد در باغها و زمین های کشاورزی، بقایای گیاهی به خاک برگردانده شوند تا ضمن برگشت بخشی از عناصر برداشت شده، با تحریک فعالیت میکروبی و آنزیمی خاک سایر اثرات مثبت فیزیکی و شیمیایی خود را نیز در خاک به همراه داشته باشد.

ازمحدودیت این تحقیق کوتاه بودن طول دوره انکوباسیون خاک است که اجازه پیگیری کامل تجزیه بقایای آلی را نمی دهد. همچنین مشاهده می شود که در دو هفته اول انکوباسیون شیب منحنی خروج دی اکسید کربن

بسیار زیاد است و این تحریک شدید فعالیت میکروبی اثر افزودن مواد آلی خارجی را نشان می دهد. همچنین روند کلی خروج گاز دی اکسید کربن بین دو نوع مواد آلی مورد استفاده بسیار مشابه می باشد.



شکل ۲: تاثیر نوع بقایای گیاهی بر معدنی شدن کربن

منابع

رئیسی، ف. و آقابابایی، ف.، ۱۳۹۰. تجزیه پذیری برخی پسماندهای گیاهی و پیامد کاربرد آنها بر تنفس و زیست توده میکروبی، و فعالیت آنزیمی خاک. نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی). جلد ۲۵، شماره ۴، صفحه‌های ۸۶۳ تا ۸۷۳.

Adl SM, 2003. The Ecology of Soil Decomposition. CAB Publishing, Wallingford, UK.

Anderson JPE, 1982. Soil Respiration. PP. 831-872. In: A. L. Page et al. (eds). Methods of Soil Analysis. 2nd ed. Part 2. American Society of Agronomy, U.S.A.

Bertrand I, Delfosse O and Mary B, 2007. Carbon and nitrogen mineralization in acidic, limed and calcareous agricultural soils: apparent and actual effects. Soil Biology and Biochemistry 39: 276-288.

Ding W, Meng L, Yin Y, Cai Z and Zheng X, 2007. CO2 emission in an intensively cultivated as affected by long-term application of organic manure and nitrogen fertilizer. Soil Biology and Biochemistry 39: 669-679.

Fang C and Moncrieff JB, 2005. The variation of soil microbial respiration with depth in relation to soil carbon composition. Plant Soil 268: 243-253.

Kieft TL and Rosacker LL, 1991.Application of respiration and adenylatebased soil microbiological assay to deep subsurface terrestrial sediments. Soil Biology and Biochemistry 23: 563-568.

Kieft TL, Soroker E and Firestone MK, 1987. Microbial biomass response to a rapid increase in water potential when dry soil is wetted. Soil Biology and Biochemistry 19: 119-126.

Nanipieri P, Grego S and Ceccanti B, 1990. Ecological significance of the biological activity in soil, In: Bollag JM and Stotzky G (eds.), Soil Biochemistry. Marcel Dekker, New York P: 293-355.

Singh B, Rengel Z and Bowden JW, 2006. Carbon, nitrogen and sulphur cycling following incorporation of canola residue of different sizes into a nutrient-poor sandy soil. Soil Biology and Biochemistry 38: 32-42.

تاثیر کلنیزاسیون میکوریزایی مرکبات بر جذب عناصر غذایی

یعقوبعلی کرمی[۱]، یعقوب حسینی [۲]، رمضان رضازاده[۲]، ابوالحسن مغینی[۲]، مریم قریشی زاده [۳]، فرهاد رجالی[٤]
۱-دانشجوی دکترا رشته خاکشناسی دانشگاه ارومیه، ۲-عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی هرمزگان، ۳-کارشناسی ارشد رکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی هرمزگان، ٤-عضو هیئت علمی موسسه تحقیقات آب و خاک

مقدمه

میکوریز یک همزیستی بین ریشه گیاه و قارچهای خاکی است که نقشی کلیدی در چرخش عناصر غذایی اکوسیستم و همچنین محافظت گیاه در برابر استرسهای محیطی به عهده دارد(اورتاس، ۲۰۰۸). مرکبات وابستگی شدیدی به قارچهای میکوریز(AM) دارند، گرچه کلنیزاسیون میکوریزایی مرکبات در مزرعه نسبتاً پایین است اما میکوریزی کردن دانهالها یک ابزار عملی مهم برای بالا بردن کلنیزاسیون در آنها می باشد(وو و زو، ۲۰۱۲). در رایزوسفر مرکبات، انواع مختلفی از میکروارگانیزم های خاک همچون قارچهای میکوریز آربوسکولار (AMF) وجود دارند که می توانند با ریشه مرکبات همزیستی دو جانبه ایجاد نمایند(هارتمن و همکاران، ۲۰۰۹). مرکبات در مزرعه ریشه های مویینه کمتری تولید می کنند و رشد آنها به شدت به قاچهای آربوسکولار میکوریز وابسته است (وو و ضیا، ۲۰۰۶). نخستین تأثیر قارچهای همزیست AM افزایش عناصر معدنی در گیاه، بخصوص آنهاییکه بشکل یونهای کم تحرک و یا در غلظت کم در محلول خاک برای رشد و توسعه گیاه میزبان عرضه میگردد، می باشد(ارکولین و رین هارت، ۲۰۱۱). آکاکار و همکاران(۲۰۱۰) نشان دادند که تاثیر قارچهای AM در رشد و جذب عناصر غذایی چندین گونه گیلاس معنی دار شده است. تلقیح هلو با میکوریز سبب افزایش رشد هلو شد و به طور معنی داری غلظت عناصرکلسیم، منیزیم، آهن و روی در اندامهای هوایی و ریشه گیاه افزایش یافت. غلظت کلسیم، مس و منگنز ریشه هلو نیز به طور آشکاری به گونه میکوریز بکار رفته بستگی نشان داد(وو و همکاران ۲۰۱۱). تعداد زیادی از آزمایشات مزرعه ای و گلدانی نشان داده اند که تلقیح با قارچهای میکوریز آربوسکولار می تواند رشد و جذب عناصرغذایی در مرکبات، مقاومت به خشکی و شوری را افزایش و کیفیت میوه را بالا ببرد(وو و همکاران ۲۰۱۰ و ۲۰۱۱). آزمایشات گراهام و اگل (۱۹۸۸) بیانگر این حقیقت است که با کاربرد میکوریز میزان غلظت فسفر در برگ درختان پرتقال افزایش می یابدآزمایش جوز و همکاران (۲۰۰۲) نشان داد که مقدار روی و مس به طور معنی داری در گیاهان مرکبات میکوریزی نسبت به غیر میکوریزی افزایش یافته است.همزیستی میکوریزی از طریق جذب عناصر غذایی و آب موجب افزایش رشد گیاه میزبان در طی دوره تنش خشکی می شود. همچنین این نوع قارچها کارایی مصرف آب گیاه میزبان را در شرایط تنش خشکی افزایش می دهند، البته تاثیر گونه های مختلف قارچ از این نظر متفاوت می باشد (سیمسان و داف، ۱۹۹۰). باقری و همکاران(۲۰۱۲) نشان دادند که در پسته های میکوریزی بدون توجه به مقدار رطوبت خاک، غلظت فسفر، پتاسیم، روی و منگنز نسبت به پسته های غیر میکوریزی بالاتر بود در حالی که غلظت مس و آهن در آنها تفاوتی نشان نداد. در این تحقیق تاثیر قارچ گلوموس اینترارادیسز بر جذب عناصر غذایی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها:

به منظور بررسی تاثیر قارچهای میکوریز بر افزایش جذب عناصر غذایی به خصوص فسفر و برخی عناصر میکرو در مرکبات، آزمایشی گلدانی به صورت فاکتوریل در قالب طرحهای کاملا تصادفی با سه فاکتور درسه تکرار به اجرا در آمد. فاکتور گونه با دو گونه نارنج(Citrus aurantium) و بکرائی (Citrus riteculata ×C. limetta)، فاکتور محیط کشت به سه صورت(خاک بدون استریل بدون قارچ، خاک استریل بدون قارچ و خاک استریل به علاوه قارچ) و فاکتور دور آبیاری در دو سطح (۵ و۱۰ روزه) اعمال شد. پس از تهیه خاک، خشک کردن آنها در هوا و عبور از الک دو میلیمتری، بخشی از خاک مورد استفاده به مقدار لازم جهت استفاده در تیمارهای استریل خاک، با اتوکلاو در دمای ۱۲۰ درجه سانتیگراد و فشار ۱/۲ اتمسفر به مدت یک ساعت استریل شد. در داخل هر گلدان پلاستیکی با مشخصات قطر دهانه بالا۲۶ سانتیمتر، قطر قسمت پایین۱۹سانتیمتر و ارتفاع ۲۶ سانتیمتر مقدار ۷ کیلوگرم خاک(با توجه به نوع تیمار) ریخته شد. بذور مرکبات نیز قبل از کاشت با هیپوکلریت سدیم ضد عفونی و سپس چندین بار با آب مقطر شسته شد. جهت تلقیح از مایه تلقیح قارچ Glomus intraradices که مایه تلقیح ماسه بود استفاده شد. به همین منظور در تیمارهای میکوریزی یک لایه ۲ سانتیمتری از سطح بالای خاک گلدان برداشته شد و سپس لایه ای از مایه تلقیح مورد نظر با وزن مشخص(۱۰۰ گرم به ازای هر گلدان) به خاک هر گلدان اضافه و آنگاه خاک برداشته شده دوباره به گلدان مربوطه برگردانده شد. در هر گلدان از هر ده بذرکاشته شد پنج جوانه در هر گلدان حفظ و بقیه حذف شدند. دور آبیاری یک ماه پس از جوانه زدن بذرها و استقرار کامل نهالها اعمال گشت. پس از قطع گیاهان، غلظت فسفر در اندامهای هوایی به روش اولسون و غلظت عناصر آهن، روی، مس و منگنز توسط دستگاه جذب اتمیک اندازه گیری شد.آنالیز آماری داده ها با استفاده از نرم افزارSAS و مقایسه میانگین ها به روش دانکن انجام گردید.

نتایج وبحث

با توجه به مقایسه میانگینهای اثر محیط کشت بر صفات مورد بررسی(جدول۱) به نظر می رسد، در سه محیط کشت مورد مطالعه، محیط کشت استریل بدون قارچ به دلیل از بین رفتن میکرو ارگانیزم ها به خصوص قارچهای مورد مطالعه در اکثر موارد قریب به اتفاق نسبت به دو محیط کشت دیگر از وضعیت بدتری برخوردار بوده و محیط کشت استریل با قارچ اثر مثبتی بر اغلب صفات مورد بررسی داشته است. در همین رابطه با توجه به نتایج جدول مقایسه میانگین اثرات متقابل سه فاکتور(جدول ۴) میتوان اظهار نمود که اثر قارچ میکوریز در محیط کشت استریل در جذب فسفر اندامهای هوایی به مقدار ۰/۳۷۳ در صد با دور آبیاری ده روزه در بکرایی، روی به مقدار۱۵/۱۷ قسمت در میلیون در بکرایی با دور آبیاری ۵ روزه، مس به مقدار۵/۱۷ قسمت در میلیون در بکرایی با دور آبیاری ۵ روزه ، آهن به مقدار۱۷۳/۳ قسمت در میلیون در بکرایی با دور آبیاری ده روزه و منگنز به مقدار۷۵۸/۳ قسمت در میلیون در بکرایی با دور آبیاری ۵ روزه و برخی صفات دیگر بارز بوده است که در راستای نتایج بسیاری از محققین می باشد. نخستین تأثیر قارچهای همزیست AM افزایش عناصر معدنی در گیاه، بخصوص آنهاییکه بشکل یونهای کم تحرک و یا در غلظت کم در محلول خاک برای رشد و توسعه گیاه میزبان عرضه میگردد، می باشد(ارکولین و رین هارت، ۲۰۱۱). در تلقیح پایه ولکامریانا با دو گونه میکوریز گلوموس موسه و گلوموس اینترارادیسیز، مقدار فسفر در گیاهان میزبان تحت شرایط استرس خشکی بهبود یافت(حقیقت نیا و همکاران،۲۰۱۱). آزمایشات گراهام و اگل (۱۹۸۸) بیانگر این حقیقت است که با استفاده میکوریز، میزان غلظت فسفر در اندامهای هوایی درختان پرتقال افزایش یافت. کلارک و زیتو (۱۹۹۶) مشاهده

نمودند که با استفاده سه گونه میکوریز در خاکهای قلیایی و با کشت ذرت بصورت گلخانه ای، غلظت و جذب کل عناصر غذایی در گیاهان تیمار شده بیشتر بود تا در گیاهان شاهد. آکاکار و همکاران(۲۰۱۰) نشان دادند که تاثیر قارچهای AM در رشد و جذب عناصر غذایی چندین گونه گیلاس معنی دار شد. از طرفی با اندکی بررسی متوجه می شویم که گونه بکرایی نسبت به نارنج در جذب عناصر غذایی از وضعیت مطلوبتری برخوردار بوده، که می تواند به دلیل وابستگی میکوریزایی بیشتر بکرایی نسبت به نارنج (احتمالاًبه دلیل تفاوت مرفولوژی ریشه) باشد(جدول ۲). خصوصیات سیستم های ریشه از نظر مرفولوژی یا فیزیولوژی ممکن است بر جذب فسفر از خاک تاثیر گذارد. هر چند بسیاری از صاحب نظران هنوز همزیستی میکوریزایی را بعنوان یکی از خصوصیات ریشه نادیده می گیرند، قارچهای وزیکولارآرسبکولار میکوریز (VAM) این باور را بوجود آورده اند که آنها با دریافت فسفر از خاک و انتقال به گیاهان میکوریزایی استفاده بیشتری نسبت به گیاهان غیرمیکو ریزایی، می رسانند (هارلی و اسمیت، ۱۹۸۳). اثر محیط کشت(جدول ۱) و اثر متقابل محیط کشت و دور آبیاری در محیط کشت استریل با قارچ در جذب عناصر غذایی اندامهای هوایی بدون تاثیر دور آبیاری پنج یا ده روزه مثبت بود (جدول ۳)، که در راستای نتایج باقری و همکاران(۲۰۱۲) " در پسته های میکوریزی بدون توجه به مقدار رطوبت خاک، غلظت فسفر، پتاسیم، روی و منگنز نسبت به پسته های غیر میکوریزی بالاتر بود" و وو و همکاران(۲۰۱۰ و ۲۰۱۱) "تعداد زیادی از آزمایشات مزرعه ای و گلدانی نشان داده اند که تلقیح با قارچهای میکوریز آربوسکولار می تواند رشد و جذب عناصرغذایی در مرکبات، مقاومت به خشکی و شوری را افزایش و کیفیت میوه را بالا ببرد"می باشد.

جدول ۱- مقایسه اثر محیط کشت های مختلف بر صفات مورد بررسی

صفت / محیط کشت	غیراستریل بدون قارچ	استریل بدون قارچ	استریل با قارچ
فسفر اندامهای هوایی (%)	۰/۲۰۴^{b}	۰/۱۸۰^{c}	۰/۲۹۴^{a}
روی اندامهای هوایی (ppm)	۱۰/۷۱^{b}	۸/۵۴^{c}	۱۲/۸۳^{a}
منگنز اندامهای هوایی(ppm)	۵۳۵/۴^{b}	۴۴۴/۴^{c}	۶۲۷/۵^{a}
آهن اندامهای هوایی (ppm)	۱۴۸/۸^{b}	۱۵۲/۸^{b}	۱۶۶/۰^{a}
مس اندامهای هوایی (ppm)	۴/۲۹^{a}	۳/۳۸^{b}	۴/۶۷^{a}

میانگین های موجود در هر ردیف که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح ۵٪ آزمون دانکن اختلاف معنی داری با هم ندارند.

جدول ۲- مقایسه اثر گونه بر صفات مورد بررسی

صفت / گونه	نارنج	بکرایی
فسفر اندامهای هوایی (%)	۰/۲۱۳b	۰/۲۳۹a
روی اندامهای هوایی (ppm)	۸/۳۱b	۱۳/۰۸a
منگنز اندامهای هوایی(ppm)	۴۰۰/۳b	۶۷۱/۳a
آهن اندامهای هوایی (ppm)	۱۴۴/۶b	۱۶۷/۱a
مس اندامهای هوایی (ppm)	۳/۸۳b	۴/۳۹a

میانگین های موجود در هر ردیف که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح ۵٪ آزمون دانکن اختلاف معنی داری با هم ندارند.

جدول ۳- اثرمتقابل محیط کشت و دور آبیاری بر صفات مورد بررسی

محیط کشت × دور آبیاری	صفت	منگنز اندامهای هوایی (ppm)	آهن اندامهای هوایی (ppm)	مس اندامهای هوایی (ppm)	فسفر اندامهای هوایی (%)	روی اندامهای هوایی (ppm)
غیراستریل	۵ روزه	۵۵۴/۲^{b}	۱۴۶/۸^{b}	۴/۲۵^{b}	۰/۲۳۵^{c}	۱۱/۰۸^{bc}
بدون قارچ	۱۰ روزه	۵۱۶/۷^{b}	۱۵۰/۷^{b}	۴/۳۳^{b}	۰/۱۷۳^{d}	۱۰/۳۳^{c}
استریل بدون	۵ روزه	۴۳۷/۵^{c}	۱۴۵/۷^{b}	۳/۵۰^{c}	۰/۱۷۵^{d}	۸/۵۰^{d}
قارچ	۱۰ روزه	۴۵۱/۳^{c}	۱۵۹/۸^{a}	۳/۲۵^{c}	۰/۱۸۵^{d}	۸/۵۸^{d}
استریل با	۵ روزه	۶۰۸/۳^{a}	۱۶۶/۳^{a}	۵/۰۸^{a}	۰/۲۸۳^{b}	۱۲/۵۰^{ab}
قارچ	۱۰ روزه	۶۴۶/۷^{a}	۱۶۵/۷^{a}	۴/۲۵^{b}	۰/۳۰۵^{a}	۱۳/۱۷^{a}

میانگین های موجود در هر ستون که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح ۵٪ آزمون دانکن اختلاف معنی داری با هم ندارند.

جدول ٤- مقایسه اثرمتقابل محیط کشت، گونه و دور آبیاری بر صفات مورد بررسی

محیط کشت×گونه × دور آبیاری		صفت	منگنز اندامهای هوایی (ppm)	آهن اندامهای هوایی (ppm)	مس اندامهای هوایی (ppm)	فسفر اندامهای هوایی (%)	روی اندامهای هوایی (ppm)
غیراستریل بدون قارچ	نارنج	۵ روزه	۳۶۶/۷^{d}	۱۳۴/۳^{d}	۳/۶۷^{cd}	۰/۲۷۰^{b}	۷/۳۳^{d}
		۱۰روزه	۳۴۱/۷^{d}	۱۳۳/۷^{d}	۳/۸۳^{bc}	۰/۱۷۳^{ef}	۶/۸۳^{d}
	بکرایی	۵ روزه	۷۴۱/۷^{a}	۱۵۹/۳^{bc}	۴/۸۳^{a}	۰/۲۰۰^{de}	۱۴/۸۳^{a}
		۱۰روزه	۶۹۱/۷^{a}	۱۶۷/۷^{ab}	۴/۸۳^{a}	۰/۱۷۳^{ef}	۱۳/۸۳^{ab}
استریل بدون قارچ	نارنج	۵ روزه	۳۵۰/۰^{d}	۱۲۵/۰^{d}	۳/۸۳^{bc}	۰/۱۶۷^{ef}	۷/۰۰^{d}
		۱۰روزه	۳۵۰/۰^{d}	۱۵۲/۰^{c}	۲/۸۳^{d}	۰/۱۶۰^{f}	۶/۸۳^{d}
	بکرایی	۵ روزه	۵۲۵/۰^{bc}	۱۶۶/۳^{ab}	۳/۱۷^{cd}	۰/۱۸۳^{def}	۱۰/۰۰^{c}
		۱۰روزه	۵۵۲/۷^{b}	۱۶۷/۷^{ab}	۳/۶۷^{cd}	۰/۲۱۰^{cd}	۱۰/۳۳^{c}
استریل با قارچ	نارنج	۵ روزه	۴۵۸/۳^{c}	۱۶۵/۰^{ab}	۵/۰۰^{a}	۰/۲۷۰^{b}	۹/۸۳^{c}
		۱۰روزه	۵۳۵/۰^{b}	۱۵۷/۷^{bc}	۳/۸۳^{bc}	۰/۲۳۷^{c}	۱۲/۰۰^{bc}
	بکرایی	۵ روزه	۷۵۸/۳^{a}	۱۶۷/۷^{ab}	۵/۱۷^{a}	۰/۲۹۷^{b}	۱۵/۱۷^{a}
		۱۰روزه	۷۵۸/۳^{a}	۱۷۳/۷^{a}	۴/۶۷^{ab}	۰/۳۷۳^{a}	۱۴/۳۳^{a}

میانگین های موجود در هر ستون که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح ۵٪ آزمون دانکن اختلاف معنی داری با هم ندارند.

منابع:

Aka –Kacar Y, Cagdas A, Aslihan A, Yesim YM, Sedat S and Ibrahim O, 2010. The effect of mycorrhiza in nutrient uptake and biomass of cherry rootstock during acclimatization. Romanian Biotechnological letters copyright University of Bucharest. Vol. 15, No. 3:5246-5252
Bagheri V, Shamshiri MH, Shirini H and Roosta HR, 2012. Nutrient uptake and distribution in Mycorrhizal Pistachio seedlings under drought stress. Agricultural Science Technology 14: 1591-1604
Ercolin F and Reinhardt D, 2011. Successful joint ventures of plant: Arbuscular mycorrhiza and beyond. Trends in plant science 16. no 7, pp. 356-362
Hartmann, A., M. Schmid., D. Van Tuinen and G. Berg. 2009. Plant driven selection of microbes. Plant Soil. 321: 235-257
Jose OADS, Carlos AL and Elke JBC,2002.Micronutrient accumulation in mycorrhizal citrus under different phosphorus regims. Acta Scientiarum Maringa, V. 24, n. 5, p. 1265-1268
Ortas I, 2008. Field trials on mycorrhizal inoculation in the estern Mediterranean Horticultural region. In: F. Feldmann., Kapulnik and j. Barr(eds). Mycorrhiza works Hannorer, Germany.
Wu QS, Zou YN and Wang GY, 2011. Arbuscular mycorrhizal fungi and acclimatization of micropropagated citrus. Commun. Soil Science Plant Analysis 42: 1825–1832
Simpson D and Daft MM, 1990. Interactions between water-stress and different mycorrhizal inocula on plant growth and mycorrhizal development in maize and sorghum. Plant. Soil 121: 179- 186.
Wu QS. and Zou YN, 2012. Evaluating effectiveness of four inoculation methods with arbuscular
mycorrhizal fungi on trifoliate orange seedlings. Int. J. Agric. Biol., 14: 266–270
Wu QS, Li GH and Zou YN, 2011. Roles of Arbuscular mycorrhizal fungi on growth and nutrient acquisitions of Peach(Prunus persica L. Batsch)seedlings. The journal of animal and plant science, 21(4). Page:746-750
Wu QS and Xia RX, 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of Citrous under well watered and water stress conditions. Plant physiology 163: 417-425
Wu QS, Zou YN and He XH, 2010. Contributions of arbuscular mycorrhizal fungi to growth, photosynthesis, root morphology and ionic balance of citrus seedlings under salt stress. Acta Physiology Plant 32: 297–304

تاثیر کلنیزاسیون میکوریزایی مرکبات بر جذب فسفر و برخی صفات رویشی در مرکبات

یعقوبعلی کرمی[۱]، مریم قریشی زاده [۲]، یعقوب حسینی[۳]، ، فرهاد رجالی[٤]، رمضان رضازاده[۳]، ابوالحسن مغینی[۳]
۱-دانشجوی دکترا رشته خاکشناسی دانشگاه ارومیه، ۲-کارشناسی ارشد رکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی هرمزگان ، ۳-عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی هرمزگان ، ٤-عضو هیئت علمی موسسه تحقیقات آب و خاک

مقدمه

میکوریز نقشی کلیدی در چرخش عناصر غذایی اکوسیستم و همچنین محافظت گیاه در برابر استرسهای محیطی به عهده دارد(اورتاس و وارما، ۲۰۰۷ و اورتاس، ۲۰۰۸). مرکبات وابستگی شدیدی به قارچهای میکوریز(AM) دارند، گرچه کلنیزاسیون میکوریزایی مرکبات در مزرعه نسبتاً پایین است اما میکوریزی کردن دانهالها یک ابزار عملی مهم برای بالا بردن کلنیزاسیون در آنها می باشد(وو و زو، ۲۰۱۲). مرکبات در مزرعه ریشه های مویینه کمتری تولید می کنند و رشد آنها به شدت به قاچهای آربوسکولار میکوریز وابسته است (وو و ضیا، ۲۰۰۶). نخستین تأثیر قارچهای همزیست AM افزایش عناصر معدنی در گیاه، بخصوص آنهاییکه بشکل یونهای کم تحرک و یا در غلظت کم در محلول خاک برای رشد و توسعه گیاه میزبان عرضه میگردد، می باشد(ارکولین و رین هارت، ۲۰۱۱). تحقیقات بعمل آمده نشان داده که همزیستی این نوع قارچ با ریشه سبب افزایش جذب فسفر در گیاه میگردد، همچنین این قارچ مقاومت گیاه را به شرایط خشکی بالا می برد. تلقیح گیاه کینو با میکوریز آربوسکولار باعث بهبود پارامترهای رشد نظیر ارتفاع گیاه و تعداد شاخه جدید در گیاه شد(شمشیری و همکاران، ۲۰۱۲). در تلقیح پایه ولکامریانا با دو گونه میکوریز گلوموس موسه و گلوموس اینترارادیسیز، مقدار فسفر در گیاهان میزبان تحت شرایط استرس خشکی بهبود یافت(حقیقت نیا و همکاران،۲۰۱۱). باقری و همکاران(۲۰۱۲) نشان دادند که در پسته های میکوریزی بدون توجه به مقدار رطوبت خاک، غلظت فسفر، نسبت به پسته های غیر میکوریزی بالاتر بود . در این تحقیق تاثیر قارچ گلوموس اینترارادیسز بر جذب فسفر و برخی صفات رویشی گیاه مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

این آزمایش گلدانی به صورت فاکتوریل در قالب طرحهای کاملا تصادفی با سه فاکتور درسه تکرار به اجرا در آمد. فاکتور گونه با دو گونه نارنج(*Citrus aurantium*) و بکرائی (*Citrus riteculata* ×*C. limetta*)، فاکتور محیط کشت به سه صورت(خاک بدون استریل بدون قارچ، خاک استریل بدون قارچ و خاک استریل به علاوه قارچ) و فاکتور دور آبیاری در دو سطح (۵ و۱۰ روزه) اعمال شد. پس از تهیه خاک و خشک کردن آنها در هوا و عبور از الک دو میلیمتری، بخشی از خاک مورد استفاده به مقدار لازم جهت استفاده در تیمارهای استریل خاک، با اتوکلاو در دمای ۱۲۰ درجه سانتیگراد و فشار ۱/۲ اتمسفر به مدت یک ساعت استریل شد. در داخل هر گلدان پلاستیکی با مشخصات قطر دهانه بالا۲۶ سانتیمتر، قطر قسمت پایین۱۹سانتیمتر و ارتفاع ۲۶ سانتیمتر مقدار ۷ کیلوگرم خاک(با توجه به نوع تیمار) ریخته شد. بذور مرکبات نیز قبل از کاشت با هیپوکلریت سدیم ضد عفونی و سپس چندین بار با آب مقطر شسته شد. جهت تلقیح از مایه تلقیح قارچ *Glomus intraradices* که مایه تلقیح ماسه بود استفاده شد. به همین منظور در تیمارهای میکوریزی یک لایه ۲ سانتیمتری از سطح بالای خاک گلدان برداشته شد و سپس لایه ای از مایه تلقیح

مورد نظر با وزن مشخص(۱۰۰ گرم به ازای هر گلدان) به خاک هر گلدان اضافه و آنگاه خاک برداشته شده دوباره به گلدان مربوطه برگردانده شد. برای جلوگیری از آلودگی گلدانهای غیرمیکوریزی، عمل تلقیح در قسمت دیگری انجام شد. در هر گلدان ده بذرکاشته شد و پس از جوانه زدن آنها پنج جوانه در هر گلدان نگهداری و بقیه حذف شدند. دور آبیاری یک ماه پس از جوانه زدن بذرها و استقرار کامل نهالها اعمال گشت. پس از قطع گیاهان، قطر بوته ها، ارتفاع بوته ها اندازه گیری و تعداد شاخه ها در هر گیاه شمارش شد. پس از قطع گیاهان از محل طوقه، وزن تر بخش هوایی گیاه توزین و آنگاه جهت توزین وزن خشک به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۵ درجه سانتیگراد در آون قرار گرفت. غلظت فسفر در اندامهای هوایی به روش اولسون اندازه گیری شد. آنالیز آماری داده ها با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین ها به روش دانکن انجام گردید.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج، صفت قطر بوته ($P<0.01$) و ارتفاع بوته$P<0.05$) تحت تاثیر معنی دار بر هم کنش اثرات متقابل محیط کشت× رقم × دور آبیاری قرار گرفتند. بزرگترین قطر ساقه به مقدار ۷/۳ میلیمتر متعلق به گونه نارنج در محیط کشت غیر استریل بدون قارچ با دور آبیاری پنج روزه و کمترین قطر ساقه به مقدار ۲/۲ میلیمتر مربوط به گونه نارنج در محیط کشت استریل بدون قارچ با دور آبیاری ده روزه بود . بیشترین ارتفاع بوته به مقدار ۳۰ سانتیمتر از گونه بکرایی در محیط کشت استریل با قارچ با دور آبیاری ده روزه و کمترین مقدار ارتفاع بوته به مقدار ۷/۸ سانتیمتر از گونه نارنج در محیط کشت استریل بدون قارچ با دور آبیاری پنج روزه بدست آمد. بیشترین غلظت فسفر اندامهای هوایی به مقدار ۰/۳۷۳ درصد از گونه بکرایی در محیط کشت استریل با قارچ با دور آبیاری ده روزه بدست آمد(جدول ۳). با توجه به مقایسه میانگینهای اثر محیط کشت بر صفات مورد بررسی(جدول۱) به نظر می رسد، در سه محیط کشت مورد مطالعه، محیط کشت استریل بدون قارچ به دلیل از بین رفتن میکرو ارگانیزم ها به خصوص قارچهای مورد مطالعه در اکثر موارد قریب به اتفاق نسبت به دو محیط کشت دیگر از وضعیت بدتری برخوردار بوده و محیط کشت استریل با قارچ اثر مثبتی بر اغلب صفات مورد بررسی داشته است.در همین رابطه با توجه به نتایج جدول مقایسه میانگین اثرات متقابل سه فاکتور(جدول ۳) میتوان اظهار نمود که اثر قارچ میکوریز در محیط کشت استریل در جذب فسفر اندامهای هوایی به مقدار ۰/۳۷۳ در صد با دور آبیاری ده روزه در بکرایی و برخی صفات دیگر بارز بوده است که در راستای نتایج بسیاری از محققین می باشد. نخستین تأثیر قارچهای همزیست AM افزایش عناصر معدنی در گیاه، بخصوص آنهاییکه بشکل یونهای کم تحرک و یا در غلظت کم در محلول خاک برای رشد و توسعه گیاه میزبان عرضه میگردد، می باشد(ارکولین و رین هارت، ۲۰۱۱). در تلقیح پایه ولکامریانا با دو گونه میکوریز گلوموس موسه و گلوموس اینترارادیسز، مقدار فسفر در گیاهان میزبان تحت شرایط استرس خشکی بهبود یافت(حقیقت نیا و همکاران،۲۰۱۱). آزمایشات گراهام و اگل (۱۹۸۸) بیانگر این حقیقت است که با استفاده میکوریز، میزان غلظت فسفر در اندامهای هوایی درختان پرتقال افزایش یافت. کلارک و زیتو (۱۹۹۶) مشاهده نمودند که با استفاده سه گونه میکوریز در خاکهای قلیایی و با کشت ذرت بصورت گلخانه ای، غلظت و جذب کل عناصر غذایی در گیاهان تیمار شده بیشتر بود تا در گیاهان شاهد. آکاکار و همکاران(۲۰۱۰) نشان دادند که تاثیر قارچهای AM در رشد و جذب عناصر غذایی چندین گونه گیلاس معنی دار شد. از طرفی با اندکی بررسی متوجه می شویم که گونه بکرایی نسبت به نارنج در جذب عناصر غذایی از وضعیت مطلوبتری برخوردار بوده، که می تواند به دلیل وابستگی میکوریزایی بیشتر بکرایی نسبت به نارنج (احتمالاًبه دلیل تفاوت مرفولوژی ریشه) باشد(جدول ۲).

جدول ۱- مقایسه اثر محیط کشت های مختلف بر صفات مورد بررسی

صفت / محیط کشت	غیراستریل بدون قارچ	استریل بدون قارچ	استریل با قارچ
قطر بوته (mm)	۶/۵^{a}	۲/۶^{c}	۵/۴^{b}
وزن تر هوایی (g)	۱۲/۵۷^{a}	۱/۴۲^{c}	۱۱/۳۳^{b}
وزن خشک هوایی (g)	۵/۲۷^{a}	۰/۵۰^{b}	۴/۹۳^{a}
تعداد شاخه فرعی	۵/۰^{a}	۱/۷^{b}	۴/۸^{a}
ارتفاع بوته (cm)	۲۸/۴^{a}	۱۲/۲^{b}	۲۸/۸^{a}
فسفر اندامهای هوایی (%)	۰/۲۰۴^{b}	۰/۱۸۰^{c}	۰/۲۹۴^{a}

میانگین های موجود در هر ردیف که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح ۵٪ آزمون دانکن اختلاف معنی داری با هم ندارند.

جدول ۲- مقایسه اثر گونه بر صفات مورد بررسی

صفت / گونه	نارنج	بکرایی
قطر بوته (mm)	۴/۸^{a}	۴/۸^{a}
وزن تر هوایی (g)	۹/۰۳^{a}	۷/۸۵^{b}
وزن خشک هوایی (g)	۳/۹۵^{a}	۳/۱۹^{b}
تعداد شاخه فرعی	۱/۷^{b}	۵/۹^{a}
ارتفاع بوته (cm)	۲۲/۲^{b}	۲۴/۱^{a}
فسفر اندامهای هوایی (%)	۰/۲۱۳^{b}	۰/۲۳۹^{a}

میانگین های موجود در هر ردیف که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح ۵٪ آزمون دانکن اختلاف معنی داری با هم ندارند.

خصوصیات سیستم های ریشه از نظر مرفولوژی یا فیزیولوژی ممکن است بر جذب فسفر از خاک تاثیر گذارد. هر چند بسیاری از صاحب نظران هنوز همزیستی میکوریزایی را بعنوان یکی از خصوصیات ریشه نادیده می گیرند، قارچهای وزیکولارآرسبکولار میکوریز (VAM) این باور را بوجود آورده اند که آنها با دریافت فسفر از خاک و انتقال به گیاهان میکوریزایی استفاده بیشتری نسبت به گیاهان غیرمیکو ریزایی، می رسانند (هارلی و اسمیت، ۱۹۸۳). اثر دور آبیاری در جذب عناصر غذایی فسفر، آهن، روی، منگنز و مس معنی دار نبوده است و در این مورد نوسانهایی ملاحظه می شود اما اثر قارچ میکوریز در محیط کشت استریل در جذب عناصر غذایی اندامهای هوایی بدون توجه به دور آبیاری مثبت بوده(جداول۱ و ۲) که در راستای نتایج باقری و همکاران(۲۰۱۲) " در پسته های میکوریزی بدون توجه به مقدار رطوبت خاک، غلظت فسفر، پتاسیم، روی و منگنز نسبت به پسته های غیر میکوریزی بالاتر

بود" وو و همکاران(۲۰۱۰ و ۲۰۱۱) "تعداد زیادی از آزمایشات مزرعه ای و گلدانی نشـان داده انـد کـه تلقـیح بـا قارچهای میکوریز آربوسکولار می تواند رشد و جذب عناصـرغذایی در مرکبـات، مقاومـت بـه خشـکی و شـوری را افزایش و کیفیت میوه را بالا ببرد" می باشد.

جدول ۳-مقایسه اثرمتقابل محیط کشت، گونه و دور آبیاری بر صفات مورد بررسی

محیط کشت×گونه × دور آبیاری	صفت	قطر بوته (mm)	وزن تر هوایی (g)	وزن خشک هوایی (g)	تعداد شاخه فرعی	ارتفاع بوته (cm)	فسفر اندامهای هوایی (%)
غیراستریل بدون قارچ	نارنج	۵ روزه	۷/۳^{a}	۱۴/۶۰^{a}	۶/۵۶^{a}	۲/۳^{bc}	۲۸/۸^{ab}	۰/۲۷۰^{b}
		۱۰روزه	۷/۰^{a}	۱۵/۳۳^{a}	۶/۳۳^{a}	۲/۰^{bc}	۲۹/۸^{ab}	۰/۱۷۳^{ef}
	بکرایی	۵ روزه	۶/۱^{bc}	۱۱/۰۲^{b}	۴/۲۹^{bc}	۸/۰^{a}	۲۸/۹^{ab}	۰/۲۰۰^{de}
		۱۰روزه	۵/۶^{cd}	۹/۳۳^{c}	۳/۹۱^{c}	۷/۷^{a}	۲۶/۲^{b}	۰/۱۷۳^{ef}
استریل بدون قارچ	نارنج	۵ روزه	۲/۴^{gh}	۱/۰۳^{d}	۰/۳۹^{d}	۱/۰^{cd}	۷/۸^{d}	۰/۱۶۷^{ef}
		۱۰روزه	۲/۲^{h}	۱/۰۵^{d}	۰/۳۰^{d}	۰/۳^{d}	۸/۰^{d}	۰/۱۶۰^{f}
	بکرایی	۵ روزه	۲/۹^{fg}	۱/۹۸^{d}	۰/۸۰^{d}	۲/۷^{b}	۱۶/۱^{c}	۰/۱۸۳^{def}
		۱۰روزه	۳/۲^{f}	۱/۶۲^{d}	۰/۵۱^{d}	۲/۷^{b}	۱۷/۰^{c}	۰/۲۱۰^{cd}
استریل با قارچ	نارنج	۵ روزه	۶/۳^{b}	۱۱/۱۹^{b}	۵/۰۴^{b}	۲/۰^{bc}	۳۰/۳^{a}	۰/۲۷۰^{b}
		۱۰روزه	۳/۹^{e}	۱۰/۹۹^{b}	۵/۰۷^{b}	۲/۳^{bc}	۲۸/۴^{ab}	۰/۲۳۷^{c}
	بکرایی	۵ روزه	۶/۰^{bcd}	۱۱/۶۷^{b}	۵/۰۳^{b}	۷/۷^{a}	۲۶/۳^{b}	۰/۲۹۷^{b}
		۱۰روزه	۵/۴^{d}	۱۱/۴۷^{b}	۴/۵۹^{bc}	۷/۰^{a}	۳۰/۰^{a}	۰/۳۷۳^{a}

میانگین های موجود در هر ستون که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح ۵٪ آزمون دانکن اختلاف معنی داری با هم ندارند.

منابع:

Aka –Kacar Y, Cagdas A, Aslihan A, Yesim YM, Sedat S and Ibrahim O, 2010. The effect of mycorrhiza in nutrient uptake and biomass of cherry rootstock during acclimatization. Romanian Biotechnological letters copyright University of Bucharest. Vol. 15, No. 3:5246-5252

Bagheri V, Shamshiri MH, Shirini H and Roosta HR, 2012. Nutrient uptake and distribution in Mycorrhizal Pistachio seedlings under drought stress. J. Agrcutural Science Technology Vol. 14: 1591-1604

Clark RB and Zeto SK, 1996. Mineral acquisition by mycorrhizal maize grown on acid and alkaline soil. Soil Biology Biochemistry 28: 1495- 1503.

Ercolin F and Reinhardt D, 2011. Successful joint ventures of plant: Arbuscular mycorrhiza and beyond. Trends in plant science 16. no 7, pp. 356-362

Graham JH and Egel DS, 1988. Phytophthora root rot development on mycorrhizal and phosphorus fertilized nonmycorrhizal sweet orange seedlings. Plant Disease 72(7): 611- 614.

Haghighatnia H, Nadian HA and Rejali F, 2011. Effect of mycorrhizal colonization on growth, nutrient uptake and some other characteristics of Citrus Volkamerina rootstock under drought stress. World applied science journal 13(5). 1077-1084

Harley JL and Smith SE, 1983. Mycorrhizal symbiosis. Academic press, London.
Hartmann, A., M. Schmid., D. Van Tuinen and G. Berg. 2009. Plant driven selection of microbes. Plant Soil 321: 235-257

Ortas I, 2008. Field trials on mycorrhizal inoculation in the estern Mediterranean Horticultural region. In: F. Feldmann., Kapulnik and j. Barr(eds). Mycorrhiza works Hannorer, Germany.

Shamshiri MH, Usha K and Bhupinder S, 2012. Growth and nutrient uptake response of Kinow to Vesicular arbuscular mycorrhiza. Isrn Agronomy. Volume 2012. P. 1-7

Wu QS and Xia RX, 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of Citrous under well watered and water stress conditions. J. Plant physiol., 163: 417-425

Wu QS, Zou YN and He XH, 2010. Contributions of arbuscular mycorrhizal fungi to growth, photosynthesis, root morphology and ionic balance of citrus seedlings under salt stress. Acta Physiology Plant 32: 297–304

Wu QS, Zou YN and Wang GY, 2011. Arbuscular mycorrhizal fungi and acclimatization of micropropagated citrus. Commun. Soil Sci.Plant Anal., 42: 1825–1832

Wu QS, Li GH and Zou YN, 2011. Roles of Arbuscular mycorrhizal fungi on growth and nutrient acquisitions of Peach(Prunus persica L. Batsch)seedlings. The journal of animal and plant science 21(4). Page:746-750

Wu QS. and Zou YN, 2012. Evaluating effectiveness of four inoculation methods with arbuscular mycorrhizal fungi on trifoliate orange seedlings. Int. J. Agric. Biol., 14: 266–270

مقایسه میزان ترسیب کربن آلی خاک در گونه گیاهی *Astragalus gossypinus* در مراتع ییلاقی وزوار استان مازندران

مرضیه حسن نژاد[۱]، رضا تمرتاش[۲]، محمدرضا طاطیان[۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد مرتع‌داری، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

marzieh_hassannejad@yahoo.com

۲ و ۳- عضو هئیت علمی گروه مرتع و آبخیزداری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

مقدمه

اکوسیستم‌های مرتعی پتانسیل بالایی در ترسیب کربن دارند چرا که نیمی از خشکی‌های کره زمین را در بر دارند و ذخیره کربن آنها ۱۰ درصد کل ذخایر کربن بیوماس اکوسیستم‌های خاکی و ۳۰ درصد کل کربن آلی خاک را تشکیل می‌دهد و در مقیاس جهانی مراتع سالانه حدود ۵۰۰ میلیارد تن کربن ترسیب می‌کنند [۹]. ترسیب کربن در خاک توسط میکروارگانسیم‌ها صورت می‌گیرد که دی‌اکسید کربن را در ساختار کربنات‌های کلسیم و منیزیم به کار می‌برند و در گیاهان نیز از طریق فتوسنتز و تبدیل دی‌اکسید کربن در بیوماس گیاهی صورت می‌گیرد [۷]. ترسیب کربن فرآیندی است که طی آن دی‌اکسیدکربن از اتمسفر گرفته شده و در بافت‌های گیاهی به‌صورت هیدراتهای کربن انباشته شده و سپس بخشی از آن به صورت کربن لاشبرگ و کربن آلی خاک ترسیب می‌گردد [۶]. ترسیب کربن در خاک عبارت است از افزایش تراکم یا ذخیره مواد آلی در خاک و در مرحله بعد در کربنات‌های خاک [۱۰]. دیانتی تیلکی و همکاران [۲] در مطالعه‌ای در مراتع نیمه خشک استان خراسان شمالی به این نتیجه رسیدند که بیش از ۹۷ درصد میزان کربن ترسیب شده را کربن آلی خاک تشکیل داده است. نوع خاک مهم‌ترین عامل در تغییرات کربن آلی خاک است. ترسیب کربن امروزه به یکی از جنبه‌های مهم و نوین توسعه پایدار کشاورزی و منابع طبیعی تبدیل شده و مدیریت علمی و صحیح منابع طبیعی و کشاورزی سبب افزایش ترسیب کربن می‌شود [۴]. علل اصلی تخریب خاک عبارتند از: رسوم نادرست، تخریب جنگل‌ها، چرای بیش از حد مجاز و همچنین جنگل‌کاری درختان سریع‌الرشد که در مورد اخیر چنانچه برنامه‌ریزی و مدیریت نادرست باشد، منجر به کاهش کیفیت خاک می‌گردد [۳]. راهکارهای اصلی ترسیب خاک عبارتند از: احیای خاک‌های مخروبه و بیابانی شده و تبدیل آن به کاربری دائمی و پایدار و استفاده از شیوه‌های مدیریتی پیشنهاد شده از جمله: شخم حفاظتی، کودهی، اگروفارستری و استفاده از مکمل خاک می‌باشد [۱۱]. هدف از تحقیق حاضر مقایسه میزان ترسیب کربن خاک آلی در گونه گیاهی گون پنبه‌ای در مراتع ییلاقی وزوار بهشهر بود.

مواد و روش‌ها

منطقه مورد مطالعه در محدوده جغرافیایی "۰۶ '۵۲ °۵۳ تا "۰۱ '۵۴ °۵۳ طول شرقی و "۱۶ '۳۶ °۳۶ تا "۲۴ '۳۸ °۳۶ عرض شمالی، با وسعت حدوداً ۲۵۹۸ هکتار، حداکثر ارتفاع آن از سطح دریا برابر ۱۷۰۷ متر و در ۳۵ کیلومتری شهرستان گلوگاه واقع شده است. دارای بافت خاک لومی شنی است. متوسط بارندگی سالیانه این منطقه ۴۰۹ میلی-متر می‌باشد. پس از شناسایی مقدماتی و تعیین حدود منطقه مورد بررسی، تیپ گیاهی گون پنبه‌ای در منطقه معرف انتخاب شد. نمونه‌برداری از خاک با روش تصادفی- سیستماتیک انجام شد، و با استقرار ۲ ترانسکت به طول ۱۰۰متر به صورت موازی با فاصله ۵۰۰ متر و در امتدا هر ترانسکت، بر اساس الگوی پراکنش گیاهان، ۱۰ پلات یک متر مربعی به طور تصادفی مستقر شد. در هر پلات دو پروفیل به عمق ۱۵-۰ و ۳۰-۱۵ سانتی‌متر حفر و نمونه خاک به وزن حدود ۱ کیلوگرم برداشت شد. برای تعیین میزان ماده آلی و کربن آلی خاک در آزمایشگاه، ابتدا وزن مخصوص ظاهری خاک به روش کلوخه بر حسب گرم بر سانتی‌متر مکعب محاسبه شد و سپس درصد کربن آلی از روش والکی- بلاک به دست آمد. و همچنین مقدار ترسیب کربن بر حسب کیلوگرم بر هکتار محاسبه گردید.

$$C_C = 10000 \times C\ (\%) \times Bd \times e$$

در این رابطه، C_C: مقدار ترسیب کربن آلی (کیلوگرم بر هکتار)، C: درصد کربن آلی در عمق، Bd: وزن مخصوص ظاهری خاک (گرم بر سانتی‌متر مکعب) و e: ضخامت عمق خاک (سانتی‌متر) است.

نتایج و بحث

در جدول ۱ میانگین صفات مورد مطالعه ارائه شده است. میزان ترسیب کربن خاک پای گیاه در مرتع قرق در عمق اول بیشتر از عمق دوم بوده است. در منطقه مورد مطالعه میزان کربن آلی خاک در عمق اول بیشتر از عمق دوم خاک بود. مقدار ماده آلی خاک به دلیل این که خصوصیات شیمیایی، فیزیکی، بیولوژیکی و فرآیندهای خاک را شدیداً تحت تأثیر قرار می‌دهد یکی از شاخص های مهم کیفیت خاک محسوب می‌شود [۵]. تجمع کربن آلی خاک در عمق‌های مختلف خاک به مقدار هوموس، سطح تاج پوشش و نوع گونه‌های موجود بستگی دارد [۸].

همچنین بالا بودن کربن و مواد آلی خاک در عمق اول خاک، نسبت به عمق دوم خاک به دلیل حجم زیاد لاشبرگ در عمق ۱۵-۰ سانتی‌متری می‌باشد [۱]. افزایش ترسیب خاک علاوه بر افزایش کیفیت خاک، بر بهبود دانه‌بندی و پایداری خاکدانه‌ها تأثیرگذار بوده و از افزایش فرسایش خاک نیز جلوگیری میکنند [۵].

جدول ۱- میانگین صفات مورد مطالعه در عمق ۱۵-۰ و ۳۰-۱۵ سانتی‌متری خاک در گونه مورد بررسی

رویشگاه	D(cm)	٪Clay	٪Sandy	٪Silt	b.d(gr/cm^2)	PH	EC	$Caco_3$	r	٪OM	٪C	C(ton/ha)
قرق	۰-۱۵	۸/۶۸	۶۹/۸۸	۲۱/۴۳	۱/۰۷	۷/۹۳	۰/۳۰	۴۷/۷۷	۴۰/۹۲	۲/۶۰	۲/۰۷	۵۸/۰۲
	۱۵-۳۰	۱۱/۴۵	۶۵/۷۱	۲۲/۸۶	۱/۰۵	۸/۱۸	۰/۲۷	۴۶/۵۷	۴۱/۴۴	۲/۲۰	۱/۲۱	۴۵/۶۱

منابع

حیدریان آقاخانی، م. نقی‌پور برج، ع.ا. و نصری، م.، ۱۳۸۹. تأثیر قرق بر روی پوشش گیاهی و خصوصیات شیمیایی خاک در مراتع سیساب بجنورد. مجله تحقیقات منابع طبیعی تجدید شونده، سال اول، شماره ۲. ۱۴- ۲۷ ص.

دیانتی تیلکی، ق.ع. نقی‌پور برج، ع.ا. توکلی، ح. حیدریان آقاجانی، م. و سعید افخم الشعرا، م.ر.، ۱۳۸۸. تأثیر قرق بر میزان ترسیب کربن خاک و زیتوده گیاهی در مراتع نیمه خشک استان خراسان شمالی. مجله علمی پژوهشی مرتع، جلد۳، شماره ۴. ۶۶۸- ۶۷۹ ص.

سردابی، ح. رحمانی، ا. حمزه، ب.، عصاره، م.ح. و قرآنی، م.، ۱۳۸۹. اثر جنگل‌کاری گونه‌های مختلف اکالیپتوس بر خصوصیات خاک جنگلی در استان گیلان. فصلنامه‌ی علمی- پژوهشی تحقیقات جنگل و صنوبر ایران، جلد ۱۸، شماره ۱. ۱۱۶- ۱۳۱ ص.

عبدی، ن. ۱۳۸۵. معرفی ترسیب کربن به عنوان شاخصی جهت سنجش توسعه پایدار منابع طبیعی. ۵۷- ۶۲ ص. چکیده مقالات سومین همایش راهکارهای تحقق توسعه پایدار در کشاورزی و منابع طبیعی. اراک ۵ دی ماه.

عبدی، ن. و میرطالبی، آ.، ۱۳۹۰. مقایسه میزان ترسیب کربن آلی خاک در تیپ گیاهی *Nitraria schoberi* و گندم دیم در شمال شرقی کویر میقان. ۷۱۷- ۷۲۰ ص. مجموعه مقالات دومین همایش ملی مقابله با بیابان‌زایی و توسعه پایدار تالاب‌های کویری ایران.

عبدی، ن.، مداح عارفی، ح. و زاهدی امیری، ق. ۱۳۸۷. برآورد ظرفیت ترسیب کربن در گون‌زارهای استان مرکزی (مطالعه موردی: منطقه مالمیر شهرستان شازند). فصلنامه تحقیقات مرتع و بیابان. جلد ۱۵. شماره ۲. ۲۱- ۳۵ص .

کلاهچی، ن. زاهدی امیری، ق. و خراسانی، ن.، ۱۳۷۸. بررسی ترسیب کربن در گیاهان بوته‌ای غالب، علفی چندساله و خاک در مراتع قرق شده حیدره پشت شهر (استان همدان). مجله پژوهش و سازندگی در منابع طبیعی، شماره ۸۰. ۱۸– ۲۵ ص.

Baldock JA, and Oades, 1992. Aspects of the chemical structure of soil organic materials as revealed by solid- state. Soil Biology and Biochemistry 16: 1- 42 pp.

Derner JD, and Schuman GE, 2007. Carbon sequestration and rangelands: A Synthesis of land Management and precipitation effects. Journal of Soil and Water Conservation 62 (2): 77- 85 pp.

Lal R, 2003. Global potential of soil carbon sequestration to mitigate the greenhouse effect. Critical Reviews in Plant Sciences 22 (2): 151- 184 pp.

Lal R, 2008. Carbon sequestration in soil. Forest Ecology and Management 3: 20 pp.

فرایند هوموسی شدن در غنی سازی ورمی کمپوست

آرش همتی [1]، حسینعلی علیخانی [2]
۱-دانشجوی دکترا بیولوژی خاک دانشگاه تبریز
۲-دانشیار گروه علوم خاک دانشگاه تهران

مقدمه

ورمی کمپوست محصول نهایی فرآیند تجزیه مواد آلی در حضور کرم های خاکی کمپوست ساز می باشد و به دلیل کاهش سطح آلاینده ها و داشتن سطح بالای جمعیت میکروبی و عناصر غذایی، در حال حاضر به عنوان یکی از بهترین کودهای زیستی مطرح شده است (راویندران و همکاران ۲۰۰۸). در طی فرایند تولید ورمی کمپوست قسمت عمده ماده آلی به صورت دی اکسید کربن، آمونیاک و آب، معدنی می شود و بخش باقی مانده نیز به صورت مواد رسیده و پایدار تبدیل می شود که از لحاظ شیمیایی به مواد هیومیک خاک شباهت زیادی دارد (بنیتز و همکاران ۱۹۹۹). مواد هیومیک به طور مستقیم نقش مهمی در انتشار آهسته مواد مغذی و بهبود ظرفیت تبادل کاتیونی، pH، ظرفیت بافری و بسیاری از واکنش های دیگر در خاک دارند (سنسی و همکاران ۱۹۹۶).

هوموسی شدن مواد آلی طی فرایند تولید کمپوست به عنوان یک شاخص مناسب برای ارزیابی پایداری کمپوست در نظر گرفته شده است. هوموسی شدن مواد آلی در سطحی بالا باعث افزایش ارزش و کارایی محصول نهایی می گردد. مطالعه هوموسی شدن معمولا به منظور ارزیابی و شناخت تحولات مواد آلی انجام می شود. تغییرات هوموسی شدن و ثبات ماده آلی در خاک معمولا توسط نسبت هایی که شاخص‌های ثبات (به عنوان معیارهای کیفیت برای محصول نهایی) نامیده می شود ارزیابی می گردد. این شاخص ها از مقادیر اسید هیومیک، اسید فولویک، کربن آلی و غیره محاسبه می شوند (سانچز- موندرو و همکاران ۲۰۰۳، امیر و همکاران ۲۰۰۸، ویکن و همکاران ۲۰۰۰).

غنی سازی ورمی کمپوست احتمالا موجب تغییراتی در شاخص های هوموسی شدن خواهد شد. این تحقیق با هدف بررسی تاثیر غنی سازی ورمی کمپوست با تیمارهای باکتریایی و کودی بر شاخص های هوموسی شدن شناخت تاثیرات غنی سازی در روند هوموسی شدن انجام شد.

مواد و روشها

برای غنی سازی ورمی کمپوست با تیمارهای باکتریایی، از باکتری های حل کننده فسفات (*سودوموناس فلورسنس*) و تثبیت کننده نیترژن (*ازتوباکتر کروکوکوم*) استفاده شد. جمعیت این باکتری ها بر اساس فاکتور رقت در حدود ۴×۱۰^{۹} cfu.ml^{-1} تنظیم گردید و سپس هر کیلوگرم ورمی کمپوست با ۲۵ میلی لیتر از هر زادمایه تلقیح شد (بوزاتو و همکاران ۲۰۱۲). همچنین برای این تحقیق سعی شد از عناصر شیمیایی و ضروری که بیشترین اهمیت و مصرف را در کشاورزی دارند (نیتروژن، فسفر و گوگرد) بعنوان تیمارهای کودی برای غنی سازی ورمی کمپوست استفاده گردد، برای این منظور هشت تیمار در سه تکرار بشرح زیر انتخاب شد:

VCC: تیمار ورمی کمپوست بدون غنی سازی

تیمارهای باکتریایی غنی شده شامل:

VC+Az: ورمی کمپوست +*ازتوباکتر کروکوکوم* (*Azotobacter chroococcum Az21*)

VC+Ps: ورمی کمپوست + سودوموناس *فلورسنس* (*Pseudomonas fluorescence Ps* 59)

VC+Az+Ps: ورمی کمپوست +*ازتوباکتر کورکوروم* (۱۲/۵ میلی لیتر) + *سودوموناس فلورسنس* (۱۲/۵ میلی لیتر)

تیمارهای کودی شامل:

VC+N: ورمی کمپوست + ۱ درصد نیتروژن

VC+S: ورمی کمپوست + ۱ درصد گوگرد عنصری

VC+P: ورمی کمپوست + ۱ درصد فسفر

VC+NSP: ورمی کمپوست + ۱ درصد نیتروژن + ۱ درصد گوگرد عنصری + ۱ درصد فسفر (P_2O_5) (نیتروژن با کود اوره، فسفر با سوپر فسفات تریپل، گوگرد با گوگرد عنصری تامین شد).

همه تیمارها تا ۶۰ درصد ظرفیت نگهداری با آب مقطر مرطوب شدند. در نهایت نمونه ها به مدت ۶۰ روز در انکوباتور در دمای ۲۸ درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

اندازه گیری اسید هیومیک، اسید فولویک و کربن آلی

اسید هیومیک (HA) در تیمارهای آزمایشی با روش کی و همکاران (۲۰۰۴) استخراج شد. برای این منظور نمونه های ورمی کمپوست با نسبت ۱:۱۰ (مایع/ جامد) با سود نیم مولار مخلوط و به مدت ۲۴ ساعت (زمان استخراج) در اتاق تاریک با شدت ۱۶۰ دور در دقیقه شیک شدند. فاز محلول از فاز رسوب با سانتریفیوژ (۶۰۰۰ rpm) جداسازی و با HCl شش مولار به pH کمتر از دو رسانده شد تا اسید هیومیک رسوب کرده و از اسید فولویک جداسازی شود. اسید هیومیک جداسازی شده با HCl/HF (۰/۳ /۰/۱ مولار) خالص سازی و با آب مقطر تا زمانی که pH به حدود ۴–۵ برسد، شسته شد و در نهایت در دمای زیر ۵۰ درجه سانتی گراد خشک گردید. برای تعین مقدار اسید فولویک (FA) در تیمارها از روش قلیایی (کارتر و گرگوریچ ۲۰۰۶) استفاده شد. کربن آلی (TOC) نیز با روش واکلی– بلک (۱۹۳۴) اندازه گیری شد. نسبت هوموسی شدن (HR)، شاخص هوموسی شدن (HI) به صورت زیر محاسبه شد (امیر و همکاران ۲۰۰۸):

$HR = [(HA + FA)/TOC] \times 100.$
$HI = (HA/TOC) \times 100.$
Degree of polymerization = HA/FA

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد تیمارهای غنی سازی بر روی کلیه شاخص های هوموسی شدن و خصوصیات اندازه گیری شده‌ی اسید هیومیک تاثیر معنی داری داشته است. به طوریکه میزان اسید هیومیک طی غنی سازی در تمام تیمارها افزایش، و اسید فولویک و کربن آلی در همه نمونه ها کاهش یافت (جدول ۲).

کاهش کربن آلی در طی فرایند غنی سازی ناشی از افزایش فعالیت باکتری ها و افزایش تنفس است که نشان دهنده هوموسی شدن و پایدار شدن مواد آلی در ورمی کمپوست با افزایش زمان غنی سازی می باشد (ویکن و همکاران ۲۰۰۰، بوزاتو و همکاران ۲۰۱۲). اسید فولویک دارای ترکیبات آمینه و قندی می باشد که نسبت به اسید هیومیک تجزیه پذیرتراست، در هفته های پایانی و کاهش مواد آلی قابل تجزیه، اسید فولویک می تواند منبع غنی و مناسب برای استفاده ریزسازواره ها باشد این عامل به احتمال زیاد دلیل کاهش اسید فولویک در هفته های پایانی بوده است (امیر و همکاران ۲۰۰۸). شاخص های HI، HR و HA/FA در طی غنی سازی در همه تیمارها افزایش یافت. تیمار VC+NSP بیشترین مقدار این شاخص ها و تیمار VCC کمترین مقدار این شاخص ها را داشتند. نسبت پلیمریزاسیون (HA/FA) بیانگر شکل گیری مولکولهای پیچیده تر (HA) از مولکولهای ساده تر (FA) می باشد (سانچز- موندرو و همکاران ۱۹۹۹، امیر و همکاران ۲۰۰۸). این نسبت به عنوان شاخص رسیدگی شناخته شده است. شاخص های دیگر نیز (HI و HR) بیان کننده نسبت رسیدگی ورمی کمپوست می باشد (سانچز- موندرو و همکاران ۱۹۹۹، امیر و همکاران ۲۰۰۸). با توجه به کاهش بیشتر ماده آلی و بیشتر بودن جمعیت میکروبی در تیمارهای باکتریایی، طبق نظر ویکن و همکاران (۲۰۰۰)، انتظار می رفت این تیمارها دارای اسید هیومیک و شاخص های هوموسی شدن بیشتری باشند ولی تیمارهای VC+NSP و VC+N دارای بیشترین مقدار شاخص های مذکور بودند. به احتمال زیاد وجود اوره در این دو تیمار دلیل اصلی این افزایش می باشد. وجود اوره در تیمار قدرت استخراج کننده را بشدت افزایش می دهد و بیش از ۱۰ درصد، اسید هیومیک و اسید فولویک بیشتری استخراج می کند (سونگ و همکاران ۲۰۰۸).

جدول ۱- نتایج مقایسات میانگین تاثیر تیمارهای مختلف غنی سازی بر مقادیر کربن آلی کل (TOC)، اسید فولویک (FA)، اسید هیومیک (HA) و شاخص های هوموسی شدن (HA/FA، HR و HI)

تیمارها	TOC (%)	FA (%)	HA (%)	شاخص های هوموسی شدن		
				HI	HR	HA/FA
VCC	۲۲/۵۴^{a}	۳/۳۵^{a}	۵/۵۳^{h}	۲۴/۵۲^{f}	۳۹/۳۸^{e}	۱/۶۵^{f}
VC+Az	۲۱/۹۴^{c}	۲/۶۵^{cd}	۷/۰۹^{c}	۳۲/۳۴^{b}	۴۴/۴۲^{c}	۲/۶۷^{b}
VC+Ps	۱۸/۲۹^{f}	۲/۲۲^{e}	۵/۹۲^{f}	۳۲/۲۷^{b}	۴۴/۳۱^{c}	۲/۶۸^{b}
VC+Az+Ps	۲۰/۷۲^{e}	۲/۴۳^{de}	۶/۲۴^{e}	۲۹/۹۲^{c}	۴۱/۶۵^{d}	۲/۵۵^{c}
VC+N	۲۲/۲۳^{b}	۳/۵۱^{a}	۷/۳۰^{b}	۳۲/۸۴^{b}	۴۸/۶۵^{b}	۲/۰۸^{e}
VC+S	۲۲/۰۰^{c}	۲/۸۰^{bc}	۵/۷۷^{g}	۲۶/۲۱^{e}	۳۸/۹۵^{e}	۲/۰۶^{e}
VC+P	۲۲/۰۵^{c}	۲/۹۲^{b}	۶/۴۰^{d}	۲۹/۰۲^{d}	۴۲/۲۴^{d}	۲/۲۰^{d}
VC+NSP	۲۱/۷۷^{d}	۲/۷۴^{bc}	۸/۴۱^{a}	۳۹/۵۰^{a}	۵۱/۲۳^{a}	۳/۰۷^{a}
C.V.	۰/۱۹	۲/۹۰	۰/۶۹	۰/۸۴	۰/۴۹	۱/۱۴
SEM±	۰/۰۲۳	۰/۰۴۷	۰/۰۲۶	۰/۱۵۱	۰/۱۲۵	۰/۰۱۶

* داده های هر ستون با حداقل یک حرف مشترک دارای اختلاف معنی دار نمی باشند.

نتیجه گیری

غنی سازی ورمی کمپوست موجب افزایش اسید هیومیک، کاهش ماده آلی ، کـاهش اسـید فولویـک و افـزایش شاخص های هوموسی شدن می شود.افزایش شاخص های هوموسی شدن در ورمی کمپوست به معنای پایداری بیشتر ماده آلی در خاک می باشد. با توجه به نقش بسیار مهم هوموس پایدار در خاک، به احتمال زیـاد بـا غنـی سازی ورمی کمپوست تاثیر آن نیز مثبت تر گردد. با توجه به اینکه pH تـاثیر زیـادی در مقـدار اسـتخراج اسـید هیومیک و اسید فولویک می گذارد، بنابراین برای بررسی دقیق مقادیر اسید هیومیک و اسید فولویـک، شـاخص های هوموسی شدن پیشنهاد می شود در تحقیقات بعدی یا pH همه تیمارها یکسان شود (که خیلی سخت مـی باشد) و یا کلیه مواد هیومیک این تیمارها استخراج (با تکرار چندین بار استخراج) و سپس این شاخص ها تعیـین گردند.

منابع

Ravindran B, Dinesh SL, John Kennedy L and Sekaran G, 2008. Vermicomposting of Solid Waste Generated from Leather Industries Using Epigeic Earthworm Eisenia fetida. Applied Biochemical Biotechnology. 151: 480–488.

Benitez E, Nogales R, Elvira C, Masciandaro G and Ceccanti B, 1999. Enzyme and earthworms activities during vermicomposting of carbaryl treated sewage sludge. J. Environ. Qual. 28, 1099–1104.

Senesi N, Miano TM and Brunetti G, 1996. Humic substances in organic amendments and effects on native soil humic substances, in: Piccolo, A., (Ed.). Humic substances in terrestrial ecosystems; p. 531–593.

Sanchez-Monedero MA, Roig A, Cegarra J and Bernal MP, 1999. Relationships between water-soluble carbohydrate and phenol fractions and the humification indices of different organic wastes during composting. Biores. Technol. 70, 193–201.

Veeken A, Nierop K, Wilde Vd and Hamelers B, 2000. Characterisation of NaOH-extracted humic acids during composting of a biowaste. Biores. Technol. 72, 33-41.

Amir S, Benlboukht F, Cancian N, Winterton P and Hafidi M, 2008. Physico-chemical analysis of tannery solid waste and structural characterization of its isolated humic acids after composting. J. Hazard. Mater. 160, 448–455.

Busato JG, Lima LS, Aguiar NO, Canellas LP and Olivares FL, 2012. Changes in labile phosphorus forms during maturation of vermicompost enriched with phosphorus-solubilizing and diazotrophic bacteria. Biores. Technol. Accepted.

Qi BC, Aldrich C and Lorenzen L, 2004. Effect of ultrasonication on the humic acids extracted from lignocellulose substrate decomposed by anaerobic digestion. Chemical Engineering Journal 98, 153–163.

Carter MR and Gregorich EG, 2006. Soil Sampling and Methods of Analysis, Second Ed. Canadian Society of Soil Science. 1224 pp.

Walkley A, and IA Black, 1934. Chromic acid titration for determination of soil organic matter. Soil Science 63: 251.

Song G, Novotny EH, Simpson AJ, Clapp CE and Hayes MHB, 2008. Sequential exhaustive extraction of a Mollisol soil, and characterizations of humic components, including humin, by solid and solution state NMR. European Journal of Soil Science, 59, 505–516.

اثر کرم‌خاکی و قارچ میکوریزا بر زیست‌توده میکروبی و فعالیت آنزیمی در خاک‌های آلوده شده به کادمیم در کشت ذرت

فاطمه آقابابائی[1]*، فایز رئیسی[2] و علیرضا حسین پور[2]
۱- دانشجوی دکتری بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد
۲-به ترتیب استاد بیولوژی و بیوشیمی خاک، و شیمی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد

مقدمه

امروزه آلودگی فلزات سنگین یکی از مهمترین مشکلات زیست‌محیطی رو به گسترش در جهان است. تقریباً ده درصد از خاک‌های کره زمین آلوده به فلزات سنگین هستند. یکی از این فلزات سنگین کادمیم است که اهمیت ویژه‌ای از نظر آلایندگی دارد. کادمیم به شدت بر سیستم‌های زیستی و حیاتی سلول زنده اثر منفی می‌گذارد. کادمیم به‌سادگی توسط ریشه گیاه جذب می‌شود و سمیت آن تا ۲۰ برابر سایر فلزات سنگین است و حتی قادر به ایجاد سمیت حتی در محدوده‌های کمتر از محدوده تشخیص دستگاه‌های آزمایشگاهی است. نتایج مطالعات بسیاری نشان داده‌اند که افزایش غلظت Cd قابل جذب در خاک سبب کاهش فعالیت میکروبی، جمعیت میکروبی (زیست‌توده)، تنوع زیستی میکروبی، سرعت بازچرخ عناصر، تجزیه مواد آلی و فعالیت آنزیمی خاک می‌گردد. این تغییر در ویژگی‌های بیولوژیکی خاک‌ها اثرات منفی زیست‌محیطی را به‌دنبال خواهد داشت، از این‌رو تعدیل یا کاهش سمیت کادمیم برای میکروب‌های خاک بسیار حائز اهمیت است. از آنجا که برخی از جاندارن خاک قادر به تحریک و افزایش فعالیت‌های میکروبی خاک هستند، احتمال اینکه سمیت کادمیم را بر فعالیت‌های بیولوژیکی خاک کم کنند وجود دارد. کرم‌خاکی و قارچ آربسکولار میکوریزا از جمله این موجودات هستند. آنها در تغییر و تحولات عناصر سنگین به‌ویژه کادمیم مؤثرند. قارچ‌های میکوریزا قادر به جذب کادمیم و ترسیب آن در دیوار سلولی خود هستند (آندراده و همکاران، ۲۰۱۰). کرم‌های خاکی نیز به عنوان شاخص بیولوژیک خاک‌های آلوده ممکن است زیست‌فراهمی کادمیم را کاهش و یا افزایش دهند (ادواردز و بوهلن، ۱۹۹۶). لذا این پژوهش به‌منظور بررسی نقش قارچ میکوریزا و کرم خاکی به تنهایی و باهم در کشت گیاه ذرت (*Zea mays* L.) بر تغییرات برخی ویژگی‌های بیولوژیکی خاک‌های آلوده شده به سطوح مختلف کادمیم انجام گرفت.

مواد و روشها

در این تحقیق سه فاکتور شامل میکوریزا (*Glomus intraradices*، *Glomus mosseae* و شاهد) به عنوان فاکتور اول، کرم خاکی *Lumbricus rubellus* L. (با و بدون کرم خاکی) به عنوان فاکتور دوم و سطوح مختلف کادمیم (۰، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک) به عنوان فاکتور سوم در سه تکرار مطالعه شد. جهت ارزیابی روابط بین ویژگی‌های خاک مورد نظر و تیمارهای اعمال شده (میکوریزا، کرم خاکی و سطوح کادمیم) آزمایش به صورت فاکتوریل ۳×۲×۳ در قالب طرح کاملاً تصادفی در شرایط گلخانه اجرا شد. برخی خصوصیات خاک مورد آزمایش عبارتند از: بافت لوم شنی، آهک ٪۱۹، کربن آلی ٪۰/۲۸، نیتروژن کل ٪۰/۰۶، اسیدیته ۸/۱، هدایت الکتریکی ۰/۲۰ دسی‌زیمنس بر متر و کادمیم کل ($mg\ kg^{-1}$)۰/۰۲. پس از اعمال تیمارها در تمامی

واحدهای آزمایشی جهت جلوگیری از گرسنگی کرم‌های خاکی معادل ۱/۵ درصد ماده آلی به شکل بقایای گیاه یونجه اضافه شد. در پایان آزمایش میزان ماده آلی (Organic Matter) و کربن آلی محلول (Dissolvel Organic Carbon) در خاک گلدان‌ها با روش واکی‌بلاک تعیین شد (نلسون وسامرز، ۱۹۹۶). میزان ترشح گلومالین (Glomalin) کل خاک با روش برادفورد (Bradford) با استفاده از استاندارد آلبومین سرم گاوی (رایت و آپادیایا، ۱۹۹۶) و کادمیم آن با روش گنزالز چاوز و همکاران (۲۰۰۴) تعیین شد. فعالیت آنزیم اوره‌آز (Urease) با روش طباطبائی و برمنر (۱۹۷۲) و آنزیم فسفاتاز قلیایی (Alkaline Phosphatase) به روش عیوضی و طباطبائی (۱۹۷۷) اندازه‌گیری گردید. تجزیه واریانس (ANOVA) و مقایسه میانگین‌ها به روش توکی در سطح احتمال پنج درصد ($p<۰/۰۵$) توسط نرم افزار آماری Minitab16 انجام گرفت.

نتایج و بحث

آلودگی کادمیم به غیر از درصد ماده آلی خاک سایر ویژگی‌های خاک مورد بررسی را به‌طور معنی‌دار در سطح یک درصد ($p<۰/۰۱$) تغییر داد که این تغییر عمدتاً به شکل کاهش جمعیت و فعالیت میکروبی خاک مشاهده شد (داده‌ها گزارش نشده). نتایج نشان داد تنها اثر کرم‌خاکی در سطح یک درصد ماده آلی خاک را کاهش داده است و سایر اثرات مورد بررسی بر این ویژگی معنی‌دار نبود (داده‌ها گزارش نشده). این کاهش در پی مصرف ماده آلی خاک به عنوان غذا توسط کرم‌های خاکی رخ داده است. آلودگی کادمیم مقدار کربن آلی محلول در خاک را ۱۹–۱۰ درصد کاهش داد (جدول ۱). ولی کرم‌خاکی DOC را در خاک غیر آلوده و آلوده به $mg\ kg^{-1}$ ۱۰ کادمیم، به ترتیب ۸ و ۶ درصد افزایش داد (جدول ۱). کرم‌های خاکی مقدار DOC را در خاک‌های غیر آلوده به میزان قابل توجهی افزایش می‌دهند (بریونز و همکاران، ۲۰۱۱). آنها همچنین DOC را در سطوح بالای آلودگی خاک کاهش داده و از این طریق جابه‌جایی فلزات سنگین مانند آرسنیک، سرب و مس را که به مواد آلی محلول متصل هستند در خاک کاهش می‌دهند (بیسلی و همکاران، ۲۰۱۱).

کادمیم غلظت گلومالین را در خاک ۱۲۲–۴۲ درصد افزایش داد ولی این افزایش تنها در سطح $mg\ kg^{-1}$ ۲۰ معنی‌دار بود (جدول ۱). افزایش سطح کادمیم خاک همچنین افزایش مقدار کادمیم متصل به گلومالین را موجب شد (جدول ۱). نتایج آزمایش نشان داد با دو برابر شدن غلظت کادمیم خاک مقدار کادمیم گلومالین بیش از ۲/۷ برابر می‌شود (جدول ۱). لذا اثرات مثبت قارچ میکوریزا در سطوح بالای آلودگی کادمیم بیشتر است. بین دو گونه قارچ میکوریزا، *G. mosseae* گلومالین بیشتری ترشح کرد (۵۵٪) ولی تنها در سطح کادمیم $mg\ kg^{-1}$ ۲۰ با گونه *G. intraradices* اختلاف معنی‌دار داشت (جدول ۱). اگرچه گستردگی شبکه هیف‌های قارچی ممکن است جذب کادمیم توسط گیاهان را افزایش دهد ولی ترشح گلومالین از آنها با کاهش جزء محلول و تبادلی کادمیم، شرایط را برای رشد و زندگی موجودات زنده خاک اعم از گیاه و میکروب بهبود می‌دهد. گنزالزچاوز وهمکاران (۲۰۰۴) نیز بیان کردند که گلومالین قادر به توقیف و نگهداری عناصر سمی در خاک است.

کادمیم مقدار کربن زیست‌توده میکروبی را در سطوح ۱۰ و $mg\ kg^{-1}$ ۲۰ به ترتیب ۱۳ و ۳۲ درصد کاهش داد ولی همزیستی میکوریزایی موجب افزایش ۴۰ درصدی کربن زیست‌توده میکروبی شد (داده‌ها گزارش نشده). لی و همکاران (۲۰۱۲) نیز نشان دادند همزیستی قارچ میکوریزا با گیاه ذرت، کربن زیست‌توده میکروبی را در خاک‌های غیر آلوده بیش از دو برابر افزایش داد. آلودگی کادمیم فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز قلیایی و اوره‌آز را در خاک حدود ۱۰ درصد کاهش داد (داده‌ها گزارش نشده). در حالی‌که کرم‌خاکی فعالیت فسفاتاز قلیایی را ۱۱/۶ و اوره‌آز را ۸/۳ درصد افزایش داد (جدول ۲). این افزایش در سطح $mg\ kg^{-1}$ ۱۰ چشم‌گیرتر بود و با بیشتر شدن

آلودگی ($mg\ kg^{-1}$ ۲۰) اثر کرم‌خاکی از بین رفت (جدول ۲). قارچ میکوریزا نیز فعالیت فسفاتاز قلیایی را ۱۸ و اوره‌آز را ۱۱/۴ درصد افزایش داد و بین دو گونه قارچ اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد (جدول ۲).

جدول ۱- اثر اصلی کرم‌خاکی و قارچ میکوریزا در خاک‌های آلوده به سطوح مختلف کادمیم بر ویژگی‌های خاک

Cd	EW		AMF			میانگین
	NE	WE	NM	GI	GM	
	DOC (mg C kg^{-1} siol)					
۰	۱۱۱bA	۱۲۰aA	۱۲۷aA	۱۱۵bA	۱۰۴cA	۱۱۶A
۱۰	۱۰۱bB	۱۰۷aB	۱۰۷aB	۱۰۶abB	۹۹/۷bA	۱۰۴B
۲۰	۹۵/۳aC	۹۲/۸aC	۹۲/۲bC	۱۰۰aB	۸۹/۸bB	۹۴/۱C
میانگین	۱۰۲b	۱۰۷a	۱۰۹a	۱۰۷a	۹۷/۸b	
	Glom. (mg g^{-1}soil)					
۰	۲/۸۶aB	۱/۵۷bB	۰/۰۰bA	۴/۲۱aB	۲/۴۴aB	۲/۲۲B
۱۰	۴/۱۸aB	۲/۱۳bB	۰/۰۰bA	۳/۷۲aAB	۵/۷۵aB	۳/۱۶B
۲۰	۴/۸۱aA	۵/۰۸aA	۰/۰۰cA	۵/۹۸bA	۸/۸۴aA	۴/۹۴A
میانگین	۳/۹۵a	۲/۹۳b	۰/۰۰c	۴/۰۵b	۶/۲۷a	
	Glom.Cd (µg g^{-1}glom.)					
۰	۰/۰۰aC	۰/۰۰aC	۰/۰۰aA	۰/۰۰aC	۰/۰۰aC	۰/۰۰C
۱۰	۴۱/۶aB	۳۷/۸aB	۰/۰۰bA	۵۵/۳aB	۶۳/۷aB	۳۹/۷B
۲۰	۱۰۸aA	۱۰۹aA	۰/۰۰bA	۱۶۳aA	۱۶۲aA	۱۰۸A
میانگین	۴۸/۸a	۴۹/۹a	۰/۰۰b	۷۲/۹a	۷۵/۲a	

میانگین‌های هر ردیف برای هر تیمار با حروف مشابه کوچک و هر ستون برای هر تیمار با حروف مشابه بزرگ بر اساس آزمون توکی در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌دار ندارند

NE و WE به ترتیب بدون کرم‌خاکی و با کرم‌خاکی؛ NM، GI و GM به ترتیب بدون قارچ میکوریزا، قارچ گونه *G. intraradices* و *G. mosseae*

جدول ۲- اثر اصلی کرم‌خاکی و قارچ میکوریزا در خاک‌های آلوده به سطوح مختلف کادمیم بر ویژگی‌های خاک

AMF	EW		میانگین	EW		میانگین
	NE	WE		NE	WE	
	ALP (mg P-Nitrophenol kg^{-1} soil h^{-1})			Urease (mg $NH4^{+}$-N kg^{-1} soil h^{-1})		
NM	۱۸۵bB	۲۰۵aB	۱۹۵B	۶/۹aA	۷/۱aB	۷/۰B
GI	۲۱۲bA	۲۴۸aA	۲۳۰A	۷/۲bA	۸/۵aA	۷/۹A
GM	۲۲۱aA	۲۳۸aA	۲۳۰A	۷/۵aA	۷/۸aAB	۷/۷A
میانگین	۲۰۶b	۲۳۰a		۷/۲b	۷/۸a	

میانگین‌های هر ردیف برای هر تیمار با حروف مشابه کوچک و هر ستون برای هر تیمار با حروف مشابه بزرگ بر اساس آزمون توکی در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌دار ندارند

نتایج حاصل از این آزمایش همچنین نشان داد اثر متقابل کرم‌خاکی و قارچ میکوریزا بر فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز قلیایی و اوره‌آز هم‌افزا بوده است (جدول ۲) و این اثر سینرجیستی در سطوح متوسط آلودگی بیشتر است (داده‌ها گزارش نشده). طی عبور ماده آلی خاک از دستگاه گوارش کرم‌های خاکی و شکست مواد سخت تجزیه، غذای مناسبی برای میکروب‌ها بوجود می‌آید (ادواردز و بوهلن، ۱۹۹۶). این تجزیه نسبی افزایش فعالیت میکروبی و ترشح آنزیم‌ها را در فضولات کرم‌خاکی به‌دنبال دارد. در خاک‌های غیرآلوده کرم‌خاکی فعالیت آنزیم‌ها به‌ویژه فسفاتاز قلیایی و اوره‌آز را در خاک‌های آلوده و غیرآلوده بالا می‌برد ولی روند کاهشی در سطوح مختلف آلاینده وجود دارد (کیزیلکایا و هپسن، ۲۰۰۴). قارچ میکوریزا نیز انواع آنزیم‌ها به‌ویژه فسفاتازها را درخاک ترشح می‌کند و موجب افزایش فعالیت آنها در خاک می‌گردد (رئیسی و قولرعطا، ۲۰۰۶). به‌طور کلی رابطه سه جانبه گیاه، کرم‌خاکی و قارچ میکوریزا در خاک‌های آلوده به کادمیم، اثر سمی کادمیم را بر فعالیت‌های بیولوژیکی خاک کاهش می‌دهد که این بهبود شرایط برای فعالیت میکروبی، افزایش رشد گیاه و اصلاح خاک‌ها را به‌دنبال خواهد داشت. با توجه به هدف مدیریتی مبنی بر برداشت کادمیم بیشتر توسط گیاه (گیاه پالایی) و یا کاهش جذب کادمیم توسط آن (کاهش مسمومیت) و با انتخاب گیاه مناسب، این توانایی می‌تواند در خاک‌های آلوده به کادمیم استفاده شود.

منابع

1. Andrade S.A.L. Silveira A.P.D. and Mazzafera P. 2010. Arbuscular mycorrhiza alters metal uptake and the physiological response of *Coffea arabica* seedlings to increasing Zn and Cu concentrations in soil. Science of the Total Environment 408:5381–5391.
2. Beesley L., Moreno-Jiménez E., Gomez-Eyles J. L., Harris E., Robinson B. and Sizmur T. 2011. A review of biochars' potential role in the remediation, revegetation and restoration of contaminated soils. Environmental Pollution 159: 3269–3282.
3. Briones M. J. I., Barreal M. E., Harrison A. C. and Gallego P. 2011. Earthworms and nitrogen applications to improve soil health in an intensively cultivated kiwifruit orchard. Applied Soil Ecology 49: 158– 166.
4. Edwards C.A. and Bohlen P.J. 1996. Biology and ecology of earthworms. 3nd (Ed.), Chapman and Hall, UK.
5. Eivazi F. and Tabatabai M.A. 1977. Phosphatases in soils. Soil Biology and Biochemistry 9:167–172.
6. Gonzalez-Chavez M.C. Carrillo-Gonzalez R. Wright S.F. and Nichols K.A. 2004. The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potentially toxic elements. Environmental Pollution 130: 317–323.
7. Kizilkaya R. 2004. Cu and Zn accumulation in earthworm *Lumbricus terrestris* L. in sewage sludge amended soil and fractions of Cu and Zn in casts and surrounding soil. Ecological Engineering 22: 141–151.
8. Li H., Li X., Dou Z. and Zhang J. 2012. Earthworm (*Aporrectodea trapezoides*)–mycorrhiza (*Glomus intraradices*) interaction and nitrogen and phosphorus uptake by maize. Biology and Fertility of Soils 48: 75–85.
9. Nelson D.W. and Sommers L.E. 1996. Total carbon, organic carbon, and organic matter. In Methods of Soil Analysis, part 3, Chemical Methods, Sparks. D. L. (Ed.) Soil Science Society of America: Madison, WI, SSSA Book Serie 5: 153–188.
10. Raiesi, F., Ghollarata, M., 2006. Interactions between phosphorus availability and an AM fungus (*Glomus intraradices*) and their effects on soil microbial respiration, biomass and enzyme activities in a calcareous soil. Pedobiologia 50,413–425.

11. Tabatabaei M.A. and Bremner J.M. 1972. Assay of urease activity in soil. Soil Biology and Biochemistry 4: 479–487.
12. Wright S.F. and Upadhyaya A. 1996. Extraction of an abundant and unusual protein from soil and comparison with hyphal protein of arbuscular mycorrhizal fungi. Soil Science 161:575–586.

اثر ریزوباکترهای محرک رشد گیاه بر کاهش سمیت سرب در گیاهچه‌های ذرت

علی مجملی رنانی[1]، عبدالرزاق دانش شهرکی[2] و محسن مبینی دهکردی[2]
۱-دانشجوی کارشناسی ارشد کشاورزی اکولوژیک، دانشگاه شهرکرد، alimojmeli@yahoo.com
۲-اعضای هیئت علمی دانشگاه شهرکرد

مقدمه

آلودگی خاک‌ها به فلزات سنگین به یک مسئله محیطی حاد تبدیل شده است، چرا که عوارض جانبی بالقوه-ی آلاینده‌های زیست محیطی آن بسیار قابل توجه است (آن، ۲۰۰۴). در بین فلزات سنگین، سرب (Pb) یکی از مهمترین آلاینده‌ها محسوب می‌شود (هانگ و همکاران، ۱۹۹۷). با توجه به اثرات زیانبار آلودگی خاک به سرب، احیای اراضی آلوده به سرب هم برای ترمیم محیط زیست و هم حفاظت از سلامت گیاه و انسان الزامی است. تحقیقات زیادی در زمینهٔ ارائه، تکوین و توسعه روش‌های خروج و حذف سرب از خاک‌های آلوده صورت گرفته است (شن و همکاران، ۲۰۰۲). در این میان گیاه‌پالایی یک تکنولوژی کم هزینه و سازگار است که برای آلودگی زدایی خاک‌ها مفید می‌باشد (راسکین و انزلی، ۲۰۰۰). تلقیح گیاهان با باکتری‌های‌ریزوسفری محرک رشد، از جمله روش‌هایی است که به منظور ارتقای گیاه‌پالایی مورد استفاده و توجه قرار گرفته است. گلیک (۲۰۰۳) نشان داد که بهبود واکنش بین گیاهان و میکروب‌های مفید منطقه ریزوسفر می‌تواند تولید زیست‌توده را افزایش دهد و تحمل گیاهان به فلزات را بهبود بخشد و بنابراین یک مولفه مهم در فن‌آوری گیاه‌پالایی محسوب می-شود. در مورد ذرت گزارش‌های ضد و نقیضی وجود دارد. پاره‌ای از آن‌ها حاکی از آن است که ذرت می‌تواند برای هدف گیاه‌پالایی در زمین‌های آلوده به کار رود (کای و همکاران ۲۰۰۴). از این رو با توجه به سودمندی اثر باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد، در گیاه‌پالایی فلزات سنگین، این پژوهش به منظور بررسی اثر باکتری-های محرک رشد (PGPR) در کاهش سمیت سرب و بهبود جوانه‌زنی گیاه ذرت تحت شرایط آلودگی به سرب طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ده تیمار و سه تکرار در پژوهشکده بیوتکنولوژی دانشگاه شهرکرد انجام شد. تیمارها شامل شاهد بدون سرب (پتری‌دیش حاوی آب مقطر)، تلقیح با هفت گونه مختلف باکتریایی + ۵۰ میلی‌گرم برلیتر (ppm) سرب و تلقیح همزمان تمامی سویه‌های‌باکتریایی (All bacteria) + ۵۰ میلی‌گرم برلیتر (ppm) سرب و تیمار شاهد سرب‌دار محتوی ۵۰ میلی‌گرم برلیتر (ppm) سرب بود. تیمارهای تلقیح باکتریایی شامل تلقیح با هفت باکتری *Rhodococcus* sp.، *Bacillus stearothermophilus* strain A، *Bacillus stearothermophilus strain* B، *Mycobacterium* sp.، *Corynebacterium* sp.، *Bacillus licheniformis*، *Bacillus* sp. بودند. مایه تلقیح باکتریایی، از طریق معلق نمودن سلول‌های باکتریایی در سرم فیزیولوژیک ۹/. درصد استریل که میزان جذب آن در طول موج ۶۰۰ نانومتر به منظور دستیابی به تراکم مایه تلقیح ۱۰۸ × ۵ واحد تشکیل‌دهنده کلونی (CFU) بر میلی‌لیتر روی ۰/۵ تنظیم شده بود، آماده گردید (بورد و همکاران ۱۹۹۸). بذور ذرت پس از ضدعفونی با توجه به نوع تیمار به مدت یک ساعت در سوسپانسیون

باکتریایی معلق و در نهایت درون پتری‌دیش‌های بزرگ ۱۲۰ میلی‌متری کشت و به مدت ۷ روز در ژرمیناتور با دمای ثابت ۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد و در تاریکی قرار داده شدند (ایستا، ۲۰۱۱). در نهایت با استفاده از روابط زیر شاخص تحمل (TI) و اثر تلقیح باکتریایی (BIE) محاسبه گردید (بورد و همکاران، ۱۹۹۸؛ داویس و همکاران، ۲۰۰۱).

$$TI(\%) = \frac{RL_m}{RL_c} \quad [۱]$$

RL_m: طول ریشه‌ی گیاهچه‌های رشد کرده در حضور فلز سنگین به‌همراه مایه‌ی تلقیح باکتریایی (cm)

RL_c: طول ریشه‌ی گیاهچه‌های رشد کرده در غیاب فلز سنگین (cm)

$$BIE(\%) = \frac{RL_m - RL_a}{RL_a} \quad [۲]$$

RLa: طول ریشه‌ی گیاهچه‌های رشد کرده در حضور فلز سنگین (cm)

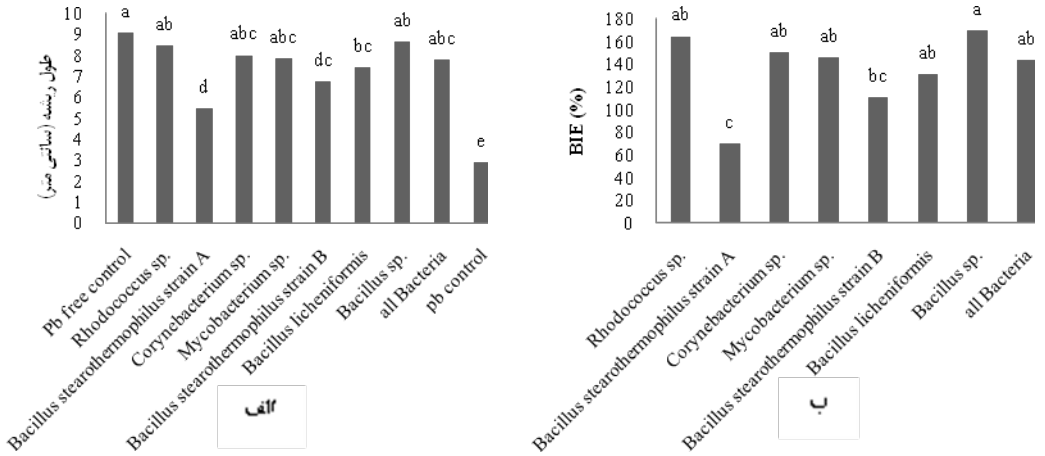
تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها به روش LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

اثر تیمارهای مختلف بر طول ریشه‌چه و درصد جوانه‌زنی در سطح احتمال ۱ درصد، و بر شاخص تحمل (TI) و اثر تلقیح باکتریایی (BIE) در سطح احتمال ۵ درصد نیز معنی‌دار گردید. با توجه به شکل ۱ (الف) بیشترین و کمترین طول ریشه گیاهچه‌های ذرت به ترتیب با میانگین‌های ۹ و ۳ سانتی‌متر در تیمار شاهد و شاهد محتوی ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر (ppm) سرب مشاهده شد. مقایسه‌ی تیمارهای باکتریایی با تیمار شاهد سرب‌دار بدون باکتری نشان می‌دهد که تمامی ریزوباکتری‌های مورد استفاده در این آزمون قادرند رشد ریشه‌ی گیاهچه‌های ذرت را تحت شرایط بروز تنش ناشی از وجود سرب در محیط ارتقاء دهند (شکل ۱ الف). بورد و همکاران (۲۰۰۰) نیز گزارش دادند که کاربرد ریزوباکتری‌های مقاوم به نیکل *Kluyvera ascorbata* در خاک-های تیمار شده با نیکل، سرب و روی سبب حفاظت از بوته‌های گوجه‌فرنگی، خردل‌هندی و کلزا در مقابل سمیت این فلزات سنگین شد. بررسی مطالعات قبلی نشان می‌دهد که سویه‌های باکتریایی تولیدکننده‌ی ایندول استیک اسید، طول ریشه‌ی گیاهان تلقیح شده را در حضور فلزات سنگین افزایش می‌دهند (شنگ و اکسیا، ۲۰۰۶). لذا، ریزوباکتری *Bacillus* sp. که داری صفات محرک رشد چندگانه مانند تولید سیدروفور، IAA و ACC–دی‌آمیناز برخوردار است، توانست نسبت به سایر ریزوباکتری‌های مورد مطالعه، طول ریشه‌ی گیاهچه‌های ذرت را نسبت به تیمار شاهد سرب‌دار به میزان بیشتری افزایش دهد.

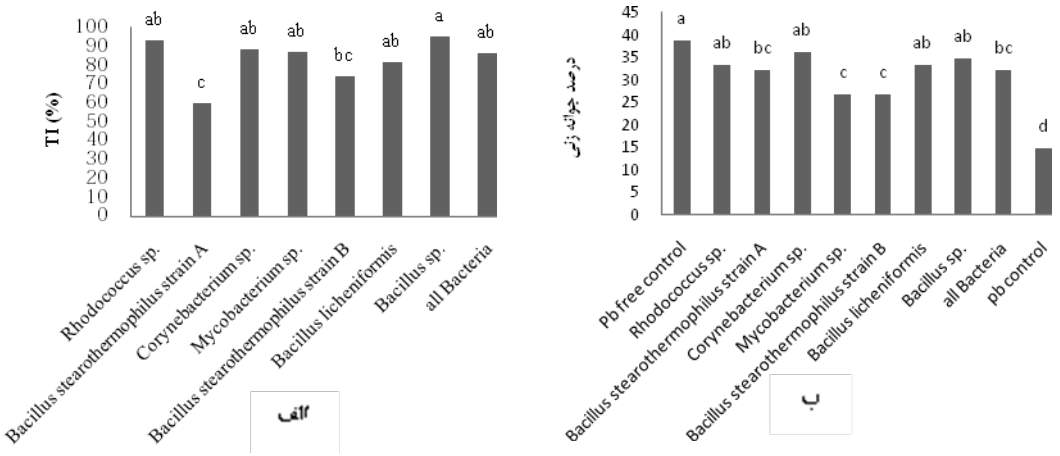
تلقیح باکتریایی با ریزوباکتر *Bacillus* sp.، توانست بالاترین اثر تلقیح باکتریایی (BIE) را با افزایش ۱۶۹/۸، درصدی را به خود اختصاص دهد (شکل ۱ ب). علاوه بر این گیاهچه‌های تلقیح شده با ریزوباکتر *Bacillus* sp.، با برخورداری از شاخص تحمل (TI) ۹۵/۲ درصدی دارای بالاترین شاخص تحمل بود (شکل ۲ الف). پس از ریزوباکتر *Bacillus* sp.، بیشترین اثر تلقیح باکتریایی با مقادیر میانگین ۱۶۴/۶، ۱۵۰، ۱۴۵/۸، ۱۴۳/۷، ۱۳۱/۲، ۱۱۰ و ۶۹/۸ درصدی به ترتیب مربوط به تیمارهای تلقیحی با ریزوباکترهای *Rhodococcus* sp.، *Corynebacterium* sp.، *Mycobacterium* sp.، تلقیح توسط تمامی سویه‌های باکتریایی (All bacteria)،

Bacillus licheniformis، *stearothermophilus* strain B و Bacillus stearothermophilus strain A بود. با این وجود میان ریزوباکتری‌های *Corynebacterium* sp.، *Mycobacterium* sp.، *Bacillus licheniformis*، تلقیح توسط تمامی سویه‌های باکتریایی (All bacteria)، اختلاف معنی‌داری از لحاظ شاخص اثر تلقیح باکتریایی گیاهچه‌های ذرت بین این سویه‌های باکتریایی در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD وجود نداشت (شکل ۱ ب). بر این اساس ریزوباکتری‌های مورد استفاده در این آزمون توانستند با برخورداری از صفات محرک رشدی گوناگون طول ریشه‌ی گیاهچه‌های ذرت را افزایش داده و اثر تلقیح باکتریایی مثبتی را از خود نشان دهند.



شکل ۱- تاثیر تیمارهای مختلف بر طول ریشه گیاهچه‌های ذرت و اثر تلقیح ریزوباکتری‌های محرک رشد بر طول ریشه گیاهچه‌های ذرت (میانگین‌های داری حروف مشابه بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند)

اثر تیمارهای مختلف بر درصد جوانه‌زنی بذور ذرت نیز در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین مربوط به اثر تیمارهای مختلف بر جوانه‌زنی بذور ذرت نشان داد که کمترین و بیشترین درصد جوانه‌زنی بذور ذرت به ترتیب با میانگین ۱۴/۷ و ۳۸/۷ درصد متعلق به تیمار شاهد سرب‌دار و شاهد بدون سرب به دست آمد. در میان تیمارهای تلقیحی با سویه‌های مختلف باکتریایی نیز، بالاترین درصد جوانه‌زنی با میانگین ۳۶ درصد مربوط به *Corynebacterium* sp. بود (شکل ۲ ب). نتایج مطالعات پیشین نشان می‌دهد که سویه‌های باکتریایی داری صفات محرک رشدی چندگانه (نظیرIAA، سیدروفور و ACC–دی‌آمیناز)، رشد گیاهان تحت تنش را به میزان بیشتری تحت تاثیر قرار می‌دهند. لذا، وجود تعداد بیشتری از صفات محرک رشدی در یک باکتری منفرد، شاخص آن باکتری را برای اینکه بتواند به گونه‌ای مطلوب رشد گیاه را تحت تاثیر قرار دهد، افزایش خواهد داد (دل‌آمیکو و همکاران، ۲۰۰۸). در مجموع باید اظهار داشت که تمامی ریزوباکترهای مورد استفاده در این آزمون قادرند اثرات بازدارنده‌ی سرب بر جوانه‌زنی و رشد ریشه‌چه ذرت را کاهش و شاخص تحمل این گیاه را نسبت به سرب به‌طور معنی‌داری افزایش دهند.



شکل ۲- شاخص تحمل گیاهچه‌های ذرت تلقیح شده با ریزوباکتری‌های محرک رشد و تاثیر تیمارهای مختلف بر درصد جوانه‌زنی بذور ذرت (میانگین‌های داری حروف مشابه بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند)

منابع

An YJ, 2004. Soil ecotoxicity assessment using cadmium senitive plants. Enviromental Pollution. 127: 112–119.

Burd GI, Dixon DG and Glick BR, 1998. A plant growth-promoting bacterium that decreases nickel toxicity in seedlings. Journal of Applied and Environmental Microbiology. 64: 3663–3668.

Burd GI, Dixon DG and Glick BR, 2000. Plant growth-promoting bacteria that decreases heavy metal toxicity in plants. Canadian Journal of Microbiology. 46: 237–245.

Cui Y, Dong Y, Li H and Wang Q, 2004. Effect of elemental sulfur on solubility of soil heavy metals and their uptake by maize. Environment International. 30: 323–328.

Davies JFT, Puryear JD, Newton RJ, Egilla JN and Saraiva Grossi JA, 2001. Mycorrhizal fungi enhance accumulation and tolerance of chromium in sunflower (*Helianthus annuus*). Journal of Plant Physiology. 158: 777–786.

Dell'Amico E, Cavalca L and Andreoni V, 2008. Improvement of Brassica napus growth under cadmium stress by cadmium-resistant rhizobacteria. Soil Biology and Biochemistry. 40: 74–84.

Glick BR, 2003. Phytoremediation: synergistic use of plants and bacteria to clean up the environment. Biotechnology Advances. 21: 383–393.

Huang JW, Chen J, Berti WR and Cunningham SD, 1997. Phytoremediation of lead contaminated soil: Role of synthetic chelates in lead phytoextraction. Environmental Pollution. 31: 800–805.

International Seed Testing Association. 2011. International Rules for Seed Testing. Seed Science and Technology 27 Supplement 333pp.

Raskin B and Ensley D, 2000. Phytoremediation of Toxic Metals: Using Plants to Clean up the Environment. John Wiley, New York.

Shen ZG, Li XD, Wang CC, Chen HM and Chua H. 2002. Lead phytoextraction from contaminated soils with high-biomass plant species. Journal of Environmental Quality. 31: 1893–1900.

Sheng XF and Xia JJ, 2006. Improvement of rape (*Brassica napus*) plant growth and cadmium uptake by cadmium-resistant bacteria. Chemosphere. 64: 1036–1042.

ارزیابی قارچ میکوریز آربوسکولار با استفاده از بیومارکرهای لیپیدی

محسن برین[1]، ناصر علی اصغرزاد[1]، میرحسن رسولی صدقیانی[2]، مهدی مهیجی[3]، حسین پوریوسف[4]، مهناز حیدری ریکان[5]

۱- دانشجوی دکتری و استاد گروه علوم خاک دانشگاه تبریز؛ ۲- دانشیار گروه علوم خاک دانشگاه ارومیه؛ ۳ - دانشجوی دکتری اصلاح نبات دانشگاه تبریز؛ ٤ -دانشجوی علوم خاک دانشگاه ارومیه؛ ٥ -عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی ارومیه

مقدمه

اندام‌های قارچ میکوریز آربوسکولار به‌طور وسیع در خاک‌ها گسترش داشته و نقش مهمی در اکثر اکوسیستم-های خاک ایفا می‌کنند. برآورد توده زنده قارچ‌ریشه به منظور فهمیدن نقش تغذیه‌ای آنها در خاک خیلی مهم می‌باشد. درک بهتر از روابط بین رشد گیاه، کلنیزاسیون ریشه و مقدار هیف‌های برون ریشه‌ای و اسپور، برای ارزیابی بهتر قارچ میکوریز تحت شرایط مختلف اهمیت زیادی دارد (السون و همکاران ۱۹۹۵). به طور معمول برای برآورد مقدار توده زنده (هیف‌های برون ریشه‌ای و اسپور) قارچ‌ریشه آربوسکولار از روش میکروسکوپی (جداسازی توسط الک مرطوب و گرادیان غلظت ساکارز) و برای تعیین درصد کلنیزاسیون ریشه، بعد از رنگ آمیزی ریشه به روش‌های معمول، کل طول و یا درصدی از طول ریشه که توسط قارچ اشغال شده مورد ارزیابی قرار می‌گیرد. برآورد دقیق توده زنده قارچی در ریشه به دلیل پیچیدگی ساختار ریشه گیاه مشکل می‌باشد (السون و همکاران ۱۹۹۵). اسید چرب نشان 16:1ω5 یک وسیله خوب برای تخمین توده زنده قارچ میکوریز آربوسکولار در خاک و ریشه می‌باشد (السون ۱۹۹۹). ترکیبات اسید چرب فسفولیپیدی در گروه‌های میکروبی مختلف فرق می‌کند. اسید چرب 16:1ω5 در قارچ‌های دیگر نادر بوده ولی با سطح کلنیزاسیون ریشه توسط قارچ میکوریز آربوسکولار همبستگی بالایی دارد. بررسی‌ها نشان داده‌اند که جوانه زنی اسپور و رشد هیف قارچ میکوریز بر اثر شوری کاهش می‌یابد. همچنین با افزایش شوری درصد کلنیزاسیون گیاهان گلیکوفیتی به‌طور معنی‌دار کاهش یافت (علی اصغرزاده و همکاران، ۲۰۰۱) . در این مطالعه همزیستی قارچ میکوریز آربوسکولار به کمک تکنیک بیوشیمیایی از مزارع و همچنین شوره‌زارهای دشت تبریز با شوری‌های مختلف بررسی گردید.

مواد و روشها

ناحیه مورد مطالعه بخشی از دشت تبریز، در محدوده ایلخچی تا جزیره اسلامی بین 49 °37 و '59 °37 شمالی و '45°30 و '0°46 غربی قرار دارد. نمونه‌برداری از مزارع یونجه، پیاز و همچنین سالیکورنیا از شوره‌زارهای دشت تبریز با شوری‌های متفاوت انجام شد. به ترتیب از مزارع پیاز و یونجه ۳۹ و ۲۹ نمونه مرکب، وهمچنین ۲۶ نمونه مرکب خاک و ریشه سالیکورنیا از شوره‌زارهای دشت تبریز برداشت شد. و در داخل کلمن حاوی یخ به

آزمایشگاه منتقل گردید. حدود ۱۰۰ گرم خاک داخل پلاستیک، برای تجزیه NLFA در فریزر (۲۰- درجه سلسیوس) قرار داده‌شد حدود یک کیلوگرم خاک جهت انجام آزمایش‌های فیزیکی و شیمیایی به آزمایشگاه منتقل و بعد از هوا خشک کردن و الک کردن، جهت آزمایش‌ها مورد استفاده قرار گرفت. حدود ۳ تا ۵ گرم از ریشه مرطوب ریز فریز درایر شدند سپس تا زمان آزمایش در فریزر (۲۰- درجه سلسیوس) نگهداری گردید (علی اصغرزاد ۲۰۱۰). برای استخراج اسیدچرب از روش بلای و دایر (۱۹۵۹) که بعداً توسط فراست گارد و همکاران (۱۹۹۱) اصلاح گردید استفاده شد. این روش شامل چهار مرحله می باشد: مرحله اول استخراج چربی، مرحله دوم (جدا سازی چربی‌ها)، مرحله سوم (متیلاسیون و تشکیل اسید چرب متیل استر (FAME)) و مرحله چهارم (تجزیه کروماتوگرافی گازی (GC)) می‌باشد. اسید چرب نوترال لیپید 16:1ω5 به عنوان شاخص قارچ‌ریشه‌های آربوسکولار مورد استفاده قرار گرفت. داده‌های حاصل از اندازه‌گیری خصوصیات فیزیکی، شیمیائی، و NLFA خاک و ریشه با کاربرد تجزیه عامل‌ها به روش تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) به منظور گروه‌بندی و کاهش حجم جامعه صورت گرفت. و همچنین رابطه بین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک و و نشانگرهای بیوشیمیایی (NLFA و PLFA) با استفاده از رگرسیون چندگانه گام به گام بررسی شد.

نتایج و بحث

معادله رگرسیون چندگانه گام به گام خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک (متغیر وابسته) روی (16:1ω5) NLFA در ریشه (متغیر مستقل) نشان می‌دهد (معادله ۱) که حدود ۲۵ درصد از تغییرات (16:1ω5) NLFA در ریشه توسط نسبت جذب سدیم و فسفر قابل جذب (جهت منفی) توجیه می شود. بر اساس ضرایب رگرسیون جزء استاندارد شده، نسبت جذب سدیم بیشترین تاثیر را در جهت منفی داشت.

$$\text{NLFA 16:1}\omega5 \text{ در ریشه} = -۰/۵۴۴\ SAR - ۰/۲۹۷\ P_{ava} \qquad [۱]$$

$$R^2_{adj}=۰/۲۵$$

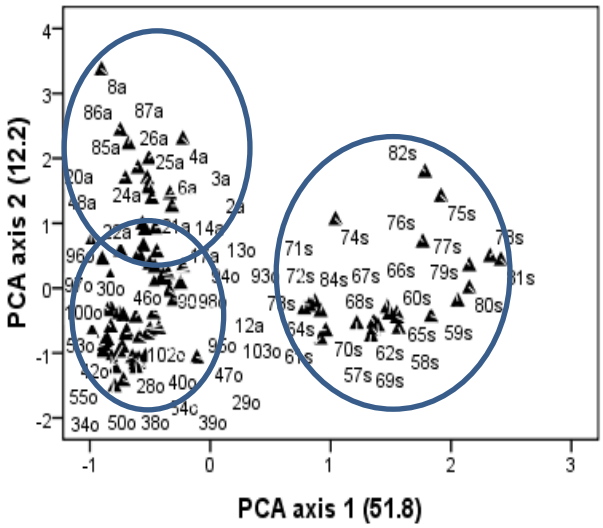
بنظر می‌رسد علاوه بر شوری، اثرات فیزیولوژیک ناشی از آن و سمیت یون‌های نظیر سدیم (SAR بالا) و کلر، بالا بودن فسفر قابل جذب (استفاده از کودهای فسفره زیاد) هم، سبب کاهش کارایی سیستم همزیستی در گیاهان قارچ‌ریشه‌ای شده و این امر ممکن است به این دلیل باشد که بالا بودن فسفر قابل جذب احتمالاً سبب افزایش جذب فسفر توسط گیاه و در نتیجه بالا رفتن فسفولیپید در دیواره یاخته‌ای و کاهش تراوایی یاخته‌های ریشه گیاه شود که کاهش تراوش کربوهیدرات‌ها را در خاک به دنبال دارد. السون و همکاران ۱۹۹۷ در بررسی-های خود نشان دادند که کاربرد بیش از ۱۵ میلی گرم در کیلوگرم فسفر، NLFA 16:1ω5 را در ریشه و خاک و همچنین کلنیزاسیون ریشه را کاهش می دهد. اسید چرب (16:1ω5) NLFA در خاک به عنوان نشانگر اسید چرب ذخیره‌ای (اسپور) قارچ‌ریشه محسوب می‌شود. بیشترین مقدار این اسید چرب مربوط به خاک اطراف ریشه یونجه (۱۶/۴ نانومول بر گرم خاک) و کمترین مقدار آن مربوط به خاک اطراف ریشه سالیکورنیا (۰/۴۱ نانومول بر گرم خاک) بود. مقایسه میانگین‌ها بیانگر اختلاف معنی‌دار بین خاک اطراف ریشه گیاهان از نظر این پارامتر می‌باشد. از جمله دلایل پایین بودن مقدار (16:1ω5) NLFA در خاک اطراف ریشه سالیکورنیا، می‌توان به

شوری بالا در این خاک‌ها و فقدان گیاه میزبان مناسب ذکر کرد (بارو و همکاران ۱۹۹۷، کاروالهو و همکاران ۲۰۰۱). معادله رگرسیون چندگانه گام به گام خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک (متغیر وابسته) روی NLFA (16:1ω5) در خاک (متغیر مستقل) نشان می‌دهد (معادله ۲) که حدود ۲۹ درصد از تغییرات NLFA (16:1ω5) در خاک مشابه NLFA (16:1ω5) در ریشه توسط نسبت جذب سدیم و فسفر قابل جذب (جهت منفی) توجیه می شود. بر اساس ضرایب رگرسیون جزء استاندارد شده، نسبت جذب سدیم بیشترین تاثیر را در جهت منفی داشت. این روابط به خوبی بیان می‌کنند که از جمله دلایل پایین بودن NLFA (16:1ω5) در خاک اطراف ریشه پیاز و سالیکورنیا علاوه بر شوری و مسائل مربوط به آن، تخصیص کربن کمتر (بدلیل فسفر بالا در ریزوسفر پیاز و غیر میکوریزی بودن سالیکورنیا) به ترکیبات ذخیره‌ای (اسپور) هم می‌تواند ذکر کرد (السون ۱۹۹۷).

NLFA 16:1ω5 در خاک = −۰/۷۳۹ SAR − ۰/۴۶۷ Pava [۱]

R2adj=۰/۲۹

به منظور بررسی و درک بهتر روابط میان خاک‌های هم‌بسته و گروه‌بندی خاک‌ها از تجزیه مولفه‌های اصلی استفاده شد. این تجزیه توانست کل نمونه‌ها را در دو عامل استخراج شده توزیع نماید. نمودار ۱ موقعیت مکانی دو عامل را نشان می‌دهد. این دو عامل مجموعاً ۶۴ درصد واریانس کل را توجیه می‌نمایند، که از این مقدار سهم عوامل اول و دوم به ترتیب ۵۱/۸ و ۱۲/۲ درصد است. عامل اول دارای ضرایب بزرگ و مثبت برای EC، کربنات کلسیم، غلظت یون‌های سدیم، کلسیم، منیزیم، کلرید و سولفات، نسبت جذب سدیم و درصد رس بودند و از اهمیت بالایی برخوردار بودند و لذا به نام عامل شوری نام‌گذاری گردید. سبب شد نمونه‌های سالیکورنیا از یونجه و پیاز جدا شوند. هم‌چنین در عامل دوم کربن آلی، NLFA 16:1ω5 در ریشه و خاک، در جهت مثبت موثر بودند بنابراین در این مولفه مواد آلی نقش بنیادی دارند.



شکل ۱- موقعیت مکانی کل نمونه‌های خاک از نظر دو عامل اصلی اول. اعداد شماره نمونه‌ها می‌باشند و حروف‌های a، o و s به ترتیب مربوط به نمونه‌های یونجه، پیاز و سالیکورنیا می‌باشند.

منابع

Aliasgharzad, N., Mårtensson, L.M., Olsson, P.A. 2010. Acidification of a sandy grassland favours bacteria and disfavours fungal saprotrophs as estimated by fatty acid profiling. Soil Biology and Biochemistry 42: 1058-1064.

Aliasgharzad, N., Saleh Rastin, N., Towfighi, H., Alizadeh, A. 2001. Occurrence of arbuscular mycorrhizal fungi in saline soils of the Tabriz Plain of Iran in relation to some physical and chemical properties of soil. Mycorrhiza 11: 119–122.

Bligh, E. and Dyer, W. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology 37: 911–17.

Frostegård, Å., Tunlid, A., Bååth, E. 1993b. Phospholipid fatty acid composition, biomass and activity of microbial communities from two soil types experimentally exposed to different heavy metals. Applied and Environmental Microbiology 59: 3605-3617.

Olsson, P.A. 1999. Signature fatty acids provide tools for determination of the distribution and interaction of mycorrhizal fungi in soil. FEMS Microbiology Ecology 29: 303-310.

Olsson, P.A., Bååth, E., Jakobsen, I., Söderström, B., 1995. The use of phospholipid and neutral lipid fatty acids to estimate biomass of arbuscular mycorrhizal fungi in soil. Mycological Research 99, 623e629.

اثر روش‌های مدیریت خاکورزی بر خصوصیات شیمیایی و بیولوژیکی خاک

ال ناز ابراهیمیان[1]* ، علیرضا کوچکی[2]، مهدی نصیری محلاتی[2] و سرور خرم دل[3]
۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشجوی دکتری بوم شناسی زراعی، استاد و استادیار و گروه زراعت دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

مقدمه

خاکورزی عملیات مکانیکی است که با هدف بهبود جوانه‌زنی، توسعه سیستم ریشه‌ای و حذف علف‌های هرز انجام می‌شود. اجرای خاکورزی در اثر تردد ماشین آلات موجب تشدید فشردگی خاک و ایجاد لایه سخت۱ در اعماق خاک می‌گردد (التیتی، ۲۰۱۰).

انتخاب روش خاکورزی و نوع ادوات، تأثیر فراوانی بر خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک دارد (تریپاتی و همکاران، ۲۰۰۷؛ لیتورژیدیس و همکاران، ۲۰۰۶). رایت و همکاران (۲۰۰۷) اظهار نمودند که انواع مختلف گاوآهن تأثیرات متفاوتی روی خصوصیات خاک ایجاد می‌کند. بر این اساس، سیستم‌های خاکورزی را بر اساس تأثیر بر محل قرارگیری و توزیع بقایای گیاهی در سطح خاک به دو روش رایج و حداقل طبقه‌بندی می‌کنند (التیتی، ۲۰۱۰). در این بین، نظام خاکورزی متوسط۲ و حفاظتی۳ مورد تأکید بسیاری از محققان قرار گرفته است. نتایج مطالعه محبوبی و همکاران (۱۹۹۳) نشان داد که خصوصیات خاک به طور معنی‌داری تحت تأثیر نوع نظام خاکورزی قرار گرفت. هالورسون و همکاران (۲۰۰۰) گزارش نمودند که بکارگیری گاوآهن برگردان‌دار منجر به تغییرات معنی‌دار خصوصیات خاک گردید. آنها دلیل این امر را به تغییرات محتوی رطوبتی خاک نسبت دادند.

بنابراین، با در نظر گرفتن اهمیت تأثیر نظام‌های خاکورزی بر خصوصیات خاک، این آزمایش با هدف بررسی تأثیر چهار نظام خاکورزی رایج، متوسط و حفاظتی بر خصوصیات شیمیایی و بیولوژیکی خاک در شرایط آب و هوایی مشهد اجرا شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در سال زراعی ۹۲-۱۳۹۱ بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار انجام شد. چهار نوع نظام خاکورزی شامل رایج بر پایه دو نوبت شخم با استفاده از گاوآهن برگردان‌دار و دو نوبت دیسک عمود برهم، متوسط بر پایه شخم با گاوآهن پنجه‌غازی و دیسک، متوسط بر پایه شخم با گاوآهن قلمی و دیسک و حفاظتی بر پایه دیسک به عنوان تیمار در نظر گرفته شدند. عملیات آماده‌سازی زمین و اجرای خاکورزی در اسفند ماه انجام شد. قبل از اجرای آزمایش جهت تعیین خصوصیات فیزیکوشیمیایی نمونه‌برداری از عمق ۳۰-۰ سانتی متر خاک انجام شد. ابعاد کرت‌های آزمایشی ۳×۱۷ متر مربع بود. بمنظور جلوگیری از اختلاط اثر تیمارها، یک متر فاصله بین کرت‌ها و تکرارها در نظر گرفته

1- Hard Pan
2- Medium Tillage
3- Conservational Tillage

شد. آبیاری به شیوه نشتی طی دو نوبت در خرداد و تیرماه انجام شد. به منظور جلوگیری از تغییرات خصوصیات خاک علف‌های هرز طی دو نوبت در فروردین و اردیبهشت ماه کنترل شدند.

به منظور ارزیابی خصوصیات خاک، پنج ماه پس از اجرای عملیات خاکورزی نمونه‌برداری به صورت تصادفی (چهار نمونه از هر کرت) با حذف اثرات حاشیه‌ای از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متری انجام شد. محتوی کربن آلی، ماده آلی، نیتروژن کل و فسفر و پتاسیم قابل دسترس خاک به ترتیب بر اساس روش والکی و بلک (۱۹۳۴)، پلیدری و همکاران (۲۰۰۸)، کجلدال (برمنر، ۱۹۷۰)، اولسن (اولسن و همکاران، ۱۹۵۴) و وارلی (وارلی ۱۹۶۶) اندازه-گیری و تعیین شد. داده‌ها با نرم‌افزار SAS 9.1 تجزیه شدند. از آزمون چنددامنه‌ای دانکن ($p\leq$۰/۰۵) جهت مقایسه میانگین‌ها استفاده شد.

نتایج و بحث

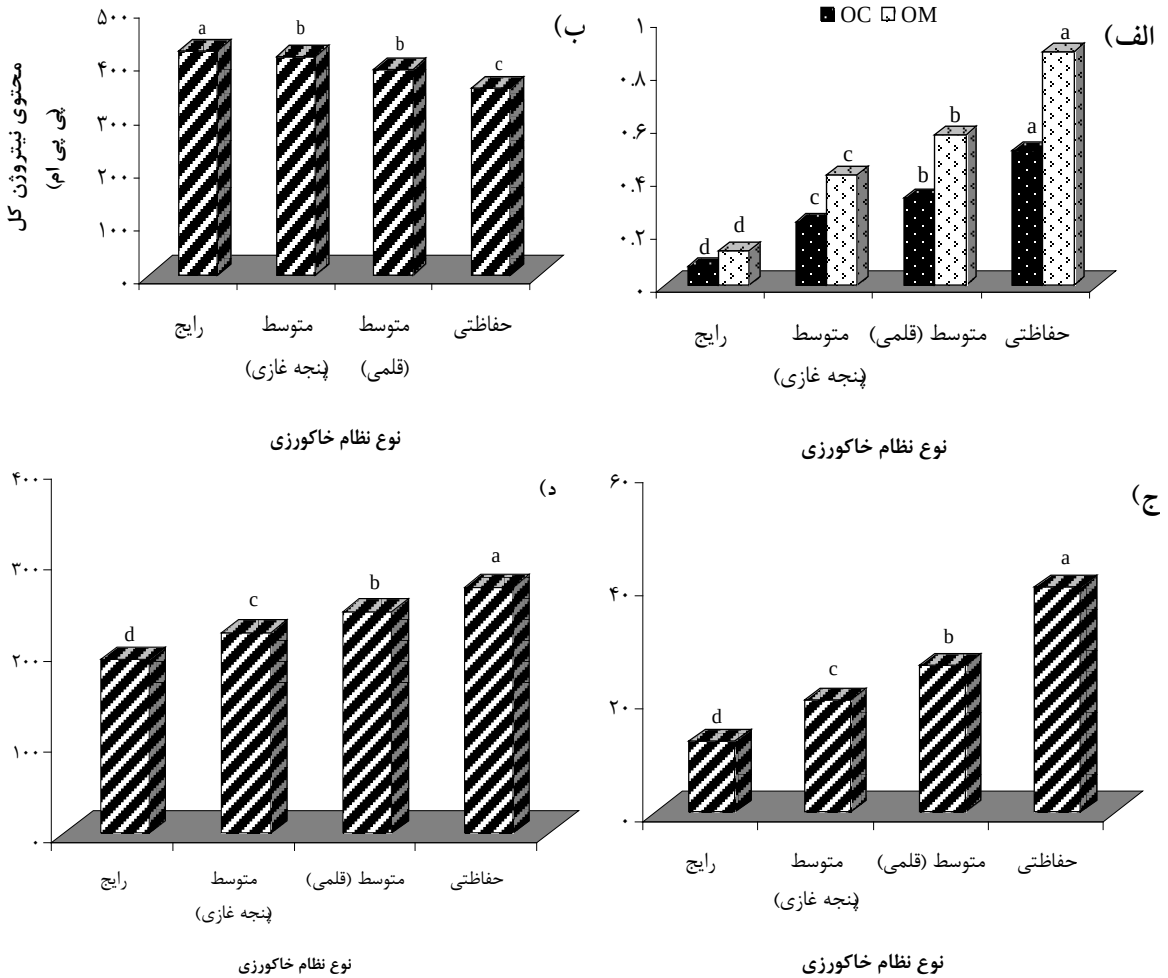
محتوی کربن آلی، ماده آلی، نیتروژن کل و فسفر و پتاسیم قابل دسترس خاک به طور معنی‌داری تحت تأثیر نوع مدیریت خاکورزی قرار گرفت ($p\leq$۰/۰۱) (جدول ۱).

جدول ۱- نتایج آنالیز واریانس (میانگین مربعات) اثر مدیریت خاکورزی بر خصوصیات مختلف خاک

منابع تغییرات	درجه آزادی	محتوی کربن آلی	محتوی ماده آلی	محتوی نیتروژن کل	محتوی فسفر قابل دسترس	محتوی پتاسیم قابل دسترس
تکرار	۳	۰/۰۰۱^{ns}	۰/۰۰۳^{ns}	۶۲/۰۶۵^{ns}	۵/۵۹*	۰/۴۱۷^{ns}
نظام خاکورزی	۳	۰/۱۳۴**	۰/۳۹۶**	۳۹۹۵/۷۹۹**	۵۳۹/۳۶۱**	۴۵۵۴/۹۳۷**
خطا	۹	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۱	۹۱/۸۳۳	۰/۸۸۱	۱۸/۹۰۸
کل	۱۵	–	–	–	–	–
ضریب تغییرات (٪)		۶/۱۴	۶/۱۳	۲/۴۴	۳/۸۱	۱/۸۸

ns: غیرمعنی‌دار، * و **: معنی‌دار به ترتیب در سطح احتمال پنج و یک درصد

بالاترین محتوی کربن آلی، ماده آلی، نیتروژن کل و فسفر و پتاسیم قابل دسترس خاک به ترتیب برابر با ۰/۵۱٪، ۰/۸۹٪، ۴۲۲/۷ پی‌پی‌ام، ۴۰/۰ پی‌پی‌ام و ۲۷۰/۳ پی‌پی‌ام برای نظام خاکورزی حفاظتی مشاهده گردید. اعمال خاکورزی حفاظتی موجب بهبود ۶۰۱، ۱۱۲ و ۵۴ درصدی محتوی کربن آلی خاک در مقایسه با نظام‌های خاکورزی رایج، متوسط بر مبنای پنجه غازی و متوسط بر مبنای قلمی گردید. میزان این افزایش برای محتوی ماده آلی خاک به ترتیب برابر با ۵۸۱، ۱۱۱ و ۵۱ درصد بود. میزان نیتروژن کل خاک در شرایط اجرای خاکورزی حفاظتی برابر با ۱۷، ۱۵ و ۹ درصد به ترتیب در مقایسه با نظام‌های خاکورزی رایج، متوسط بر مبنای پنجه غازی و متوسط بر مبنای قلمی کاهش یافت. در حالیکه محتوی فسفر قابل دسترس خاک در شرایط بکارگیری این نوع مدیریت‌های خاکورزی به ترتیب برابر با ۲۱۸، ۱۰۱ و ۵۴ درصد و برای محتوی پتاسیم قابل دسترس خاک به ترتیب برابر با ۴۲، ۲۲ و ۱۱ درصد در مقایسه با خاکورزی حفاظتی بهبود یافت (شکل ۱).



میانگین‌های دارای حروف متفاوت برای هر جزء و در هر شکل، دارای تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون دانکن می‌باشند ($p\leq ۰/۰۵$).

شکل ۱- اثر نوع نظام خاکورزی بر (الف) محتوی کربن آلی (OC)، ماده آلی (OM)، (ب) نیتروژن کل، (ج) فسفر قابل دسترس و (د) پتاسیم قابل دسترس خاک

خاکورزی با افزایش سرعت اکسیداسیون کربن آلی در خاک، موجب کاهش محتوی کربن آلی و همچنین ماده آلی شده است. چیریندا و همکاران (۲۰۱۰) طی مطالعه‌ای طولانی مدت دریافتند که بهره‌گیری از نظام خاکورزی فشرده کاهش بسیار زیاد محتوی ماده آلی و کربن آلی خاک را به دنبال داشت. نتایج برخی تحقیقات بررسی‌ها (خواجه‌پور، ۲۰۰۴) نشان داده است که بکارگیری خاکورزی رایج در طولانی‌مدت سبب کاهش محتوی فسفر و پتاسیم قابل دسترس خاک شده و محتوی نیتروژن خاک را نیز کاهش داد که این امر می‌تواند به دلیل افزایش نیاز به عناصر غذایی جهت بهبود حاصلخیزی خاک، هزینه‌های تولید را تحت تأثیر بالا رفتن میزان مصرف کودهای شیمیایی افزایش دهد و در نتیجه افزایش آلودگی‌های زیست محیطی را به دنبال داشته باشد. البته بایستی توجه داشت که شرایط آب و هوایی و محیطی نیز می‌توانند خصوصیات خاک را به میزان زیادی تحت تأثیر قرار دهد.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این تحقیق، عملیات خاکورزی محتوی کربن آلی، ماده آلی و سایر خصوصیات شیمیایی خاک را به طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار داد. به طوریکه افزایش شدت خاکورزی با بر هم زدن خاک، کاهش محتوی کربن آلی و ماده آلی را موجب شد. علاوه بر این، افزایش شدت خاکورزی موجب بهبود محتوی نیتروژن کل و کاهش محتوی فسفر و پتاسیم قابل دسترس خاک گردید که این امر می‌تواند به دلیل افزایش نیاز به عناصر غذایی جهت بهبود حاصلخیزی خاک، هزینه‌های تولید را تحت تأثیر بالا رفتن میزان مصرف کودهای شیمیایی افزایش دهد و در نتیجه افزایش آلودگی‌های زیست محیطی را به دنبال داشته باشد.

منابع

Bremner, J.M. 1970. Nitrogen total, regular Kjeldahl method, In: Methods of Soil Analysis, Part 2: Chemical and Microbiological Properties. 2nd ed. Agronomy 9(1). A.S.A. Inc., S.S.S.A. Inc., Madison Publisher, Wisconsin, USA, pp. 610-616.

Chirinda N., Olesen J.E., Porter J.R., and Schjonning P. 2010. Soil properties, crop production and greenhouse gas emissions from organic and inorganic fertilizer-based arable cropping systems. Agriculture, Ecosystems and Environment, 139: 584-594.

El Titi, A. 2010. Soil Tillage in Agroecosystems. Taylor and Francis, Nature 384 pp.

Halvorson, A.D., Black, A.L., Krupinsky, J.M., Merrill, S.D., Wienhold, B.G., and Tanaka, D.L. 2000. Spring wheat response to tillage and nitrogen fertilization in rotation with sunflower and winter wheat. Agronomy Journal, 92: 136-144.

Khajeh Pour, M.R. 2004. Principles and Basics of Agronomy. Publication of Isfahan Jihad Daneshgahi of Isfahan University, Isfahan, Iran. (In Persian)

Lithourgidis, A.S., Dhima, K.V., Damalas, C.A., Vasilakoglou, I.B., and Eleftherohorinos, I.G. 2006. Tillage effects on wheat emergence and yield at varying seeding rates and on labor and fuel consumption. Crop Science 46: 1187-1192.

Mahboubi, A.A., Lal, R., and Favsey, N.R. 1993. Twenty-eight years of tillage effect on two soils in Ohio. Soil Science 57: 506-512.

Olsen, S.R., Cole, C.V., Watenabe, F.S., and Dean, L.A. 1954. Estimation of available phosphorous in soil by extraction with sodium bicarbonate, U.S. Department of Agriculture Cris, 939. USA.

Polidori A., Turpin B.J., Davidson C.I., Rodenburg L.A., and Maimone F. 2008. Organic PM2.5: fractionation by polarity, FTIR spectroscopy, and OM/OC ratio for the pittsburgh aerosol. Aerosol Science and Technology, 42: 233-246.

Tripathi, R.P., Sharma, P., and Singh, S. 2007. Influence of tillage and crop residue on soil physical properties and yields of rice and wheat under shallow water table conditions. Soil and Tillage Research 92: 221-227.

Varley, J.A. 1966. Automatic methods for the determination of nitrogen, phosphorus and potassium in plant material. Analyst, 91: 119 – 126.

Walkley, A., and Black, I. 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. Soil Science Society of American Journal, 37: 29-38.

Wright, A.L., Dou, F., and Hons, F.M. 2007. Soil organic C and N distribution for wheat cropping systems after 20 years of conservation tillage in central Texas. Agriculture, Ecosystems and Environment Journal 121: 736-744.

بررسی وابستگی مکانی فعالیت آنزیمی، نیتروژن و کربن آلی در بخشی از مراتع سمیرم استان اصفهان

سمانه تاجیک، شمس الله ایوبی[1]
۱- به ترتیب دانشجوی دکترا و دانشیار دانشگاه صنعتی اصفهان

مقدمه

چرخه عناصر غذایی در خاک شامل واکنش‌های بیوشیمیایی، شیمیایی و فیزیکو شیمیایی است. آنزیم‌ها پروتئین‌هایی هستند که فعالیت بسیاری از آنها را در خاک می‌توان اندازه‌گیری کرد. فعالیت‌های آنزیمی خاک معیار مفید و مناسبی از پتانسیل بیولوژیک خاک می‌باشند. اهمیت آنزیم‌های خاک در مقیاس اکوسیستم نیز به دلیل تأثیری که بر روند باز چرخ عناصر دارند، مورد توجه قرار گرفته است(Tabatabai,1994). فعالیت آنزیمی خاک تغییرات فرآیندهای متابولیک خاک را به وسیله واکنش‌های بیوشیمیایی مختلف چرخه عناصر غذایی خاک منعکس می‌کنند، بنابراین به دست آوردن اطلاعات کامل ازفعالیت آنها در خاک ضروری می‌باشد(Acosta and Tabatabai,2000). اندازه‌گیری آنزیم‌ها اطلاعات مناسبی در رابطه با فرآیندهای شیمیایی، سرعت معدنی شدن عناصر غذایی و تجمع مواد آلی فراهم می‌کنند. در واقع آنزیم‌ها مرکز فعالیت‌های میکروبی و تغییر شکل نیتروژن در خاک هستند. همچنین فعالیت آنزیم‌های خاک معمولاً به عنوان یک ابزار کاربردی برای ارزیابی وظایف اکولوژیک در اکوسیستم‌های خاکی به کار برده می‌شوند(Paolo, et al., 2002) . اطلاع از تغییرات مکانی خصوصیات بیولوژیک خاک یکی از مهمترین فاکتورها در برنامه ریزی برای کارهای مدیریتی در کاربری‌های مختلف است(Askin and Kizilkaya, 2005). خصوصیات خاک‌ها در مقدار فعالیت آنزیمی خاک مهم هستند و می‌توانند برای بررسی تغییرات مکانی آنها استفاده شوند. از آنجا که خصوصیات خاک به طور پیوسته تغییر می-کنند، زمین آمار امکان بررسی مقدار هر خصوصیت را با توجه به پراکندگی فاصله و جهت نقاط همسایه فراهم می‌کند. به دلیل تغییرات مکانی خصوصیات بیولوژیک خاک، اطلاع از این تغییرات مکانی برای آگاهی از فرآیندهای اکولوژیکی خاک و انجام کارهای حفاظتی ضروری است.بنابراین بررسی تغییرات مکانی خصوصیات بیولوژیک خاک برای مدیریت بهتر مراتع ضروری می‌باشد (Askin and Kizilkaya, 2006). با توجه به این که در مراتع ایران در زمینه بررسی مکانی فعالیت آنزیم های خاک مطالعه ای صورت نگرفته است، این مطالعه به منظور بررسی مکانی فعالیت آنزیمی و تعیین وابستگی مکانی توأم فعالیت آنزیم‌ها در مراتع واقع در جنوب شهرستان سمیرم استان اصفهان صورت گرفت.

مواد و روشها

موقعیت جغرافیایی منطقه

منطقه مورد مطالعه با مساحت ۲۴۰۰ هکتار در طول جغرافیایی ´۳۶ °۵۱ شرقی و عرض جغرافیایی´۱۸ °۳۱ شمالی قرار دارد. متوسط بارندگی سالیانه منطقه ۳۵۰ میلی‌متر و متوسط دمای سالیانه هوای آن ۱۰/۶ درجه سانتی‌گراد است. نمونه‌برداری از اراضی شیبدار و تپه ماهوری مورد مطالعه از عمق ۰-۱۰ سانتی متری انجام گرفت.

مطالعات آزمایشگاهی

پس از اینکه نمونه‌های خاک در هوای آزاد خشک شده و از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شدند، آزمایشات ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیک شامل بافت خاک،کربن آلی، نیتروژن کل خاک، آهک، اسیدیته، هدایت الکتریکی (Smith, 1991)، فعالیت آنزیم‌های ال–آسپاراژیناز (فرانکنبرگر و طباطبایی ، ۱۹۹۱)، اوره‌آز (طباطبایی و برمنر، ۱۹۷۲) ال–گلوتامیناز (فرانکنبرگر و طباطبایی، ۱۹۹۱) برروی نمونه‌های تهیه شده انجام شد (Tabatabai,1994).

آنالیزهای زمین آماری

پس از بررسی نرمال بودن داده‌ها، ناهمسانگردی داده‌ها توسط تغییرنمای سطحی بررسی و پس از تعیین درجه ناهمسانگردی، تغییرنماهای همه جهته برای پارامترهای مورد نظر ترسیم گردید. محاسبه و ترسیم تغییرنما برای متغیرهای نرمال توسط بسته نرم‌افزاری Variowin 2.2 صورت گرفت[۳۰]. به منظور بررسی اعتبار تغییرنما، انتخاب پارامترهای مدل به گونه‌ای صورت گرفت که مدل نهایی، دارای حداقل میانگین خطای تخمین(MEE) و مجذور میانگین مربعات (RMSE) باشد. به منظور تعیین کلاس وابستگی مکانی متغیرهای مورد بررسی، از نسبت بین واریانس اثر قطعه‌ای به واریانس کل استفاده شد. در این نسبت که نسبت همبستگی نامیده می‌شود و معمولاً به صورت درصد نشان داده می‌شود، واریانس اثر قطعه‌ای بصورت درصدی از واریانس کل بیان می‌شود.

جهت بررسی میزان ارتباط مکانی بین دو نقشه از نظر وابستگی مکانی، ضریب Co-dispersion برای هر جفت متغیر این ضریب با استفاده از معادله ذیل محاسبه شد(Ajayi and Kamson, 1983):

$$\gamma_{u,q}(h) = \frac{\gamma_{u,q}(h)}{\sqrt{\gamma_u(h)\gamma_q(h)}} \qquad [۱]$$

که در آن $\gamma_{u,q}(h)$ ضریب Co-dispersion بین دو متغیر، $\gamma_{u,q}(h)$ بوده، واریوگرام عرضی بین این دو متغیر u و q و همچنین γ_u و γ_q نیمه تغیر نما هر متغیر است. این ضریب چگونگی همبستگی مکانی بین دو متغیر را شرح می‌دهد.

نتایج و بحث

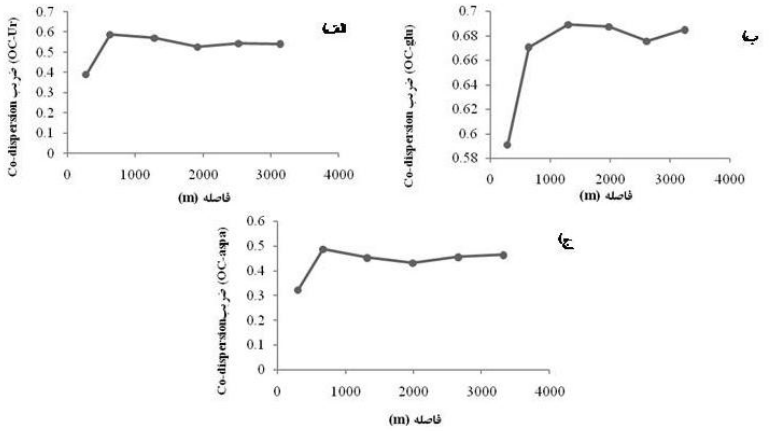
نتایج حاصل از واریوگرام سطحی نشان داد که در مورد پارامترهای مورد مطالعه در هیچ کدام از حالات ناهمسانگردی مشاهده نشد. آنالیز تغییرنما برای پارامترهای مورد بررسی نشان داد که مدل کروی بهترین مدل برازش داده شده است. مدل کروی از جمله معمول‌ترین مدل‌های زمین آماری در مورد خصوصیات خاک است(Cetin and Kirda, 2003). همچنین آنالیز تغییرنما برای پارامترهای مورد بررسی نشان داد که دامنه تأثیر آنها دارای تغییرپذیری از ۸۰۰ متر برای نیتروژن کل تا ۱۱۰۰ متر آنزیم اوره آز می‌باشد. به طور کلی دامنه تأثیر فاصله‌ای است که در فاصله‌ای بیشتر از آن نمونه‌ها بر هم تأثیری نداشته و آنها را می‌توان مستقل از یکدیگر محسوب نمود. چنین فاصله‌ای حد همبستگی خصوصیت مورد نظر را مشخص ساخته و اطلاعاتی در رابطه با حد مجاز فاصله نمونه‌برداری ارائه می‌کند. نتایج نسبت همبستگی نشان داد که در بین پارامترهای مورد بررسی نیتروژن کل و کربن آلی وابستگی مکانی قوی دارند در حالیکه فعالیت آنزیم‌های مورد بررسی دارای کلاس وابستگی مکانی متوسط هستند. بنابراین با توجه به نتایج وابستگی مکانی و همچنین پایین بودن مقادیر MEE و RMSE می‌توان اظهار داشت که تخمین از دقت قابل قبولی برخوردار است.

جدول ۱. مشخصات تغییرنمای پارامترهای مورد مطالعه

متغیر	الگوی تغییرنما	اثر قطعه‌ای	حد آستانه	دامنه تأثیر (m)	نسبت همبستگی (٪)	کلاس همبستگی	ME	RMSE
اوره‌آز	کروی	۱۲۹/۶	۱۹۰/۸	۱۱۰۰	۴۰/۴۵	M	$۱/۲\times۱۰^{-۱}$	۱۹/۰۸
ال-گلوتامیناز	کروی	۰/۰۲۵۹	۰/۰۳۹۲	۸۳۲	۳۹/۷۸	M	۲×۱۰^{-۵}	۰/۲۶
ال-آسپاراژیناز	کروی	۰/۱۱۴	۰/۱۰۵	۱۰۵۰	۵۰/۰۵	M	$۱/۰۹\times۱۰^{-۴}$	۰/۴۶
نیتروژن کل	کروی	۰/۰۰۰۰۳۶	۰/۰۰۰۸۰۱	۸۰۰	۴/۳۰	S	۷×۱۰^{-۹}	۰/۰۳
کربن آلی	کروی	۰/۰۰۰۷	۰/۰۵۸۱	۸۵۸	۱/۱۹	S	$۳/۶\times۱۰^{-۵}$	۰/۲۵

وابستگی مکانی توأم

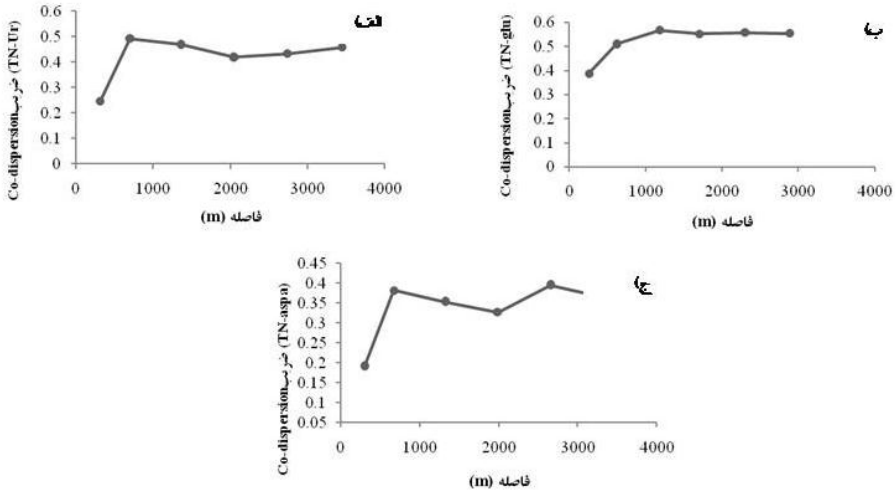
به منظور بررسی وابستگی مکانی توأم فعالیت آنزیمی خاک با کربن آلی و نیتروژن کل خاک از ضریب co-dispersion استفاده شد. شکل ۱ وابستگی مکانی توأم بین فعالیت آنزیم‌های مورد مطالعه با کربن آلی خاک را نشان می‌دهد. وابستگی فعالیت آنزیمی خاک با کربن آلی ابتدا تا فاصله حدود ۱۰۰۰ متری افزایش یافته است و از این فاصله به بعد وابستگی کمتر می‌شود. میانگین ضریب co-dispersion بین فعالیت آنزیم اوره‌آز، ال-گلوتامیناز، ال-آسپاراژیناز با کربن آلی به ترتیب ۰/۶۷، ۰/۴۴، ۰/۵۱ بوده است. نتایج نشان دهنده وابستگی مکانی متوسط بین کربن آلی و فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز، ال-آسپاراژیناز و وابستگی مکانی نسبتاً قوی بین کربن آلی و ال-گلوتامیناز می‌باشد.



شکل ۱. تغییرات فاصله‌ای ضریب Co-dispersion بین کربن آلی و الف) فعالیت آنزیم اوره‌آز، ب) ال-گلوتامیناز، ج) ال-آسپاراژیناز

وابستگی مکانی بین فعالیت آنزیمی خاک با نیتروژن کل در مقابل فاصله، محاسبه شد (شکل ۲). نتایج نشان دادند که وابستگی مکانی پارامترهای مورد مطالعه با نیتروژن کل دارای روندی مشابه با وابستگی مکانی آنها با کربن آلی است. به طوری که با افزایش فاصله وابستگی مکانی تا فاصله تقریباً ۱۰۰۰ متری افزایش یافته و بعد از این فاصله همبستگی تقریباً ثابت می‌شود. میانگین ضریب Co-dispersion بین نیتروژن کل و آنزیم اوره‌آز

(r TN-u_r= ۰/۴۲)، آنزیم ال-گلوتامیناز(r TN-glu= ۰/۵۲)، آنزیم ال-آسپاراژیناز (r TN-asp_a= ۰/۳۳) محاسبه شد. مقادیر میانگین ضریب Co-dispersion نشان دهنده وابستگی مکانی متوسط بین فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز و ال-گلوتامیناز با نیتروژن کل و وابستگی مکانی ضعیف بین فعالیت آنزیم ال-آسپاراژیناز با نیتروژن کل در منطقه مورد مطالعه است.



شکل۲. تغییرات فاصله‌ای ضریب Co-dispersion بین نیتروژن کل و الف) فعالیت آنزیم اوره‌آز، ب) فعالیت آنزیم ال-گلوتامیناز، ج) فعالیت آنزیم ال-آسپاراژیناز

منابع

Acosta-Martinez V and Tabatabai MA, 2000. Enzyme activities in a limed agricultural soil. *Biol. Fertility Soils*. 31: 85-91.

Ajayi A and Kamson OF, 1983. Determination of lead in roadside dust in Lagos City by atomic absorption spectrophotometry. *Environ. Int*. 9: 397-400.

Askin T and Kizilkaya R, 2005. The spatial variability of Urease activity of surface agricultural soils within an urban area. *J. C. E. A.* 6: 161-166.

Askin T and Kizilkaya R, 2006. Assessing spatial variability of soil enzyme activities in pasture topsoils using geostatistics. *Eur. J. Soil Biol*. 42: 230-237.

Cetin M and Kirda C, 2003. Spatial and temporal changes of soil salinity in a cotton field irrigated with low-quality water. *Journal of Hydrology*. 272: 238-249.

Paolo N, Ellen K and Pacifico R, 2002. Enzyme Activities and Microbiological and Biochemcial Processes in Soil. PP. *In*. *Enzymes in the Environment*, CRC Press.

Tabatabai MA, 1994. Soil enzyme. Methods of Soil Analysis,Soil Sci. Soc. Am. J, Madison. In: A.L. Page, R.H. Miller and D.R. Keeney (Eds.), 775–833.

بررسی ارتباط بین نیتروژن آلی محلول، ویژگی‌های خاک و توپوگرافی در سطح زمین‌نما

سمانه تاجیک، شمس الله ایوبی[1]
۱- به ترتیب دانشجوی دکترا و دانشیار دانشگاه صنعتی اصفهان

مقدمه

تعادل در چرخه عناصر غذایی کلیدی شاخص مهمی است که نشان دهنده بهبود یا تنزل سیستم خاک می‌باشد. نیتروژن یکی از مهمترین عناصر تأثیر گذار بر رشد محصول و از مهمترین عناصر کودی است و کمبود آن مهمترین عامل محدود کننده تولید می‌باشد.

مقدار زیادی از نیتروژن خاک (بیش از ۸۰٪) به شکل آلی است (Chen, et al., 2008) و تا زمانی که توسط آنزیم‌ها به واحدهای کوچک‌تری تبدیل نشده برای بسیاری گیاهان قابل استفاده نمی‌باشد. از این منبع گسترده نیتروژن آلی خاک، بخشی از آن به شکل محلول است. در واقع نیتروژن آلی محلول بیانگر جزء مهمی از چرخه-ی بیوشیمیایی اکوسیستم است (Perakis and Hedin, 2002) و ممکن است نقش تنظیم کننده‌ی مهمی را در چرخه خاک–گیاه، بازی کند (Xu, 2006). نیتروژن آلی محلول خاک شامل نیتروژن آلی محلول حل شده در محلول خاک (DON)[1] که توسط روش‌های شستشو، مکش یا جمع‌آوری از زهکش‌ها اندازه‌گیری می‌شود و نیتروژن آلی محلول عصاره‌گیری شده از خاک (SON)[2] می‌باشد. در این مطالعه منظور از نیتروژن آلی محلول، نیتروژن آلی عصاره‌گیری شده از خاک توسط محلول‌های نمکی (SON) می‌باشد.

مخازن نیتروژن آلی محلول، در محلول خاک متحرک بوده و می‌توانند به آسانی جریان یافته و وارد آبهای زیرزمینی شوند و در کیفیت آب‌های زیر سطحی تأثیر بگذارند (Chen, et al., 2008). نیتروژن آلی محلول شامل ترکیبات دیر تجزیه‌پذیری است که به راحتی قابل استفاده برای گیاهان نیست و ترکیبات زود تجزیه پذیری است که به آسانی دردسترس گیاهان و میکروارگانیسم‌ها قرار می‌گیرد.

بنابراین شاید بتوان گفت ازجمله مهمترین خصوصیات نیتروژن آلی محلول که منجر به تمرکز تحقیقات در قرن اخیر بر آن گردیده است، عبارتند از ۱) نشت نیتروژن آلی محلول با وجود تقاضا برای نیتروژن به خارج از اکوسیستم ۲) جذب مستقیم نیتروژن به شکل آمینو اسیدها توسط گیاهان بدون گذراندن مرحله‌ی معدنی شدن میکروبی نیتروژن ۳) هدر رفت نیتروژن از طریق آبشویی نیتروژن آلی محلول (ژ2005 ,.Chen, et al).

به هر حال مخازن نیتروژن آلی محلول خاک به طور مناسبی تعیین نشده است و اطلاعات اندکی در مورد طبیعت فیزیکی و شیمیایی نیتروژن آلی محلول و ارتباط ذخایر آن با فعالیت آنزیم‌های مرتبط با نیتروژن وجود دارد (Chen, et al., 2008).

[1] Dissolved Organic Nitrogen
[2] Soluble Organic Nitrogen

مواد و روشها

موقعیت جغرافیایی منطقه

منطقه مورد مطالعه با مساحت ۲۴۰۰ هکتار در طول جغرافیایی َ۳۶ °۵۱ شرقی و عرض جغرافیاییَ۱۸ °۳۱ شمالی قرار دارد. متوسط بارندگی سالیانه منطقه ۳۵۰ میلی‌متر و متوسط دمای سالیانه هوای آن ۱۰/۶ درجه سانتی‌گراد است. نمونه‌برداری از اراضی شیبدار و تپه ماهوری مورد مطالعه از عمق ۰-۱۰ سانتی متری از پنج موقعیت زمین نما شامل قسمت قله، شانه شیب، شیب پشتی، پایه شیب و انتهای شیب انجام گرفت.

مطالعات آزمایشگاهی

نمونه‌های خاک جمع‌آوری شده در هوای آزاد خشک شده و از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شدند و آزمایشات ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیک شامل بافت خاک،کربن آلی، نیتروژن کل خاک، آهک، اسیدیته، هدایت الکتریکی (Smith, 1991) و نیتروژن آلی محلول به روش کاربررا و بیر انجام شد (Cabrera and Beare, 1993).

محاسبه شاخص‌های پستی و بلندی

مدل رقومی ارتفاع منطقه با میان‌یابی خطوط میزان نقشه توپوگرافی رقومی با مقیاس ۱:۲۵۰۰۰ تعیین گردید. سپس شاخص‌های اولیه مستقیماً از مدل رقومی ارتفاع و شاخص‌های ثانویه، از ترکیب شاخص‌های اولیه حاصل شدند.

توصیف آماری داده‌ها و مدل‌سازی

بعد از انجام تجزیه‌های آزمایشگاهی، به منظور بدست آوردن خلاصه‌ای از اطلاعات آماری، بررسی نرمال بودن داده‌ها و تهیه مدل رگرسیونی چندمتغیره از نرم‌افزار SPSS 16 استفاده شد. به منظور آموزش شبکه‌ی عصبی، نرم افزار Matlab 7.6 مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج و بحث

در بین خصوصیات خاک، نیتروژن آلی محلول، کربنات کلسیم، شن، کربن آلی و نیترژن کل خاک تغییرپذیری نسبتاً زیادی را نشان می‌دهند (جدول۱).

علت ضریب تغییرات زیاد خصوصیات مورد بررسی را می‌توان به توپوگرافی شدید منطقه و فرآیند فرسایش و رسوب نسبت داد که در موقعیت‌های مختلف شیب متفاوت عمل نموده است (عباس زاده افشار، ۱۳۸۷)، همچنین اثرات شیب، شاخص رطوبتی و انحنای افقی و قائم بر مقدار آب موجود در خاک تاثیر داشته، نهایتاً به دلیل تفاوت در مقدار آب خاک و مواد آلی خاک در موقعیت‌های مختلف شیب مقدار نیتروژن آلی محلول دارای تغییرات زیادی شده است. به عبارت دیگر به دلیل تأثیر زیاد پستی و بلندی بر جابه‌جایی و انتقال آب در موقعیت‌های مختلف زمین نما، حساسیت به فرسایش، خصوصیات خاک و نیتروژن آلی محلول در موقعیت‌های مختلف زمین‌نما متفاوت می‌شود (Hanna, et al., 2007).

به منظور مشخص نمودن ویژگی‌های خاک و پارامترهای توپوگرافی که تأثیر معنی‌داری بر نیتروژن آلی محلول دارند از رگرسیون خطی چند متغیره به روش گام به گام استفاده شد. نیتروژن آلی محلول به عنوان متغیر وابسته و پارامترهای توپوگرافی و خصوصیات خاک به عنوان متغیرهای مستقل انتخاب شدند. معادله بدست آمده و نتایج اعتبار سنجی در جدول ۲ ارائه شده است.

جدول۱ آمار توصیفی برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک و فعالیت آنزیم‌های انتخاب شده در منطقه مورد مطالعه (n=۱۲۵)

متغیر	واحد	حداقل	حداکثر	میانگین	ضریب تغییرات ٪	چولگی
شن	٪	۸	۶۹	۳۲	۴۱	۰/۵۰
سیلت	٪	۱۳	۵۶	۳۹	۲۲	−۰/۵۳
رس	٪	۱۶	۴۰	۲۸	۱۹	−۰/۱۹
pH	-	۷/۰۱	۸/۲	۷/۹	۲	−۰/۱۷
EC	dSm-1	۰/۲۸	۱/۴۹	۰/۶۶	۲۰	۰/۵
کربنات کلسیم معادل	٪	۲	۵۱/۷۵	۲۵/۵۳	۴۷	۰/۰۵۴
نیتروژن کل	٪	۰/۰۲	۰/۹۹	۰/۱۱	۷۶	۰/۸۴
کربن آلی	٪	۰/۳۳	۲/۲۰	۰/۸۱	۳۴	۰/۲۸
نیتروژن آلی محلول	mg N kg-1	۲/۶۲	۲۱۷/۸۸	۵۸/۹۹	۷۴	−۰/۴۰۴

همانطور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، از بین فاکتورهای پستی و بلندی بررسی شده در این مطالعه، تنها پارامتر انحنای متوسط و. از بین خصوصیات خاک، هدایت الکتریکی در مدل مذکور وارد شده‌اند.
انحنای متوسط از جمله پارامترهایی است که میزان رطوبت در منطقه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. بنابراین با وجود همبستگی و ارتباط معنی‌دار بین خصوصیات خاک و پارامترهای توپوگرافی شاید بتوان گفت که خصوصیات خاکی بررسی شده و پارامترهای توپوگرافی با تأثیر متقابل بر یکدیگر، بر نیتروژن آلی خاک مؤثر هستند.
در این تحقیق از شبکه پرسپترون چند لایه استفاده گردید و توابع انتقال، تعداد لایه پنهان، تعداد نرون در لایه پنهان و تعداد بهینه‌ی تکرار برای هر شبکه مورد آزمایش قرار گرفت و بهترین ساختار شبکه برای پیش‌بینی نیتروژن آلی محلول بوسیله سعی و خطا بدست آمد. انتخاب بهترین شبکه برای پیش‌بینی و مدل‌سازی پارامتر مورد بررسی بر اساس کمترین مقدار RMSE و بیشترین مقدار R^2 انجام شد.

جدول۲ پیش‌بینی نیتروژن آلی محلول با استفاده از مدل رگرسیونی

متغیر	مدل	MEE	RMSE	R^2
نیتروژن آلی محلول	۰/۳۰۱ log EC ۱/۲۶ +MeanC۰۲/۱۱ + ۱/۹۳۷−	۰/۳۶	۰/۱۶	۰/۱۸

EC: هدایت الکتریکی، MeanC: انحنای متوسط.

مدل شبکه عصبی برای نیتروژن آلی محلول دارای ۲۱ ورودی شامل خصوصیات خاک و پارامترهای توپوگرافی، ۳۱ نرون در لایه پنهان، ۷۰۰۰ تکرار بهینه است. در این ساختار نیتروژن آلی محلول به عنوان لایه خروجی می-باشد (جدول ۳).
به منظور ارزیابی و مقایسه عملکرد شبکه عصبی با روش رگرسیون چند متغیره خطی برای پیش‌بینی و مدل-سازی پارامتر مورد بررسی از R^2 ، RMSE و MEE استفاده شد.

هرچه ضریب تبیین مدل از مقدار بالاتری برخوردار باشد، نشان دهنده دقت بالاتر مدل می‌باشد و هرچه مقدار RMSE برای مدل حاصل کمتر باشد، مدل دقت تخمین بالاتری دارد. نتایج ارائه شده در جدول ۳ نشان دهنده دقت مناسب شبکه عصبی نسبت به رگرسیون چند متغیره در پیش‌بینی نیتروژن آلی محلول می‌باشد.

بنابراین با توجه به نتایج بدست آمده در این تحقیق شاید بتوان بیان نمود که مدل شبکه عصبی به دلیل در نظر گرفتن روابط غیر خطی موجود میان نیتروژن الی محلول با عوامل محیطی، دقت بالاتری در برآورد و تخمین دارد و می‌تواند جایگزین مناسبی برای رگرسیون چند متغیره خطی در پیش‌بینی پارامتر مورد بررسی باشد. همچنین استفاده از خصوصیات خاک و پارامترهای سهل الوصول توپوگرافی در پیش‌بینی نیتروژن آلی محلول در مراتع دقت قابل قبولی دارند.

جدول۳ نتایج بهترین ساختار شبکه عصبی برای پیش‌بینی نیتروژن آلی محلول

متغیر	تابع محرک	epoch	ورودی	نرون لایه پنهان	ساختار شبکه	MEE	RMSE	R^2
نیتروژن آلی محلول	Tansing	۷۰۰۰	۲۱	۳۱	۲۱-۳۱-۱	۰/۰۱۰	۰/۰۲۴	۰/۹۴

منابع

عباس زاده افشار، ف. ۱۳۸۷. تخمین نرخ فرسایش و رسوب با تکنیک سزیم ۱۳۷ با استفاده از روش زمین آمار روی یک شیب تپه مرکب در منطقه اردل استان چهارمحال و بختیاری، پایان نامه کارشناسی ارشد خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان.

Chen C, Xu Z, Zhang S and Keay P, 2005. Soluble Organic Nitrogen Pools in Forest soils of Subtropical Australia. Plant and Soil. 277: 285-297.

Chen C. and Xu Z, 2008. Analysis and behavior of soluble organic nitrogen in forest soils. J. Soils Sediments. 8: 363-378.

Cabrera ML and Beare MH, 1993. Alkaline persulfate oxidation for determining total nitrogen in microbial biomass extracts. Soil Science Society American Journal. 57: 1007-1012.

Xu Z. 2006. On the Nature and Ecological Functions of Soil Soluble Organic Nitrogen (SON) in Forest Ecosystems. Journal Soils Sediment. 6: 63-66.

Smith, K.A. 1991. Soil Analysis, (2nd ed), Marcel Decker, New York.

Perakis, S.S. and L.O. Hedin, 2002. Nitrogen loss from unpolluted South American forests mainly via dissolved organic compounds. Nature. 415: 416-419.

Microsoft SPSS for Windows. 2007. Release. Version 16, C., Inc.

Hanna AY, Harlan PW and Lewis DT, 1982. Soil available water as influenced by landscape position and aspect1. Agronomic journal. 74: 999-1004.

پیامد مانده های یونجه بر جذب‌سطحی، بی‌جنبش شدن و کارایی سلولاز در خاک

محبوبه صفری سنجانی۱ و علی اکبر صفری سنجانی۲
۱- دانشجو دکتری گروه خاکشناسی، دانشگاه بوعلی همدان ۲- استاد گروه خاکشناسی ، دانشگاه بوعلی همدان

مقدمه

فراوان‌ترین بخش مانده‌های گیاهی سلولز است. برای فروزینگی سلولز، به گروهی از آنزیم ها با نام سلولاز نیاز است. این آنزیم‌ها پس از جداشدن از یاخته‌های زنده به محلول خاک می‌رسند ولی برای زمان کوتاه در خاک کارایی دارند و به تندی ساختمان خود را از دست می دهند. آزمایش‌ها نشان می‌دهد برخی از آنزیم‌ها بیرون از یاخته‌های‌زنده در درون ماتریکس خاک از پایداری خوبی برخوردارند (دیک ۱۹۹۷؛ گینفردا و بولاغ ۱۹۹۴؛ سینایبورگ و لینکنینز ۱۹۸۸). کانی‌های رسی و مواد آلی خاک می‌توانند آنزیم‌ها را جذب و به پایداری آنها در خاک بیافزایند. این فرآیند از فروزینگی میکروبی و کار آنزیم‌های پروتئولیتیک خاک جلوگیری می‌کند (دیک ۱۹۹۷؛ گینفردا و بولاغ ۱۹۹۴؛ سینایبورگ و لینکنینز ۱۹۸۸). پژوهش های پیشین نشان داده است که گنجایش جذب و بی جنبش شدن آنزیم سلولاز در خاک هایی که مواد آلی، درصد رس و کربنات کلسیم بیشتری دارند، بالاتر است (صفری سنجانی و حسین پور، ۲۰۰۶). هدف از این پژوهش شناخت چگونگی کارکرد مانده های گیاهی تازه یونجه در فرایند های جذب و بی جنبش شدن آنزیم سلولاز در خاک است. در این پژوهش با کاربرد درصد های گوناگون مانده های گیاهی تازه یونجه در خاک تلاش شد شناخت بیشتری از پیامد های سودمند و یا زیانبار اینگونه مواد آلی بر جذب‌سطحی، بی‌جنبش شدن و کارایی سلولاز در خاک بدست آید .

مواد و روش

از ژرفای ۳۰-۰ سانتی‌متری خاک زمین های پیرامون گلخانه دانشگاه بوعلی سینا به روش مرکب نمونه برداری شد. نمونه را در هوا خشک، خرد و از الک ۲ میلیمتری گذرانده شد. مواد آلی خاک به کمک آب اکسیژنه زدوده شد. خاک به کمک محلول ۱ نرمال کلرید کلسیم هم‌یون (homoionized) گردید. پس از آن درصد های گوناگونی (۰ تا ۱۰۰ درصد) از مانده های گیاهی تازه یونجه در خاک هم‌یون شده تیمار شد. برای جذب و بی‌جنبش کردن سلولاز بر روی این خاک ها، سوسپانسیونی ۱% از خاک سترون شده در آب مقطر آماده شد. برای جلوگیری از رشد ریزجاندارن به سوسپانسیون تولوئن (غلظت ۰/۱ %) افزوده شد. پس از اولتراسونیفیکاسیون سوسپانسیون نگهدارنده‌ها، آنزیم سلولاز با غلظت ۰/۱۴ میلی گرم پروتئین در میلی لیتر به آنها افزوده شد. نمونه‌ها ۱ ساعت تکان داده شدند تا فرآیند جذب آنزیم‌ها به تعادل برسد و سپس‌سانتریفوژ شدند. پروتئین جذب نشده در محلول رویین به روش برادفورد (۱۹۷۶) اندازه‌گیری و اندازه پروتئین جذب سطحی شده از فرمول توماس و همکاران برآورد گردید (نایدجا و همکاران ۱۹۹۷).

$$Qa=(Co-Ce)V/W \quad [1]$$

که در آن: Qa) میزان پروتئین جذب سطحی شده بر روی یک وزن از جذب کننده (mg/mg), Co) غلظت نخستین پروتئین(mg/ml)، Ce) غلظت تعادلی پروتئین(mg/ml), V) حجم محلول (ml) و W) وزن جذب کننده (mg) است.

برای بررسی توان نمونه‌ها در نگهداری و بی‌جنبش کردن پروتئین و آنزیم‌های سلولولیتیک، بخش ته‌نشین شده از آزمایش‌پیشین با آب مقطر تا جایی شسته شد که دیگر هیچ نشانی از پروتئین و آنزیم‌ها در محلول رویین آنها

نباشد. پروتئین شسته شده در آب رویین سوسپانسیون اندازه‌گیری شد. پس از شستشوی آنزیم‌ها، سوسپانسیونی از کمپلکس نگهدارنده-آنزیم ساخته شد. فعالیت آنزیم سلولاز بی‌جنبش شده بر روی نگهدارنده‌های آنزیم در خاک به کمک اسپکتروفوتومتر و به روش‌مندل و وبر (۱۹۶۹) ارزیابی گردید. سوبسترای بکار رفته برای ارزیابی کارایی آنزیم آویسل بود. کارایی آنزیم با محاسبه میکرومول قندهای کاهنده آزاد شده در یک دقیقه برای یک میلی لیتر از سوسپانسیون نگهدارنده-آنزیم (U/ml)، یا یک گرم از نگهدارنده (U/g soil) و یا یک میلی گرم از آنزیم بی جنبش شده (کارایی ویژه، (U/mg)) برآورد و گزارش گردید.

نتایج و بحث

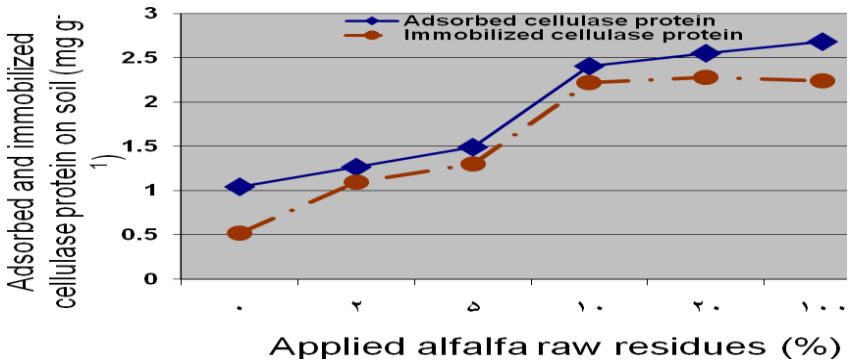
بافت خاک مورد آزمایش لومی و همچنین آهکی است. جدول ۱ برخی از ویژگی های خاک بکاررفته در این پژوهش را نشان می دهد.

جدول ۱- برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک بکار رفته در پژوهش

ویژگی خاک	واحد	اندازه	ویژگی خاک	واحد	اندازه
بافت	–	لوم	رسانایی الکتریکی	$dS\ m^{-1}$	۰/۱۲
شن	٪	۴۸	گنجایش تبادل کاتیونی	$Cmol\ charge\ kg^{-1}$	۲۳/۸
سیلت	٪	۳۱	همه ازت	$g.kg^{-1}$	۲/۱۱
رس	٪	۲۱	C/N	-	۱۰/۱۱
همه کربن آلی	$g.kg^{-1}$	۲۱/۳۴	فسفر فراهم	$mg\ kg^{-1}$	۷۷/۱۶
کربنات کلسیم معادل	٪	۳/۷	پتاسیم فراهم	$mg\ kg^{-1}$	۱۸۶
پ–اچ	–	۷/۹			

نمودار ۱ پروتئین جذب‌سطحی شده و بی جنبش شده در خاک مواد آلی زدایی شده را نشان می‌دهد. کاربرد ۲ درصد مانده های گیاهی تازه یونجه در خاک مایه افزایش گنجایش خاک در جذب و بی جنبش کردن آنزیم سلولاز شد. با افزایش درصد مانده های گیاهی تازه یونجه بکار رفته در خاک اندازه پروتئین سلولاز جذب و بیجنبش شده افزایش یافت.

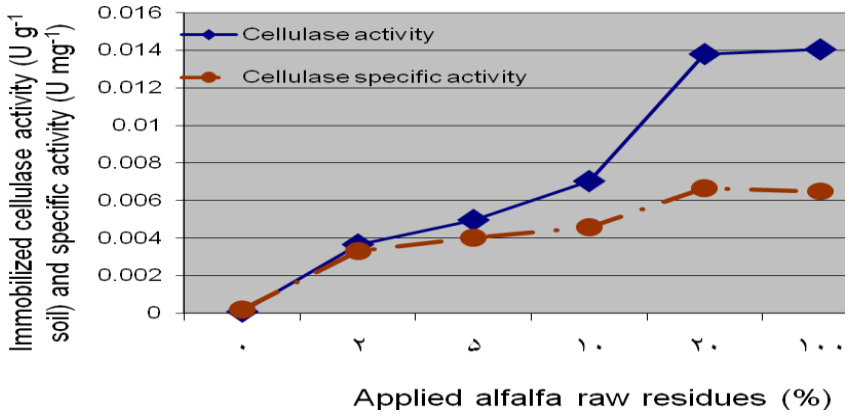
پیامد سودمند مانده های گیاهی تازه یونجه در نگهداری سلولاز جذب شده در خاک در نمودار ۱ نمایان است.



نمودار ۱- پیامد کاربرد مانده های گیاهی تازه یونجه بر جذب سطحی و بیجنبش شدن آنزیم سلولاز در یک خاک مواد آلی زدایی شده

جدایی میان نمودارهای جذب سطحی و بیجنبش شدن نشان دهنده اندازه آنزیمی است که پیوند سست تری با دانه های جامد خاک داشته و هنگام شستشو با آب جدا شده که این اندازه با کاربرد ۲ درصد از مانده های گیاهی تازه یونجه بسیار کاهش یافته است. نزدیک شدن دو نمودار نشان می دهد که افزودن اینگونه مانده های آلی به خاک می تواند از جداشدن آنزیم های جذب شده و آبشویی آنها در خاک جلوگیری کند. صفری سنجانی و همکاران (۱۹۹۵) نیز دریافتند پیوند سلولاز بر بستره آلی بسیار نیرومندتر از پیوند آن با کانی های خاک است.

داده های ارزیابی کارایی آنزیم سلولاز بی‌جنبش شده در خاک در نمودار ۲ نشان داده شده است. با افزایش درصد مانده های گیاهی تازه یونجه بکار رفته در خاک به کارایی سلولاز بیجنبش شده در خاک به اندازه چشم گیری افزوده شده است. گزارش شده که بی‌جنبش‌سازی آنزیم‌ها می‌تواند سنیتیک و دیگر ویژگی‌های آن ها را دگرگون و مایه کاهش کارایی ویژه آنزیم ها شود که این امر وابسته به دگرگونی آرایش مولکولی آنزیم‌ها، اثرهای استری و یا دگرگونی فرآیند پخشیدگی بستره و فرآورده آنزیمی باشد (گینفردا و بولاغ ۱۹۹۴؛ سینایبورگ و لینکنینز ۱۹۸۸).



نمودار۲- پیامد کاربرد مانده های گیاهی تازه یونجه بر کارایی و کارایی ویژه آنزیم سلولاز در یک خاک مواد آلی زدایی شده

صفری سنجانی (۱۳۷۹) نشان داد افت کارایی آنزیم های بی جنبش شده بر روی مواد آلی بسیار کمتر از آنزیم های بی جنبش شده بر روی مواد کانی است. در این پژوهش کارایی ویژه آنزیم سلولاز بیجنبش شده در خاک با افزایش درصد مانده های گیاهی تازه یونجه در خاک افزایش یافته است. کارایی ویژه نشان دهنده کارایی واحد وزن آنزیم بی جنبش شده در خاک است. این نشان می دهد که افت کارایی سلولاز پس از بیجنبش شدن بر مواد آلی خاک بسیار کمتر از افت کارایی آن پس از بیجنبش شدن بر کانی های آن است. بنابراین بیشتر کارایی آنزیم سلولاز در خاک وابسته به آنزیم هایی است که بر روی مواد آلی آن جذب سطحی و بی جنبش شده اند.

منابع

صفری سنجانی، ع. ا.، ۱۳۷۹. فروزینگی زیستی برخی از مانده‌های کشاورزی و ارزیابی کارایی آنزیم‌های لیگنوسلولولیتیک‌قارچها در خاک. پایان نامه دکترا گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان.

Bradford M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72: 248-254.

Dick R.P., 1997. Soil enzyme activities as integrative indicators of soil health, In: PankhurstC.E., B.M., Doube and V.V.S.R. Gupta (Ed.) Biological indicators of soil health, Cab International: 121-150.

Gianfreda L. and J. Bollag, 1994. Effect of soils on the behavior of immobilized enzymes, Soil Sci. Soc. Am. J. 58: 1672-1681.

Mandel M. and J. Weber, 1969. Exoglucanase activity by microorganisms, Adv. Chem. 95: 391-414.

Naidja A., P.M. Huang and J.M. Bollag, 1997. Activity of tyrosinase immobilized on hydroxylaluminum-montmorillonite complexes, J. Molecular Catalysis A: Chemical 115: 305-316.

Safari Sinegani AA, Hosseinpour AR, 2006. Factors affecting cellulase sorption in soil. Afr. J. Biotech. 5: 467-471.

Sinsabaugh RL. and A.E. Linkins, 1988. Adsorption of cellulase components by leaf litter, Soil Biol. Biochem. 20: 927-931.

پیامد گذشت زمان و هموسی شدن کاه ذرت در کارایی و کارایی ویژه سلولاز در خاک

محبوبه صفری سنجانی[1] و علی اکبر صفری سنجانی[2] و حسین جیریایی [3]
۱- دانشجو دکتری گروه خاکشناسی، دانشگاه بوعلی همدان ۲- استاد گروه خاکشناسی ، دانشگاه بوعلی همدان ۳- فوق لیسانس مدیریت

مقدمه

فراوان‌ترین بخش مانده‌های گیاهی سلولز است. برای فروزینگی کامل سلولز، به آنزیم های سلولاز (اگزوگلوکاناز، اندوگلوکاناز و سلوبیاز) نیاز است. بیشتر آنزیم‌ها برای زمانی کوتاه (یک هفته) در خاک کارایی دارند و به تندی فروزینه می‌شوند. ولی آزمایش‌ها نشان می‌دهد این آنزیم‌ها می‌تواند در درون و برون لایه‌های کانی‌های رسی خاک جذب سطحی شده و یا با کلوییدهای هیومیک و آلی خاک از راه‌های جذب‌سطحی، بدام افتادن و یا هم‌پلی‌مره شدن با آنها، کمپلکس شده و از این راه پایدارتر شوند (میست ۱۹۹۳). نشان داده شده که این فرآیند از فروزینگی میکروبی و کار آنزیم‌های پروتئولیتیک خاک جلوگیری می‌کند (دیک ۱۹۹۷). پژوهش های پیشین نشان داده که جذب و بی جنبش شدن سلولاز در خاک هایی که مواد آلی، درصد رس و کربنات کلسیم بیشتری دارند، بالاتر است (صفری سنجانی و حسین پور، ۲۰۰۶). صفری سنجانی (۱۳۷۹) نشان داد مواد آلی گیاهی با نسبت C/N کمتر توان بیشتری برای جذب سطحی و بیجنبش کردن سلولاز دارند. هدف از این پژوهش شناخت چگونگی کارکرد مانده های گیاهی تازه و هموسی شده ذرت در نگهداری کارایی و کارای ویژه آنزیم سلولاز در خاک است. در این پژوهش با نمونه برداری یک خاک با بافت لومی و کاربرد درصد های گوناگون مانده های گیاهی تازه و هموسی شده ذرت، تلاش شده است که شناخت بیشتری از پیامد های سودمند و یا زیانبار اینگونه مواد آلی بر کارایی سلولاز در خاک بدست آید .

مواد و روش

از ژرفای ۳۰-۰ سانتی‌متری خاک زمین های پیرامون گلخانه دانشگاه بوعلی سینا به روش مرکب نمونه برداری شد. نمونه را در هوا خشک، خرد و از الک ۲ میلیمتری گذرانده شد. مانده های ذرت به گونه‌ی جدا از خاک به رطوبت گنجایش کشاورزی رسانده شده و ۹۰ روز در دمای آزمایشگاه انکوباسیون شد تا ترکیب های ساده تر مواد آلی بکار رفته تجزیه شده و ویژگی های آن به مواد آلی خاک نزدیک تر شود. سپس مانده های ذرت تجزیه شده در دمای ۶۵ درجه سانتی گراد در آون خشک شد. سپس خاک ماده آلی زدایی شده و با کلرید کلسیم ۱ نرمال همیون و در دمای ۱۰۵ درجه آون خشک گردید. سپس به خاک هم یون شده به اندازه های ۰٪، ۲٪، ۱۰٪، ۲۰٪ از مانده های ذرت انکوباسیون شده، افزوده شد. برای جذب و بی‌جنبش کردن سلولاز بر روی این خاک ها، سوسپانسیونی ۱% از خاک سترون شده در آب مقطر آماده شد . برای جلوگیری از رشد ریزجاندارن به این سوسپانسیون ها تولوئن (غلظت ۰/۱ %) افزوده شد . پس از اولتراسونیفیکاسیون سوسپانسیون نگهدارنده‌ها، آنزیم سلولاز با غلظت ۰/۱۴ میلی گرم پروتئین در میلی لیتر به آنها افزوده شد . نمونه‌ها برای ۱ ساعت تکان داده شدند تا فرآیند جذب آنزیم‌ها به تعادل برسد . سپس سانتریفوژ شدند .

پروتئین جذب نشده در محلول رویین به روش برادفورد (۱۹۷۶) اندازه‌گیری و اندازه پروتئین جذب سطحی شده از فرمول توماس و همکاران برآورد گردید (نایدجا و همکاران ۱۹۹۷).

$$Qa=(Co-Ce)V/W \quad [1]$$

که در آن: Qa) اندازه پروتئین جذب سطحی شده بر روی یک وزن از جذب کننده (mg/mg), Co) غلظت نخستین پروتئین (mg/ml)، Ce) غلظت تعادلی پروتئین (mg/ml), V) حجم محلول (ml) و W) وزن جذب کننده (mg) است.

برای بررسی توان نمونه‌ها در نگهداری و بی‌جنبش کردن پروتئین و آنزیم‌های سلولولیتیک، بخش ته‌نشین شده از آزمایش‌پیشین با آب مقطر تا جایی شسته شد که دیگر هیچ نشانی از پروتئین و آنزیم‌ها در محلول رویین آنها نباشد. پروتئین شسته شده در آب رویین سوسپانسیون اندازه‌گیری شد. سپس سوسپانسیونی از کمپلکس نگهدارنده-آنزیم (بی‌جنبش شده) ساخته شد. فعالیت آنزیم سلولاز بی‌جنبش شده بر روی نگهدارنده‌های آنزیم در خاک به کمک اسپکتروفوتومتر و روش‌مندل و وبر (۱۹۶۹) ارزیابی شد. سوبسترای بکار رفته برای ارزیابی کارایی آنزیم آویسل بود. کارایی آنزیم با محاسبه میکرومول قندهای کاهنده آزاد شده در یک دقیقه برای یک میلی لیتر از سوسپانسیون نگهدارنده-آنزیم (U/ml)، یا یک گرم از نگهدارنده (U/g soil) و یا یک میلی گرم از آنزیم بی جنبش شده (کارایی ویژه، (U/mg)) برآورد و گزارش گردید.

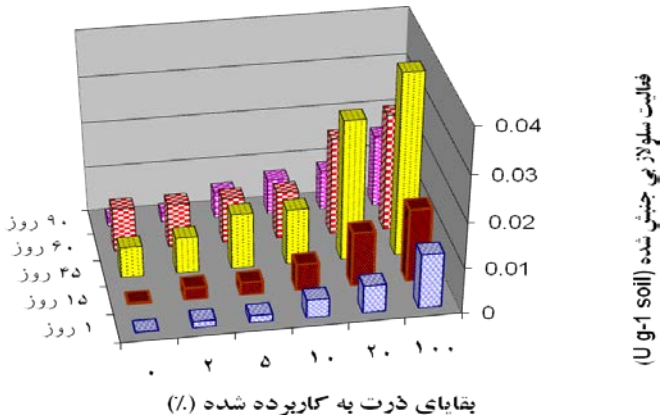
نتایج و بحث

جدول ۱ برخی از ویژگی های خاک بکاررفته در این پژوهش را نشان می دهد. خاک آزمایش شده دارای بافت لومی و همپنین آهکی بود.

جدول ۱- برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک بکار رفته در پژوهش

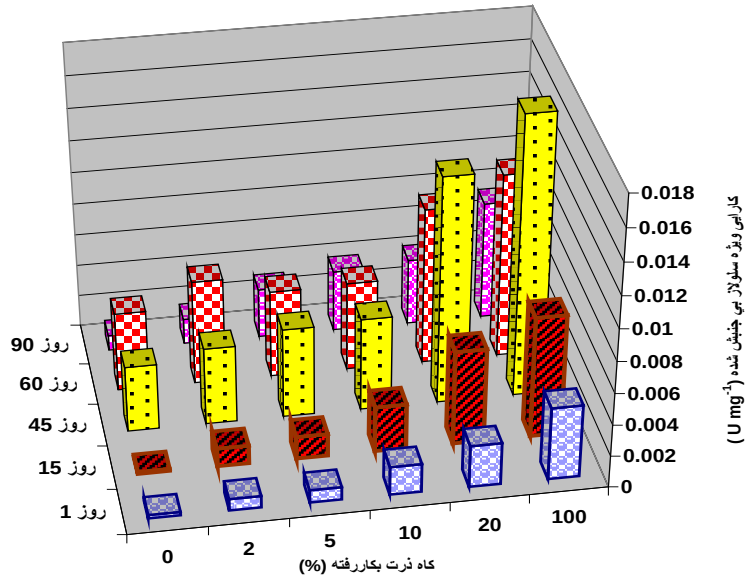
ویژگی خاک	واحد	اندازه	ویژگی خاک	واحد	اندازه
بافت	–	لوم	رسانایی الکتریکی	$dS\ m^{-1}$	۰/۱۲
شن	٪	۴۸	گنجایش تبادل کاتیونی	$Cmol\ charge kg^{-1}$	۲۳/۸
سیلت	٪	۳۱	همه ازت	$g.kg^{-1}$	۲/۱۱
رس	٪	۲۱	C/N	-	۱۰/۱۱
همه کربن آلی	$g.kg^{-1}$	۲۱/۳۴	فسفر فراهم	$mg\ kg^{-1}$	۷۷/۱۶
کربنات کلسیم معادل	٪	۳/۷	پتاسیم فراهم	$mg\ kg^{-1}$	۱۸۶
پ-اچ	–	۷/۹			

نمودار۱ کارایی آنزیم سلولاز بیجنبش شده در خاک های تیمار شده با کاه ذرت را که در رطوبت نزدیک گنجایش زراعی نگهداری شده اند در زمان های گوناگون نشان می دهد.



نمودار ۱- کارایی آنزیم سلولاز بیجنبش شده در خاک های تیمار شده با کاه ذرت در زمان های گوناگون نمونه برداری

کارایی ویژه آنزیم سلولاز در خاک های تیمار شده با کاه ذرت که در زمان های گوناگونی برداشت شده اند در نمودار ۲ نشان داده شده است.



نمودار ۲- کارایی ویژه آنزیم سلولاز بیجنبش شده در خاک های تیمار شده با کاه ذرت در زمان های گوناگون نمونه برداری

کارایی آنزیم سلولاز در خاک تیمار شده با ۵٪ و ۱۰٪ کاه ذرت پس از گذشت ۴۵ روز به اندازه چشمگیری بیشتر از خاک های تیمار نشده و تیمار شده با ۲ ٪ کاه ذرت است ولی میان خود این تیمارها در پایه آماری ۵٪ ناهمانندی چشمگیری دیده نمیشود. کارایی سلولاز در خاک با افزایش کاربرد کاه ذرت از ۱۰٪ به ۲۰ و ۱۰۰٪ نیز به اندازه چشمگیری افزایش یافت. اگرچه کارایی آنزیم سلولاز بیجنبش شده در خاک تیمار شده با ۲۰٪ کاه ذرت کمتر از آن در کاه ذرت (تیمار ۱۰۰٪ کاه) است ولی پیامد زیانبار خاک بر کارایی سلولاز در خاک های آلی با بیش از ۲۰٪ ماده آلی از دیدگاه آماری چشمگیر نمی باشد (نمودار ۱). با گذشت زمان و هموسی شدن کارایی ویژه آنزیم سلولاز در برخی تیمارها در ۶۰ روز و در برخی تیمارها در ۴۵ روز به بیشترین مقدار خود رسید و سپس کاهش یافت. این افزایش کارایی ویژه آنزیم شاید وابسته به کاهش C/N در پی هوموسی شدن کاه باشد. . صفری سنجانی (۱۳۷۹) نشان داد که مواد آلی گیاهی با نسبت C/N کمتر توان بیشتری برای جذب سطحی و بیجنبش کردن آنزیم سلولاز دارند. کاهش کارایی ویژه در ۴۵ و ۶۰ روز وابسته به کاهش کربن آلی در نمونه ها است.

از آنجایی که ساخت و رها سازی آنزیم سلولاز در خاک اندک است، افزایش مانده های گیاهی هموسی شده به خاک مایه کاهش افت کارایی ویژه این آنزیم در خاک میشود.

منابع

صفری سنجانی، ع. ا.، ۱۳۷۹. فروزینگی زیستی برخی از مانده‌های کشاورزی و ارزیابی کارایی آنزیم‌های لیگنوسلولولیتیک‌قارچ‌ها در خاک. پایان نامه دکترا گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان.

Bradford M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72: 248-254.

Dick R.P., 1997. Soil enzyme activities as integrative indicators of soil health, In: PankhurstC.E., B.M., Doube and V.V.S.R. Gupta (Ed.) Biological indicators of soil health, Cab International: 121-150.

Mandel M. and J. Weber, 1969. Exoglucanase activity by microorganisms, Adv. Chem. 95: 391-414.

Misset O., 1993. Stability of industrial enzymes, In: Twed W.J.J. van den, A. Harder and R.M.Buitelaar (Eds.) Stability and stabilization of enzymes. Proceedings of an International Symposium held in Maastricht, The Netherlands, Elsevier Science Publishers B.V.: 111-131.

Naidja A., P.M. Huang and J.M. Bollag, 1997. Activity of tyrosinase immobilized on hydroxylaluminum-montmorillonite complexes, J. Molecular Catalysis A: Chemical 115: 305-316.

Safari Sinegani AA, Emtiazi G, Shariatmadari H., 2005. Sorption and immobilization of cellulase on silicate clay minerals. J. Colloid And Interface Science. 290: 39-44.

Safari Sinegani AA, Hosseinpour AR, 2006. Factors affecting cellulase sorption in soil. Afr. J. Biotech. 5: 467-471.

شناسایی مولکولی *Sinorhizobium meliloti* و کلونینگ ژن ACCدآمیناز

هوشنگ خسروی[1]، حسینعلی علیخانی[2]، باقر یخچالی[3]
1-مؤسسه تحقیقات خاک و آب، ۲- پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، ۳- پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری

مقدمه

مقایسه توالی‌های rRNA ابزاری قوی برای روابط فیلوژنی و تکاملی در بین باکتریها، آرکئا و موجودات یوکاریوت است. این روش‌ها تأییدی مطمئن برای شناسایی باکتری‌ها تا سطح سویه می‌باشند. باکتری *Sinorhizobium meliloti* با یونجه که یکی از گیاهان علوفه‌ای مهم و منبع تغذیه دام‌ها ست رابطه همزیستی تثبیت کنندگی نیتروژن مولکولی هوا را دارد. اتیلن یک هورمون گیاهی مهم برای رشد و نمو گیاهان است. با اینحال حضور این هورمون در غلظت‌های زیاد در گیاهان در شرایط تنشی همچون شوری و خشکی موجب بروز مشکل در رشد گیاهان می‌شود. آنزیم ACCدآمیناز قادر است ACC (۱-آمینوسیکلوپروپان-۱-کربوکسیلات) که پیش‌ماده مستقیم اتیلن در گیاهان است را به آمونیوم و آلفاکتوبوتیرات تبدیل نماید، و از این طریق موجب کاهش اتیلن ناشی از تنش شود. در ایران تنش های مختلفی از جمله شوری و خشکی خاک از عوامل مهم تنشی در گیاهان هستند. مطالعات نشان داده که استفاده از باکتری‌های طبیعی یا نوترکیب مولد آنزیم ACCدآمیناز منجر به کاهش اتیلن تنشی شده است. لذا چنانچه سویه یا سویه‌هایی از باکتری‌های دارای مزیت-های مختلفی از جمله توان تولید این آنزیم را داشته باشند می‌توانند اثرات بهتری در رشد گیاه داشته باشند. لذا دستیابی به ژن ACCدآمیناز راهکار مناسبی برای توسعه کودهای بیولوژیک و یکی از مهمترین اهداف این تحقیق بود.

مواد و روش ها

در این پژوهش ۴ سویه *Sinorhizobium meliloti* بومی از نظر وضعیت ژن کد کننده آنزیم ACCدآمیناز (*acdS*) مورد بررسی قرار گرفتند. این سویه‌ها از بین ۱۶۸ سویه *Sinorhizobium meliloti* بر اساس میزان رشد در محیط کشت حاوی ACC و فاقد نیتروژن در مرحله اول (خسروی و همکاران، ۲۰۱۰) و میزان فعالیت آنزیم ACCدآمیناز (۲۰ سویه انتخابی) بوسیله اندازه‌گیری مقدار آلفاکتوبوتیرات تولید شده در مرحله دوم تعیین شد. با توجه به دشواری استخراج DNA ژنومی از ریزوبیوم، از روش فنل کلروفرم اصلاح شده (Agrawal و همکاران،۲۰۰۶) استفاده شد. ژن 16S rRNA از DNA کروموزومی سویه‌ها توسط PCR و با استفاده از پرایمرهای fD1 و rD1 (Weisburg و همکاران،۱۹۹۱) تکثیر و تعیین توالی شد. بر اساس توالی ژن *acdS* موجود در بانک ژن دو پرایمر اختصاصی به نام‌های ACCDF و ACCDR برای تکثیر ژن *acdS* طراحی شدند. ژن*acdS* توسط PCR و با استفاده از این پرایمرها از DNA کروموزومی و DNA کل سلول تکثیر و در وکتورهای پلاسمیدی pTZ57R/T کلون و به باکتری *E. coli* DH5α منتقل شد. توالی ژن های *acdS* تعیین شد. این توالی‌ها با استفاده از برنامه BLAST با سایر توالی‌های موجود در بانک ژن (Data bases) مقایسه شدند.

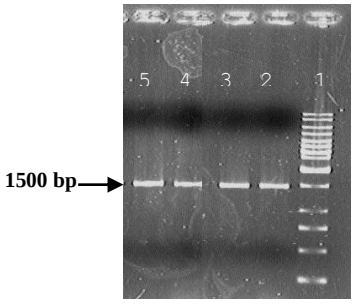
نتایج و بحث

جدایه KYA40 دارای۹۹٪ مشابهت با *Sinorhizobium sp* BK1 ، جدایه KYA27 دارای ۹۹٪ مشابهت با *Sinorhizobium sp*. CCBAU 83493 ، KYA71 دارای ۱۰۰٪ مشابهت با *Sinorhizobium sp*., BK1، جدایه KYA95 دارای ۹۹٪ مشابهت با *Sinorhizobium meliloti* S33. بود. نتایج بدست آمده حکایت از این دارد که روش‌های معمول که برای شناسایی باکتری‌های ریزوبیوم در ایران بکار می‌رود با روش‌های ژنتیکی مطابقت دارد. نتایج نشان داد که میزان فعالیت آنزیم ACCدآمیناز در سویه‌های انتخابی بین صفر تا ۳۲۶ نانومل آلفاکتوبوتیرات در میلی‌گرم پروتئین در ساعت بود (جدول۱).

Bacterial strain	ACC deaminase activity*	Bacterial strain	ACC deaminase activity*
KYA5	125	**KYA60**	200
KYA15	0	**KYA62**	192
KYA27	0	**KYA64**	0
KYA37	0	**KYA71**	326
KYA40	136	**KYA72**	0
KYA43	0	**KYA74**	0
KYA44	201	**KYA95**	0
KYA45	0	**KYA97**	135
KYA49	127	**KYA130**	135
KYA58	0	**KYA166**	135

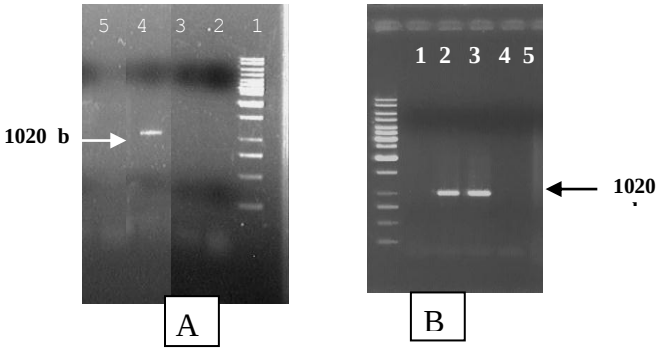
جدول ۱- فعالیت آنزیم ACCدآمیناز سویه های انتخابی

سویه KYA40 دارای بیشترین رشد در محیط ACC و فعالیت آنزیمی ۱۳۶ نانومل آلفاکتوبوتیرات در میلی‌گرم پروتئین در ساعت، KYA71 دارای رشد متوسط در محیط ACC و فعالیت آنزیمی ۳۲۶ نانومل آلفاکتوبوتیرات در میلی‌گرم پروتئین در ساعت، KYA27 دارای رشد کم در محیط ACC و فاقد فعالیت آنزیمی و KYA95 فاقد رشد در ACC و فاقد فعالیت آنزیم ACCدآمیناز. در شکل یک محصول PCR ژن16S rRNA بر روی ژل آگارز نشان داده شده است.



شکل۱- محصول PCR ژن 16S rRNA، خط :۱ 1 kb DNA ladder، خط۲: KYA27، خط۳: KYA40، خط ۴: KYA71، خط۵: KYA95.

بر اساس نتایج تکثیر ژن *acdS* توسط PCR نتیجه گیری شد این ژن درسویه KYA71 احتمالا بر روی DNA کروموزومی و در سویه KYA40 بر روی یکی از مگاپلاسمیدها واقع شده است (شکل ۲). توالی ژن *acdS* و. ژن *acdS* در دو سویه KAY40 و KYA71 دارای ۹۹ درصد مشابهت بودند.



شکل۲- محصول PCR ژن *acdS*، قسمت A (DNA ژنومی) و قسمت B(DNA مگاپلاسمیدی)
خط ۱: 1 kb DNA ladder، خط۲: KYA27، خط۳: KYA40، خط ۴: KYA71، خط۵: KYA95

علیرغم تفاوت در سه نوکلئوتید، این دو ژن فقط در اسیدآمینه ۴۸ (ترئونین در KYA40 و متیونین در KYA71) با هم تفاوت نشان دادند. مقایسه توالی اسیدآمینه این دو سویه با سایر سویه‌های موجود در منابع نشان داد که از اسیدآمینه ۳۷ تا اسیدآمینه ۵۸ در تقریباً همه سویه‌ها مشابه است. این ناحیه می‌تواند به عنوان یک ناحیه حفاظت شده محسوب شود. لذا هر گونه تغییری در این ناحیه حفاظت شده ممکن است باعث تغییر در فعالیت آنزیم ACCدآمیناز شود (شکل ۳ و جدول ۲).

جدول ۲- تفاوت نوکلئوتیدی بین ژن های *acdS* مربوط به KYA40 و KYA71

Nucletide number	Nucleotide differences	
	acdS40	*acdS71*
143	C	T
195	T	C
879	C	T

Sinorhizobium meliloti KYA40	AKRDDCNSGLATGGNKLRKLEY 58
Sinorhizobium meliloti KYA71	AKRDDCNSGLAMGGNKLRKLEY 58
Sinorhizobium meliloti nodulating alfalfa	AKRDDCNSGLAMGGNKLRKLEY 57
Sinorhizobium medicae WSM419	AKRDDCNSGLAMGGNKLRKLEY 57
Sinorhizobium sp.BL3	AKREDCNSGLAMGGNKLKKLEY 58
Rhizobium leguminosarum PB62	AKRDDCNSGLAMGGNKLRKLEY 57
Rhizobium leguminosarum PB45	AKRDDCNSGLAMGGNKLRKLEY 57
Rhizobium leguminosarum. bv. *viciae* 3841	AKRDDCNSGLAMGGNKLRKLEY 57
Rhizobium gallicum PB2	AKRDDCNSGLAMGGNKLRKLEY 57
Bradyrhizobium sp. BTAi1	AKRDDCNSGLAMGGNKLRKLEY 57
Bradyrhizobium sp. ORS278	AKRDDCNSGLAMGGNKLRKLEY 57
Bradyrhizobium japonicum USDA110	AKREDCNSGLA YGGNKLRKLEY 55
Azorhizobium caulinodans ORS 571	AKREDCNSGLA YGGNKLRKLEY 55
Mesorhizobium loti R7A	AKREDCNSGLA FGGNKLRKLEY 55
Mesorhizobium loti MAFF303099	AKREDCNSGLA FGGNKLRKLEY 55
Phyllobacterium brassicacearum STM19	AKREDCNSGLA FGGNKLRKLEY 55
Burkholderia cenocepacia PC184	AKREDCNSGLA FGGNKTRKLEY 36
Pseudomonas sp. strain 6G5	AKREDCNSGLA FGGNKTRKLEY 56
Pseudomonas fluorescens 2P24	AKREDCNSGLA FGGNKTRKLEY 56
Pseudomonas putida UW4	AKREDCNSGLA FGGNKTRKLEY 56
Methylobacterium sp. 4-46	AKREDCNSGLA FGGNKLRKLEY 59
Methylobacterium nodulans ORS 2060	AKREDCNSGLA FGGNKLRKLEY 55
Ralstonia pickettii 12J	AKREDCNSGLA FGGNKTRKLEY 56
Ralstonia eutropha H16	AKRDDCNSGLA FGGNKTRKLEY 56
Acidovorax avenae subsp. *citrulli* AAC00-1	AKREDCNSGLA FGGNKTRKLEY 56
Pseudomonas syringae pv. *syringae* B728a	AKREDCNSGLA FGGNKTRKLEY 56
Enterobacter cloacae UW4	AKREDCNSGLA FGGNKTRKLEY 56
Polaromonas sp. JS666	AKREDCNSGLA FGGNKTRKLEY 59
Mycobacterium abscessus	AKREDCNSGLA FGGNKVRKLEY 57
	********** **********

شکل ۳- مقایسه توالی اسیدهای آمینه ACCدآمیناز KYA40 و KYA71 با سایر توالی‌های بانک ژن

منابع

Agraval, R., S. Bajoria. 2006. DNA isolation from Rhizobium by phenol chloroform M. protocol online.htttp://www.protocol-online,org.

Bradic M., S. Sikora, S. Rudzepovic and Z. Stafa. 2003. Genetic identification and symbiotic efficiecy of an indigenous *Sinorhizobium meliloti* field population.Food Technol. Biotechnol. 41: 69-75

Weisburg William G., Susan M. Barns, Dale A. Pelletier and David Gene-Trak System.1991. 16S Ribosomal DNA amplification for phylogenetic. J.Bacteriology, p. 697-703.

Khosravi, H., Alikhani, H. A. and Yakhchali, B., 2010. Potential evaluation of some native Rhizobia as plant growth promoting bacteria and their role on decreasing of stress ethylene. Iranian journal of Biology, 22(4): 661-669.

بررسی میزان تجمع پرولین و عناصر یونی ریشه ارقام کلزا تلقیح شده با باکتری *P. fluorescens* FY32 تحت تنش شوری

مرتضی بازیار[۱]، علی بنده‌حق[۲] و داود فرج زاده[۳]

۱-دانشجوی ارشد اصلاح نباتات، گروه به نژادی و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

mr.bazyar@yahoo.com

۲-استادیار گروه به نژادی و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز،۳- استادیار گروه زیست شناسی- سلولی ملکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان

مقدمه

مشکلات متعددی در افزایش تولید محصولات زراعی وجود دارد که مهم‌ترین آن‌ها تنش‌های زیستی و غیرزیستی است که رشد و عملکرد گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد و اختلاف قابل توجهی بین عملکرد واقعی و عملکرد بالقوه محصولات زراعی بوجود می‌آورد (کافی، ۱۳۸۹). کلزا یکی از مهمترین گیاهان زراعی در جهان می‌باشد که جهت استخراج روغن کشت می‌شود و پس از سویا و نخل روغنی در جایگاه سوم تولید روغن قرار دارد (فائو، ۲۰۱۳). کلزا گیاهی نیمه مقاوم به شوری می‌باشد (اینفرد وهمکاران، ۲۰۰۴). تجمع پرولین یکی از مکانیسم‌های متابولیکی می‌باشد که در پاسخ به تنش اسمزی و یا سایر تنش‌ها توسط گیاهان عالی انجام می-گیرد (مینگو، ۱۹۷۴). بنده حق و همکاران (۲۰۰۸) در گزارشی نشان دادند که با افزایش شوری پتانسیل اسمزی کاهش و تنظیم اسمزی به ویژه از طریق تولید پرولین افزایش می‌یابد. در شرایط تنش شوری میزان تولید پرولین برای ایجاد مقاومت در گیاه و شرکت در فرآیند تنظیم اسمزی افزایش می‌یابد. اشرف و مک نیلی (۲۰۰۴) تنش شوری را تجمع یون‌های سمی نظیر سدیم و کلر در محیط ریزوسفر بیان نمودند به نحوی که رشد و نمو طبیعی گیاه را مختل سازد. سایرام و همکاران (۲۰۰۲) در آزمایشات خود بر روی گندم دریافتند که مقدار سدیم برگ با افزایش شوری افزایش می‌یابد، اما این افزایش در ارقام متحمل غیر معنی‌دار ولی در ارقام حساس معنی‌دار بود. در مقادیر بالای شوری مقدار یون‌های پتاسیم کاهش یافته و با سدیم جایگزین شده که این عمل علاوه بر به هم زدن تعادل یونی باعث اختلال در متابولیسم سلولی نیز می‌شود (بلام والد، ۲۰۰۴). توانایی میکروارگانیسم‌ها در تولید و رهاسازی متابولیت‌های مختلف مؤثر بر رشد و سلامت گیاه به عنوان یکی از مهمترین عوامل در حاصلخیزی خاک در نظر گرفته می‌شود (تیپینگو و زالیسکا، ۱۹۸۷). بنابراین، یکی از راه-کارهای مقابله با شوری که چندی است مورد توجه قرار گرفته، تلقیح گیاهان زراعی با انواع مختلفی از باکتری‌ها و قارچ‌های مفید خاکزی می‌باشد. باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه[۱](PGPR)، گروهی از باکتری‌های ریزوسفری مفید می‌باشند که می‌توانند با مکانیسم‌های مستقیم (همانند تثبیت نیتروژن، تولید مواد تنظیم کننده رشد گیاه و افزایش قابلیت جذب عناصر غذایی مختلف برای گیاه) و یا غیر مستقیم (همانند تولید آنتی‌بیوتیک، تخلیه ریزوسفر از آهن و رقابت با گونه‌های مضر برای اشغال ریشه) موجب افزایش رشد گیاه شوند (گلیک و همکاران، ۱۹۹۵). یکی از مکانیسم‌های باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه برای تحریک رشد گیاهان از

۱. Plant growth promoting rhizobact

طریق فعالیت آنزیم ACC (۱– آمینوسیکلوپروپان – ۱– کربوکسیلیک‌اسید)[۲] دآمیناز می‌باشد. باکتری‌های حاوی این آنزیم با تجزیه پیش ماده اتیلن SAM (اس‌آدنوزیل متیونین)[۳] به ACC، غلظت اتیلن را در گیاه تحت تنش کاهش داده و در نتیجه گیاه را در مقابل اثرات مضر ناشی از سطوح بالای اتیلن (اتیلن تنشی) حفظ می‌کنند (فرج زاده و همکاران، ۲۰۱۱). بنابراین یکی از راه‌های مقابله با تنش‌های غیرزیستی از جمله تنش شوری، اصلاح گیاهان برای تحمل بیشتر از طریق استفاده از تلقیح با باکتری‌های PGPR می‌باشد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تأثیر تلقیح باکتری سودوموناس فلورسنس (*P. fluorescens* FY32) بر برخی از خصوصیات ارقام کلزا در شرایط تنش شوری، این پژوهش در شرایط گلخانه‌ای (گلخانه تحقیقاتی گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز) و در قالب طرح کرت‌های دوبار خرد شده با طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. فاکتور اصلی تنش شوری در سه سطح (صفر، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار نمک کلرید سدیم)، فاکتور فرعی تلقیح با باکتری (سویه سودوموناس فلورسنس و تیمار شاهد) و فاکتور فرعی فرعی ارقام کلزا در شش سطح (Hyola308، Sarigol، RGS003، Amica، Hyola420و Olga) بود. بذور ارقام کلزا قبل از کشت در ظروف مخصوص کشت، به مورد ضدعفونی قرار گرفت. یک هفته بعد از کشت بذور، گیاهچه‌ها در بستر کشت نشاء شدند. یک روز بعد از نشاء گیاهچه‌ها، باکتری سودوموناس فلورسنس سویه FY32 جهت تلقیح با ریشه گیاهچه‌ها در محلول غذایی تزریق شد. باکتری مورد نظر از بانک میکروبی آزمایشگاه میکروبیولوژی گروه زیست شناسی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان تأمین شد. غلظت پرولین در نمونه‌های تر ریشه به روش بیتس و همکاران (۱۹۷۳) به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر محاسبه شد. غلظت یون سدیم و پتاسیم از ماده خشک ریشه گیاه به وسیله دستگاه فلیم فتومتر مورد اندازه‌گیری قرار گرفت (اشرف و همکاران، ۲۰۰۱). اندازه‌گیری یون کلراید با استفاده از روش دیالوف و رنگل (۲۰۰۱) با اسپکتوفتومتر در طول موج ۴۶۰ نانومتر قرائت شد. تجزیه‌های آماری و رسم نمودارها به کمک برنامه‌های آماری SPSS، MSTAT-C و Excel انجام گرفت. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد.

نتایج و بحث

در رابطه با غلظت پرولین (برگ و ریشه) اثر متقابل تنش شوری با باکتری معنی‌دار بود (جدول۱). مقایسه میانگین تیمارها (شکل۱) نشان داد که غلظت پرولین در گیاهان تلقیح شده با باکتری اختلاف معنی‌داری با گیاهان تلقیح نشده در سطوح مختلف تنش شوری داشت. بیشترین میزان پرولین متعلق به ارقام کلزای تلقیح شده با باکتری در حالت تنش شدید (۳۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) بود. بنده حق و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که افزایش شوری اثر معنی‌داری روی میزان پرولین برگ در ارقام کلزا داشته است. حمدی و همکاران (۲۰۰۴) طی تحقیقی روی برنج نیز نشان داده‌اند که تجمع پرولین در گیاهان تلقیح شده نسبت به شاهد افزایش دارد.

---

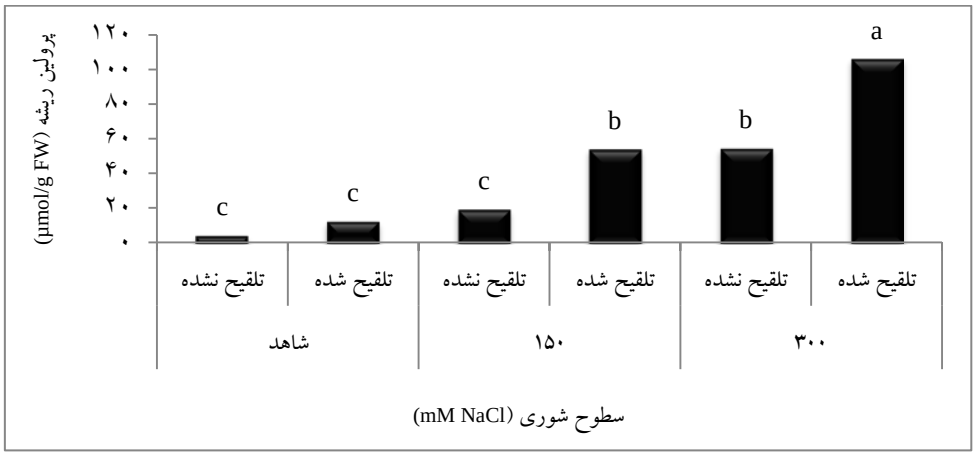
۲. 1-aminocyclopropane-1-carboxylate

۳. S-Adenosyl Methionine

اثر متقابل شوری و باکتری بر یون‌های سدیم و کلراید ریشه کلزا معنی‌دار (جدول۱). با توجه به مقایسه میانگین (شکل۲و۳) سدیم ریشه با افزایش شوری در همه تیمارها افزایش یافته ولی این افزایش هم در سطح تنش متوسط و هم در سطح تنش شدید در گیاهان تلقیح شده کاهش معنی‌داری را نسبت به گیاهان تلقیح نشده داشت، که نشان دهنده تأثیر مثبت تلقیح باکتری با کلزا در کاهش اثر منفی تنش شوری می‌باشد. اثر متقابل شوری و رقم کلزا نیز در این صفت معنی‌دار بود (جدول۱). رقم Sarigol هم در سطح تنش متوسط و هم در سطح تنش شدید دارای بیشترین میزان جذب سدیم بود (شکل۴و۵). تجزیه داده‌ها برای غلظت پتاسیم ریشه نشان داد که اثر متقابل شوری و باکتری *سودوموناس فلورسنس* در سطح یک درصد مختلف معنی‌دار است (جدول۱). بر عکس غلظت سدیم ریشه که در سطوح مختلف شوری یک روند افزایشی را نسبت به شاهد داشت، محتوای پتاسیم دارای یک روند کاهشی بود و این کاهش در ریشه گیاهچه‌های تلقیح شده با باکتری در حالت تنش شدید به طور معنی‌داری کمتر از گیاهچه‌های شاهد بود (شکل۶). با توجه به تجزیه واریانس داده‌ها (جدول۱) اثر متقابل شوری و رقم نیز در صفت پتاسیم ریشه معنی‌دار بود. در همه سطوح شوری Hyola308 دارای بیشترین غلظت پتاسیم ریشه بود، که نشان دهنده مقاومت بیشتر این رقم به شوری می‌باشد (شکل۷). غلظت بالای یون‌های سمی موجب کاهش جذب دیگر عناصر غذایی به ویژه پتاسیم برای گیاه شده و منجر به بروز علائم کمبود برخی از عناصر غذایی ضروری رشد و نمو گیاه می‌شود (خان و همکاران، ۱۹۹۹) . حسینی و همکاران (۱۳۸۷) نشان دادند که افزایش شوری موجب کاهش غلظت پتاسیم در گیاه کلزا می‌شود. در این ارتباط ریولی و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند که ارقام جو متحمل به شوری سطح پایین‌تری از سدیم را نسبت به ارقام حساس به شوری در بافت‌ها نگه می‌دارند. رجبی اگره و همکاران (۱۳۸۹) گزارش کردند که با افزایش شوری میزان پتاسیم در گیاه برنج کاهش یافت، در صورتی که با کاربرد باکتری میزان این عنصر در برنج افزایش معنی‌داری نسبت به گیاه شاهد داشت. بین سطوح مختلف شوری و باکتری برای صفات غلظت پرولین و یون‌ها (سدیم، پتاسیم و کلراید) اختلاف معنی‌دار مشاهده شد، که نشان دهنده تأثیر شوری و اثر تلقیح با باکتری *P. fluorescens* FY32 بر این صفات می‌باشد.

جدول۱. تجزیه واریانس غلظت یونی ریشه ارقام کلزا تلقیح شده با باکتری *P.flourescens* FY3 در شرایط تنش شوری

تیمارها	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		پرولین ریشه	یون سدیم ریشه	یون پتاسیم ریشه	یون کلراید ریشه
شوری	۲	۲۹۸۷۰/۲۶۱**	۳۱۵۶/۱۴۷**	۲۰۱۲/۹۴۳**	۲۷۰۲/۰۲۱**
خطای اصلی	۶	۷۸۷/۴۱۷	۳۷/۱۳۴	۲۰/۹۵۷	۶۲/۰۴۰
باکتری	۱	۲۰۹۰۰/۷۲۶**	۱۵۸/۱۳۵**	۴۱/۱۱۲**	۲۸۳/۸۰۵**
شوری × باکتری	۲	۶۹۳۴/۲۲۳**	۲۶/۰۱۸**	۱۲/۱۹۹**	۱۲/۲۶۹**
خطای فرعی	۶	۳۵۹/۶۲۸	۰/۷۳۹	۱/۰۴۹	۴/۱۶۹
رقم	۱	۶۶۶/۷۸۴	۲۴۲۳/۴۱۲**	۸۳۰/۵۰۶**	۴۱۰۶/۴۳۹**
شوری × رقم	۲	۶۰۰/۸۹۷	۸۱۳/۵۴۶**	۳۴۵/۴۱۵**	۱۲۶۹/۰۵۵**
باکتری × رقم	۱	۱۸۸/۲۷۰	۱۲/۸۱۴	۱/۰۵۴	۲۴/۵۹۷
شوری × باکتری × رقم	۲	۱۵۹/۴۵۸	۵/۴۹۳	۱/۷۵۸	۸/۸۷۹
خطای فرعی فرعی	۱۲	۳۲۷/۲۶۳	۳/۷۴۱	۱/۰۷۹	۱۲/۴۱۹
ضریب تغییرات خطای فرعی فرعی (٪)	–	۲۵/۷۰	۵/۵۵	۵/۸۲	۹/۷۶



شکل ۱. میانگین پرولین ریشه کلزا در سطوح مختلف تنش شوری و تلقیح با باکتری *P. fluorescens* FY32

منابع

حسینی، ی.، همایی، م.، کریمیان، ن. و سعادت، س. ۱۳۸۷. اثرات فسفر و شوری بر رشد، غلظت عناصر غذایی و کارایی مصرف آب در کلزا (*Brassica napus* L.). مجله پژوهش کشاورزی: آب، خاک و گیاه در کشاورزی، جلد ۸، شماره ۴، صفحه ۱۸-۱.

رجبی‌اگره، س.، رمضان‌پور، م.ر.، محمودی، م. و مهدی‌پور، آ. ۱۳۸۹. بررسی کارایی باکتری *Pseudomonas. Sp* بر میزان جذب عناصر غذایی تحت شرایط آبیاری با آب شور در برنج. صفحه‌های ۱ تا ۴. پنجمین همایش ایده‌های نو در کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان، دانشکده کشاورزی، اصفهان. ۲۰ تا ۲۳ بهمن ماه.

کافی، م.، باقری، ع.ر.، نباتی، ج.، زارع مهرجردی، م. و معصومی، ع. ۱۳۸۹. بررسی تأثیر تنش شوری بر برخی متغیرهای فیزیولوژیک ۱۱ ژنوتیپ نخود در محیط هیدروپونیک. مجله علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای، جلد ۱، شماره ۴، صفحه ۶۹-۵۵.

Ashraf, M., Nazir, N. and Mc Neilly, T. 2001. Comparative salt toler ances of amphidiploid and diploid *Brassica species*. J. Plant Sci., 160: 683–689.

Bandeh–hagh, A., Toorchi, M., Mohammadi, A., Chaparzadeh, N., Hosseini- Salekdeh, G.H. and kazemnia, H. 2008. Growth and osmotic adjustment of canola genotypes in response to salinity. J. Food. Agri. Environ., 6: 201-208.

Diatloff, E. and Rengl, Z. 2001. Compilation of simple spectophotometric techniques for the determination of element in nutrient solutions. J. Plant Nutr. 24: 75-86.

Enferad, A., Poustini, K., Majnoun-Hosseini, N. and Khajeh-Ahmad-Attari, A.A. 2004. Physiological responses of rapeseed (*Brassica napus*L.) varieties to salinity stress in vegetative growth phase. J. Agri. Res., 7: 103-113.

FAO. 2013. Faostat. FAO, Rome, Italy. URL:http://www.fao.org.

Farajzadeh, D., Yakhchali, B., Aliasgharzad, N.,Sokhandan-Bashir, N.and Farajzadeh, M. 2011. Plant indigenous *Azotobacteria* isolated from soils in Iran. J.Curr. Microbiol., 64: 397-403.

Glick, B.R., Karaturovic, D.M. and Newell, P.C. 1995. A novel procedure for rapid isolation of plant growth promoting *Pseudomonas*. Can. J. Microbiol., 41: 533-536.

Khan, M.A., Ungar, I.A. and Showalter, A.M. 1999. Effects of salinity on growth, ion content, and osmotic relations in *Halopyrum mucronatum* (L.). J. Plant Nutr. 22: 191-204.

Rivelli, A.R., James, R.A. Munns, R. and Condon, A.G. 2002. Effect of salinity on water relations and growth of wheat genotypes with contrasting sodium uptake J. Plant Biol., 29: 1065–74.

Tipping, E.M. and Zaleska, I. 1987. Growth promotion of canolarap seed seedlings by a strain of (*pseudomonas putida*)undergnotobiotic conditions.Can.J. Microbiol., 33: 390-395.

Mingeau, M. 1974. Performance of spring rapeseed during drought. J. Agri. Plant Sci., 36: 1-11.

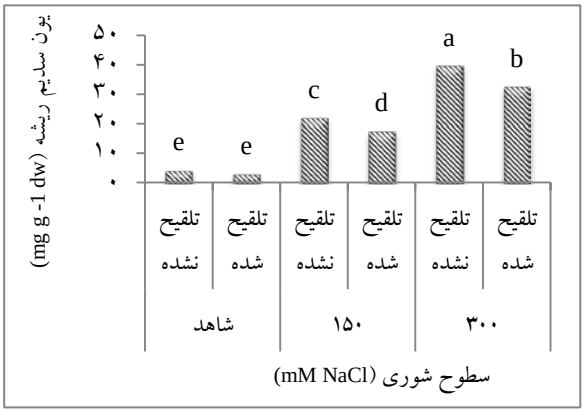
Ashraf, M. and McNeilly, T. 2004. Salinity tolerance in Brassica oil seeds. Critical Rev. Plant Sci., 23: 157-174.

Sairam, R.K., Veerabharda, K. and Srivastava, G.C. 2002. Differential response of wheat genotype to long term salinity stress in relation to oxidative stress. J. Plant Sci., 163: 137-146.

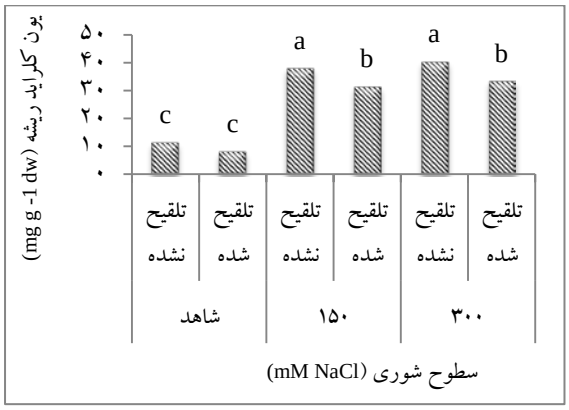
Blumwald, E. 2004. Sodium transport and salt tolerance in plants. Curr. Opin. Cell Biol., 12: 431–434.

Bates, L.S., Waldern, R.P. and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil, 39: 205-207.

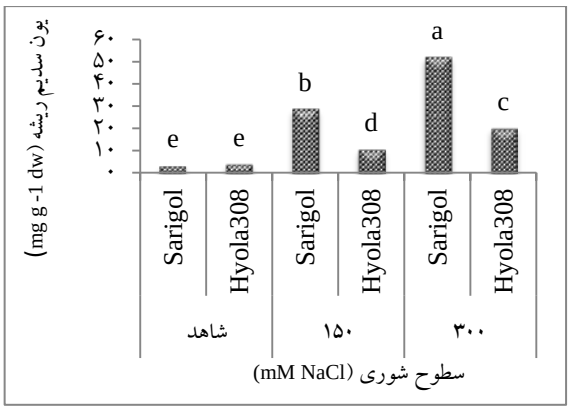
Hamdi, M.A., M.A.K. Shaddad and M.M. Doaa. 2004. Mechanisms of salt tolerance and interactive effects of *Azospirillum brasilense* inoculation on *maize* cultivars grown under salt stress conditions. Plant Physiol. 44: 165-174.



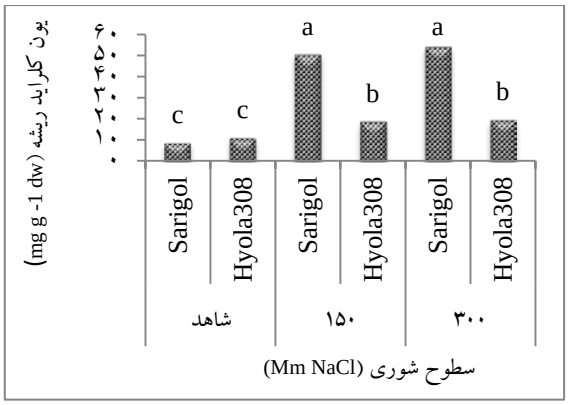
شکل۲. میانگین سدیم ریشه ارقام کلزا در سطوح مختلف تنش شوری و تلقیح با باکتری *P. fluorescens* FY32



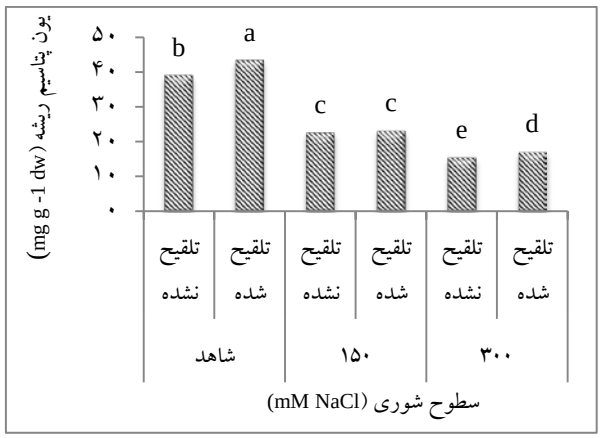
شکل۳ . میانگین یون کلراید ریشه ارقام کلزا در سطوح مختلف تنش شوری و تلقیح با باکتری *P. fluorescens* FY32



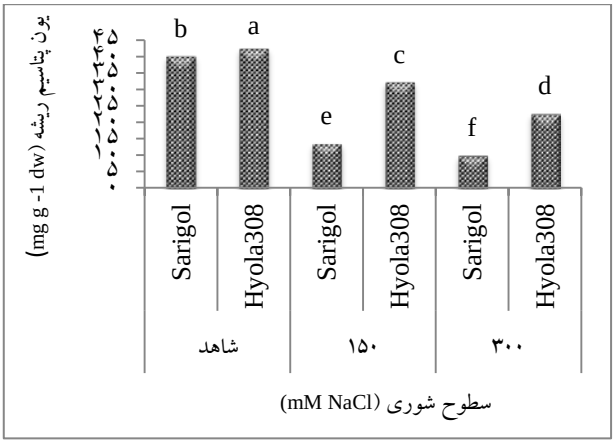
شکل٤. میانگین سدیم ریشه در سطوح مختلف تنش شوری در دو رقم کلزا



شکل۵. میانگین یون کلرایدریشه در سطوح مختلف تنش شوری دو رقم کلزا



شکل٦. میانگین پتاسیم ریشه ارقام کلزا در سطوح مختلف تنش شوری و تلقیح با باکتری *P. fluorescens* FY32



شکل۷. میانگین پتاسیم ریشه در سطوح مختلف تنش شوری در دو رقم کلزا

تأثیر کمبود عناصر ریزمغذی و افزودن اینوکلوم‌های قارچ میکوریز آربوسکولار بر pH آبشویه در مراحل مختلف رشد گیاه گوجه‌فرنگی

ابراهیم شیرمحمدی
عضو هیأت علمی گروه علوم خاک دانشکده آب و خاک دانشگاه زابل ibrahim_13000@yahoo.com

مقدمه

بعضی از گیاهان و ریزجانداران در شرایط کمبود عناصر ریزمغذی و فسفر، pH اطراف ریشه را با ترشح ترکیبات اسیدی و پروتون کاهش داده و با این سازوکار حلالیت و قابلیت جذب این عناصر را افزایش می‌دهند. همزیستی میکوریزی در اغلب موارد باعث افزایش عناصری مانند فسفر، پتاسیم، آهن، روی و مس در گیاهان شده است[۲] و دلایل متفاوتی برای افزایش جذب این عناصر ارائه شده که یکی از آنها افزایش ترشح ترکیبات اسیدی و پروتون از ریشه‌های میکوریزی می‌باشد[۱]، ولی سازوکارهای دقیق این فرآیندها کمتر مورد توجه قرار گرفته است. بنابراین برای سنجش دقیقتر این موضوع، بررسی سازوکارهای ترشح ترکیبات اسیدی و پروتون از ریشه‌های میکوریزی در طول دوره رشد گیاه حائز اهمیت است و چون پروتون و سایر ترکیبات اسیدی به همراه دیگر ترشحات ریشه‌ای و میکروبی به محیط ریزوسفر آزاد می‌شود، اندازه‌گیری pH آبشویه[۱] می‌تواند شاخص مناسبی برای ارزیابی این سازوکار باشد.

مواد و روشها

آزمایش به صورت فاکتوریل (دوفاکتور) و در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در بستر پرلیت استریل انجام شد. فاکتور اول شامل قارچ میکوریز با گونه‌های *گلوموس اتونیکاتوم*(*G. etunicatum*)، *گلوموس اینترارادیسز*(*G. intraradices*) و شاهد بدون قارچ، و فاکتور دوم شامل محلول غذایی راریسون با غلظت‌های کامل، نصف و صفر از عناصر ریزمغذی و در سه تکرار، مجموعاً ۲۷ واحد آزمایشی را تشکیل دادند. برای این منظور گلدان‌های پلاستیکی به حجم ۲۸۰۰ میلی‌لیتر با پرلیت اسید شویی شده، پر شدند و در اتوکلاو استریل گردیدند سپس مقدار ۶۰ گرم مایه تلقیح میکوریزی به هر یک از گلدان‌ها اضافه شد و برای تیمار شاهد از مایه تلقیح استریل شده (در دمای ۱۲۱ درجه و فشار ۱ اتمسفر به مدت ۱ ساعت) استفاده گردید. رطوبت گلدان‌ها به طریق وزنی در FC ۰/۷ نگهداری شدند، همچنین حرارت روز و شب به ترتیب ۲±۲۸ و ۲±۲۰ بود و طول دوره روشنایی ۱۶ ساعت در هر روز و با شدت ۲۰۰۰۰LUX در گلخانه برقرار شد. در هر گلدان یک بوته گیاه گوجه-فرنگی(*Lycopersicon esculentum Miller.*) نگه داشته شد. اندازه‌گیری pH آبشویه در زمان‌های ۴۵، ۶۵ و ۸۵ روز پس از کشت انجام گردید. برای جمع‌آوری ترشحات ریشه‌ای، گلدان‌ها با یک لیتر آب مقطر شستشو داده شدند و محلول خروجی در ظروف پلاستیکی یک بار مصرف جمع‌آوری گردیدند و بلافاصله pH آبشویه-های جمع آوری شده، اندازه‌گیری شدند. تجزیه آماری با نرم افزار MSTATC صورت گرفت و مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال پنج درصد انجام شدند.

نتایج و بحث

در تمامی ترکیبات تیماری گیاه گوجه‌فرنگی همزیستی میکوریزی مشاهده نگردید. لازم به ذکر است، این آزمایش دو مرتبه و به مدت ۴۵ و ۸۵ روز با دو رقم متفاوت گوجه فرنگی تکرار شد ولی در هر دو مورد نتایج مشابه حاصل گردید. در مورد عدم کلنیزاسیون ریشه گیاه گوجه فرنگی بوسیله قارچ‌های میکوریز احتمالاً عوامل زیر دخیل باشند: اول، عدم تبادل سیگنال‌های شیمیایی بین اندام‌های قارچی و ریشه گیاه، در نتیجه فعال نشدن ژن‌های مؤثر در ایجاد همزیستی دوم، گسترش بیش از حد ریشه در داخل گلدان‌ها مانع تحریک ریشه‌ها به ایجاد همزیستی شده است (در فضای کوچک گلدان‌ها حجم انبوهی از ریشه وجود داشت) و سوم، غلظت کامل فسفر در هر سه سطح محلول غذایی؛ زیرا غلظت زیاد و کم فسفر در بستر کشت به ترتیب باعث کاهش و افزایش کلنیزاسیون ریشه با قارچ میکوریز می‌شود [۵ و ۶] و نیز توسعه و گسترش هیف‌های خارجی قارچ میکوریز در غلظت‌های پایین فسفر بیشتر از غلظت‌های بالای آن می‌باشد[۳].

بطور کلی pH آبشویه در تمامی ترکیب‌های تیماری، بالاتر از ۷ بود (جدول۱). به نظر می‌رسد دلیل اصلی این موضوع تغذیه نیتراتی گیاهان در تیمارهای مختلف باشد. زیرا منبع نیتروژن در محلول غذایی راریسون نیترات است[۴]. از آنجایی که نیترات یک آنیون می‌باشد پس از جذب آن، گیاهان برای خنثی نگه داشتن بار الکتریکی درون سلول‌های ریشه سازوکارهایی اعمال می‌کنند که از جمله آنها ترشح آنیون‌ها (مانند OH^- و HCO_3^-) به محیط ریزوسفر است. این ترکیبات باعث قلیایی شدن محیط اطراف ریشه می‌شوند و چون بستر کشت پرلیت است (نسبت به خاک خصوصیت بافری خیلی ضعیفی دارد)، بنابراین pH آبشویه افزایش می‌یابد.

۴۵ و ۸۵ روز پس از کشت، در هر یک از تیمارهای قارچی (شاهد، *گلوموس اتونیکاتوم* و *گلوموس اینترارادیسز*)، استفاده از سطوح مختلف محلول غذایی (صفر، نصف و کامل از عناصر ریزمغذی) از نظر pH آبشویه اختلاف معنی‌داری ایجاد نکرند. همچنین در زمان‌های ۴۵ و ۸۵ روز پس از کشت، تیمارهای قارچی مختلف (شاهد، گلوموس اتونیکاتوم و گلوموس اینترارادیسز)، در سطوح صفر و کامل از عناصر ریزمغذی از نظر این صفت اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند. ۴۵ روز پس از کشت، در استفاده از محلول غذایی با سطح نصف از عناصر ریزمغذی، pH آبشویه در تیمار قارچی *گلوموس اتونیکاتوم* نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت. ۶۵ روز پس از کشت، استفاده از محلول‌های غذایی با سطح نصف نسبت به سطح صفر از عناصر ریزمغذی، در تیمار شاهد باعث افزایش pH آبشویه شد (جدول ۱). به نظر می‌رسد عامل اصلی این موضوع پدیده اثر رقت باشد. چون گیاهانی که از محلول غذایی با سطح نصف از عناصر ریزمغذی تغذیه می‌کنند، همواره در تنش کمبود عناصر ریزمغذی هستند. با افزودن محلول غذایی، مقداری عناصر ریزمغذی نیز به گیاه عرضه می‌شود و رشد افزایش می‌یابد (سرعت رشد و مقدار جذب عناصر ضروری دیگر بیشتر از عناصر ریزمغذی است) در نتیجه آنیون‌های بیشتری (مانند نیترات، فسفات، سولفات) جذب گیاه می‌شود و ترکیبات قلیایی بیشتری به محیط اطراف ریشه ترشح می‌شود که این امر باعث افزایش pH آبشویه در این ترکیب تیماری شده است. ۶۵ روز پس از کشت، در تیمار قارچی *گلوموس اینترارادیسز*، استفاده از محلول‌های غذایی با سطح نصف نسبت به سطح کامل از عناصر ریزمغذی، باعث کاهش pH آبشویه شد. ۶۵ و ۸۵ روز پس از کشت نیز استفاده از محلول غذایی با سطح نصف از عناصر ریزمغذی باعث کاهش pH آبشویه در تیمار قارچی *گلوموس اینترارادیسز* نسبت به شاهد شد (جدول ۱). علی‌رغم مشاهده نشدن همزیستی میکوریزی در این آزمایش، به نظر می‌رسد که حضور اینوکلوم‌های قارچ گلوموس اینترارادیسز (در اثر تبادل سیگنال‌های شیمیایی بین ریشه گیاه و اندام‌های قارچی) سبب تحریک

گیاهان به ترشح ترکیبات اسیدی و پروتون در استفاده از محلول غذایی با سطح نصف از عناصر ریزمغذی شده است.

جدول ۱: اثر برهمکنش قارچ، محلول غذایی و زمان رشد گیاه گوجه فرنگی بر pH آبشویه

زمان	۴۵ روز پس از کشت			۶۵ روز پس از کشت			۸۵ روز پس از کشت		
محلول غذایی	C_1	$C_{0.5}$	C_0	C_1	$C_{0.5}$	C_0	C_1	$C_{0.5}$	C_0
O	۷/۹ bcdef	۷/۸۳۳ defg	۷/۸۳۳ defg	۷/۸۳۳ defg	۷/۹۶۷ abcd	۷/۷۶۷ fg	۸/۰۳۳ ab	۸/۰۶۷ a	۷/۹۶۷ abcd
G.e	۸/۰۳۳ ab	۸ abc	۷/۹۶۷ abcd	۷/۸۶۷ cdefg	۷/۸۶۷ cdefg	۷/۸ efg	۸ abc	۸/۰۳۳ ab	۷/۹۳۳ abcde
G.i	۷/۹۳۳ abcde	۷/۸۶۷ cdefg	۷/۹ bcdef	۷/۹ bcdef	۷/۷۳۳ g	۷/۷۶۷ fg	۸/۰۳۳ ab	۷/۹ bcdef	۷/۹۶۷ abcd

- O، G.e و G.i به ترتیب نشان دهنده تیمارهای قارچی شاهد، *گلوموس اتونیکاتوم* و *گلوموس اینترارادیسز* است. C_1، $C_{0.5}$ و C_0 به ترتیب نشان دهنده محلول‌های غذایی راریسون با غلظت‌های کامل، نصف و صفر عناصر ریزمغذی می‌باشد. میانگین‌هایی که در هر ردیف و ستون دارای حروف مشابه هستند از نظر آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری درسطح احتمال ۵ درصد ندارند.

منابع

Angle, J.S., A. Heggo, and R.L. Chaney. 1989. Soil pH, rhizobia, vesicular-arbuscular mycorrhiza inoculation effect on growth and heavy metal uptake of alfalfa (*Medicago Sativa* L.). Biol Fertil Soils. 8: 61-65.

Caris, C., W. Hördt, H.J. Hawkins, V. Römheld and E. George. 1998. Studies of iron transport by arbuscular mycorrhizal hyphae from soil to peanut and sorghum plants. Mycorrhiza. 8: 35-39.

Liu, A., C. Hamel, R.I. Hamilton, B.L. Ma and D.L. Smith. 2000. Acquisition of Cu, Zn, Mn and Fe by mycorrhizal maize (*Zea mays* L.) growing in soil at different P and micronutrient levels. Mycorrhiza. 9: 331-336.

Merryweather, J.W. and A.H. Fitter. 1991. Techniques in Arbuscular Mycorrhiza Research. York Mycorrhiza Research Group. UK.

Schreiner, P.R. 2007. Effect of native and non native arbuscular mycorrhizal fungi on growth and nutrient uptake of ‘Pinot noir’ (*Vitis vinifera* L.) in two soils with contrasting levels of phosphorus. Applied Soil Ecology. 36: 205-215.

Valentine, A.J., B.A. Osbarne and D.T. Mitchell. 2001. Interactions between phosphorus supply and total nutrient availability on mycorrhizal colonization, growth and photosynthesis of cucumber. Science Horticulturae. 88: 177-189.

اثرات بیومکانیکی تک درختان راش بر تغییرپذیری جمعیت کرم های خاکی لمبریسیده

سکینه ملائی دارابی[1] ، یحیی کوچ[2] و سید محسن حسینی[3]
[1]دانشجوی کارشناسی ارشد جنگلداری، [2]استادیار گروه جنگلداری، [3]دانشیار گروه جنگلداری، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی نور، دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه

در مفاهیم اکولوژی، بی‌نظمی و یا آشفتگی به عنوان بخش مهمی از پویایی توده‌های جنگلی محسوب می‌شود (Samonil, et al. 2009). مهمترین نوع آشفتگی‌ها در جنگل‌های معتدله، وزش بادهای شدیدی است که منجر به ریشه‌کن شدن درختان در اکوسیستم‌های جنگلی شده و نهایتاً باعث بر هم خوردگی خاک‌ها می‌شوند (Nachtergale, et al. 2002). ریشه‌کن شدن درختان اثرات مهمی را بر اکولوژی جنگل ایجاد کرده و دلالت-هایی را برای مدیریت جنگل ایجاب می‌نماید. در ارتباط با اکولوژی ریشه‌کن شدن درختان در اکوسیستم‌های جنگلی مطالعات مختلف توسط محققان متعددی (Phillips, et al. 2008) صورت گرفته است. بادافتادگی در توده‌های جنگلی راش اثرات معنی‌داری را بر روی ساختار جنگل، ترکیب گونه‌ها، مشخصه‌های فیزیکوشیمیایی و بیولوژیکی خاک ایجاد می‌نماید (کوچ، ۱۳۹۱). جانداران خاکزی به ویژه کرمهای خاکی هم به عنوان مصرف-کننده در فرآیندهای خاک شرکت دارند و هم در چرخه مواد غذایی و انرژی که رشد گیاهان به آن وابسته است عامل اصلی محسوب می‌شوند. این ارگانیسم‌ها، اثر مستقیم و غیر مستقیم روی تولید و بهره‌وری زمین دارند. از آنجایی که هر گونه دخالت و آشفتگی در جنگل علاوه بر تغییر محیط، بر جمعیت کرم خاکی نیز تأثیرگذار است لذا بایستی وضعیت تراکم و زیتوده کرم خاکی مطالعه شود تا بتوان در آینده تأثیر تغییرات محیط را بر آن بررسی کرد. این تحقیق به منظور بررسی عکس‌العمل کرم‌های خاکی لمبریسیده به میکروتوپوگرافی حادث شده از ریشه‌کن شدن درختان (پیت و ماند) راش در یک توده جنگلی طبیعی صورت گرفته است و به عنوان اولین تحقیق در این زمینه می‌باشد که تاکنون در ارتباط با آن تحلیلی در داخل کشور صورت نگرفته است.

مواد و روشها

منطقه مورد مطالعه

این تحقیق در جنگل دارابکلا از توابع شهرستان ساری انجام شد. این منطقه در سری ۱ حوزه آبخیز دارابکلا واقع گردیده که دارای دامنه ارتفاعی ۱۲۰۰ – ۱۰۰ متر از سطح دریا و طول جغرافیایی ″۳۹ ′۱۸ °۵۳ تا ″۲۰ ′۲۷ °۵۳ شرقی و عرض جغرافیایی ″۵۶ ′۳۵ °۳۶ تا ″۲۳ ′۲۹ °۳۶ شمالی می‌باشد. میانگین بارندگی سالیانه ۹۶۰ میلی‌متر، حداکثر و حداقل میانگین دمای ماهیانه به ترتیب در تیر و مرداد ۲۸ و در بهمن ۹٫۸ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. به منظور انجام این پژوهش، پارسل شماره ۱۶واقع در جنگل مذکور مد نظر قرار گرفت. این پارسل با مساحت۳۴ هکتار، عرصه حفاظتی بوده و در آن راش با گونه‌های ممرز، انجیلی، نمدار، توسکای ییلاقی، بلوط، شیردار، پلت و بارانک همراه می‌باشد. سنگ مادر آهکی- مارنی و خاک محدوده مورد مطالعه، قهوه‌ای شسته شده و بافت خاک، سیلتی- کلی- لومی می‌باشد.

انتخاب نقاط مطالعاتی و نمونه‌برداری

در عرصه مورد مطالعه، موقعیت کلیه پیت و ماندها با عمق و ارتفاع حداقل ۰/۳ متر از گونه راش برداشت و ثبت شد. بر اساس مستندات موجود، شدت پوسیدگی خشکه‌دارهای افتاده (حاوی ساختار پیت و ماند) به چهار درجه پوسیدگی به ترتیب زیر تعریف گردید (Motta, et al. 2006)، که تشخیص شدت پوسیدگی از طریق بصری امکان‌پذیر بوده است. درخت تازه خشک شده، برگ و جوانه وجود ندارد و پوست و ظاهر درخت هنوز تغییر رنگ فاحشی نکرده است (درجه پوسیدگی ۱، این نوع خشکه‌دار کمتر از ۵ سال از زمان خشک شدن آن گذشته است). درخت شروع به تجزیه کرده، رنگ چوب تغییر نموده، قهوه‌ای شده و سفیدک دیده می‌شود ولی هنوز چوب سفت است و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن عوض نشده است (درجه پوسیدگی ۲، این خشکه‌دار بین ۱۰- ۵ سال از زمان خشک شدن آن گذشته است). پوسیدگی پیشرفته‌تر است، رنگ آن کاملاً تغییر یافته و خصوصیات فیزیکی و مکانیکی چوب کاملاً عوض شده است و ترک می‌خورد و رنگ آن تیره‌تر شده و فرم و شکل اولیه را از دست داده است (درجه پوسیدگی ۳، این خشکه‌دار بین ۱۵ - ۱۰ سال از زمان خشک شدن آن گذشته است). چوب کاملاً پوسیده شده است و اصطلاحاً ذوب شده است و چوب براحتی در مقابل ضربه خرد شده و ریز می‌شود (درجه پوسیدگی ۴، این خشکه‌دار بیش از ۱۵ سال از زمان خشک شدن آن گذشته است). از آنجا که خشکه‌دارهای افتاده در مجاورت پیت و ماند واقع می‌باشند سن پیت و ماند معادل سن خشکه‌دار در نظر گرفته شد (Oheimb, et al. 2007). برای انجام تحقیق حاضر، پنج درخت افتاده از هر یک از درجات پوسیدگی (به ترتیب شامل پیت و ماند جوان، میانسال، بالغ و کهنسال) مدنظر قرار گرفت. نمونه‌های خاک از سه موقعیت بالای ماند، ته پیت و زیر تاج پوشش بسته از دو عمق ۱۵ -۰ و ۳۰ - ۱۵ سانتی‌متری گرفته شد.

شناسایی و تفکیک کرم‌های خاکی لمبریسیده

همزمان با نمونه‌برداری خاک، کرم‌های خاکی به روش دست‌چین کردن از خاک جدا شدند. کرم‌های خاکی لمبریسیده بر اساس زیستگاه و خصوصیات ظاهری در سه طبقه قرار می‌گیرند: الف) اپی‌ژئیک- که به ساکنین لاشبرگ معروفند. اندازه بدنشان کمتر از ۱۰ سانتی‌متر بوده، کوچک و قرمز رنگ می‌باشند. ب) آنسئیک- که به ساکنین خاک معروفند. اندازه بدنشان بزرگتر از ۱۵ سانتی‌متر بوده، متمایل به قهوه‌ای رنگ با اندازه متوسط تا بزرگ می‌باشند. ج) اندوژئیک- که حفاران عمیق زیرزمینی خوانده می‌شوند. اندازه بدنشان کمتر از ۱۵ سانتی‌متربوده، بدون رنگریزه با اندازه کوچک تا متوسط می‌باشند. تمامی کرم‌های خاکی پس از شناسایی تمیز و شمارش شده و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند و سپس وزن آنها بوسیله ترازو تا دقت میلی‌گرم اندازه‌گیری شد (کوچ، ۱۳۹۱).

تحلیل آماری داده‌ها

با توجه به عدم نرمال بودن داده‌ها، آنالیز ناپارامتریک کروسکال‌والیس و مقایسه یومن ویتنی به منظور بررسی سنین مختلف پیت و ماند، موقعیت‌ها و عمق‌های خاک از نظر تراکم و زیتوده کرم‌های خاکی لمبریسیده استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری کلیه داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS 11.5 صورت گرفت.

نتایج و بحث

نتایج حاکی از آنست با افزایش سن پیت و ماند، جمعیت گروههای اپی‌ژئیک کرم‌های خاکی لمبریسیده افـزایش معنی‌داری پیدا کرده است. در حالی که دو گروه دیگـر (آنسـئیک و انـدوژئیک) تفـاوت آمـاری معنـی‌داری را بـه نمایش نگذاشته‌اند (جدول ۱). بررسی موقعیت‌های مختلف نشان داد که همگی موقعیت‌هـای مـورد مطالعـه اثـر معنی‌داری بر جمعیت کرم‌های خاکی لمبریسیده داشته‌اند (جدول ۲). بیشترین تراکم و زیتوده کرم‌های اپی‌ژئیـک و آنسئیک به موقعیت پیت اختصاص داشته در حـالی کـه بیشـترین جمعیـت و زیتـوده کـرم‌هـای انـدوژئیک در موقعیت زیر تاج پوشش بسته مشاهده شد (جدول ۲). با افزایش عمق، جمعیـت و زیتـوده کـرم‌هـای اپـی‌ژئیـک کاهش معنی‌داری داشته در حالی که گروههای آنسئیک و اندوژئیک تفاوت آماری معنی‌دار نشان نداد (جدول ۳). مطابق با نتایج تحقیق حاضر، Nachtergale, et al. (2002) اذعان داشت که افزایش جمعیـت گـروه اکولوژیـک کرم‌های خاکی اپی‌ژییک‌ها در داخل پیت‌ها در واقع پاسخی اسـت بـه تجمـع بیشـتر لاشـبرگ درختـان در ایـن میکروسایت بطوری که پیت‌ها با شکل و ساختار ویژه‌ای که در کف جنگل ایجاد می‌کنند شرایطی را بوجود مـی-آورند که منجر به افزایش ضخامت تجمع لاشبرگ و آب انباشته شده در نتیجه زیتوده اپی‌ژییک‌ها افـزایش مـی-یابد. در تحقیق حاضر، گروههای مختلف کرم‌های خاکی بجز در موقعیت ماند در دیگر موقعیت‌های مورد بررسی مشاهده شدند. ماندها معمولاً سطوحی مرتفع را بر روی خاک‌های سطحی ایجاد می‌کنند و دارای حجـم خـاک و درجه حرارت بیشتری نسبت به ارتفاعات پایین‌تر می‌باشند (Londo, 2001). از طرفی حرارت خاک روی تـراکم و زیتوده کرم‌های خاکی و پراکنش آن ها در عمق تأثیر بسزایی مـی‌گـذارد (Brady, 1990) لـذا رطوبـت پـایین و حرارت بالا بر روی میکروسایت ماند شرایط کشنده‌ای را برای کرم‌های خاکی ایجاد کرده (Nachtergale, et al. 2002) و مانع از حضور گروههای مختلف کرم‌های خاکی شده است. کرم‌های اندوژئیک به شرایط نوری شدید و حرارت ایجاد شده در فضای حفرات خالی ایجاد شده بیشتر از دو گروه دیگر کرم‌ها حساس بوده لذا از آنجایی که دارای قدرت حفاری بالاتری نسبت به دو گروه دیگر کرم هستند (کوچ، ۱۳۹۱) به قسمت‌های عمیق‌تر لایه‌هـای خاک مهاجرت کرده و در عمق ۱۵ – ۰ سانتی‌متری تراکم کمتری داشته‌اند. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد کـه کرم‌های خاکی می‌توانند بطور مؤثر به عنوان یک بیواندیکاتور (شاخص زیستی) در ارزیـابی تغییـرات تـوده‌هـای جنگلی بعد از آشفتگی‌ها بکار گرفته شوند.

جدول ۱- نتایج آزمون کروسکال‌والیس برای تراکم و زیتوده کرم‌های خاکی در سنین مختلف پیت و ماند

میکروسایت‌ها / متغیرها		اپی‌ژئیک		آنسئیک		اندوژئیک	
		تراکم	زیتوده	تراکم	زیتوده	تراکم	زیتوده
سن پیت و ماند	جوان	۰/۰۶	۰/۴۴	۰/۱۰	۰/۸۶	۰/۰۳	۰/۲۰
	میانسال	۰/۰۳	۰/۳۲	۰/۱۶	۱/۷۳	۰/۰۶	۰/۶۸
	بالغ	۰/۱۰	۰/۹۵	۰/۱۳	۱/۲۸	۰/۱۶	۱/۸۰
	کهنسال	۰/۶۰	۶/۰۵	۰/۲۶	۲/۹۰	۰/۱۰	۱/۰۷
مشخصه‌های آماری	مربع کای	۱۵/۸۶۴	۱۶/۱۲۳	۲/۷۴۶	۲/۸۵۷	۰/۶۸۸	۰/۶۹۹
	درجه آزادی	۳	۳	۳	۳	۳	۳
	سطح معنی‌داری	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۴۳۲	۰/۴۱۴	۰/۸۷۶	۰/۸۷۳

جدول ۲- نتایج آزمون کروسکال‌والیس برای تراکم و زیتوده کرم‌های خاکی در موقعیت‌های مختلف

میکروسایت‌ها / متغیرها		اپی‌ژئیک		آنسئیک		اندوژئیک	
		تراکم	زیتوده	تراکم	زیتوده	تراکم	زیتوده
موقعیت‌ها	پیت	۰/۵۰	۴/۸۲	۰/۲۶	۲/۶۷	۰/۰۷	۰/۸۰
	ماند	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰
	زیر تاج بسته	۰/۱۰	۱/۰۰	۰/۲۵	۲/۴۲	۰/۲۰	۲/۰۲
مشخصه‌های	مربع کای	۱۳/۹۵۵	۱۳/۸۲۱	۹/۱۱۹	۹/۰۹۳	۷/۱۶۴	۷/۱۲۹
آماری	درجه آزادی	۲	۲	۲	۲	۲	۲
	سطح معنی‌داری	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۱۰	۰/۰۱۱	۰/۰۲۸	۰/۰۲۸

جدول ۳ - نتایج آزمون یومن ویتنی برای تراکم و زیتوده کرم‌های خاکی در عمق‌های مختلف خاک

عمق خاک / متغیرها		اپی‌ژئیک		آنسئیک		اندوژئیک	
		تراکم	زیتوده	تراکم	زیتوده	تراکم	زیتوده
عمق	۱۵-۰ سانتی‌متر	۰/۳۵	۳/۳۵	۰/۲۱	۲/۱۳	۰/۰۸	۰/۷۳
	۳۰-۱۵ سانتی‌متر	۰/۰۵	۰/۵۳	۰/۱۱	۱/۲۶	۰/۱۰	۱/۱۵
مشخصه‌های	یومن ویتنی	۱۴۷۵/۵۰۰	۱۴۷۵/۵۰۰	۱۶۲۶/۰۰۰	۱۶۲۸/۰۰۰	۱۷۹۹/۰۰۰	۱۷۹۷/۵۰۰
آماری	مقدار Z	-۳/۱۵۸	-۳/۱۵۷	-۱/۵۴۸	-۱/۵۲۸	-۰/۰۱۴	-۰/۰۳۵
	سطح معنی‌داری	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۱۲۲	۰/۱۲۷	۰/۹۸۹	۰/۹۷۲

منابع

کوچ، ی.، ۱۳۹۱. تغییرپذیری ویژگی‌های خاک در ارتباط با پیت و ماند، حفره تاج پوشش و تک درختان در یک جنگل آمیخته راش هیرکانی، رساله دکتری جنگلداری، دانشگاه تربیت مدرس.

Brady NC, 1990. The nature and properties of soils. 10th ed., Macmillan, USA.

Londo AJ, 2001. Bucket mounding as a mechanical site preparation technique in wetlands. NIAF. 18: 7-13.

Motta R, Berretti R, Lingua E, and Piussi P, 2006. Corse woody debris, forest structure and regeneration in the Vulbona forest reserve, Paneveggio, Italian Alps. Forest Ecology and Management 235: 55-163.

Nachtergale L, Ghekiere K, Schrijver AD, Muys B, Lussaert S, and Lust N, 2002. Earthworm biomass and species diversity in windthrow sites of a temperate lowland forest. Pedobiologia 46: 440- 451.

Oheimb GV, Friedel A, Bertsch A, and Hardtle W, 2007. The effects of windthrow on plant species richness in a Central European beech forest. Plant Ecology 191: 47- 65.

Phillips J, Marion DA, and Tukington AV, 2008. Pedologic and geomorphic impacts of a tornado blow down event in a mixed pine - hardwood forest. Catena 75: 278-287.

Samonil P, Antolik L, Svoboda M and Adam D, 2009. Dynamics of windthrow events in a natural fir-beech forest in the Carpathian Mountains. Forest Ecology and Management 257: 1148 - 1156.

بررسی تأثیر خصوصیات فیزیکوشیمیایی و ذخایر نیتروژن خاک بر فعالیت آنزیم‌های ال-آسپاراجیناز و ال-گلوتامیناز در شماری از خاک‌های استان اصفهان

الهام میرپاریزی[۱]، فرشید نوربخش[۲]، محمد مهدی مجیدی[۳]

۱-دانشجوی دکترا خاکشناسی علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان ، ۲-استاد دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان ، ۳- دانشیار دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان

مقدمه

نیتروژن پرمصرف‌ترین عنصر مورد نیاز گیاهان می‌باشد. در اکوسیستم‌های خاکی نیتروژن قابل دسترس اغلب یکی از عوامل محدودکننده رشد گیاهان است. این عنصر در خاک بیش‌تر در قالب مولکول‌های آلی قرار دارد و بر اثر فعالیت آمیدوهیدرولازها به فرم معدنی در آمده تا برای گیاهان قابل جذب شود. تمامی آمیدوهیدرولازها در هیدرولیز نیتروژن آلی بومی و نیتروژن آلی اضافه شده به خاک دخالت دارند (تیت، ۲۰۰۰). برخی شواهد نشان می‌دهد که قسمتی از آمونیوم آزاد شده در اثر هیدرولیز ال-آسپاراجین و ال-گلوتامین در ماده آلی خاک باقی می ماند (طباطبایی، ۱۹۹۴). سودان (۱۹۵۸) گزارش کرد که طی هیدرولیز اسید، درصدی از آمونیوم آزاد شده تقریباً مساوی با مجموع ال-آسپاراتیک اسید و ال-گلوتامیک اسید آزاد شده از آسپاراجین و گلوتامین است. لذا با اندازه‌گیری ویژگی‌هایی از خاک که اندازه‌گیری آن‌ها سهولت بیش‌تری دارند، می‌توان برآوردی از شاخص‌های بیولوژیک در خاک را به‌دست آورد. از طرف دیگر با کسب اطلاعات لازم در مورد عوامل مؤثر بر فعالیت‌های آنزیمی در خاک‌های مورد مطالعه می‌توان به حضور آنزیم‌ها در این خاک‌ها پی برد.

مواد و روشها

مجموعه خاک‌های مورد مطالعه(۲۲ نمونه) از عمق ۱۵-۰ سانتی‌متری از مزارع تحت کشت گندم و جو برداشت شدند. بافت خاک به روش هیدرومتر (گی و باودر، ۱۹۸۶)، مقدار pH و هدایت الکتریکی (ECe) خاک‌ها در سوسپانسیون ۱ به ۲/۵ (رودس، ۱۹۸۲)، کربن آلی به روش واکلی بلاک (نلسون و سامرز، ۶۱۹۸) و کربنات کلسیم معادل خاک‌ها با استفاده از روش خنثی‌سازی با اسید و تیتراسیون برگشتی با سود و در حضور معرف فنول فتالئین(آلیسون، ۱۹۶۵)، به عنوان خصوصیات فیزیکوشیمیایی تعیین شدند. پتانسیل معدنی‌شدن نیتروژن طی دوره انکوباسیون ۳ ماهه (PMN) با استفاده از روش ارائه شده توسط کینی و نلسون،۱۹۸۲ و مقدار نیتروژن معدنی‌شده در شرایط بی هوازی(N_{ana}) با استفاده از روش ارائه شده توسط باندی و میسینگر به عنوان ذخایر نیتروژن اندازه‌گیری شدند (باندی و میسینگر،۱۹۹۴). به منظور بررسی جذب نیتروژن از نمونه خاک‌های مورد مطالعه، کشت گلخانه‌ای گیاه شاهی از خانواده چلیپاییان(*Lepidium sativum*) در قالب طرح کاملاً تصادفی در گلخانه دانشگاه صنعتی اصفهان انجام گرفت. غلظت نیتروژن گیاه به روش کلدال بر حسب µg dry weight $N\ g^{-1}$ (برمنر و مولوانی، ۱۹۹۶) و جذب نیتروژن توسط گیاه شاهی طبق رابطه زیر به‌دست آمد.

جذب نیتروژن توسط گیاه ($\mu g\ N\ pot^{-1}$) = غلظت نیتروژن ($\mu g\ N\ g^{-1}$ dry weight) × عملکرد ($g\ pot^{-1}$)

به منظور بررسی تأثیر هر یک از پارامترهای اندازه‌گیری شده بر فعالیت‌های آنزیمی در خاک، فعالیت آنزیم‌های ال–آسپاراجیناز و ال–گلوتامیناز با استفاده از روش ارائه شده توسط فرانکنبرگر و طباطبایی(۱۹۹۱a) و فرانکنبرگر و طباطبایی(۱۹۹۱b) اندازه‌گیری شد.

نتایج و بحث

خلاصه‌ای از ویژگی‌های خاک‌های مورد مطالعه در جدول۱ نشان داده شده است. انتخاب خاک‌ها به گونه‌ای بود که سطح وسیعی از انواع خاک‌های مهم منطقه را شامل شود. خاک‌های مورد مطالعه بافت‌های متفاوتی از لوم شنی تا رسی را داشتند. کلیه خاک‌ها آهکی بوده و تعدادی از این خاک‌ها در محدوده خاک‌های شور قرار گرفتند(جدول ۱).

جدول ۱- خلاصه‌ای از ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی اندازه‌گیری شده در مطالعه ۲۲ نمونه خاک

	رس	سیلت	شن	pH	ECe[۱]	OC[۲]	CCE[۳]	N_i[۴]
	(٪)	(٪)	(٪)		$dS\ m^{-1}$	$g\ kg^{-1}$	$g\ kg^{-1}$	$mg\ N\ kg^{-1}$
حداقل	۵	۱۱	۵	۷/۲	۱/۱	۰/۵	۱۰۴	۱۹/۳
حداکثر	۵۷	۵۱	۸۴	۷/۹	۳۱/۵	۲۳/۷	۵۷۴	۴۸/۳
میانگین	۳۵/۱۸	۳۴/۹۵	۲۹/۸۶	۷/۶۳	۶/۵	۱۱/۸	۳۹۳	۳۰/۷
ضریب تغییرات[۵] (٪)	۳۹/۰۲	۲۹/۴۹	۶۴/۱۵	۲/۶۹	۱۳۱	۵۰/۷	۳۴	۲۵/۴

۱- هدایت الکتریکی عصاره اشباع، ۲- کربن آلی، ۳- کربنات کلسیم معادل، ۴- نیتروژن معدنی اولیه، ۵- Coeficient of variation

رابطه همبستگی ساده بین فعالیت آنزیم‌های ال–آسپاراجیناز و ال–گلوتامیناز با صفات فیزیکوشیمیایی و ذخایر نیتروژن در جدول ۲ ملاحظه می‌شود. در نمونه خاک‌های مورد مطالعه، بین فعالیت این آنزیم‌ها با درصد ذرات خاک رابطه معنی‌داری به‌دست نیامد. چنین به نظر می‌رسد که در این خاک‌ها مولکول‌های آنزیم جذب سطحی کلوئیدهای آلی خاک شده‌اند و این سطوح با داشتن فعالیت‌های کلوئیدی و الکترواستاتیکی قوی توانسته‌اند مولکول‌های آنزیم را در سطح خود جذب کنند از این رو بیش‌ترین تغییرات فعالیت آنزیم‌ها در این خاک‌ها ناشی از کربن آلی است (جدول ۲). فرانکنبرگر و طباطبایی(c ۱۹۹۱) و(d ۱۹۹۱) نیز بین فعالیت آمیدوهیدرولازها و درصد شن و رس هیچ رابطه معنی‌داری به‌دست نیاوردند. این محققین بین کربن آلی با فعالیت آنزیم ال–آسپاراجیناز ($r = ۰/۸۶^{***}$) و فعالیت آنزیم ال–گلوتامیناز ($r = ۰/۷۹^{***}$) همبستگی معنی‌داری را در خاک‌های آیوا به‌دست آوردند. بین کربنات کلسیم اندازه‌گیری شده و فعالیت آنزیم ال–گلوتامیناز رابطه معکوس معنی‌داری به دست آمد ($r = -۰/۴۴^{*}$). آنزیم ال–گلوتامیناز رفتار درون سلولی و برون سلولی داشته. آهک با تأثیری که بر روی این دو منشاء می‌گذارد از فعالیت این آنزیم جلوگیری می‌کند. به‌نحوی که آهک پتانسیل جذب سطحی زیادی برای حفاظت آنزیم نداشته است. از طرفی با افزایش آهک در خاک از فعالیت‌های میکروبی کاسته شده در نتیجه تولید آنزیم نیز مختل می‌شود. پتانسیل معدنی‌شدن نیتروژن در شرایط هوازی با فعالیت آنزیم‌های ال–آسپاراجیناز ($r = ۰/۵۶^{**}$) و ال– گلوتامیناز ($r = ۰/۶۱^{**}$) همبستگی معنی‌داری را نشان داد. این آنزیم‌ها از آمیدوهیدرولازهای مهم در چرخه نیتروژن هستند و نیتروژن را از شکل آلی به شکل معدنی تبدیل می‌کنند، بنابراین با مطالعه ذخایر آنزیمی خاص می‌توان به معدنی‌شدن نیتروژن در

خاک‌ها پی برد(جدول ۲). اکنلر و طباطبایی (۲۰۰۴) نشان دادند که فعالیت آنزیم بتا–گلوکزآمینیداز با مقدار نیتروژن معدنی تولید شده در شرایط انکوباسیون هوازی در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد در مدت ۱۴ روز همبستگی معنی‌داری داشته است. ($r = ۰/۴۷^{***}$). پتانسیل معدنی‌شدن نیتروژن در شرایط بی‌هوازی با فعالیت آنزیم‌های ال–آسپاراجیناز($r = ۰/۵۱^{*}$)، ال– گلوتامیناز($r = ۰/۴۸^{*}$) همبستگی معنی‌داری را نشان داد. به نظر می‌رسد که این آنزیم‌ها سوبسترای خود را در این بخش از نیتروژن جستجو می‌کنند(جدول ۲). همبستگی بسیار نزدیک و معنی‌داری بین فعالیت آنزیم ال–گلوتامیناز با فعالیت آنزیم ال–آسپاراجیناز وجود دارد ($r = ۰/۹۱^{***}$). همبستگی معنی‌دار بین فعالیت این دو آنزیم را می‌توان به حضور همزمان سوبستراهای این دو آنزیم (آمینواسیدهای ال–گلوتامین و ال–آسپاراجین) در خاک دانست.

جدول ۲–رابطه همبستگی ساده بین فعالیت آمیدوهیدرولازها و صفات فیزیکو شیمیایی و و ذخایر نیتروژن در مطالعه ۲۲ نمونه خاک

خصوصیت خاک	LA[۱]	LG[۲]	ذخایر نیتروژن	LA	LG
رس (٪)	۰/۲۲^{ns}	۰/۰۹^{ns}	N_i[۶] (mg N kg^{-1})	۰/۳۴^{ns}	۰/۳۴^{ns}
سیلت (٪)	۰/۱^{ns}	۰/۱۵^{ns}	NO_3^-[۷] (mg N kg^{-1})	۰/۳۸^{ns}	۰/۳۴^{ns}
شن (٪)	−۰/۲۱^{ns}	−۰/۱۵^{ns}	PMN[۸] (mg N kg^{-1})	۰/۵۶**	۰/۶۱**
pH	−۰/۲۱^{ns}	−۰/۴^{ns}	N_{ana}[۹] (mg NH_4^+-N kg^{-1}	۰/۵۱*	۰/۴۸*
ECe[۳] (ds/m)	−۰/۲۹^{ns}	−۰/۳۷^{ns}	غلظت نیتروژن گیاه (µg N g^{-1} dry weight)	۰/۶۲***	۰/۷۱***
OC[۴] (g kg^{-1})	۰/۷۸***	۰/۸***	جذب نیتروژن در گیاه (µg N pot^{-1})	۰/۷۳***	۰/۷۴***
CCE[۵] (g kg^{-1})	−۰/۳۷^{ns}	−۰/۴۴*			

* ، ** ، *** و ^{ns} به ترتیب بیانگر معنی‌دار بودن در سطح آماری ۰/۰۵، ۰/۰۱ ، ۰/۰۰۱ و غیر معنی‌دار است.

۱– فعالیت آنزیم ال–آسپاراجیناز($mg\ NH_4^+\text{-}N\ kg^{-1}\ h^{-1}$)،۲– فعالیت آنزیم ال–گلوتامیناز($mg\ NH_4^+\text{-}N\ kg^{-1}\ h^{-1}$)، ۳– هدایت الکتریکی عصاره اشباع، ۴– کربن آلی، ۵– کربنات کلسیم معادل، ۶– نیتروژن معدنی اولیه، ۷– نیترات، ۸– پتانسیل معدنی‌شدن نیتروژن در شرایط هوازی، ۹– معدنی‌شدن نیتروژن در شرایط بی‌هوازی

جذب نیتروژن گیاه و غلظت نیتروژن گیاه با فعالیت آنزیم‌ها همبستگی معنی‌داری را نشان داد(جدول ۲). بارکت و دیک (۱۹۹۸) در مطالعات خود اظهار داشتند که بین نیتروژن جذب شده توسط چاودار و فعالیت آنزیم های آسپاراجیناز، آمیداز، اوره‌آز، دی پپتیداز و بتا–گلوکوزیداز ارتباط وجود دارد.

همبستگی‌های چند متغیره گام به گام

نتایج بررسی همبستگی چند متغیره برای فعالیت دو آنزیم نشان می‌دهد که، کربن آلی (OC) ۶۳ درصد و هدایت الکتریکی عصاره اشباع (ECe) ۱۲ درصد سهم تغییرات مدل فعالیت آنزیم ال–گلوتامیناز (LG) را توجیه می‌کنند که معادله برازش شده آن در سطح احتمال ۰/۰۳ در رابطه [۱] نشان داده شده است.

$$LG = -۹/۹۶ + ۱۷/۶۷\ OC - ۵/۵\ ECe \qquad R=۰/۷۶^{***} \qquad [۱]$$

نتایج رگرسیون چند متغیره بین فعالیت آنزیم ال–آسپاراژیناز (LA) و پارامترهای اندازه گیری شده نشان داد که کربن آلی (OC) ۶۰ درصد و جذب نیتروژن توسط گیاه (Plant N Uptake) ۱۰ درصد تغییرات مدل را سطح احتمال ۰/۰۳ توجیه می‌کنند که معادله به دست آمده به صورت زیر است (رابطه [۲]).

$$LA=-۶/۳۴ + ۱/۰۱\ OC + ۰/۰۰۱\ \text{Plant N Uptake} \qquad R=۰/۷۱^{***} \qquad [۲]$$

منابع

Tate, R.L. 2000, Soil Microbiology. John Wiley & Sons, Inc. New York USA. Pp. 508.

Tabatabai, M. A. 1994. Soil Enzymes. In: R. W. Weavar, J. S. Angel and P. S. Bottomely (Eds.), Methods of soil Analysis. Part 2. SSSA Book, Soil Science Society of America. WI. Pp.775-833.

Sowden, F. J. 1958. The forms of nitrogen in the organic matter of different horizons of soil profiles. J. Soil. Sci. 38:147-154.

Gee, W and W. Bauder. S1986. Particle Size Analysis. Pp.383-411. In: A. Klute(Ed.),Method of Soil Analysis. Part 1. Am. Soc. Agron. Madison. WI,USA.

Rhouds, J. D. 1982. Soluble Salts. Pp. 167-169. In: A. L. Page et al (Eds.), Methods of Soil Analysis, Part2. Am. Soc. Agron. Madison WI, USA.

Nelson, D. W and L. P. Sommers. 1986. Total carbon, organic carbon and organic matter. Pp. 539-579. *In*: A. L. Pag (Eds.), Method of Soil Analysis. Part 2. American Society of Agronomy, Madison WI, USA.

Allison, L. E., C. D. Modie. 1965. Carbonate. Pp. 1379-1396. *In:* Blck (Ed.), Method of Soil Analysis, Part 2. Am. Soc. Agron. Madison. WI, USA.

Keeney, D. R. and D. W. Nelson. 1982. Nitrogen-inorganic forms.In: A. L. Page (Eds),Methods of Soil Analysis. Part II. American Society of agronomy. Madison WI,USA. 643-698.

Bundy, L. G. and J. J. Meisinger. 1994. Nitrogen availability indices. Pp. 951-984. *In*: Weaver et al (Eds.), Methods of soil analysis. part 2. Soil Science Society of America, Madision, Wisconsin. USA.

Bremner, J. M. 1996. Nitrogen - Total. In: Sparks DL (ed). Methods of soil analysis, part 3. Soil Science S2w3ociety of America. Book Series 5, Madison, Wis. 1085-1121.

Frankenberger, W. T., M. A. Tabatabai. 1991a. L-asparaginase activity of soils. soil Biol. Fertil. Soils.11:6-12.

Frankenberger, W. T., M. A. Tabatabai. 1991b. L-glutaminase activity of soil. Soil Biol. Biochem. 23:869-874.

Frankenberger, Jr., W. T., M. A. Tabatabai. 1991c. Factors affecting L-glutaminase activity in soils. Soil. Biol. Biochem.. 23:875-879.

Frankenberger, Jr., W. T., M. A. Tabatabai. 1991d. Factors affecting L-asparaginase activity in soils. Biol. Fertil. Soil. 11:1-5.

Ekenler Mine and M. A. Tabatabai. 2004. B-Glucosaminidase Activity as an Index of Nitrogen Mineralization in Soils. Commun. Soil. Sci. Plant. Anal. 35:1081-1094.

Burket J., Z and R. P., Dick. 1998. Microbial and soil parameters in relation to N mineralization in soils of diverse genesis under different management systems. Biol Fertil Soils. 27:430-438

تأثیر قارچهای میکوریز آربوسکولار بر خصوصیات مورفولوژیک ریشه چمن در یک خاک آلوده به سرب

صلاح الدین مرادی[1]، جمال شیخی[2]
[1]دستیار علمی گروه کشاورزی دانشگاه پیام نور
[2]دانشجوی دکتری گروه علوم خاک دانشگاه تهران.

مقدمه

چمن گیاهی تک‌لپه‌ای از خانواده چمنیان با برگهای نازک است که رشد آن از پایه برگ (محل اتصال به ریشه) صورت می‌گیرد. چمن بیشترین نقش را در تصفیه هوا و کاهش آلودگی هوا را در محیط های شهری بر عهده دارد. سرب یک عنصر غیر ضروری در فرایند های متابولیک بوده و میتواند اکولوژی میکروبی و سلامت خاک را به مخاطره اندازد. میکوریزای آربسکولار رایج ترین نوع قارچهای میکوریزایی به شمار میروند. این نوع قارچها با طیف وسیعی از گیاهان ایجاد همزیستی میکنند. غلظت های بالای فلزات سنگین سبب اختلال در متابولیسم گیاه شده و آثار حاصل از آن بسته به نوع فلز سنگین، نوع گیاه و شرایط محیطی در هنگام وقوع تنش، متفاوت است. پر واضح است که سمیت فلزات سنگین وابسته به زیست فراهمی آنها است. در خاکهای آلوده به فلزات سنگین، حضور ریزجاندارانی مانند قارچهای میکوریز آربوسکولار در ریزوسفر، میتواند قابلیت دسترسی و سمیت فلزات سنگین را برای گیاه تغییر دهد و نقش اکولوژیک و زیست محیطی قابل توجهی در تثبیت فلزات سنگین توسط گیاه در خاکهای آلوده به این فلزات با ایجاد کمپلکسهای نامحلول، ایفا کند و به نوبهٔ خود به بقای گیاهان میکوریزی کمک کند (Biro and Takacs, 2007). فلزات سنگین به دلیل آثار بازدارنده ای که بر رشد و فعالیت گیاهان و ریزجانداران دارند، سیستم های همزیست را به طور منفی تحت تأثیر قرار میدهند (Paudyal et al., 2007). هدف از انجام تحقیق حاضر، بررسی اثرات سرب بر رشد و خصوصیات مورفولوژیک ریشه و همچنین بررسی تأثیر قارچ های میکوریز آربسکولار گونه های گلوموس موسه و گلوموس اینترارادیسز بر خصوصیات مورفولوژیک ریشه گیاه چمن در یک خاک آلوده به سرب بود.

مواد و روشها

جهت انجام این تحقیق خاکی شنی با مقادیر کم ماده آلی، فسفر و عناصر کم مصرف از عمق ۲۰-۰ سانتیمتری انتخاب گردید. خاک مورد نظر پس از گذراندن از الک ۴ میلیمتری به مدت چهار ساعت در اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد و فشار ۱/۵ بار استریل شده و به داخل گلدان های ۵ کیلوگرمی انتقال یافت (امانی فر و همکاران، ۱۳۹۰). سطوح غلظت سرب شامل صفر، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم سرب بر کیلوگرم خاک (به ترتیب Pb0، Pb1 و Pb2) در خاک استریل بود. نمک نیترات سرب را در آب مقطر برای رسیدن به حد رطوبت Fc حل کرده و پس از گذرانیدن از فیلتر ۰/۴۵ میکرومتر به خاک اسپری شد و برای رسیدن به حالت تعادل، دو هفته در کیسه های پلاستیکی با حفظ رطوبت Fc نگهداری شد. همچنین جهت یکسان سازی اثر نیترات، با در نظر گرفتن بیشترین تیمار سرب، غلظتهای برابر از نیترات با استفاده از نمک نیترات سدیم در همه تیمارها ایجاد شد (امانی فر و همکاران، ۱۳۹۰). بذور چمن پس از ضدعفونی سطحی، جوانه دار شده و در هر گلدان ۵ بذر کشت گردید. ۲۰۰ گرم مایه تلقیح با خاک سطحی گلدانها مخلوط گردید. سطوح میکوریز شامل شاهد (بدون

تلقیح میکوریز؛ ۰)، میکوریز آربسکولار گلوموس موسه (M)، میکوریز آربسکولار گلوموس اینترارادیسز (I) و تلفیق دو نوع میکوریز (M+I) بود. گلدان ها در گلخانه با نور طبیعی و درجه حرارت ۱۵ تا ۳۰ درجه سانتی گراد و طول روز ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت خاموشی در دانشگاه پیام نور مرکز مریوان واقع در استان کردستان کشت گردیدند. گلدان ها در گلخانه به مدت ۶۰ روز نگه داری شدند. با پایان یافتن دوره رشد گیاه، خاک های موجود در گلدان ها شسته شدند طوری که ریشه ها آسیب نبینند و گیاه بصورت کامل برداشت شد. سپس پارامترهای وزن تر، طول و حجم ریشه به دقت اندازه گیری شد. نمونه های ریشه در داخل پاکت های مخصوص گذاشته شد و به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد (Islam et al., 2007) در آون قرار گرفت. پس از آن نمونه ها از آون خارج شده و وزن خشک آنها اندازه گیری شد. اطلاعات بدست آمده از این پژوهش، مطابق قالب آماری طرح، به کمک نرم افزارهای SAS (نسخه ۹/۱) تجزیه واریانس و مقایسه میانگین ها به کمک آزمون دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

اثر سطوح سرب در خصوصات مورفولوژیک ریشه

همانطور که در جدول ۱ مشاهده میشود شاخص های رشدی ریشه چمن، به ویژه در سطوح بالای سرب، به طور معنی داری کاهش یافته است که این امر حاکی از اثر منفی سرب در رشد ریشه می باشد. اسلام و همکاران (۲۰۰۷) بیان داشتند که غلظت های بالای سرب در خاک، اثر منفی در حجم، طول و وزن تر و خشک ریشه، ارتفاع بوته و وزن تر و خشک اندام های هوائی گیاه دارد. تجمع سرب در خاک در درجه اول سیستم های ریشه گیاهان را تحت تاثیر قرار می دهد. ریشه گیاه با تغییر در میزان و الگوی رشد به سرعت در حال پاسخ به سرب جذب شده است در حالی که اندام های هوائی پاسخی کندتر و متفاوت تر از ریشه دارند.

جدول ۱- مقایسه میانگین خصوصیات مورفولوژیک ریشه برای تیمارهای سرب

سطوح سرب	وزن تر (gr)	وزن خشک (gr)	طول (cm)	حجم (cm^3)
Pb_0	۰/۵۵a*	۰/۱۸a	۶a	۲/۳۱a
Pb_1	۰/۳۸b	۰/۱۱b	۴/۸۱b	۱/۳۶b
Pb_2	۰/۲۸c	۰/۰۳c	۲/۵۶c	۰/۳۶c

* اعدادی که در هر ردیف یا ستون در یک حرف کوچک یا بزرگ مشترک می باشند، از لحاظ آماری با آزمون دانکن در سطح ۵ ٪ تفاوت معنی داری ندارد.

اثر سطوح میکوریز در خصوصات مورفولوژیک ریشه

نتایج این تحقیق نشان داد که همزیستی خوبی بین تمام تیمارهای قارچی استفاده شده با گیاه چمن بوجود آمد. نتایج جدول ۲ حاکی از آن است که کاربرد میکوریز سبب بهبود خصوصات مورفولوژیک ریشه گیاه چمن شده است. در تیمارهای میکوریز آربسکولار گلوموس موسه، وزن تر، وزن خشک، طول و حجم ریشه گیاه چمن به ترتیب به میزان ۷۵/۴۷، ۶۶/۶۶، ۸۴/۲۲ و ۸۲/۲۱ درصد نسبت به تیمار شاهد، بیشتر بود. کاربرد میکوریز آربسکولار گلوموس اینترارادیسز سبب شد تا وزن تر، وزن خشک، طول و حجم ریشه گیاه چمن به ترتیب به میزان ۷۲/۹۱، ۵۸/۳۳، ۸۱/۱۷ و ۷۵/۹۷ درصد نسبت به حالت عدم کاربرد آن، کاهش نشان دهد. نتایج همچنین نشان می دهد که کاربرد توام دو نوع میکوریز آربسکولار گلوموس موسه و گلوموس اینترارادیسز سبب شد تا وزن تر، وزن خشک، طول و حجم ریشه گیاه چمن به ترتیب به میزان ۷۲/۳۴، ۵۴/۵۴، ۷۶/۰۷ و ۷۳/۱۸

درصد نسبت به حالت عدم کاربرد آن، کاهش نشان دهد. مرادی و همکاران (۱۳۹۰) گزارش دادند که کاربرد سطوح مختلف قارچ های میکوریز آربسکولار گلوموس موسه و گلوموس اینترارادیسز سبب افزایش وزن تر ریشه گیاه نخود شد. در گیاهان میکوریزی به دلیل توسعه شبکه هیف قارچ در محیط پیرامون ریشه، سطوح جذب کننده آب بیشتر شده و بدین صورت هدایت هیدرولیکی ریشه افزایش می یابد که این امر منجر به افزایش فتوسنتز در گیاه شده که نتیجه نهایی آن در افزایش رشد و عملکرد گیاه مشاهده می شود. گیاهان میکوریزی به دلیل برخورداری از شرایط بهتر رشدی در مقایسه با گیاهان غیر میکوریزی، میزان بیومس بیشتری در سیستم ریشه ای دارند. همانطور که در جدول ۲ نیز مشاهده میشود شاخص های رشدی چمن میکوریزی، به طور معنی داری بیش از گیاهان غیر میکوریزی است.

جدول ۲- مقایسه میانگین خصوصیات مورفولوژیک ریشه برای تیمارهای میکوریز

سطوح میکوریز	وزن تر (gr)	وزن خشک (gr)	طول (cm)	حجم (cm^3)
0	۰/۱۳c*	۰/۰۵c	۱/۰۶d	۰/۳۷d
M	۰/۵۳a	۰/۱۵a	۶/۷۲a	۲/۰۸a
I	۰/۴۸b	۰/۱۲b	۵/۶۳b	۱/۵۴b
M+I	۰/۴۷b	۰/۱۱b	۴/۴۳c	۱/۳۸c

* اعدادی که در هر ردیف یا ستون در یک حرف کوچک یا بزرگ مشترک می باشند، از لحاظ آماری با آزمون دانکن در سطح ۵ ٪ تفاوت معنی داری ندارد.

اثر متقابل سطوح میکوریز و سرب در خصوصات مورفولوژیک ریشه

با توجه به جدول ۳، کمترین وزن تر و خشک، طول و حجم ریشه مربوط به تیمار بدون میکوریز آربسکولار (شاهد) و کاربرد ۴۰۰ میلی گرم سرب در هر کیلوگرم خاک بود.

جدول ۳- مقایسه میانگین خصوصیات ریشه برای اثرات متقابل دو جانبه سطوح سرب و میکوریز

سطوح سرب	سطوح میکوریز	وزن تر (gr)	وزن خشک (gr)	طول (cm)	حجم (cm^3)
Pb_0	0	۰/۱۸h*	۰/۰۷f	۲/۱f	۱/۰۳h
	M	۰/۷a	۰/۲۵a	۸/۴۳a	۲/۹۳a
	I	۰/۶۹a	۰/۲۲b	۷/۵b	۲/۸b
	M+I	۰/۶۴b	۰/۱۹c	۶c	۲/۵c
Pb_1	0	۰/۱۳i	۰/۰۶fg	۱/۰۳g	۰/۰۷i
	M	۰/۵۲c	۰/۱۴d	۷/۳۶b	۲/۰۳d
	I	۰/۴۲e	۰/۱e	۶/۴۳c	۱/۷۶e
	M+I	۰/۴۷d	۰/۱۳de	۴/۴۳d	۱/۶f
Pb_2	0	۰/۰۹j	۰/۰۱i	۰/۰۶h	۰/۰۲i
	M	۰/۳۸f	۰/۰۶fg	۴/۳۶d	۱/۳g
	I	۰/۳۵fg	۰/۰۴gh	۲/۹۶e	۰/۰۷i
	M+I	۰/۳۲g	۰/۰۳hi	۲/۸۶e	۰/۰۵i

* اعدادی که در هر ردیف یا ستون در یک حرف کوچک یا بزرگ مشترک می باشند، از لحاظ آماری با آزمون دانکن در سطح ۵ ٪ تفاوت معنی داری ندارد.

بیشترین مقادیر وزن تر و خشک، طول و حجم ریشه در تیمار میکوریز آربسکولار گلوموس موسه و بدون سرب (شاهد) بدست آمد. این نتایج نشان می دهد که در حضور مقادیر مختلفی از غلظت سرب، وجود قارچ میکوریز آربسکولار گلوموس موسه، به شدت از آثار منفی سرب در صفات مورفولوژیک ریشه چمن، به ویژه طول و حجم ریشه کاسته و گیاه را در مقابل غلظت های بالای سرب محافظت می کند. در صفات اندازه گیری شده در ریشه چمن در هر سه سطح سرب، اثر هر سه تیمار دارای میکوریز، بیشتر از اثر تیمار فاقد میکوریز بود. در سطوح بالای سرب، همزیستی میکوریزی با هر دو گونهٔ قارچی به طور معنی داری سبب افزایش وزن تر و خشک، طول و حجم ریشه، گردیده است. با توجه به این مسئله میتوان نتیجه گرفت که گیاهان میکوریزی به دلیل برخورداری از شرایط بهتر رشدی در مقایسه با گیاهان غیرمیکوریزی، توانائی و عملکرد بیشتری در سیستم ریشه ای دارند. بالا بودن وزن تر و خشک، طول و حجم ریشه گیاهان میکوریزی در مقایسه با گیاهان غیرمیکوریزی به ویژه در سطوح Pb1 و Pb2 عمدتاً به دلیل انتشار میسلیوم قارچهای میکوریزی و تشکیل یک سیستم جذب اضافی به صورت مکمل سیستم ریشه ای گیاه و تولید هورمونهای محرک رشد گیاه مانند اکسین و سیتوکینین میباشد و همین امر سبب بهبود تغذیه و تقویت رشد گیاهان میکوریزی میگردد (Neuman and Geouge, 2004). تغذیهٔ بهتر فسفر به عنوان یک عامل مهم، سبب رشد بهتر گیاهان میکوریزی میگردد و بطور کلی به نظر میرسد گیاهان میکوریزی شانس بیشتری برای بقا و رشد در شرایط خاکهای آلوده به فلز سنگین داشته باشند (Andrade et al., 2004).

با توجه به نتایج بدست آمده وجود همزیستی میکوریزی در ریشه می تواند در شرایط تنش سرب اثرات منفی فقدان سمیت آن را بر وزن تر و خشک ریشه تعدیل کرده و بدین روش سبب افزایش بیومس ریشه چمن گردد.

منابع

امانی فر، س.، علی اصغرزاده، ن.، نجفی، ن.، اوستان، ش. و بلندنظر، ص.، ۱۳۹۰. تأثیر قارچهای آربوسکولار بر ویژگی های رشد و گره بندی گیاه یونجه با باکتری سینوریزوبیوم ملیلوتی در یک خاک آلوده به سرب. مجموعه مقالات دوازدهمین کنگره علوم خاک ایران، تبریز، ایران.

مرادی، ص.، بشارتی، ح.، فیضی اصل، و. و اسمعیل پور، ا.، ۱۳۹۰. بررسی اثرات متقابل دو جانبه سطوح رطوبتی، قارچ میکوریز و باکتری ریزوبیوم در برخی صفات مورفولوژیک ریشه نخود. مجموعه مقالات دوازدهمین کنگره علوم خاک ایران، تبریز، ایران.

Andrade SAL, Abreu CA, Abreu MF and Silveria APD, 2004. Influence of lead addition on arbuscular mycorrhiza and rhizobium symbiosis under soybean plants. Applied Soil Ecology 26: 123-131.

Biro I and Takacs T, 2007. Effects of Glomus mossea strains of different origin on plant macro and micronutrient uptake in Cd polluted and unpolluted soils. Acta Agronomica Hungarica 55: 1-10.

Islam E, Yang X, Li T, Liu D, Jin X and Meng F, 2007. Effect of Pb toxicity on root morphology, physiology and ultrastructure in the two ecotypes of *Elsholtzia argyi*. Journal of Hazardous Materials 147: 806–816.

Neuman E and Geouge E, 2004. Colonization with AMF Glomus mosseae enhanced phosphate uptake from dry soil in Sorghum bicolor (L.). Plant and Soil 261: 245-255.

Paudyal SP, Aryal RR, Chauhan SVS and Maheshwari DK, 2007. Effect of heavy metals on growth of Rhizobium strains and symbiotic efficiency of two species of tropical legumes. Scientific World 5: 27-32.

بررسی تنوع گونه‌ای قارچ آربوسکولار میکوریزا در ریشه گندم و ماش تحت سطوح مختلف شوری خاک با روش qPCR

وجیهه درستکار[۱]، مجید افیونی[۲]، امیر حسین خوشگفتارمنش[۲]، محمدرضا مصدقی[۳]، فرهاد رجالی[۴]
۱- به ترتیب دانشجوی دکتری ، ۲- استاد دانشگاه صنعتی اصفهان،۳- دانشیار دانشگاه صنعتی اصفهان
۴- استادیار مؤسسه تحقیقات خاک و آب کرج

مقدمه

در بین جمعیت‌های میکروبی خاک، قارچ‌های میکوریزا از نظر اکولوژیکی بسیار مهم می‌باشند. هم‌زیستی با قارچ میکوریزا در اکثر اکوسیستم‌های طبیعی از جمله خاک‌های شور به فراوانی دیده شده و ۹۰ تا ۹۵ درصد گیاهان به نوعی همزیست این قارچ هستند (تیان و همکاران، ۲۰۰۴). هم‌زیستی گیاه با قارچ میکوریزا از طریق افزایش توانایی جذب عناصر غذایی و آب یکی از راه‌کارهای ایجاد سازگاری برای بهبود وضعیت گیاه در خاک-های دارای کمبود به ویژه در اکوسیستم‌های خشک و نیمه‌خشک می‌باشد (آلن، ۲۰۰۷). تنش شوری یکی از تنش‌های غیرزیستی مهم در کشور می‌باشد که نیاز به مدیریت بهینه زراعی و آب و خاک دارد.

پژوهش‌ها نشان داده است که تحت تأثیر تنش‌های مختلف (مانند خشکی و شوری) تنوع گونه‌ای قارچ میکوریزا کاهش یافته و تنها گونه‌هایی که قادر به سازگاری با این شرایط هستند، توان زنده‌مانی خواهند داشت. بیش‌تر پژوهش‌ها بر روی شناسایی گونه‌های تحت تأثیر خشکی و عناصر سنگین انجام گرفته و بررسی شکل-پذیری اکولوژیکی گونه‌های مختلف قارچ میکوریزا در شرایط شور و شناسایی گونه‌های مقاوم در این شرایط به ویژه بر پایه روش‌های مولکولی کم‌تر مورد توجه بوده است (تیان و همکاران، ۲۰۰۴). در پژوهش‌های انجام‌شده به منظور شناسایی گونه‌های موجود در شرایط شور از روش‌های ریخت‌شناسی و تعیین فراوانی اسپورهای قارچی در خاک استفاده شده است (داد و همکاران، ۲۰۰۰). در حالی که وجود این اسپورها در خاک لزوماً به تنهایی نمی‌تواند نشان‌دهنده تشکیل کلنی توسط این قارچ‌ها در ریشه گیاهان باشد. بنابراین استفاده از روش‌های مولکولی مانند روش‌هایی که بر پایه واکنش زنجیره پلی‌مراز[۱] (PCR) می‌باشند، برای تعیین گونه‌های مقاومی که توان تشکیل کلنی در شرایط شور را دارند ضروری به نظر می‌رسد (وایلد و همکاران، ۲۰۰۹). پژوهش حاضر با هدف بررسی تنوع گونه‌ای قارچ میکوریزا و توان تشکیل کلنی این قارچ با گیاه گندم و ماش در سطوح مختلف شوری در یک خاک شور در اصفهان انجام شده است.

مواد و روشها

این پژوهش به صورت گلخانه‌ای در قالب آزمایش فاکتوریل و با طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور سطوح شوری و آربوسکولار میکوریزا برای دو گیاه گندم (رقم بک‌کراس روشن بهاره) و ماش (رقم پرتو) با قدرت تشکیل کلنی متفاوت، در ۵ تکرار و با ۶۰ گلدان انجام شد. خاک مورد استفاده در این آزمایش از لایه ۰ تا ۲۰ سانتی‌متری خاک سطحی ایستگاه تحقیقات کشاورزی رودشت واقع در شرق اصفهان با هدایت الکتریکی اولیه ۱۵ دسیزیمنس بر متر جمع‌آوری شده و از الک ۸ میلی‌متری عبور داده شد. برخی از ویژگی‌های مهم خاک در جدول شماره ۱ ذکر شده است. برای انجام آزمایش تیمارهای شوری در سه سطح ۵، ۱۰ و ۱۵ دسیزیمنس بر متر عصاره اشباع خاک به روش آب‌شویی خاک شور اولیه با محلول کلرید سدیم و کلرید کلسیم تهیه شد. به

[1] Polymerase chain reaction

منظور اعمال تیمار قارچی دو تیمار شامل خاک حاوی اسپور بومی قارچ آربوسکولار میکوریزا و یک خاک استریل بدون قارچ در نظر گرفته شد. پس از اعمال تیمارهای آب‌شویی، خاک درون گلدان‌های دو کیلوگرمی قرار گرفت و ۴ بذر از هر یک از گیاهان گندم و ماش در هر گلدان کاشته شده و پس از دو هفته به ۳ بوته کاهش داده شد. پس از طی ۲ ماه کشت و در مرحله گلدهی گیاهان برداشت شده و ریشه و خاک گلدان‌ها برای بررسی تنوع گونه‌ای مورد استفاده قرار گرفت.

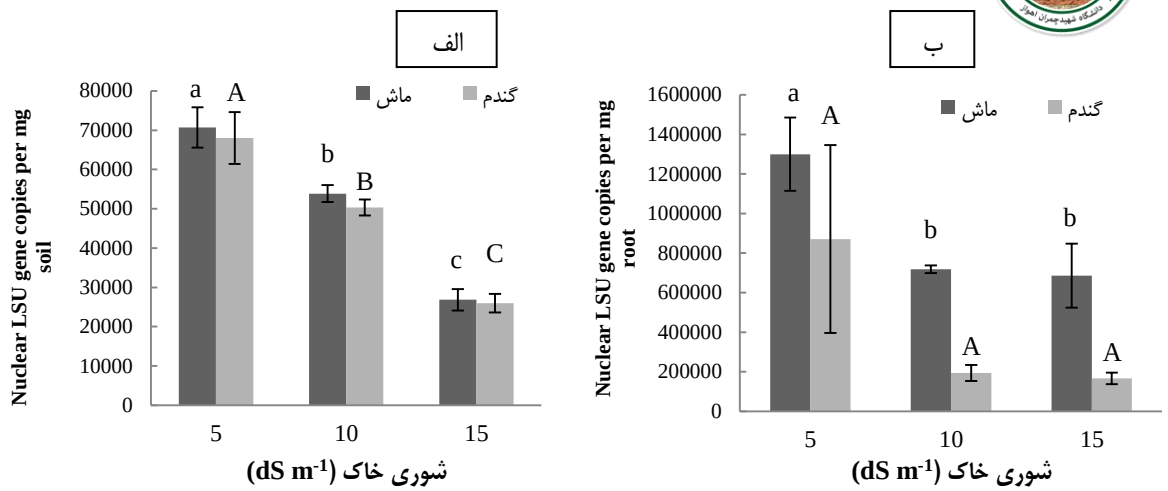
جدول ۱- برخی ویژگی های مهم خاک مورد مطالعه

بافت خاک	هدایت الکتریکی($dS\ m^{-1}$)	پ–هاش	ماده آلی($g\ kg^{-1}$)	نسبت جذب سدیم	آهک($g\ kg^{-1}$)
رسی سیلتی	۱۵	۷/۶	۵/۶	۱۹/۲	۳۵۰

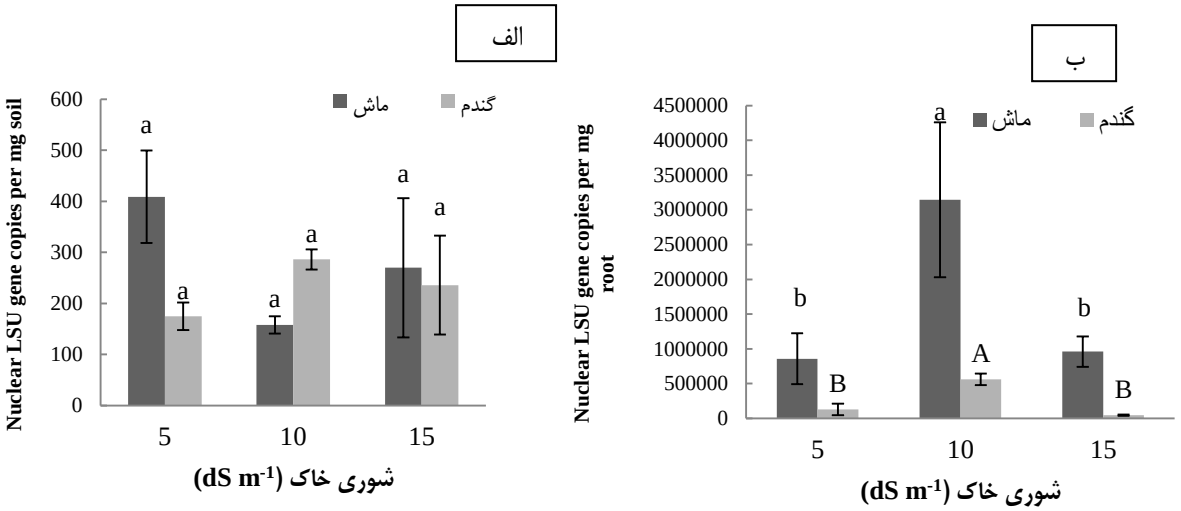
به منظور شناسایی گونه‌های قارچ میکوریزا ریشه‌ها به قطعات کوچک تقسیم شده و در دمای ۶۵ درجه سانتیگراد در آون خشک شد. سپس DNA موجود در ۲۰ میلی‌گرم از ریشه به وسیله کیت NucleoSpin Plant II KitTM (Machery & Nagel, TOWN, Germany) عصاره‌گیری شد. هم‌چنین DNA موجود در هیف‌های قارچی نفوذکرده به خاک از ۰/۲۵ گرم از خاک به وسیله کیت PowerSoil® DNA extraction kit (MoBio, TOWN, USA) عصاره‌گیری شد. به منظور شناسایی توالی ژنی گونه‌های موجود در خاک، DNA استخراج‌شده تکثیر و خالص‌سازی شده و پس از تعیین توالی ژنوم به روش کروگر و همکاران (۲۰۰۹) با اتصال به پایگاه اطلاعات داده NCBI (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov) گونه‌های موجود شناسایی شد. پس از تعیین کیفی گونه‌های موجود در خاک و ریشه به منظور تعیین فراوانی کمّی این گونه‌ها و بررسی تغییرات صورت‌گرفته در سه سطح شوری مورد بررسی از روش Real time quantitative PCR (qPCR) استفاده شد. مقایسه میانگین به روش LSD و به کمک نرم افزار SAS انجام شد.

نتایج و بحث

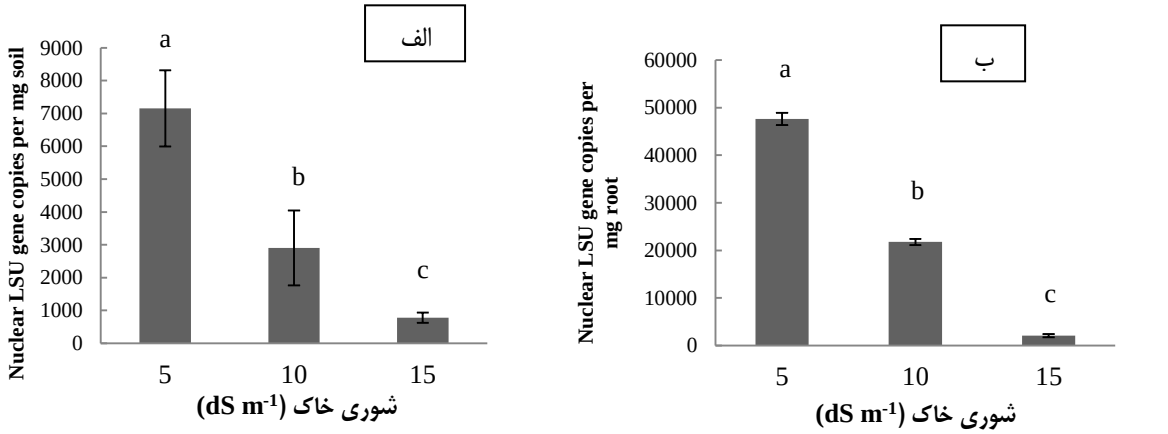
نتایج تعیین توالی ژنی گونه‌های قارچ آربوسکولار میکوریزای بومی موجود در این خاک نشان داد که سه گونه‌ی *Claroideoglomus. claroideum* , *Funelliformis mosseae* و *Rhizophagus irregularis* دارای بیش‌ترین فراوانی در این خاک بوده است. از این میان دو گونه *F. mosseae* و *C. claroideum* توان تشکیل کلنی با ریشه دو گیاه گندم و ماش را داشته‌اند، در حالی که گونه *R. irregularis* تنها در ریشه گیاه ماش قابل تشخیص بود. هم‌چنین ژن شناسایی‌شده این گونه در بین سه گونه کم‌ترین فراوانی را در ریشه گیاه گندم در هر سه سطح شوری داشته است. در حالی که فراوانی ژن مربوط به این قارچ در خاک به طور معنی‌داری از قارچ *F. mosseae* بیش‌تر بوده که نشان‌دهنده توانایی کم‌تر این قارچ نسبت به *F. mosseae* برای تشکیل کلنی با ریشه گیاه با وجود فراوانی بیش‌تر در خاک بوده است (شکل‌های ۱، ۲ و ۳).



شکل ۱- اثر شوری خاک بر فراوانی ژنوم قارچ آربوسکولار میکوریزای گونه‌ی *F. mosseae* در الف) خاک و ب) ریشه گیاه ماش و گندم.



شکل ۲- اثر شوری خاک بر فراوانی ژنوم قارچ آربوسکولار میکوریزای گونه‌ی *C. claroideum* در الف) خاک و ب) ریشه گیاه ماش و گندم.



شکل۳- اثر شوری خاک بر فراوانی ژنوم قارچ آربوسکولار میکوریزای گونه‌ی *R. irregularis* در الف) خاک و ب) ریشه گیاه ماش.

با کاهش شوری فراوانی ژنوم مربوط به دو قارچ *F. mosseae* و *R. irregularis* در خاک و ریشه هر دو گیاه مورد بررسی افزایش یافته و بیش‌ترین فراوانی در شوری برابر ۵ دسیزیمنس بر متر دیده شد (شکل‌های ۱ و ۳). در حالی که بین شوری‌های ۱۰ و ۱۵ دسیزیمنس بر متر فراوانی ژنوم مربوط به قارچ *F. mosseae* دارای تفاوت معنی‌داری نبوده است (شکل ۱). پژوهش‌های مختلف نشان داده است که با افزایش شوری خاک، درصد تشکیل کلنی قارچ میکوریزا به دلیل کاهش جوانه‌زنی اسپورهای قارچی، کاهش تشکیل و رشد هیف‌های قارچی در خاک و کاهش تعداد آرباسکول‌ها کاهش می‌یابد (وایلد و همکاران، ۲۰۰۹). بیش‌ترین فراوانی ژنوم مربوط به قارچ *C. claroideum* در ریشه گندم و ماش در شوری ۱۰ دسیزیمنس بر متر دیده شد (شکل ۲). به نظر می‌رسد این گونه‌ی قارچی در سطح متوسط شوری بیش‌ترین توانایی را برای تشکیل کلنی و هم‌زیستی با هر دو گیاه مورد بررسی داشته است.

به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که گونه‌های مختلف قارچ آربوسکولار میکوریزا دارای توانایی متفاوتی در زندمانی و ایجاد هم‌زیستی با گیاهان در سطوح شوری را هستند. به طوری که گونه *F. mosseae* بومی این خاک بیش‌ترین توانایی برقراری هم‌زیستی با گیاه میزبان در سطح کم شوری را دارا بوده و در سطوح متوسط و زیاد شوری گونه‌ی *C. claroideum* بومی این خاک دارای بیش‌ترین موفقیت برای ایجاد هم‌زیستی با گیاهان مورد بررسی بوده است.

منابع

Allen MF, 2007. Mycorrhizal fungi: highways for water and nutrients in arid soils. Vadose Zone J. 6: 291–297.

Dodd JC, Boddington CL, Rodriguez A, GonsalezChavez C and Mansur I, 2000. Mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) from different genera: form, function and detection. Plant Soil. 226: 131–151.

Krüger M, Stockinger H, Krüger C and Schüβler A, 2009. DNA-based species level detection of Glomeromycota: one PCR primer set for all arbuscular mycorrhizal fungi. New Phytol. 183: 212–223.

Tian CY, Feng G, Li XL and Zhang FS, 2004. Different effects of arbuscular mycorrhizal fungal isolates from saline or non-saline soil on salinity tolerance of plants. Appl. Soil Ecol. 26: 143–148.

Wilde P, Manal A, Sieverding E, Stodden M, Hildebrandt U and Bothe H, 2009. Biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in roots and soils of two salt marshes. Environ. Microbiol. 11: 1548–1561.

بررسی اثرات تلقیح کودهای زیستی ازته و فسفاته بر گیاه لوبیا در حضور سویه‌های بومی خاک

سعیده انصاری[1]، محمدرضا ساریخانی[2]، نصرت ا... نجفی[3]
۱-دانشجوی کارشناسی ارشد گرایش بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک،۲-استادیار گروه خاکشناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز۳- دانشیار گروه خاکشناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

مقدمه

در سال‌های اخیر مصرف بی‌رویه کودهای شیمیایی ازته و فسفاته در بخش کشاورزی، آلودگی منابع آب، خاک و محیط زیست را به دنبال داشته است. گرچه کاربرد کودهای شیمیایی در ابتدا تاثیر بسزایی در افزایش عملکرد داشت، لیکن استفاده بیش از حد از این نهاده منجر به کاهش حاصلخیزی خاک شده و تخریب محیط زیست را سبب شده است. طبیعت خاک‌های کربناتی که بخش عمده‌ای از اراضی زراعی و باغی کشورمان را نیز شامل می‌شود، باعث شده تا استفاده از کودهای شیمیایی فسفره از کارآمدی کمی برخوردار باشد و بدین دلیل کشاورزان برای حصول نتیجه مورد نظر هر ساله مقادیر زیادی از این نهاده‌های شیمیایی را به اراضی کشت اضافه نمایند. استفاده از ریزموجودات زنده خاکزی که توانایی انحلال فسفات‌ها و تبدیل آن به فسفر محلول را دارند، یکی از راه‌های مؤثر در افزایش قابلیت جذب فسفر در خاک‌ها است (علی‌اصغرزاد، ۱۳۷۶). کودهای زیستی متشکل از باکتری‌ها و قارچ‌های مفیدی هستند که از طریق روش‌هایی همانند تثبیت نیتروژن، انحلال فسفات، رهاسازی یون پتاسیم، تأمین آهن و دیگر عناصر به بهبود تغذیه گیاه کمک نموده و علاوه بر آن با کاهش بیماری‌ها، بهبود ساختمان خاک و سایر اثرات مفید باعث تحریک بیشتر رشد گیاه شده و افزایش کمیت و کیفیت محصول را به دنبال دارند (Anonymous, 2006).

استفاده از کودهای زیستی با بهره‌گیری از میکروارگانیسم‌های مفید و توانمند خاک نه تنها از مصرف بی‌رویه این نهاده‌ها جلوگیری می‌کند، بلکه این کودها همچنین با در برداشتن ویژگی‌هایی از قبیل تثبیت ازت، انحلال فسفر، سنتز اکسین، تولید سیدروفور و اثرات تحریک‌کنندگی رشد، امکان ارتقاء پارامترهای کمی و کیفی محصول را به دنبال خواهند داشت (Anonymous, 2006).

خوشبختانه در سال‌های اخیر با تلاش پژوهشگران کشور برخی از سویه‌های میکروبی به فاز تجاری‌سازی و تولید کود زیستی منجر شده‌اند که کودهای زیستی نیتروکسین، سوپرنیتروپلاس، بارور۲ و بیوسوپرفسفات از جمله آنها به شمار می‌رود. نتایج حاصل از کاربرد کودهای زیستی تولید شده در کشور همواره با برخی از تناقضات همراه بوده است. در برخی از موارد تلقیح گیاهان با این نوع کودها، اثرات مثبت را به دنبال داشته و در برخی از موارد عدم تاثیر آنها گزارش شده است. استفاده عملی از این نوع کودها در شرایط مزرعه‌ای منوط به سازگاری سویه‌های موجود با شرایط محیطی و توان رقابتی آنها با سویه‌های بومی است و اینکه آیا می‌توانند به عنوان جایگزینی مناسب برای کودهای شیمیایی در شرایط طبیعی نیز موثر و کارساز باشند یا خیر؟

بر این اساس هدف این پژوهش، مطالعه اثرات تلقیح کودهای زیستی ازته (نیتروکسین و سوپرنیتروپلاس) و فسفاته (بارور۲ و بیوسوپرفسفات) برگیاه لوبیا در شرایط گلخانه‌ای در حضور سویه‌های بومی خاک (کاربرد خاک غیراستریل) می‌باشد.

مواد و روش‌ها

چهار نوع کود زیستی رایج کشور شامل کود زیستی بارور۲ (تولیدی شرکت زیست فناور سبز)، بیوسوپرفسفات، نیتروکسین و سوپرنیتروپلاس (تولیدی شرکت فناوری‌زیستی مهر آسیا) در این آزمایش مورد بررسی قرار گرفتند. بعد از آماده‌سازی بستر کشت گیاه، که از خاکهای منطقه برای آزمایش استفاده شد آزمایش گلدانی به صورت طرح کاملاً تصادفی با اعمال ۵ تیمار (شاهد بدون تلقیح میکروبی، بارور۲، بیوسوپرفسفات، نیتروکسین و سوپرنیتروپلاس) و ۴ تکرار انجام شد. کاشت بذرها و تلقیح سوسپانسیون میکروبی مربوط به هر کود زیستی بر اساس توصیه شرکت‌های سازنده انجام گرفت. برای تلقیح تیمارهای کود زیستی مایع، ۱۰ میلی‌لیتر از کود مستقیماً در هر گلدان (حاوی ۱۰ بذر) استفاده شد. برای تنها کود زیستی جامد (بارور۲)، با فرض دانسیته ۱ گرم بر سانتی‌متر مکعب، ابتدا رقت 10^{-1} آن تهیه شد و سپس به ازای هر گلدان ۱۰ میلی‌لیتر از آن برای تلقیح مورد استفاده قرار گرفت. قابل ذکر است که در مورد تیمار شاهد، به همان میزان از محیط استریل شده استفاده شد. پس از جوانه‌زنی بذرهای مربوطه، آبیاری گلدان‌ها با آب مقطر تا حد رطوبت ۰/۸ FC انجام شد و با تنک‌سازی ۴ گیاه در هرگلدان تا پایان آزمایش نگهداری شد. در پایان دوره رشد پارامترهایی چون وزن تر و خشک ریشه و بخش هوایی، وزن تر و خشک کل گیاه، تعداد غده و وزن تر غده، شاخص کلروفیل، درصد فسفر و پتاسیم ریشه و بخش هوایی، درصد ازت بخش هوایی، غلظت آهن و میزان جذب هر کدام از این عناصر توسط گیاه لوبیا سنجیده شد.

با توجه به اینکه یکی از اهدافی که در این آزمایش دنبال می‌شد ارزیابی کاربرد کودهای زیستی فوق در شرایط حضور سویه‌های بومی خاک (خاک غیراستریل) و شرایط نزدیک به شرایط طبیعی بود، به همین خاطر از خاک غیراستریل و بذر ضدعفونی نشده استفاده شد.

بحث و نتایج

با توجه به نتایج به دست آمده در این آزمایش، کاربرد کودهای زیستی ازته و فسفاته روی وزن تر کل، وزن خشک ریشه، درصد نیتروژن و جذب پتاسیم در بخش هوایی، وزن تر بخش هوایی، جذب فسفر ریشه، آهن ریشه و جذب آهن ریشه گیاه لوبیا معنی‌دار شد.

وزن تر کل در سطح ۵٪ معنی‌دار شد. وزن تر کل برای تیمار بارور۲ با میانگین ۶۷/۱۰ گرم بالاترین مقدار می‌باشد که این کود باعث افزایش وزن ترکل به میزان ۱۸/۳٪ نسبت به شاهد شده است. اما بین تیمارهای نیتروکسین و بیوسوپرفسفات نسبت به شاهد هیچ اختلافی مشاهده نشد (جدول ۱).

وزن خشک ریشه در سطح ۱٪ معنی‌دار شد. مطابق جدول ۱ وزن خشک ریشه برای شاهد و نیتروکسین به ترتیب با مقادیر میانگین ۰/۷۴ و ۰/۷۵ گرم بیشترین بود و تیمار بیوسوپرفسفات با میانگین ۰/۲۶ گرم کمترین وزن خشک را داشت.

تفاوت بین تیمارهای استفاده شده علاوه بر بیوماس گیاهی (وزن تر و خشک) بر غلظت و مقدار عناصر غذایی در بخش هوایی یا ریشه گیاه نیز مشاهده شد، به صورتی‌که بین کودهای زیستی استفاده شده از نظر غلظت آهن ریشه در سطح ۱٪ اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. مقایسات میانگین نشان داد، غلظت آهن موجود در ریشه گیاه لوبیا در تیمار شاهد (۵۴۳ mg/kg) بیشترین مقدار بوده و بین این تیمار با تیمار بارور۲ (۴۵۸/۹ mg/kg) اختلاف مشاهده شد ولی با سایر تیمارهای کودی از لحاظ غلظت آهن ریشه در گیاه اختلاف آماری دیده نشد (جدول ۱).

میزان جذب فسفر ریشه نیز در سطح ۱٪ معنی‌دار شد. تیمار سوپرنیتروپلاس دارای بیشترین مقدار جذب فسفر توسط ریشه بوده و دارای اختلاف با تیمار بارور۲ و بیوسوپرفسفات می‌باشد اما این تیمار با تیمار شاهد و کود نیتروکسین در یک سطح قرار گرفته و هیچ برتری نسبت به هم ندارند (جدول ۱). با توجه به حضور باکتریهای حل‌کننده فسفات در کودهای زیستی فسفاته (بارور۲ و بیوسوپرفسفات) انتظار می‌رفت که تغذیه فسفری مطلوبتری در گیاهان تیمار شده با این کودها مشاهده شود اما شاید شرایط حاکم بر آزمایش این انتظار را برآورده نساخته است. این در حالی است که کاربرد ایزوله‌های موجود در کود زیستی بارور۲ در شرایط کشت با گیاه گندم در خاک استریل بهبود تغذیه فسفری را به دنبال داشت (ساریخانی و همکاران، ۱۳۹۰). درصد نیتروژن بخش هوایی، در سطح ۵٪ معنی‌دار شد. با مقایسات میانگین صورت پذیرفته، مشاهده شد که درصد نیتروژن موجود در تیمار کود نیتروکسین (۱/۴۰۵٪) نسبت به تیمار شاهد (۰/۷۸٪) دارای اختلاف معنی‌دار است ولی بین تیمار شاهد با سه تیمار کودی دیگر از این نظر اختلافی مشاهده نشد. دلیل بالا بودن این پارامتر را شاید بتوان به ماهیت سویه‌های مورد استفاده در این کود نسبت داد. این کود دارای باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن از جنس *ازتوباکتر* و *آزوسپیریلوم* می‌باشد و تثبیت ازت به شیوه آزادزی و همیار به کمک آنها ممکن است بر درصد نیتروژن بافت گیاهی اثر مثبت گذاشته باشد. مقایسه میانگین میزان جذب پتاسیم در بخش هوایی گیاه لوبیا و میزان جذب آهن در بخش ریشه نشان داد که تیمار شاهد در مقایسه با تیمارهای کاربردی به ترتیب با ۲۸۹/۵ mg/pot و ۰/۴۱ دارای میانگین بالاتری بوده است و با تیمارهای کود زیستی فسفاته (بارور۲ و بیوسوپرفسفات) از این لحاظ دارای اختلاف آماری می‌باشد. اگرچه هیچ یک از شرکت‌های سازنده کودهای زیستی فوق ادعایی بر قابلیت آزادکنندگی پتاسیم توسط سویه‌های بکاررفته در کودها ندارند اما انتقال عناصر غذایی به بخش فوقانی گیاه پارامتر مهمتری است زیرا که در غالب موارد بخش هوایی گیاهان برداشت و مورد استفاده قرار می‌گیرد. اگر چه بین تیمارهای باکتری از نظر غلظت آهن بخش هوایی اختلاف آماری مشاهده نشد اما مقادیر بالاتری نسبت به شاهد به دست آمد که این می تواند به انتقال کارامدتر آهن از بخش ریشه به بخش هوایی و دلیل کاهش آن در ریشه تیمارهای کودی باشد.

اثرات تلقیح کودهای زیستی بر روی طیف وسیعی از محصولات زراعی، گیاهان زینتی، درختان میوه و دیگر گیاهان بررسی شده است. نتایج حاصل از این آزمایشات در پاره‌ای موارد رضایت‌بخش بوده ولی در برخی موارد انتظارات را برآورده نکرده است یا اثرات تلقیح آنها زیاد قابل توجه نبوده است. در برخی موارد نیز این نوع کودهای بیولوژیک هیچ تاثیری بر روی گیاهان تلقیح یافته خود نداشته‌اند (کوچکی و همکاران، ۱۳۸۷) که یک دلیل آن حضور سویه‌های بومی توانمند و اثرات متقابل بین این سویه‌ها با باکتری‌های موجود در کودهای زیستی می‌باشد. در یک نتیجه‌گیری کلی می‌توان گفت که کاربرد کودهای زیستی (ازته و فسفاته) بر روی گیاه لوبیا در حضور سویه‌های بومی منجر به افزایش وزن تر کل، وزن تر هوایی، وزن خشک ریشه، مقدار فسفر جذب شده توسط ریشه و درصد نیتروژن در بافت اندام هوایی شده و بر غلظت آهن ریشه و مقدار جذب آن و همچنین مقدار جذب پتاسیم توسط بخش هوایی گیاه لوبیا تاثیری نداشته است. با توجه به اینکه خاک استفاده شده، غیراستریل بوده و بنابراین حضور باکتری‌های بومی همزیست با ریشه گیاه لوبیا در خاک مورد نظر اجتناب‌ناپذیر است، می‌توان این نتیجه‌گیری را داشت که باکتری‌های موجود در کودهای زیستی در رقابت با باکتری‌های بومی همزیست با ریشه گیاه لوبیا و موجود در ریزوسفر در رقابت موفق نبوده و پارامترهای اندازه‌گیری شده را آن‌طور که انتظار می‌رفت افزایش نداده‌اند.

جدول ۱- مقایسات میانگین پارامترهای متاثر از کاربرد تیمارهای کود زیستی

صفات / تیمار	جذب آهن ریشه (mg/pot)	وزن تر هوایی (g)	وزن خشک ریشه (g)	وزن تر کل (g)	غلظت نیتروژن هوایی (٪)	جذب پتاسیم هوایی (mg/pot)	جذب فسفر ریشه (mg/pot)	غلظت آهن ریشه (mg/kg)
شاهد	۰/۴۱^{a}	۴۸/۳۵^{ab}	۰/۷۶^{a}	۵۶/۷۰^{ab}	۰/۷۸^{b}	۲۸۹/۵^{a}	۱/۶۰^{a}	۵۴۳^{a}
بارور۲	۰/۱۶^{b}	۶۰/۲۱^{a}	۰/۲۹^{ab}	۶۷/۱۰^{a}	۱/۱۸۳^{ab}	۱۸۷/۲^{b}	۰/۴۲^{b}	۴۵۸/۹^{b}
بیوسوپرفسفات	۰/۱۲^{ab}	۴۵/۵۶^{ab}	۰/۲۶^{b}	۶۲/۵۱^{ab}	۰/۹۸^{ab}	۱۸۶/۹^{b}	۰/۴۱^{b}	۵۰۲/۷^{ab}
نیتروکسین	۰/۳۴^{ab}	۴۷/۷۲^{ab}	۰/۷۴^{a}	۵۵/۵۳^{ab}	۱/۴۰۵^{a}	۲۳۴/۵^{ab}	۱/۲۹^{ab}	۴۷۵/۱^{ab}
سوپرنیتروپلاس	۰/۲۲^{ab}	۴۲/۹۶^{b}	۰/۴۵^{ab}	۴۷/۷۶^{a}	۰/۸۹^{ab}	۱۷۸/۴^{b}	۲/۱۸^{a}	۵۰۶/۳^{ab}

منابع

علی‌اصغرزاد ن، ۱۳۷۶. میکروبیولوژی و بیوشیمی خاک (ترجمه) . چاپ اول. انتشارات دانشگاه تبریز.

ساریخانی م ر، علی‌اصغرزاد ن، ملبوبی م ع، ۱۳۹۰. بهبود تغذیه فسفری گندم در حضور باکتریهای حل‌کننده فسفات. دوازدهمین کنگره علوم خاک ایران. ۱۲-۱۴ شهریور، تبریز، ایران.

کوچکی ع ر، تبریزی ل و قربانی ر، ۱۳۸۷. ارزیابی اثر کودهای بیولوژیکی بر ویژگی‌های رشد، عملکرد و خصوصیات کیفی گیاه دارویی زوفا. مجله پژوهش‌های زراعی ایران. جلد ۶، شماره ۱.

Anonymous. 2006. Biofertilizer Manual, FNCA Biofertilizer Project Group. Japan Atomic Industrial Forum.

بررسی اثرات تلقیح کودهای زیستی ازته و فسفاته بر گیاه ذرت در شرایط خاک غیراستریل

سعیده انصاری[1]، محمدرضا ساریخانی۲، نصرت ا... نجفی[3]
۱دانشجوی کارشناسی ارشد گرایش بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، ۲استادیار گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز،۳دانشیار گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

مقدمه

استفاده بی‌رویه و نادرست از سموم و کودهای شیمیایی مسئله‌ای بسیار جدی بوده که از چند جنبه قابل بررسی است. از مهم‌ترین خسارات آن آسیب زیست محیطی و بهداشتی است. جنبه دیگر آن بعد اقتصادی است. بقایا و آثار ترکیبات کود شیمیایی در محیط آب و خاک موجب بر هم خوردن تعادل اکوسیستم‌ها می‌شود. معایب فوق همراه با هزینه بالای تولید آنها باعث شده که تولید و استفاده از کودهای زیستی مورد توجه قرار گیرد. امروزه استفاده از بیوتکنولوژی خاک با هدف استفاده از پتانسیل ارگانیسم‌های مفید خاکزی به منظور تولید حداکثر محصول، علاوه بر توجه به بهبود کیفیت خاک و رعایت بهداشت و ایمنی محیط زیست، مورد توجه قرار گرفته است.

کودهای زیستی متشکل از ریزموجودات و همچنین قارچ‌های مفیدی هستند که هر کدام برای منظور خاصی مانند تثبیت نیتروژن، آزادسازی یون فسفات، پتاسیم و آهن از ترکیبات نامحلول آن‌ها تولید می‌شوند (Chen, 2006). باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن، حل‌کنندگان فسفات و قارچ‌های میکوریز از جمله ریزموجودات موثر در این فرآیند شناخته شده‌اند. از مهمترین باکتری‌های غربال‌شده برای تهیه کودهای زیستی می‌توان به *سودوموناس*، *باسیلوس*، *آزوسپیریلوم*، *ازتوباکتر* و *ریزوبیوم* اشاره کرد (Glik, 1995).

در حال حاضر گروهی از کودهای زیستی که استفاده از آن در کشور رواج یافته شامل دو گروه کودهای زیستی حاوی تثبیت‌کنندگان نیتروژن و حل‌کنندگان فسفات می‌باشد. بهره‌گیری از این نوع کودهای زیستی تولید شده در کشور که میکروارگانیسم‌های به کار گرفته شده در آن‌ها سازگار با شرایط اقلیمی و متناسب با شرایط آب و هوایی کشور می‌باشد، علاوه بر کاهش مصرف کودهای شیمیایی تا حدودی توانسته پاسخگوی نیاز تغذیه‌ای گیاهان باشد. اما اینکه این کودها تا چه حد توانسته‌اند این نیازها را پاسخگو باشند، نیاز به مطالعات آزمایشگاهی و گلخانه‌ای دارد که پژوهش مذکور در راستای بررسی همزمان درجه موفقیت این نوع کودها در شرایط نزدیک به شرایط مزرعه‌ای انجام شد.

بر این اساس هدف این پژوهش، مطالعه اثرات تلقیح کودهای زیستی ازته (نیتروکسین و سوپرنیتروپلاس) و فسفاته (بارور۲ و بیوسوپرفسفات) بر گیاه ذرت رقم سینگل کراس ۷۰۴ در شرایط گلخانه‌ای در حضور سویه‌های بومی خاک (کاربرد خاک غیراستریل) می‌باشد.

مواد و روش‌ها

چهار نوع کود زیستی رایج کشور شامل کود زیستی بارور۲ (تولیدی شرکت زیست فناور سبز)، بیوسوپرفسفات، نیتروکسین و سوپرنیتروپلاس (تولیدی شرکت فناوری‌زیستی مهرآسیا) در این آزمایش مورد بررسی قرار گرفتند. بعد از آماده‌سازی بستر کشت گیاه، که از خاکهای منطقه برای آزمایش استفاده شد آزمایش گلدانی به صورت

طرح کاملاً تصادفی با اعمال ۵ تیمار (شاهد بدون تلقیح میکروبی، بارور ۲، بیوسوپرفسفات، نیتروکسین و سوپرنیتروپلاس) و ۴ تکرار انجام شد. کاشت بذرها و تلقیح سوسپانسیون میکروبی مربوط به هر کود زیستی بر اساس توصیه شرکت‌های سازنده انجام گرفت. برای تلقیح کودهای زیستی مایع، ۱۰ میلی‌لیتر از کود مستقیماً به ازای هر تیمار در هر گلدان به بذر گیاه تلقیح داده شد. برای تنها کود زیستی جامد (بارور۲)، با فرض دانسیته ۱ گرم بر سانتی‌متر مکعب، ابتدا رقت 10^{-1} آن تهیه شد و سپس به ازای هر گلدان ۱۰ میلی‌لیتر از آن برای تلقیح مورد استفاده قرار گرفت. قابل ذکر است که در مورد تیمار شاهد، به همان میزان از محیط استریل شده استفاده شد. پس از جوانه‌زنی بذرهای ذرت (رقم سینگل‌کراس ۷۰۴) تعداد آنها به ۵ عدد کاهش یافت، آبیاری گلدان‌ها با آب مقطر تا حد رطوبت FC ۰/۸ انجام شد و در پایان دوره رشد پارامترهایی چون وزن تر و خشک ریشه و بخش هوایی، وزن تر و خشک کل گیاه، شاخص کلروفیل، درصد فسفر و پتاسیم ریشه و بخش هوایی، درصد ازت بخش هوایی، غلظت آهن و مقدار جذب هر کدام از این عناصر توسط گیاه ذرت سنجیده شد.

با توجه به اینکه یکی از اهدافی که در این آزمایش دنبال می‌شد ارزیابی کاربرد کودهای زیستی فوق در شرایط حضور سویه‌های بومی خاک (خاک غیراستریل) و شرایط نزدیک به شرایط طبیعی بود، به همین خاطر از خاک غیراستریل و بذر ضدعفونی نشده استفاده شد.

نتایج و بحث

با توجه به نتایج به دست آمده در این آزمایش، کاربرد کودهای زیستی ازته و فسفاته در گیاه ذرت رقم سینگل-کراس ۷۰۴، بر شاخص کلروفیل، درصد نیتروژن و پتاسیم بخش هوایی، مقدار جذب نیتروژن و پتاسیم بخش هوایی و همچنین آهن ریشه معنی‌دار شد.

مطابق جدول ۱ شاخص کلروفیل برای تیمار بارور۲ و بیوسوپرفسفات هر دو با میانگین ۴/۹۴۵ بالاترین مقدار می‌باشد که از لحاظ آماری درصد تاثیرگذاری آنها بر شاخص کلروفیل در یک سطح بود. علاوه بر این کود سوپرنیتروپلاس با میانگین ۴/۲۶۲ بعد از این دو کود قرار گرفت ولی از لحاظ آماری با شاخص کلروفیل در تیمار شاهد هیچ تفاوت و اختلافی نداشت. اگرچه انتظار بر این بود که کود نیتروکسین و سوپرنیتروپلاس تاثیر معنی‌دار بر شاخص کلروفیل داشته باشد اما به دلیل شرایط حاکم بر این آزمایش که خاک غیر استریل برای آن استفاده شد (حضور قارچهای همزیست و سویه‌های بومی که احتمال بروز اثرات متقابل بین میکروارگانیسم‌های خاک و جنس‌های باکتریایی درکود زیستی را افزایش می‌دهد)، دامنه تاثیرگذاری کودهای زیستی فوق کاهش پیدا کرده است.

غلظت و مقدار عناصر غذایی در بخش هوایی یا ریشه گیاه ذرت نیز تحت تاثیر اعمال تیمارهای کود زیستی قرار گرفت، تیمارهای کودی اعمال شده از نظر غلظت آهن ریشه در سطح ۱٪ اختلاف معنی‌دار دارند. مقایسات میانگین نشان داد، غلظت آهن موجود در ریشه گیاه ذرت در تیمار بیوسوپرفسفات (۸۳۲/۷ mg/kg) بیشترین مقدار بوده و بین تیمارهای بارور۲ و نیتروکسین با شاهد با وجود غلظت آهن ریشه کمتر نسبت به شاهد هیچ تفاوت آماری مشاهده نشد.

جدول ۱- مقایسات میانگین پارامترهای معنی‌دار (آزمون دانکن)

صفات / تیمار	شاخص کلروفیل	پتاسیم بخش هوایی (٪)	نیتروژن بخش هوایی (٪)	جذب پتاسیم بخش هوایی (mg/pot)	جذب نیتروژن بخش هوایی (mg/pot)	غلظت آهن ریشه (mg/kg)
شاهد	۳/۹۱^{a}	۲/۱۴^{bc}	۰/۴۱^{c}	۱۳۶/۲۰^{c}	۲۶/۱۳^{c}	۸۱۹/۱۸^{a}
بارور۲	۴/۹۴^{a}	۲/۱۶^{bc}	۰/۸۱^{a}	۱۶۲/۵^{bc}	۶۱/۳۵^{ab}	۷۶۹/۳^{ab}
بیوسوپرفسفات	۴/۹۴^{a}	۳/۴۶^{b}	۰/۹۱^{a}	۲۶۵/۶^{ab}	۶۹/۵۹^{a}	۸۳۲/۷^{a}
نیتروکسین	۱/۷۳^{b}	۱/۷۳^{ab}	۰/۵۳^{bc}	۱۰۹/۲^{c}	۳۳/۲۵^{c}	۸۰۴/۶^{ab}
سوپرنیتروپلاس	۴/۲۶^{a}	۴/۲۶^{b}	۰/۷۱^{ab}	۲۸۰/۴^{a}	۴۵/ ۵۱^{c}	۷۲۲/۶^{b}

درصد نیتروژن و پتاسیم بخش هوایی در سطح ۱٪ معنی‌دار شد. درصد نیتروژن برای تیمار بیوسوپرفسفات و بارور۲ به ترتیب با مقادیر ۰/۹۱٪ و ۰/۸۱٪ بیشترین مقدار بود که نسبت به تیمار شاهد افزایش ۱۲۱/۲ و ۹۷/۵۶ درصدی در مقدار نیتروژن داشتند. کود سوپرنیتروپلاس با افزایش ۷۳/۱۷ درصدی نیتروژن نسبت به شاهد در رده سوم قرار گرفت. کود سوپرنیتروپلاس و نیتروکسین حاوی جنس‌های *ازتوباکتر* و *آزوسپیریلوم* بوده که علاوه بر تثبیت نیتروژن، در انحلال فسفات نیز نقش دارند و ممکن است که با افزایش مقدار جذب نیتروژن، جذب فسفر را نیز از طریق ریشه افزایش داده و رشد گیاه را افزایش دهند.

نتایج نشان داد که مقدار جذب پتاسیم توسط بخش هوایی گیاه ذرت در سطح ۱٪ معنی‌دار شد. مقدار جذب پتاسیم ابتدا در تیمار کودی سوپرنیتروپلاس و سپس بیوسوپرفسفات بیشترین مقدار شد که مقدار جذب هر کدام از این تیمارها نسبت به شاهد ۱۰۵/۸۷٪ و ۹۵٪ افزایش را نشان داد. مقدار جذب پتاسیم تیمار کودی بارور۲ نیز اگرچه از لحاظ آماری با تیمار شاهد هیچ تفاوتی نداشت اما نسبت به شاهد افزایش جذب نشان داد.

مقدار جذب نیتروژن بخش هوایی در سطح ۱٪ معنی‌دار شد. مقدار جذب نیتروژن برای تیمار بیوسوپرفسفات بیشترین مقدار (۶۹/۵۹ mg/pot) شد و بعد از آن تیمار بارور۲ و سوپرنیتروپلاس به ترتیب با مقادیر mg/pot ۶۱/۳۵ و ۴۵/۵۱ در درجات بعدی قرار گرفتند. سه تیمار مذکور منجر به افزایش مقدار جذب نیتروژن به ترتیب با درصد ۱۶۶/۳۲٪، ۱۳۴/۷۸٪ و ۷۴/۱۶٪ نسبت به شاهد شدند. بیاری و همکاران (۱۳۸۳) گزارش کردند که تلقیح ذرت با باکتری‌های محرک رشد (*ازتوباکتر* و *آزوسپیریلوم*) سبب افزایش معنی‌دار مقدار عناصر نیتروژن و فسفر در مقایسه با شاهد شد. این نتایج می‌تواند ناشی از اثر کاربرد باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن باشد که با تولید مقادیر مناسب مواد تنظیم‌کننده رشد گیاه مانند اکسین، جیبرلین، سیتوکینین ظرفیت ریشه‌زایی گیاه و جذب مواد غذایی از خاک را بهبود بخشیده و در نتیجه میزان نیتروژن و فسفر را افزایش داده است.

بررسی اثرات تلقیح کودهای زیستی بر گیاه ذرت نشان داد که کاربرد کودهای زیستی در کشت این گیاه علاوه بر تاثیر بر روی یکی از مهم‌ترین صفات کیفی گیاه که شاخص کلروفیل می‌باشد، اغلب بر غلظت و مقدار عناصر در این گیاه موثر بوده است تا صفات ظاهری و کمی. استفاده از چهار کود زیستی بارور۲، بیوسوپرفسفات،

نیتروکسین و سوپرنیتروپلاس منجر به بهبود و افزایش شاخص کلروفیل درگیاه شد که در این مورد کود بارور۲ و بیوسوپرفسفات موفق‌تر از دو کود دیگر عمل کرده‌اند. علاوه براین کاربرد این چهار کود منجر به افزایش درصد نیتروژن در بافت‌های گیاهی شد. کود بیوسوپرفسفات، بارور۲ و سوپرنیتروپلاس بدین لحاظ نسبت به کود نیتروکسین موفق‌تر عمل کرده‌اند. هم چنین تیمار گیاه با کودهای زیستی فوق موجب افزایش غلظت و مقادیر عناصر نیتروژن و پتاسیم توسط گیاه ذرت شده است که خود همراه با بهبود کیفیت تغذیه در این گیاه خواهد بود. اگرچه در این مطالعه پارامترهای ظاهری و کمی تحت تاثیر کاربرد کودهای زیستی قرار نگرفت اما بسیاری از مطالعات اثربخشی این کودها را بر پارامترهای کمی در شرایط مزرعه‌ای تایید کرده است به عنوان نمونه بررسی اثرات کود شیمیایی اوره و کودهای زیستی بر روی صفات کمی و گیاه نعناع فلفلی نشان داد که کود اوره و کودهای زیستی به ویژه نیتروکسین و سوپرنیتروپلاس نسبت به تیمار شاهد به طور معنی‌داری سبب افزایش ارتفاع بوته و تعداد برگ در ساقه نعناع فلفلی شده‌اند (مهرآفرین و همکاران، ۱۳۹۰). نتایج این تحقیق نشان داد که کاربرد کودهای زیستی و کود اوره باعث افزایش قابل توجه و معنی‌دار وزن تر و خشک برگ و ساقه گیاه نعناع فلفلی نسبت به تیمار شاهد بدون کود است.

منابع

بیاری آ، غلامی آ و اسدی رحمانی ه، ۱۳۸۶. تولید پایدار و بهبود جذب عناصر غذایی ذرت در عکس‌العمل به تلقیح بذر توسط باکتری‌های محرک رشد. خلاصه مقالات دومین همایش ملی کشاورزی بوم شناختی ایران، ۲۵ و ۲۶ مهرماه ۱۳۸۶، گرگان. ص. ۸.

مهرآفرین ع، نقدی بادی ح، پورهادی م، هادوی ا، قوامی ن، کدخدا ز، ۱۳۹۰. پاسخ فیتوشیمیایی و زراعی نعناع فلفلی به کاربرد کودهای زیستی و اوره. فصل‌نامه گیاهان دارویی، سال دهم، شماره چهلم، صفحات ۱۱۸-۱۰۷.

Glick, B.R. 1995. The enhancement of plant growth by freelivingbacteria.Can. J. Microbiol. 4: 109-117.

Chen, J. 2006.The combined use of chemical and organic fertilizers and/or biofertilizer.

بررسی اثرات افزودن کلسیم و کلات کننده EDDHA به خاک بر بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه ناترک ناشی از قارچ *Fusarium solani*

حمید علوانی پور[۱]، رضا فرخی نژاد[۲]، مصطفی چرم[۳]
۱- دانشجوی کارشناسی ارشد
۲- استاد گروه گیاهپزشکی دانشگاه شهید چمران
۳- دانشیار گروه خاکشناسی دانشگاه شهید چمران

مقدمه

بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه ناترک یکی از علل اصلی محدودیت کشت گیاه ناترک در استان خوزستان می‌باشد. تحقیقات نشان داده که عامل اصلی این بیماری قارچ *Fusarium solani* است (کاویان پی، ۱۳۷۷). با توجه به اینکه میزبان، پاتوژن و شرایط محیطی سه جزء لازم برای ایجاد بیماری در گیاه هستند (مثلث بیماری) لذا در بسیاری از موارد می‌توان با ایجاد تغییر در شرایط محیطی از پیشرفت بیماری جلوگیری به عمل آورد و یا بیماری را کنترل نمود و شرایط را در جهت تضعیف پاتوژن و تقویت میزبان سوق داد. در محیط خاک عناصر آهن و کلسیم از عوامل بسیار مهم و تأثیرگذار در شدت و یا ضعف بیماری‌های گیاهی به شمار رفته که با مدیریت این عناصر قبل و بعد از آلودگی می‌توان بسیاری از بیماری‌ها را کنترل نمود. مواد کلات کننده موادی هستند که با خارج نمودن عنصر آهن خاک از دسترس قارچ در مدیریت و کنترل بیماری فوزاریوم می‌توانند نقش داشته باشند لذا در این تحقیق نقش و اثر حضور و عدم حضور کلسیم همراه با ۳ سطح غلظتی کلات کننده EDDHA اضافه شده به خاک مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

جداسازی و خالص‌سازی قارچ *Fusarium solani*

ابتدا طوقه و ریشه گیاهان آلوده به خوبی با آب شسته شد؛ سپس تکه‌هایی از این اندام‌ها به طول ۱- ۰/۵ سانتیمتر به وسیله اسکالپل جدا و با محلول هیپوکلریت سدیم ۵٪ و ۱٪ به ترتیب به مدت ۳۰ ثانیه و ۱ دقیقه یا الکل اتیلیک ۷۰٪ به مدت ۳۰ ثانیه ضد عفونی سطحی شده و در تشتک‌های پتری حاوی محیط کشت PDA و Nash & Snyder، کشت شدند. برای خالص‌سازی قارچ‌ها از روش تک اسپور و نوک ریسه استفاده شد.

آزمایش اثر افزودن کلسیم

جهت بررسی اثر افزودن کلسیم بر بیماری‌زایی قارچ فوزاریوم ۱۲ meq/L کلرو کلسیم ۱ مولار به خاکی با pH= ۶ افزوده شد.

آزمایش اثر EDDHA

به خاک pH= ۶ بعد از کشت گیاهچه‌ها در گلدان‌ها دو سطح غلظتی (۱۰ و ۲۰ میلی‌مول در لیتر) از EDDHA قبل از مایه‌زنی و بعد از مایه‌زنی و در طول دوره رشد گیاهان افزوده شد و اثرات این ماده روی گسترش بیماری و صفات مختلف گیاه بررسی شد.

آزمون بیماری‌زایی

آزمون بیماری‌زایی با استفاده از دانه گندم آلوده به قارچ فوزاریوم صورت گرفت. گلدان‌های ناترک ۶ ماهه که حاوی ۹۸۵ گرم خاک سترون بودند با ۱۵ گرم مایه تلقیح فوزاریوم، مایه‌زنی شدند. بعد از گذشت ۷۰ روز از زمان تلقیح، صفات مورد نظر در گیاهان مورد بررسی قرار گرفتند.

طرح آزمایش و صفات مورد بررسی

این تحقیق در آزمایش فاکتوریل (۳×۲) و در قالب طرح کاملاً تصادفی برای ۴ متغیر وزن خشک بخش هوایی، وزن تر بخش هوایی، وزن تر ریشه و شدت بیماری صورت گرفت. فاکتور ۱ شامل دو سطح کلسیم (صفر و ۱۲meq/L) و فاکتور ۲ شامل ۳ سطح غلظتی (صفر، ۱۰ و ۲۰ میلی‌مول در لیتر) کلات کننده EDDHA اضافه شده به خاک بود. شدت بیماری گیاهان با استفاده از روش اصلاح شده کیم و همکاران (۱۹۹۷) ارزیابی شد.

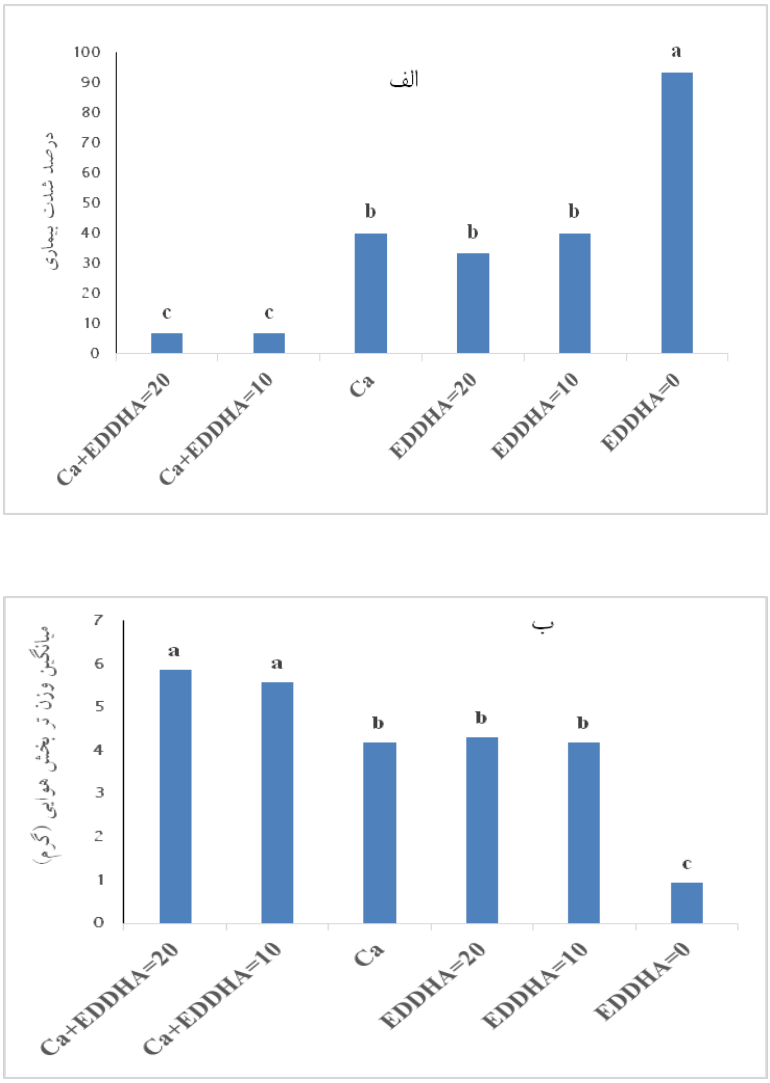
نتایج و بحث

مقایسه میانگین اثرات افزودن و عدم افزودن کلسیم در غلظت‌های مختلف EDDHA بر صفات مختلف با استفاده از آزمون کمترین اختلاف معنی‌دار نشان داد که در سطح ۵ درصد بین تیمارهای کلسیم+غلظت ۱۰ mmol/L و کلسیم+غلظت ۲۰ mmol/L EDDHA اختلاف معنی‌داری وجود نداشت و این دو تیمار از نظر میانگین صفات یاد شده با کلیه تیمارها اختلاف معنی‌دار داشتند. تیمارهایی که تنها غلظت‌های ۱۰ mmol/L و ۲۰ mmol/L کلات کننده را دریافت کرده بودند و آنهایی که تنها کلسیم دریافت کرده بودند نیز فاقد تفاوت معنی‌دار با یکدیگر بودند. تیمارهای کلسیم+غلظت ۱۰ mmol/L و کلسیم+غلظت ۲۰ mmol/L EDDHA بیش‌ترین میانگین وزن تر و خشک بخش هوایی، وزن تر ریشه و کمترین شدت بیماری را داشتند و کمترین میانگین وزن تر و خشک بخش هوایی، وزن تر ریشه و بیش‌ترین شدت بیماری مربوط به تیماری بود که هیچ‌گونه کلات کننده یا کلسیمی دریافت نکرده بود. این تیمار با کلیه تیمارها در تمام صفات مورد بررسی اختلاف معنی‌داری داشت (شکل ۱).

نتایج این پژوهش با تحقیقات فرخی نژاد (۱۹۹۳) که نشان داده بود افزودن کلات کننده Fe-EDDHA سبب کاهش معنی‌دار بیماری پژمردگی نخودفرنگی می‌شود، مطابقت داشت. مطالعات شر و بیکر (۱۹۸۲) نیز نشان داد که کاربرد کلات کننده Fe-EDDHA در دو غلظت ۵۰ µg/g و ۱۰۰ µg/g در دو خاک آلوده به فوزاریوم‌های عامل پژمردگی میخک و تربچه هیچ‌گونه تفاوتی از نظر کاهش شدت این بیماری‌ها نداشتند. مطالعات مایکل (۱۹۹۷) روی بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه گوجه‌فرنگی نیز نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین غلظت‌های مختلف (۲۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ µL) EDDHA در دو pH= ۸ و pH= ۶ وجود ندارد.

بسیاری از پاتولوژیست‌ها معتقدند کلسیم با باند شدن به بستره پکتین و تشکیل پکتات کلسیم (که نسبت به فعالیت آنزیم‌های پکتولیکی مقاوم است) سبب القاء مقاومت می‌گردد. براساس این نظریه با افزایش میزان

کلسیم در گیاه از فعالیت پلی‌گالاکتورونازها ممانعت می‌شود که در نتیجه، این امر بر خصوصیات پاتوژنسیتی بیمارگر اثر منفی خواهد گذاشت. کن و ساکستون (۱۹۷۰) با مطالعه اثر کلسیم بر بیماری پژمردگی میخک نشان دادند در صورتی که سطح زیادی از کلسیم در طول آزمایش یا در هنگام تلقیح وجود داشته باشد وقوع بیماری به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. تأثیر بیشتر در کاهش بیماری در تیمارهایی که هم کلسیم و هم کلات کننده دریافت کرده بودند ناشی از رقابت ایجاد شده برای آهن توسط کلات کننده و تشکیل پکتات کلسیم و ممانعت از فعالیت آنزیم‌های پلی‌گالاکتورونازها توسط کلسیم؛ به طور همزمان است.



شکل ۱- تیمارهای افزودن و عدم افزودن کلسیم در غلظت‌های مختلف EDDHA در خاک. الف: مقایسه میانگین‌های شدت بیماری ب: مقایسه میانگین‌های وزن تر بخش هوایی

منابع

کاویان پی، ع. ۱۳۷۷. جداسازی و تشخیص قارچ‌های مولد پوسیدگی ریشه و مرگ گیاهچه و نهال در خزانه¬های درختان جنگلی در خوزستان. پایان¬نامه کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی. دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز،۸۳ ص.

Farokhi Nejad, R. 1993. Induction of soil suppressiveness to *Fusarium* wilt disease of pea. Ph.D. Dissertation. Colorado State University.

Keane, E.M. and Sackston, W.E. 1970. Effects of boron and calcium nutrition of flax on *Fusarium* wilt. Plant Sciense, 50: 415-422.

Kim, D.S., Cook, R.J. and Weller, D.M. 1997. *Bacillus* sp. L324-92 for biological control of three root diseases of wheat grown with reduced tillage. Phytopathology, 87: 551-558.

Michael, M.M. 1997. Control of *Fusarium* crown and root rot on tomato seedlings using synthetic iron chelators and phenolic compounds found in lettuce roots. submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of master of science. Department of Plant Sciences, The University of Western Ontario London, Ontario.140 PP.

Scher, F.M. and Baker, R. 1982. Effect of *Pseudomonas Putida* and a synthetic iron chelator on induction of soil suppressiveness to *Fusarium* wilt pathogen. Phytopathology, 72: 1567-1573.

بررسی اثر pH و غلظت‌های مختلف کلات کننده EDDHA در خاک بر بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه ناترک ناشی از قارچ *Fusarium solani*

حمید علوانی پور[۱]، رضا فرخی نژاد[۲]، مصطفی چرم[۳]
۱-دانشجوی کارشناسی ارشد، ۲- استاد گروه گیاهپزشکی دانشگاه شهید چمران،
۳- دانشیار گروه خاکشناسی دانشگاه شهید چمران

مقدمه

ناترک با نام علمی *Dodonaea viscosa* (L.) Jacq گیاهی زینتی از خانواده *Sapindaceae* بوده که برای کشت در کنار خیابان‌ها، پارک‌ها، بلوارها و پرچین منازل مورد استفاده قرار می‌گیرد. همچنین ناترک یک گیاه دارویی سنتی بوده که دارای خواص دارویی فراوان است. در چند سال اخیر ظهور بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه در ناترک باعث حذف این گیاه مفید در نقاط مختلف استان خوزستان شده است که این امر ضرورت بررسی این بیماری را بیش از پیش ایجاب می‌کند. در این بیماری گیاه در ابتدا دچار زردی تدریجی شده که این زردی گسترش یافته و باعث خشکیدگی و مرگ کل گیاه می‌گردد. گیاهان آلوده دارای سیستم ریشه و طوقه ضعیف، پوسیده و قهوه‌ای هستند. با توجه به اینکه شرایط مساعد محیطی یکی از فاکتورهای لازم برای ایجاد بیماری است در بسیاری از موارد با ایجاد تغییر در شرایط محیطی مثلاً تغییر pH یا از دسترس خارج نمودن عناصر ضروری مورد نیاز جوانه‌زنی و رشد واحدهای تکثیری می‌توان پاتوژن را در تنگنا و تحت فشار قرار داد و به کنترل بیماری کمک نمود. مواد کلات کننده موادی هستند که با خارج نمودن عنصر آهن خاک از دسترس قارچ در مدیریت و کنترل بیماری فوزاریوم می‌توانند نقش داشته باشند.

مواد و روشها

نمونه برداری، جداسازی و خالص‌سازی قارچ فوزاریوم

گیاهان دارای علائم پوسیدگی ریشه و طوقه به طور کامل از زمین خارج و علاوه بر طوقه و ریشه‌های ضخیم از ریشه‌های ظریفی که علائم آلودگی را داشتند نیز نمونه‌برداری به عمل آمد. تکه‌هایی از این اندام‌ها به طول ۱-۰/۵ سانتیمتر به وسیله اسکالپل جدا و با محلول هیپوکلریت سدیم ۵٪ و ۱٪ به ترتیب به مدت ۳۰ ثانیه و ۱ دقیقه یا الکل اتیلیک ۷۰٪ به مدت ۳۰ ثانیه ضد عفونی سطحی شدند و در تشتک‌های پتری حاوی محیط کشت PDA و Nash & Snyder کشت شدند. برای خالص‌سازی قارچها از روش تک اسپور و نوک ریسه استفاده به عمل آمد.

آزمایش اثر pH و کلات کننده EDDHA

برای انجام آزمایش اثر pH از دو خاک pH= ۸ و pH= ۶ استفاده گردید. به منظور تهیه خاک با pH= ۸ چند نمونه خاک از نقاط مختلف دانشگاه شهید چمران اهواز مورد آزمایش قرار گرفت و مشخص شد که خاک منطقه عملیات کشاورزی دانشکده کشاورزی که قبلاً آب‌شویی شده بود دارای pH= ۸ می‌باشد. برای تهیه نمودن خاک pH= ۶ با استفاده از اسید سولفوریک ۱ مولار خاک pH= ۸ به pH= ۶ رسانده شد.

به دو خاک آماده شده در مرحله قبل (pH= ۸ و pH= ۶) بعد از کشت گیاهچه‌ها در گلدان‌ها دو سطح غلظتی (۱۰ و ۲۰ میلی‌مول در لیتر) از EDDHA قبل از مایه‌زنی و بعد از مایه‌زنی و در طول دوره رشد گیاهان به خاک افزوده شد و اثرات این ماده روی گسترش بیماری و صفات مختلف گیاه بررسی شد.

آزمون بیماری‌زایی

آزمون بیماری‌زایی با استفاده از دانه گندم آلوده به قارچ صورت گرفت. گلدان‌های ناترک ۶ ماهه که حاوی ۹۸۵ گرم خاک سترون بودند با ۱۵ گرم مایه تلقیح فوزاریوم، مایه‌زنی شدند. بعد از گذشت ۷۰ روز از زمان تلقیح، صفات مورد نظر در گیاهان مورد بررسی قرار گرفتند.

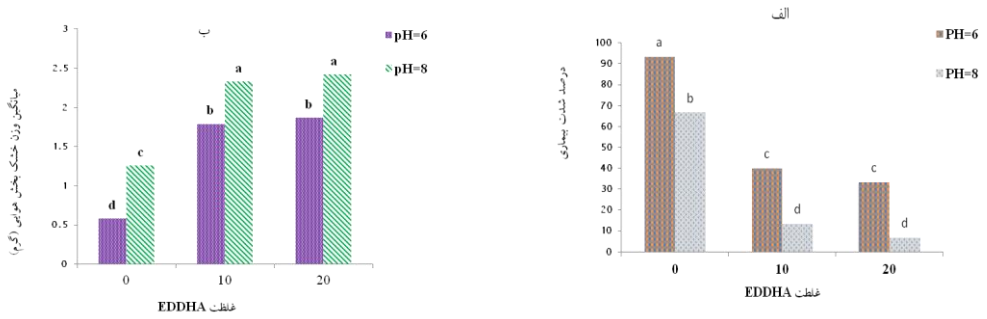
طرح آزمایش و صفات مورد بررسی:

این تحقیق در آزمایش فاکتوریل (۳×۲) و در قالب طرح کاملاً تصادفی برای ۴ متغیر وزن خشک بخش هوایی، وزن تر بخش هوایی، وزن تر ریشه و شدت بیماری صورت گرفت. فاکتور ۱ شامل دو سطح pH (۶ و ۸) و فاکتور ۲ شامل ۳ سطح غلظتی (صفر، ۱۰ و ۲۰ میلی‌مول در لیتر) کلات کننده EDDHA بود. شدت بیماری با استفاده از روش اصلاح شده کیم و همکاران (۱۹۹۷) مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج و بحث

مطالعه تفاوت میان دو pH خاک نمایان ساخت که وزن خشک و تر بخش هوایی، وزن تر ریشه و شدت بیماری گیاهان تیمار شده در pH= ۸ اختلاف معنی‌داری با گیاهان تیمار شده pH= ۶ دارد. با ملاحظه اثرات اصلی کلات کننده EDDHA در خاک بر صفات ذکر شده مشخص شد که هر چند که بیش‌ترین میانگین وزن خشک و تر بخش هوایی و وزن تر ریشه و همچنین کمترین شدت بیماری مربوط به سطح غلظتی ۲۰ mmol/L بوده لیکن براساس آزمون کمترین اختلاف معنی‌دار (LSD, P<۰/۰۵)، اختلاف معنی‌داری بین این سطح و سطح

غلظتی mmol/L ۱۰ وجود نداشت، ضمناً کاربرد این دو سطح غلظت اختلاف معنی‌داری با عدم کاربرد EDDHA (سطح غلظتی صفر) داشت. بررسی اثرات pH و سطوح مختلف غلظتی EDDHA بر صفات یاد شده نشان داد که در غلظت‌های صفر، ۱۰ و ۲۰ میلی‌مول در لیتر EDDHA میان دو pH تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۰۵ وجود داشت و در هر ۳ غلظت، pH= ۸ وزن خشک و تر بخش هوایی و وزن ریشه بالاتر و شدت بیماری کمتری را نشان داد. در هر دو pH خاک تفاوت معنی‌داری بین غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ میلی‌مول در لیتر EDDHA وجود نداشت و بالاترین میانگین وزن خشک و تر بخش هوایی و وزن تر ریشه و کمترین شدت بیماری مربوط به pH= ۸ و غلظت ۲۰ mmol/L EDDHA و کمترین میانگین وزن خشک و تر بخش هوایی و وزن تر ریشه و بیش‌ترین شدت بیماری مربوط به سطح غلظت صفر در pH= ۶ یا عدم کاربرد EDDHA می‌باشد (شکل ۱).



شکل ۱- مقایسه میانگین‌ها در غلظت‌های مختلف EDDHA در دوسطح pH. الف: شدت بیماری ب: وزن خشک بخش هوایی

در مطالعات مایکل (۱۹۹۷) نیز مشخص شد که شدت بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه گوجه‌فرنگی در pH= ۸ بسیار کمتر از pH= ۶ بوده و شدت این بیماری در این دو pH اختلاف معنی‌داری با هم دارد. مطالعات فرخی نژاد (۱۹۹۳) نیز نشان داد که علیرغم کاهش شدت بیماری پژمردگی فوزاریومی نخودفرنگی در pH= ۸ ، بین شدت بیماری در pH= ۸ و pH= ۶ اختلاف معنی‌داری وجود نداشت.

قارچ فوزاریوم تحت شرایط کمبود آهن اقدام به تولید سیدروفور جهت انتقال آهن به درون سلول خود می‌نماید. به دلیل کمتر بودن ثابت پایداری سیدروفور ترشح شده از فوزاریوم نسبت به EDDHA، پاتوژن از دسترسی به آهن محروم مانده و در نتیجه بازدارندگی ایجاد خواهد شد. از طرف دیگر قلیایی بودن زیاد خاک منجر به کاهش

دسترسی به Fe^{+3} می‌گردد در نتیجه pH خاک می‌تواند در دسترسی یا عدم دسترسی پاتوژن به Fe^{+} و یا رسانا و بازدارنده بودن خاک موثر باشد (شر و بیکر، ۱۹۸۲). نتایج این پژوهش با تحقیقات فرخی نژاد (۱۹۹۳) که نشان داده بود افزودن کلات کننده Fe-EDDHA سبب کاهش معنی‌دار بیماری پژمردگی نخودفرنگی در دو pH= ۸ و pH= ۶/۵می‌شود، مطابقت داشت. شر و بیکر (۱۹۸۲) نیز چنین نتایجی را با کاربرد کلات کننده EDDHA و فرم آهن‌دار آن Fe-EDDHA علیه پژمردگی فوزاریومی میخک بدست آورده‌اند. مایکل (۱۹۹۷) نیز نشان داد که کاربرد EDDHA باعث کنترل شدت بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه گوجه‌فرنگی در pH=۶ می‌گردد. مطالعات شر و بیکر (۱۹۸۲) نیز نشان داد که کاربرد کلات کننده Fe-EDDHA در دو غلظت ۵۰ µg/g و ۱۰۰ µg/g در دو خاک آلوده به فوزاریوم‌های عامل پژمردگی میخک و تربچه هیچ‌گونه تفاوتی از نظر کاهش شدت این بیماری‌ها نداشتند. مطالعات مایکل (۱۹۹۷) روی بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه گوجه‌فرنگی نیز نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین غلظت‌های مختلف (۲۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ µL) EDDHA در دو pH= ۸ و pH= ۶ وجود ندارد.

منابع

Farokhi Nejad, R. 1993. Induction of soil suppressiveness to *Fusarium* wilt disease of pea. Ph.D. Dissertation. Colorado State University.

Kim, D.S., Cook, R.J. and Weller, D.M. 1997. *Bacillus* sp. L324-92 for biological control of three root diseases of wheat grown with reduced tillage. Phytopathology, 87: 551-558.

Michael, M.M. 1997. Control of *Fusarium* crown and root rot on tomato seedlings using synthetic iron chelators and phenolic compounds found in lettuce roots. submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of master of science. Department of Plant Sciences, The University of Western Ontario London, Ontario.140 PP.

Scher, F.M. and Baker, R. 1982. Effect of *Pseudomonas Putida* and a synthetic iron chelator on induction of soil suppressiveness to *Fusarium* wilt pathogen. Phytopathology, 72: 1567-1573.

بررسی تاثیر برخی باکتری‌های محرک رشد گیاه و قارچ میکوریز روی غلظت عناصر و عملکرد سیر خوراکی

علیرضا آمیغی جونقانی[۱]، دکتر صاحبعلی بلندنظر[۲]، دکتر محمدرضا ساریخانی[۳]و مرتضی بازیار[۴]
۱ -دانشجوی ارشد اصلاح نباتات، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، ۲-دانشیار گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز،۳-گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، ۴-دانشجوی ارشد اصلاح نباتات، گروه به نژادی و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز.

مقدمه

باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه که همراه با اثرات مفید در رشد و توسعه گیاه هستند به عنوان باکتری‌های محرک رشد گیاه ۱(PGPR) شناخته می‌شوند. این گروه از باکتری‌ها قادرند از روشهای مستقیم یا غیر مستقیم بر رشد گیاه اثرگذار باشند. اثر مستقیم شامل تولید یا رهاسازی متابولیت‌های ثانویه ای نظیر تنظیم کننده ها یا هورمون های رشدی و موادی از این قبیل است و یا تسهیل جذب عناصر غذایی از محیط رشد گیاه، اما تاثیر غیر مستقیم PGPRها در تحریک رشد گیاه زمانی رخ می‌دهد که از اثرات زیانبار یک یا چندین عوامل بیماری زا کاسته یا به کلی بازداشته می شود(گلیک وهمکاران، ۱۹۹۵). باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه به جز باکتریهای ریزوبیوم همزیست، شامل باکتری‌های مفید ریزوسفری دیگر نظیر باکتری‌های جنس *Pseudomos*، *Azospirillum*، *Herbaspirillum*، *Enterobacter*، *Acetobacter*، *Azotobater* و همچنین بسیاری از باکتری‌های ناشناخته می‌باشد (ذهیر وهمکاران، ۲۰۰۴). در سال‌های اخیر، استفاده از PGPR به منظور بهبود رشد گیاه در بخش‌های مختلف دنیا افزایش یافته است. مهم‌ترین مساله در استفاده حداکثری از مزایای این فناوری انتخاب سویه موثر PGPR می‌باشد. با توجه به نقش و اهمیت PGPRها استفاده از آنها به عنوان کودهای زیستی امید بخش می‌باشد. در دنیا هر ساله علی رغم مصرف سموم و مواد شیمیایی در کشاورزی نه تنها خسارت‌ها کمتر نشده بلکه سطوح آلودگی افزایش یافته و فرایند تولید با مشکل روبرو شده است. در سال ۱۹۹۸حدود ۳۶۵ ملیون تن کود شیمیایی در جهان در سطحی معادل ۱/۴ میلیارد هکتار (حدود دو برابر مساحت قاره اقیانوسیه) مورد استفاده قرار گرفته است. در حالی که این رقم در سال ۱۹۶۱ معادل ۱۰۰ ملیون تن بوده است که در ۵۰ سال اخیر با رشد بی سابقه‌ای روبرو شده است. هر ساله نیز انواع جدیدتر کودهای شیمیایی با فورمولاسیون‌ها و درصد متفاوت عناصر غذایی معرفی می‌شوند. در سی سال اخیر به دلیل آشکار شدن اثرات سوء مصرف بی‌رویه کودهای شیمیایی و قیمت رو به تزاید آنها مجدداً استفاده از کودهای بیولوژیک در کشاورزی مطرح شده است (اسدی رحمانی و همکاران، ۱۳۸۳).

مواد و روش‌ها

آزمایش در سال زراعی ۱۳۹۲ در ایستگاه تحقیقاتی خلعت پوشان دانشکده کشاورزی واقع در جاده تبریز اجرا شد. بافت محل خاک مورد آزمایش لومی سبک بوده و از لحاظ هدایت الکتریکی در خاک مزبور هیچ گونه خطر شوری وجود نداشته و مقدار فسفر و پتاسیم موجود در آن در حد قابل قبول می باشد. آزمایش به صورت فاکتوریل با دو عامل باکتری آزوسپریلیوم وسودوموناس فورسنس و قارچ میکوریز (گلوموس اینترا رادیسز) در قالب بلوک های کامل تصادفی با ۸ تیمار و در ۴ تکرار اجرا شد. در این آزمایش تکثیر مایه تلقیح قارچ های میکوریز به روش کشت گلدانی بر روی ریشه سورگوم تکثیر گردید (علی اصغرزاد و همکاران، ۲۰۰۱). دو گونه باکتری *Pseudomonas fluorescens chao* و *Azospirilium AC46I* از بانک باکتریایی گروه خاکشناسی دانشکده تبریز تهیه شد.

۱. Plant growth promoting rhizobact

نیتروژن موجود در برگ ها با استفاده از روش کجلدال اندازه گیری شد که شامل ۳ مرحله هضم، تقطیر و تتراسیون می باشد. نمونه های برگی در پایان آزمایش از بوته ها برداشت و توسط آون خشک شدند (طباطبائی، ۱۳۸۸). برای اندازه‌گیری فسفر از روش (طباطبائی، ۱۳۸۸) استفاده شد. برای اندازه گیری فسفر ابتدا نمونه ها در لو له های آزمایش به مقدار دو میلی لیتر عصاره حاصل از هضم، ۲ میلی لیتر معرف نیتروواناداومولیبدات و ۸ میلیلیتر آب مقطر اضافه شده و پس از گذشت یک ساعت و تشکیل کمپلکس زرد رنگ، مقدار جذب محلول ها در طول موج ۴۳۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری می شود. اندازه گیری پتاسیم به روش نشر شعله ای (طباطبائی، ۱۳۸۸) انجام شد. در این روش عصاره گیاه توسط شعله پروپان و هوا به صورت بخار در می‌آید. در اثر حرارت ترکیبات پتاسیم بصورت اتم در می آیند و بر انگیخته می شوند. اتم های تحریک شده تشعشعات نوری ایجاد می کنند که در طول موج ۷۶۶/۵ نانومتر اندازه گیری می شوند. میزان پتاسیم موجود در نمونه های گیاهی توسط دستگاه Flamephotometer410 خوانده شد و در نهایت عدد قرائت شده به صورت غلظت در ماده خشک گیاهی محاسبه شد. تجزیه‌های آماری و رسم نمودارها به کمک برنامه‌های آماری SPSS، MSTAT-C و Excel انجام گرفت. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد.

نتایج و بحث

جدول واریانیس داده‌ها (جدول۱) نشان داد که اثر باکتری های محرک رشد گیاه و قارچ های میکوریزا آربوسکولار بر روی غلظت نیتروژن در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار می‌باشد. غلظت نیتروژن در سیر خوراکی در تیمار منفرد میکوریز و تیمار تلفیقی، باکتری آزوسپریلوم و سودوموناس بیشتر از گیاهان شاهد و بقیه تیمارها بود (شکل۱). همچنین تیمار باکتری آزوسپریلیوم نسبت به باکتری سودوموناس دارای غلظت بیشتری از نیتروزن در اندام گیاهی سیر خوراکی بود. بیاری وهمکاران (۱۳۸۶) گزارش کردند که تلقیح ذرت با باکتری های محرک رشد (ازتوباکتر و آزوسپریلیوم) سبب افزایش معنی‌دار مقدار عناصر نیتروژن و فسفر در مقایسه با شاهد شد. تیین و همکاران (۱۹۷۷) بیان نمودند که *Azospirillum* به عنوان یکی از باکتری‌های تحریک کننده رشدگیاه علاوه بر تثبیت نیتروژن مولکولی، قادر به تولید اکسین‌ها نظیر اکسین IAA می باشد واز این طریق باعث افزایش تولید ریشه هالی مویین شده و جذب عناصر غذایی را افزایش می دهند.

همان طوری که در جدول۱ نشان داده شده است غلظت فسفر در سیر خوراکی به طور معنی‌داری تحت تاثیر باکتری‌های محرک رشد و قارچ میکوریزآربوسکولارقرار گرفته است. غلظت فسفر در سیر خوراکی در گیاهان میکوریزی و باکتری‌های *Pseudomonas flurescence*، *Azospirillum* و *Azospirillum* + میکوریز بیشتر از گیاهان شاهد و بقیه تیمارها بود (شکل۲). عقیده بر این است که مهم‌ترین اثر فیزیولوژیکی قارچ های میکوریز، افزایش میزان جذب فسفر در خاک هایی که با کمبود فسفر مواجه هستند (استربیلی، ۱۹۹۹۰). محمد و همکاران (۲۰۰۳) گزارش نمودند که تلقیح بوته های جو با قارچ گلوموس اینتراررادیسز سبب افزایش غلظت فسفر بوته ها شد.

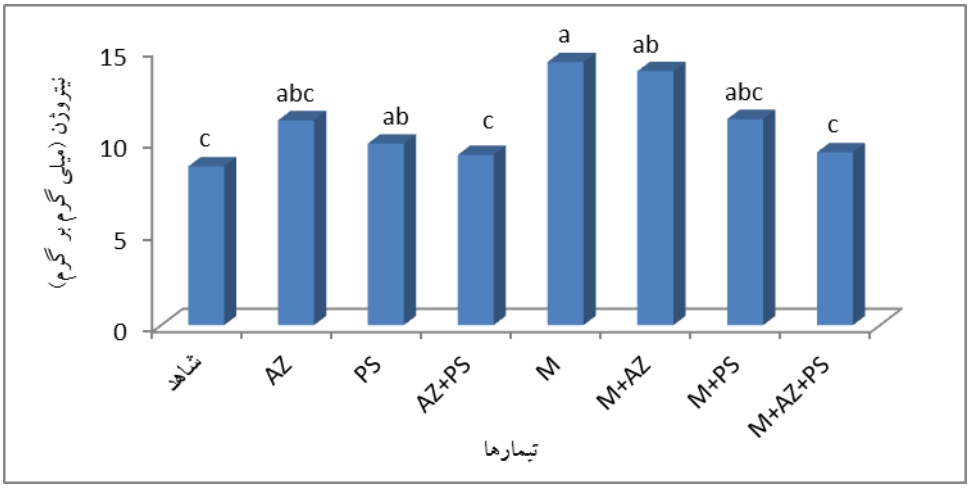
جدول تجزیه واریانس داده‌ها (جدول۱) نشان دادکه اثر باکتری‌های محرک رشد گیاه و قارچ‌های میکوریزا آربوسکولار بر روی غلظت پتاسیم در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار می‌باشد. غلظت پتاسیم در سیر خوراکی در گیاهان تلقیح شده با باکتری *Azospirillum* و *Pseudomonas flurescence* بیشتر از گیاهان شاهد و بقیه تیمارها بود (شکل۳). کاردوسو و کویپر (۲۰۰۶) هیف‌های خارجی میکوریزآربوسکولار از سطح ریشه به آن سوی خاک وناحیه تخلیبه عناصر غذ ایی توسعه پیدا کرده و بنابراین دسترسی ریشه به حجم بیشتری از خاک و ناحیه تخلیه شده از عناصر غذایی را در مقایسه با ریشه تنها مهیا می‌کند، به هر حال یک سیستم ریشه ای میکوریزی در آن شکل گرفته دارای سطح موثر بیشتری جهت تامین عناصر غذایی خواهد بود و می تواند حجم بیشتری از خاک را در مقایسه با ریشه غیر میکوریزی کاوش

کند. در گیاهان میکوریزی جذب پتاسیم نسبت به شاهد افزایش می‌یابد که افزایش جذب پتاسیم به دنبال افزایش جذب فسفر صورت می‌گیرد و منجر به رشد بیشتر گیاهان می‌شود (جاکوبسن، ۱۹۹۹). تجزیه واریانس (جدول۱) نشان داد که عملکرد سیر خوراکی به طور معنی داری تحت تاثیر باکتری‌های محرک رشد و قارچ میکوریزآربوسکولار قرارگرفت. بیشترین عملکرد سیر خوراکی مربوط به تیمار منفرد میکوریز و ترکیب تلفیقی، میکوریز+ باکتری آزوسپریلیوم به دست آمد و کمترین عملکرد مربوط به شاهد بدون تیماربود (شکل۴). بررسی‌ها نشان داده که تلقیح همزمان دو یا چند سویه از باکتری ها سبب افزایش تحریک رشد گیاه در مقایسه با تلقیح هر یک از آنها می شود (براون، ۱۹۷۴) . مدینا و همکاران (۱۹۹۸) نشان دادند که در اکثر موارد تلقیح ریشه گیاهان با قارچ میکوریز منجر به افزایش رشد گیاه می‌گردد که نقش عمده آنها در جذب و انتقال عناصر غذایی به ویژه فسفر به گیاه میزبان می‌باشد. یاساری و پتواردهان (۲۰۰۷) گزارش نمودند که باکتری‌های آزوسپریلیوم و ازتوباکتر در کلزا باعث رشد و عملکرد محصول شده است.

جدول۱. تجزیه واریانس اثر تیمار باکتری های محرک رشد گیاه و قارچ میکوریزآربوسکولارروی نیتروژن، فسفر، پتاسیم وعملکرد سیر خوراکی

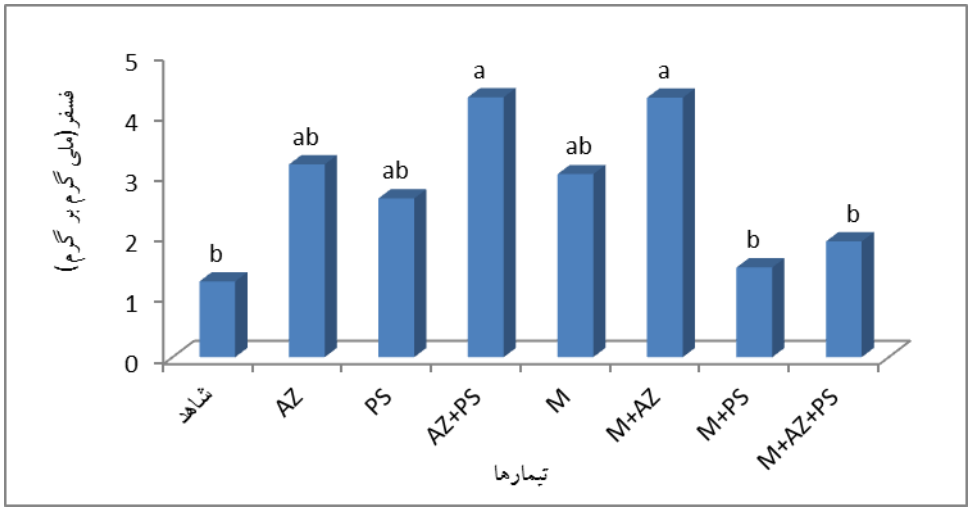
منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		نیتروژن	فسفر	پتاسیم	عملکرد
تکرار	۳	۱۰۰۱/۳۶۵	۰/۰۲۰۸	۱۴۰/۶۶۷	۳۳۷/۸۳۳
تیمار	۷	۱۰۸۰۷/۳۸۸**	۴/۰۴۳**	۵۴۵/۲۰۸**	۹۲۳/۰۷۸**
خطای آزمایشی	۲۱	۶۸۰/۳۸۸	۰/۴۵۴	۱۹۰/۳۵۸	۲۷۷/۲۱۵
ضریب تغییرات (درصد)	-	۲۳/۸۱	۲۲/۲۴	۲۵/۰۴	۲۰/۸۸

*** و ** معنی‌داری در سطح ۱ و ۵ درصد.**



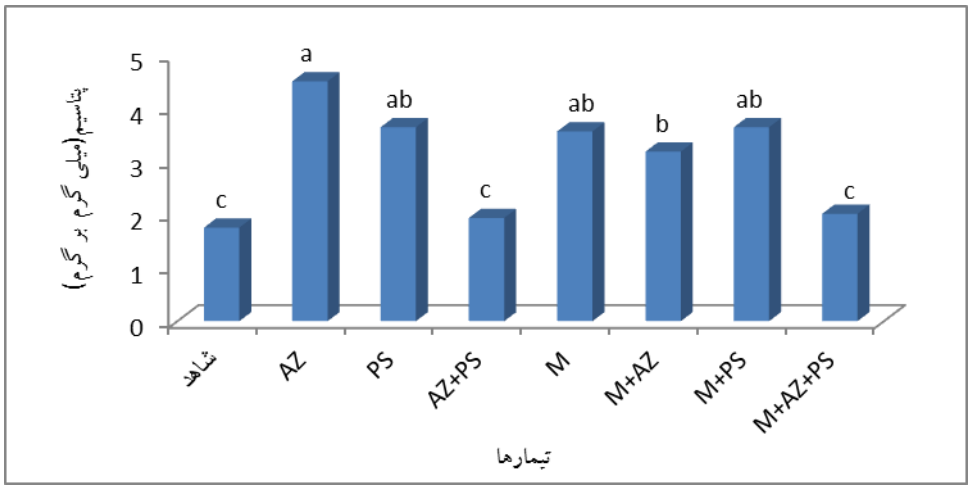
شکل۱. نیتروژن سیرخوراکی تحت تاثیر باکتری های محرک رشد گیاه و قارچ میکوریزآربوسکولار

= AZآزوسپریلوم، = PSسودوموناس فلورسنس ، = Mمیکوریزآربوسکولار



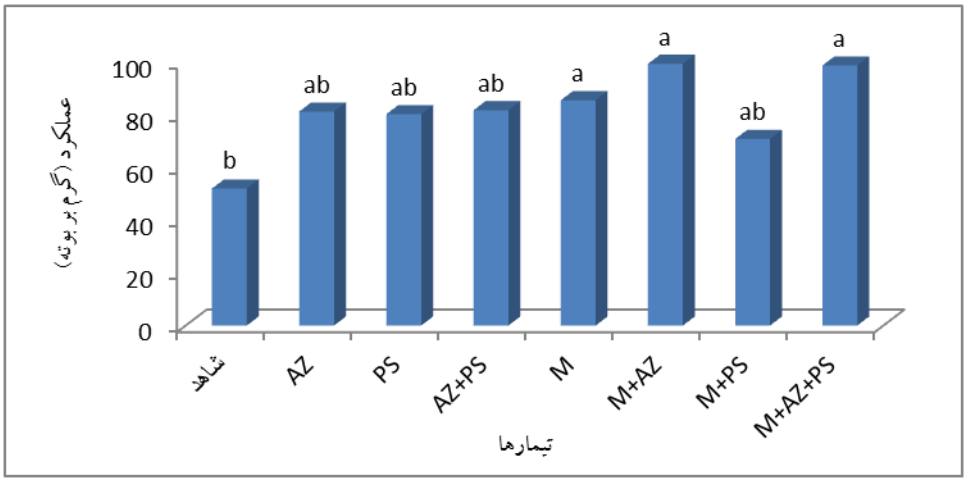
شکل۲. فسفرسیرخوراکی تحت تاثیر باکتری های محرک رشد گیاه و قارچ میکوریزآربوسکولار

= AZآزوسپریلوم، ، = PSسودوموناس فلورسنس ، = Mمیکوریز آربوسکولار



شکل۳. پتاسیم سیرخوراکی تحت تاثیر باکتری های محرک رشد گیاه و قارچ میکوریزآربوسکولار

= AZآزوسپریلوم، ، = PSسودوموناس فلورسنس ، = Mمیکوریزآربوسکولار



شکل۴. عملکردسیرخوراکی تحت تاثیر باکتری های محرک رشد گیاه و قارچ میکوریزآربوسکولار

= AZآزوسپریلوم، ، = PSسودوموناس فلورسنس ، = Mمیکوریز آربوسکولار

منابع

اسدی رحمانی، ه.، خسروی، ز.، علی‌پور، م .ج. و ملکوتی، ج. ۱۳۸۳. نقش باکتری‌های محرک رشد PGPR در رشد و سلامت گیاه. صفحه‌های ۱ تا ۱۰، مجموعه مقالات ضرورت تولید صنعتی کودهای بیولوژیک در کشور، ۱۰-۱۲ اسفند ۱۳۸۹ تهران.

بیاری، آ.، غلامی، ا.، و اسدی رحمانی، ه. ۱۳۸۶. تولید پایدار و بهبود جذب عناصر غذایی ذرت در عکس‌العمل به تلقیح بذر توسط باکتری‌های محرک رشد. صفحه ۸، مجموعه مقالات دومین همایش ملی کشاورزی بوم شناختی ایران، ۲۵ و ۲۶ مهرماه ۱۳۸۶، گرگان.

طباطبایی، ج. ۱۳۸۸. اصول تغذیه معدنی گیاهان. انتشارات خوارزمی، جلد ۳، شماره۲. ۳۸۹ صفحه.

Aliasgarzadeh, N., Salehrastin, N., Towifigi, H. and Alizadeh, A. 2001. Occurance of arbuscular mycorrhizal fungiin saline soils of the Tabriz plain of Iran in relation to some physical and chemical properties of soil. Mycorrhiza, 11: 119-122.

Brown, M.E. 1974. Seed and root bacterization. Annual. Rev. Phytopatliol., 12: 181-197.

Cardoso, I., and Kuyper, M.T.W. 2006. Mycorrhizas and tropical soil fertility. Agri. Eco. Environ., 116: 72-84.

Glick, B.R. 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. J. Microbiol, 41: 109-117.

Jakobsen, J. 1999. Transport of phosphorus and carbon in arboscular mycorrhizas, In A. Varma, and B. Hock (Eds.), Mycorrhiza, 2nd Ed. Springer-Verlag, Berlin Heidel., pp: 305-332.

Medina, O.A., Sylvia, D.M., and Kreschmer, A.E. 1998. Response of siratro to vesicular-arbuscular mycorrhizae fungi: II-Efficacy of selected vesicular- arbuscular fungi at different phosphorus levels. J. Soil. Sci., 52: 420-423.

Mohammad, M.J., Malkawi, H.I. and Shibi, R. 2003. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi and phosphorus fertilization on growth and nutrient uptake of barley grown on soils with different levels of salts. J. Plant. Nut., 26: 125-137.

Stribley, D.P. 1990. Mycorrhizal association and their significance. In: Rabinowitch, H. D. and J. L. Brewster (eds.) onions and allied crops, Vol. 2 Agronomy, biotic interactions, pathology, and crops protection by CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida, pp: 85-101.

Tien, T.M., Gaskins, M.H. and Hubel, D.H. 1977. Plant gowth substance produced by Azospirillum brasilense and their effect on the gowth of pearl millet. Appl. Environ. Microbiol., 37: 1016-1024.

Yasari, E., and Patwardhan, A.M. 2007. Effect of Aztobacter and Azospirillum inoculations and chemical fertilizers on growth and productivity of canola. J. Plant. Sci., 6: 77-82.

Zahir, A.Z., Arshad, M. and W. F. Frankenberger. 2004. Plant growth promoting rhizobacteria: applications and perspectives in agriculture. Adv. Agr., 81: 97-168.

بررسی اثر متقابل سطوح مختلف فسفر و گوگرد تلقیح شده با باکتری اکسیدکننده بر عملکرد و برخی ویژگی های زراعی کلزا

محمدهادی میرزاپور[1]، کاظم خاوازی[2]، محمدرضا نایینی[1]، علیرضا کابلی[3] و رضا وکیل[3]
۱- اعضای هیات علمی موسسه تحقیقات خاک و آب و مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی قم، ۲- دانشیار پژوهش موسسه تحقیقات خاک و آب، ۳- محققان مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی قم

مقدمه

استفاده از کود سوپر فسفات تریپل در ایران متداول است اما متاسفانه این کود در شرایط آهکی به علت رسوب سریع [در سال اول مصرف تنها ۲۰٪ محلول است (تیسدال، ۱۹۹۳)] دارای کارآیی اندکی می‌باشد (سلیم پور و همکاران، ۲۰۱۰). نتایج پژوهش های بسیاری حاکی از آن است که می توان فسفر نامحلول موجود در خاک را با روش هایی، به شکل محلول تبدیل کرد. از این روش ها می توان به استفاده از گوگرد و مواد آلی، مصرف باکتری های حل کننده فسفات رسوب یافته، به کارگیری باکتری های اکسید کننده گوگرد و یا کاربرد قارچ های آربوسکولار اشاره کرد (چین و همکاران، ۱۹۹۶؛ وسی، ۲۰۰۳). بر اساس نتایج پژوهش های حاضر، مصرف سنگ فسفات و گوگرد عنصری تلقیح شده با تیوباسیلوس تیواکسیدانس در شرایط آهکی منجر به تولید عملکرد و جذب فسفری مشابه مصرف سوپر فسفات تریپل در همان شرایط در شبدر (اسکوفیلد و همکاران، ۱۹۸۱) و کلزا (سلیم پور و همکاران، ۲۰۱۰) شد. بر این اساس، این پژوهشگران، برای خاک های دارای مقادیر پایین تا متوسط فسفر، مصرف سنگ فسفات با گوگرد تلقیح شده را توصیه کرده‌اند. تلقیح گوگرد عنصری با تیوباسیلوس از اهمیت ویژه ای برخوردار است زیرا فراهم شدن شرایط اسیدی حاصل از اکسید شدن گوگرد می تواند به حلالیت فسفر موجود در سنگ فسفات و در آخر افزایش عملکرد گیاه کمک زیادی کند (میرانصاری و اسمیت، ۲۰۰۷). هدف از اجرای این پژوهش، بررسی امکان استفاده از گوگرد عنصری تلقیح شده با باکتری اکسید کننده برای کاهش مصرف فسفر از طریق حل کردن فسفر رسوب یافته در خاک بود.

مواد و روش ها

طی سال زراعی ۹۱-۱۳۹۰، با هدف بررسی اثر سطوح مختلف فسفر و گوگرد تلقیح شده با باکتری اکسیدکننده (*Thiobacillus thioparus*) بر عملکرد و برخی ویژگی های زراعی کلزا (*B. napus* L.)، آزمایشی در مزرعه ای با شوری آب آبیاری و خاک سطحی به ترتیب ۲/۳ و ۲/۷ دسی زیمنس بر متر، متوسط کربن آلی و آهک به ترتیب ۰/۶۰ و ۲۰ درصد، پتاسیم قابل جذب معادل ۴۵۰ میلی گرم در کیلوگرم) و فقیر از نظر فسفر قابل جذب (۳ میلی گرم در کیلوگرم) در بخش مرکزی استان قم به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد. فاکتور اول شامل ۴ سطح گوگرد (صفر، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ کیلوگرم گوگرد عنصری در هکتار به همراه باکتری اکسید کننده) و فاکتور دوم شامل سه سطح فسفر [صفر، مصرف فسفر بر اساس آزمون خاک (معادل ۱۱۰ کیلوگرم فسفر در هکتار) و مصرف فسفر به میزان ۶۵ درصد توصیه بر اساس آزمون خاک (معادل ۷۲ کیلوگرم فسفر در هکتار)] از منبع سوپر فسفات تریپل و بر روی کلزا، رقم Hyola-401 بود. مساحت هر کرت ۳۰ متر مربع (۳×۱۰ متر) انتخاب شد. مقادیر تیماری گوگرد و فسفر،

حین کاشت و به صورت نواری مصرف شد. تعداد۱۰ بوته در دو ردیف وسط داخل هر کرت برای اندازه‌گیری ارتفاع، تعداد خورجین در هر بوته، تعداد دانه در خورجین و وزن هزار دانه انتخاب شد. برداشت هر کرت، از دو ردیف وسط کرت ها و با حذف حاشیه ها و نیم متر از بالا و پایین کرت ها انجام شد. داده ها پس از مرتب شدن، با استفاده از نرم افزارهای SAS و MSTATC مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفته و مقایسه میانگین ها نیز با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن در سطح ۵٪ انجام شد و به این ترتیب اثر تیمار های مختلف بر عملکرد دانه، شاخساره و اجزای عملکرد مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج بدست آمده در این پژوهش، بین عملکرد دانه و شاخساره کلزا در سطوح مختلف گوگرد مصرف شده، اختلاف معنی داری در سطح ۵٪ آزمون دانکن وجود داشت (جدول ۱). اگر چه بین سطح ۵۰۰ و ۱۰۰۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار در خصوص عملکرد دانه، اختلاف معنی داری مشاهده نشد (جدول۱). بالاترین عملکرد دانه و شاخساره با مصرف ۲۰۰۰ کیلوگرم در هکتار گوگرد تلقیح شده با باکتری به دست آمد (جدول ۱). بررسی برخی از ویژگی های زراعی موثر بر عملکرد دانه در فاکتور (عامل) گوگرد نشان داد که با افزایش سطح گوگرد مصرف شده، این ویژگی ها نیز به طور معنی داری افزایش یافته است (جدول ۱) به طوری که بالاترین این ویژگی ها در سطح۲۰۰۰ کیلوگرم در هکتار گوگرد تلقیح شده با باکتری به دست آمد (جدول ۱). به نظر می رسد مصرف گوگرد به همراه باکتری اکسید کننده آن، نقش مهمی در کاهش اسیدیته محیط ریشه و فراهمی عناصر غذایی (به ویژه فسفر) داشته است (میرانصاری و اسمیت، ۲۰۰۷). با افزایش سطح فسفر مصرف شده، عملکرد دانه و شاخساره کلزا افزایش معنی داری یافت (جدول ۱)؛ اگرچه میانگین شاخساره در دو سطح ۷۲ و ۱۱۰ کیلوگرم فسفر در هکتار از لحاظ آماری، اختلاف معنی درای در سطح ۵٪ آزمون دانکن نداشتند (جدول ۱). بررسی ویژگی های زراعی مورد مطالعه نشان داد با افزایش سطح فسفر مصرفی، این ویژگی ها افزایش معنی داری در سطح ۵٪ آزمون دانکن داشت (جدول ۱) به طوری که بالاترین این ویژگی ها در سطح ۱۱۰ کیلوگرم فسفر در هکتار به دست آمد (جدول ۱). نتایج پژوهش محققان نشان داده که فسفر از طریق افزایش رشد شاخه ها و غلاف های گیاه عملکرد دانه را افزایش می دهد (لیو و همکاران، ۲۰۰۹) که این افزایش رشد به جذب بیشتر نیتروژن و گوگرد (حتی بیش از کود دهی نیتروژن) نسبت داده شده است (لیو و همکاران، ۲۰۰۹). بررسی اثر متقابل گوگرد و فسفر نشان داد در سطح صفر گوگرد، با افزایش میزان فسفر مصرفی، عملکرد دانه و شاخساره و ویژگی های زراعی مورد بررسی افزایش معنی درای یافته است. با توجه به پایین بودن میزان فسفر قابل جذب خاک، افزایش مصرف فسفر اثر مثبت و معنی داری بر عملکرد و اجزای آن داشته است که این امر نشان دهنده اثر مثبت فسفر بر عملکرد و اجزای آن دارد (لیو و همکاران، ۲۰۰۹) (جدول ۱). در سطح ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ کیلوگرم گوگرد، با افزایش سطح فسفر، عملکرد دانه و شاخساره و سایر ویژگی های زراعی افزایش معنی داری داشت (جدول ۱).

جدول ۱- اثر سطوح مختلف فسفر و گوگرد و برهمکنش ها بر عملکرد و برخی ویژگی های زراعی کلزا (رقم Hyola-401) (ویژگی های موجود در ستون های هر تیمار، مقادیر با حروف مشابه، اختلاف معنی داری در سطح ۵٪ آزمون دانکن ندارند)

تیمار	سطح ($kg.ha^{-1}$)	عملکرد کاه ($kg.ha^{-1}$)	عملکرد دانه ($kg.ha^{-1}$)	ارتفاع (cm)	وزن هزار دانه (gr)	طول خورجین (cm)	تعداد دانه در خورجین	تعداد پنجه در متر مربع	تعدادخورجین در شاخه اصلی	تعداد خورجین در شاخه فرعی
گوگرد	S_0	۲۰۶۴^{c}	۲۷۲۴^{d}	۹۹/۲^{c}	۳/۴^{c}	۶/۹^{b}	۲۸/۲^{d}	۳۸/۹^{d}	۳۷/۷^{d}	۱۶۱/۹^{c}
	S_{500}	۲۴۲۴^{b}	۲۹۰۵^{c}	۱۰۵/۲^{b}	۳/۷^{b}	۷/۲^{a}	۲۸/۷^{c}	۴۳/۰^{c}	۳۸/۵^{c}	۱۶۳/۱^{c}
	S_{1000}	۲۵۲۲^{b}	۳۲۰۵^{b}	۱۰۵/۰^{b}	۳/۷^{b}	۷/۱^{ab}	۲۹/۱^{b}	۴۴/۸^{b}	۴۳/۹^{b}	۱۷۶/۹^{b}
	S_{2000}	۲۹۴۴^{a}	۳۶۴۶^{a}	۱۱۲/۵^{a}	۳/۹^{a}	۷/۱^{ab}	۲۹/۷^{a}	۵۳/۳^{a}	۴۷/۴^{a}	۱۸۳/۰^{a}
فسفر	P_0	۲۳۱۰^{c}	۳۰۰۰^{b}	۱۰۲/۷^{c}	۳/۶^{b}	۶/۹^{c}	۲۸/۲^{c}	۴۱/۸^{c}	۳۸/۰^{c}	۱۶۳/۷^{c}
	P_{72}	۲۴۵۵^{b}	۳۱۰۳^{ab}	۱۰۵/۸^{b}	۳/۶^{b}	۷/۱^{b}	۲۸/۹^{b}	۴۵/۷^{b}	۴۲/۸^{b}	۱۷۱/۷^{b}
	P_{110}	۲۷۰۰^{a}	۳۲۵۶^{a}	۱۰۸/۱^{a}	۳/۹^{a}	۷/۳^{a}	۲۹/۵^{a}	۴۷/۵^{a}	۴۴/۸^{a}	۱۷۸/۳^{a}
برهمکنش گوگرد×فسفر	S_0P_0	۲۴۵۳^{e}	۱۶۵۳^{f}	۹۶/۷^{h}	۳/۳^{e}	۶/۷^{c}	۲۷/۲^{f}	۳۶/۳^{g}	۳۳/۷^{i}	۱۵۲/۰^{h}
	S_0P_{72}	۲۴۷۱^{e}	۱۸۰۸^{f}	۹۸/۷^{gh}	۳/۴^{de}	۶/۹^{bc}	۲۸/۱^{e}	۳۷/۷^{f}	۳۹/۳^{efg}	۱۶۲/۷^{f}
	S_0P_{110}	۳۲۴۸^{b}	۲۷۳۳^{bc}	۱۰۳/۳^{efg}	۳/۵^{cde}	۷/۳^{a}	۲۹/۱^{c}	۴۲/۷^{d}	۴۰/۰^{ef}	۱۷۱/۰^{d}
	$S_{500}P_0$	۲۷۹۱^{d}	۲۲۰۵^{e}	۱۰۱/۷^{fg}	۳/۶^{bcd}	۷/۲^{a}	۲۸/۳^{e}	۴۰/۳^{e}	۳۶/۷^{h}	۵۹/۳^{g}
	$S_{500}P_{72}$	۳۰۶۳^{bc}	۲۷۶۶^{bc}	۱۰۶/۷^{cd}	۳/۸^{b}	۷/۲^{a}	۲۸/۶^{de}	۴۳/۳^{d}	۳۸/۳^{g}	۱۶۳/۷^{f}
	$S_{500}P_{110}$	۲۸۶۲^{cd}	۲۷۹۲^{bc}	۱۰۷/۳^{cd}	۳/۹^{b}	۷/۲^{a}	۲۹/۱^{c}	۴۵/۳^{c}	۴۰/۷^{e}	۱۶۶/۳^{e}
	$S_{1000}P_0$	۳۲۱۵^{b}	۲۴۱۴^{cde}	۱۰۳/۷^{def}	۳/۸^{b}	۶/۸^{c}	۲۸/۵^{e}	۴۳/۳^{d}	۳۹/۰^{fg}	۱۶۹/۳^{d}
	$S_{1000}P_{72}$	۳۱۹۵^{b}	۲۵۲۶^{cde}	۱۰۵/۳^{cdef}	۳/۷^{bc}	۷/۲^{a}	۲۹/۳^{c}	۴۵/۷^{c}	۴۵/۳^{c}	۱۷۶/۰^{c}
	$S_{1000}P_{110}$	۳۲۰۵^{b}	bcd ۲۶۲۷	/۰^{cdef} ۱۰۶	۳/۸^{b}	۷/۲^{a}	۲۹/۴^{bc}	۴۵/۳^{c}	۴۷/۳^{b}	۱۸۵/۳^{b}
	$S_{2000}P_0$	۳۵۴۳^{a}	۲۹۷۰^{ab}	۱۰۸/۷^{c}	۳/۹^{b}	۶/۸^{c}	۲۹/۰^{cd}	۴۷/۳^{b}	۴۲/۷^{d}	۱۷۴/۰^{c}
	$S_{2000}P_{72}$	۳۶۸۶^{a}	۲۷۲۱^{bc}	۱۱۲/۳^{b}	۳/۶^{bcd}	۷/۱^{ab}	۲۹/۸^{ab}	۵۶/۰^{a}	۴۸/۳^{b}	۱۸۴/۳^{b}
	$S_{2000}P_{110}$	۳۷۱۱^{a}	۳۱۴۲^{a}	۱۱۶/۷^{a}	۴/۳^{a}	۷/۳^{a}	۳۰/۲^{a}	۵۶/۷^{a}	۵۱/۳^{a}	۱۹۰/۷^{a}

P_0، P_{72} و P_{110} به ترتیب سطح صفر، مصرف فسفر به میزان ۶۵ درصد توصیه بر اساس آزمون خاک (معادل ۷۲ کیلوگرم فسفر در هکتار) و مصرف فسفر بر اساس آزمون خاک (معادل ۱۱۰ کیلوگرم فسفر در هکتار).

S_0، S_{500} ، S_{1000} و S_{2000} به ترتیب سطح صفر، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ کیلوگرم گوگرد عنصری در هکتار به همراه باکتری اکسید کننده.

به نظر می رسد با افزایش سطح گوگرد، کاهش اسیدیته و افزایش غلظت عناصر کم مصرف (اطلاعات ارایه نشده) در خاک، سبب بهبود رشد و افزایش عملکرد و اجزای آن شده است که نشان دهنده برهمکنش مثبت و

معنی دار این دو فاکتور بر عملکرد و اجزای آن می باشد. در مجموع، بالاترین عملکرد دانه، شاخساره و اجزای عملکرد با مصرف ۲۰۰۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار به دست آمد و مصرف و یا عدم مصرف فسفر اثر معنی داری بر آن نداشته است که تایید کننده اثر مثبت گوگرد تلقیح شده در انحلال و افزایش جذب فسفر و سایر عناصر غذایی (اطلاعات ارایه نشده) می باشد و لذا از یک سو با توجه به اثر مثبت آن بر عملکرد کلزا و از سوی دیگر وجود منابع بزرگ گوگرد حاصل از پالایشگاه های نفت، مصرف آن در زراعت کلزا و در شرایط آهکی مناطق مرکزی ایران، قابل توصیه است.

منابع

Chein SH, Menon RG, Billingham K, 1996. Phosphorus availability from phosphate rock as enhanced by water soluble phosphorus. Soil Sci Soc Am J 60: 1173-1177.

Liu H, Hu C, Sun X, Tan Q, Nie Zh, Su J, Liu J, and Huang H, 2009. Interactive effects of molybdenum and phosphorus fertilizers on grain yield and quality of *Brassica napus L*. J. Food Agric. Environ. 7 (3&4): 266 - 269.

Miransari M, Smith DL, 2007. Overcoming the stressful effects of salinity and acidity on soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] nodulation and yields using signal molecule genistein under field conditions. J Plant Nut 30:1967-1992.

Salimpour S, Khavazi K, Nadian H, Besharati H, Miransari M, 2010. Enhancing phosphorous availability to canola (*Brassica napus* L.) using P solubilizing and sulfur oxidizing bacteria. Austr. J. Crop Sci. 4(5):330-334.

Schofield PE, Gregg P, Syers JK, 1981. Biosuper as a phosphate fertilizer: A glasshouse evaluation. N.Z. J Exp Agric. 9:63-67.

Tisdale SL, Nelson WL, Beaton JD, Havlin JL ,1993. Soil fertility and fertilizers. 5th ed. Mcmillon Publishing Co., New York.

Vessey JK , 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant Soil 255: 571–586.

مقایسه اثر اوره وکود زیستی نیتروکسین بر عملکرد، برخی ویژگی های زراعی و میزان نیترات اندام هوایی اسفناج

محمدرضا نایینی[1]، محمدهادی میرزاپور[1] و علیرضا کابلی[2]
1- اعضای هیات علمی موسسه تحقیقات خاک و آب و مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی قم 2- محقق مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی قم

مقدمه

استفاده ازکودهای زیستی نیتروژنی، علاوه بر تثبیت نیتروژن و افزایش رشد و عملکرد محصولات زراعی (با توجه به تولید هورمونهای محرک رشد توسط ریزجانداران موجود در این کودها)، مسائل و مشکلات مصرف کودهای شیمیائی نیتروژنه را نیزکاهش می دهند (سیفی و همکاران، 1386؛ زارع و همکاران، 2013). یکی از کودهای زیستی عرضه شده در بازار، کود زیستی نیتروکسین است. این کود حاوی مجموعه ای از فعال‌ترین سویه‌های باکتری‌های تثبیت کننده‌ی ازت از جنس *Azotobacter* spp. و*Azospirillum* spp. است که علاوه بر تثبیت نیتروژن، با تولید هورمون‌های طبیعی محرک رشد گیاه (زارع و همکاران، 2013)، سبب گسترش ریشه و جذب بهتر آب و مواد غذایی توسط گیاه می‌شود. همچنین ترشح پاد زیست و سیدروفور و مواد فرّار مانند سیانید هیدروژن در ریزوسفر ریشه توسط باکترهای موجود در این کود زیستی، از تهاجم بسیاری از عوامل بیماری زای خاک زی به ریشه جلوگیری کرده و مقاومت طبیعی گیاه را در برابر این عوامل افزایش می‌دهد (زارع و همکاران، 2013). نتایج برخی تحقیقات نشان داده که تلقیح بذر یا ریشه های گیاه با ازتو باکتر و یا نیتروکسین، عملکرد ماده خشک و محصول را به طور معنی داری افزایش می دهد (براون، 1976؛ مهاجرمیلانی و کلهر، 1386؛ ترنگ و همکاران، 2013). هدف از اجرای این تحقیق، مقایسه اثر مصرف خاکی کود نیتروژنی اوره با تیمار بذرمال و مصرف به همراه آب آبیاری کود زیستی نیتروکسین بر عملکرد و غلظت نیترات اندام هوایی اسفناج در استان قم بود.

مواد و روش ها

به منظور مقایسه اثر اوره و کود زیستی نیتروکسین بر عملکرد اسفناج، این آزمایش در پاییز سال 91، در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با 8 تیمار و 3 تکرار در یکی از مزارع کشت اسفناج در حومه قم اجرا گردید. ابعادکرت های آزمایشی 3×6 متر و رقم مورد کاشت، رقم محلی بود. تیمارهای آزمایش شامل: 1- مصرف نیتروکسین به صورت بذرمال (به ازاء هر 10 کیلوگرم بذر سبزی یک لیتر) 2- مصرف نیتروکسین در آب آبیاری (دو مرتبه) 3- مصرف نیتروکسین بذرمال+ مصرف نیتروکسین در آب آبیاری 4- مصرف نیتروکسین بذرمال+ مصرف اوره به میزان 100 کیلوگرم در هکتار 5- مصرف نیتروکسین بذرمال + مصرف اوره به میزان 200 کیلوگرم در هکتار6- مصرف اوره بر اساس آزمون خاک (200کیلوگرم در هکتار) 7- مصرف کود اوره بر اساس عرف زارع (600کیلوگرم در هکتار) و 8- شاهد (عدم مصرف کود نیتروژنی). یک سوم کود اوره قبل از

کاشت و مابقی به صورت سرک و همراه آب آبیاری در طی دو تقسیط مصرف شد. برداشت از سه ردیف وسط هر کرت با حذف حاشیه ها انجام شده و وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی محاسبه شد. همچنین پس از نمونه برداری از اندام هوایی تیمارها، غلظت نیترات آن بر اساس روش های موجود، اندازه گیری شد (امامی، 1375). داده ها پس از مرتب شدن، با استفاده از نرم افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. مقایسه میانگین ها نیز با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن در سطح 1٪ انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج جدول تجزیه ی واریانس داده های آزمایش (ارائه نشده)، نشان داد که بین تیمارهای مختلف از لحاظ عملکرد تر اندام هوایی در واحد سطح اختلاف معنی داری در سطح یک درصد آزمون دانکن وجود داشت. نتایج جدول مقایسه میانگین ها (جدول1) نشان داد بین تیمارها از لحاظ عملکرد تر در واحد سطح، اختلاف معنی داری در سطح 1٪ آزمون دانکن مشاهده شد براین اساس تیمار 7 (مصرف نیتروژن بر اساس عرف زارع) با عملکرد 5112/7 گرم در متر مربع به تنهایی در بالاترین سطح و پس از آن تیماره 6 (مصرف نیتروژن بر اساس آزمون خاک) با عملکرد 4298/7 گرم در متر مربع قرار گرفت که از لحاظ آماری با تیمارهای شماره 5 (بذرمال+200 کیلوگرم اوره در هکتار) و 4 (بذرمال+100 کیلوگرم اوره در هکتار) اختلاف معنی داری در سطح 5٪ آزمون دانکن نداشت (جدول 1). کمترین میزان عملکرد تر در واحد سطح، مربوط به تیمار شماره 8 (شاهد) با عملکرد 2450 گرم در متر مربع بود (جدول 1). با توجه به نقش نیتروژن در بهبود رشد، با افزایش مصرف اوره، عملکرد تر در واحد سطح اسفناج، در سطح معنی داری افزایش یافت که این نتایج با نتایج سایر محققان مطابقت داشت به طوری که الیا و همکاران (1999) گزارش نمودند که با افزایش سطح نیتروژن ، عملکرداسفناج افزایش یافته است. اما به نظر می رسد در صورت کاستن از میزان اوره و استفاده از نیتروکسین به صورت بذرمال، می توان تا حدود زیادی از کمبود نیتروژن جلوگیری کرد. یافته های سایر محققان نیز نشان داده استفاده از تیمار بذرمال نیتروکسین با توجه به اثر ریزجانداران موجود در آن، می تواند به افزایش عملکرد بیولوژی و محصول بیانجامد (مهاجرمیلانی و کلهر، 1386؛ ترنگ و همکاران، 2013). از نظر میزان نیترات اندام هوایی، بین تیمارهای آزمایش، اختلاف معنی داری در سطح یک درصد آزمون دانکن وجود داشت. تیمار 7 (مصرف کود براساس عرف زارع) با میزان نیترات 17795 میلی گرم درکیلوگرم ماده خشک، دارای بالاترین سطح و تیمار شاهد (عدم مصرف کود) با میزان نیترات 458 میلی گرم درکیلوگرم در پایین ترین سطح قرار گرفت (جدول 1) این نتایج در توافق با نتایج سایر محققان بود. مشاهده شده که اسفناج به دلیل دارا بودن سیستم جذب نیتروژن خیلی کارآمد از یک سو و سیستم احیاء ناکارآمد آن و یا ترکیبی از هر دو، از سویی دیگر، نیترات بیشتری نسبت به سایر گیاهان انباشته می کنند (گریفینبرگ و همکاران، 1989؛ مای نارد و همکاران، 1976). بالاترین غلظت مجاز نیترات در اسفناج 25000 میلی گرم بر کیلو گرم ماده خشک پیشنهاد شده است (الیا و همکاران، 1999). بر این اساس، تمامی تیمارها، از لحاظ غلظت نیترات در ماده خشک، در گستره مجاز از نظر نیترات هستند، اما باید در نظر داشت که مصرف عرف زارع (600 کیلوگرم اوره در هکتار) در دراز مدت علاوه بر تخریب خاک، باعث آلودگی منابع آب خواهد شد. بنابراین، به نظر می رسد استفاده از

نیتروکسین، می تواند تا حدودی از مصرف بی رویه اوره جلوگیری کند. از آنجا کـه تیمـار بـذرمال نیتروکسـین، عملکرد به نسبت قابل قبولی تولید کـرده، پیشـنهاد مـی شـود در پژوهشـی دیگـر، اثرکـاربرد مقـادیر مختلـف نیتروکسین بر عملکرد و غلظت نیترات اسفناج بررسی شود.

منابع

امامی، ع.، 1375. روشهای تجزیه گیاه، جلد اول. نشریه 982،مؤسسه تحقیقات خاک وآب،130 صفحه.

سیفی . م.، اردکانی، م. ر.، رجالی، ف.، امیرآبادی، م.، و ثواقبی، غ. ر.، 1386. بررسی کارائی ازتو باکترو میکوریزا تحت تاثیر سطوح مختلف نیتروژن بر روی برخی صفات مرفولوژیکی و کیفی ذرت علو فه ای در استان مرکزی. صفحه های 126 تا 127. مجموعه مقالات دهمین کنگره علوم خاک ایران. دانشگاه تهران. کرج.

مهاجر میلانی، پ و کلهر، م.، 1386. بررسی تاثیر مایه تلقیح ازتوباکتر و آزوسپیریلوم بر عملکـرد گنـدم وجـو. صفحه های 161 تا 162. مجموعه مقالات دهمین کنگره علوم خاک ایران. دانشگاه تهران. کرج.

Brown M, 1976. Role of Azotobacter pasoali in association with paspalum notatum. J. Appl. Bacteriol 40:341-348.

Elia A, Santamaria P, Serio F, 1999. Nitrogen nutrition, yield and quality of spinach. J. Sci. Food Agric 76 (3): 341–346.

Graifenberg A, Temperini O, Giustiniani L, 1989. Fertilizing and the accumulation of nitrate in spinach. Agrario. 45(1), 57–61, Istituto di Ortofloro Arboricoltura, Universita della Tuscia, Viterbo, Italy.

Maynard DN, Barker AV, Minotti PL, Peck HH, 1976. Nitrate accumulation in vegetables. Adv. Agronomy: 28:71-118.

Tarang E, Ramroudi M, Galavi M, Dahmardeh M and Mohajeri F, 2013. Effects of Nitroxin bio-fertilizer with chemical fertilizer on yield and yield components of grain corn (cv. *Maxima*). Int. J. AgriSci. AgriSci. 3(5): 400-405.

Zare AA, Shahhosseini R, Bahrami HA, Ghovahi M and Askary AR, 2013. Evaluation the effect of nitroxin and super absorbent on yield components of chickpea in dry farm. Int. J. Agron and Plant Prod. 4 (8): 2033-2038.

جدول 1- مقایسه اثر تیمارهای مختلف نیتروژنی و نیتروکسین بر عملکرد تر، وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی و غلظت نیترات برگ در اسفناج

صفات / تیمارها	عملکرد تر	وزن تر اندام هوایی	وزن خشک اندام هوایی	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه	نیترات
	$gr.m^{-2}$	gr/ 4 plant				$mg.kg^{-1}$
1- بذر مال	3801/3 ^{c}	64 /2^{a}	27/3 ^{a}	5/6 ^{a}	1/62 ^{a}	5933 ^{d}
2- آب آبیاری	3736^{c}	53/2 ^{ab}	26/20 ^{a}	4/7 ^{ab}	1/37 ^{a}	1292 ^{e}
3- بذرمال+ آب آبیاری	3844 /7 ^{c}	51/11 ^{ab}	26/9 ^{a}	5/5 ^{a}	1/66 ^{a}	4573 ^{d}
4- بذرمال + 100کیلوگرم در هکتار اوره	3964^{bc}	46/8 ^{b}	27/5 ^{a}	4/1 ^{abc}	1/30 ^{ab}	10017 ^{c}
5- بذرمال+200کیلوگرم در هکتار اوره	4060 ^{bc}	41/9 ^{b}	27/9 ^{a}	4/2 ^{abc}	1/31 ^{ab}	14779 ^{b}
6- اوره (آزمون خاک)	4298/7 ^{b}	45/3 ^{b}	28/3 ^{a}	3/9 ^{bc}	1/13 ^{ab}	13554 ^{b}
7- اوره عرف زارع	5112/7 ^{a}	45 ^{b}	28/1 ^{a}	4/4 ^{abc}	1/22 ^{ab}	17795 ^{a}
8- شاهد	2450 ^{d}	40/7 ^{b}	21/1 ^{b}	2/85 ^{c}	0/80 ^{b}	458 ^{e}

در هر ستون، میانگین های با حروف یکسان تفاوت معنی داری در سطح 5٪ آزمون دانکن ندارند . *

بررسی برخی از ویژگیهای کیفی کودهای زیستی رایج در کشور

سعیده انصاری[1]، محمدرضا ساریخانی[2]
۱- ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد ۲- استادیار گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

مقدمه

کودهای زیستی حاوی فرمولاسیونی از ریزموجودات زنده (باکتری‌ها و قارچ‌های سودمند) یا متابولیت‌های تولیدی آنها می‌باشند که می‌توانند منجر به بهبود کیفیت و سلامت خاک و گیاه شوند، همچنین به واسطه افزایش عناصر غذایی قابل دسترس برای گیاه، بهبود رشد گیاه را به دنبال داشته باشند. در حال حاضر کودهای زیستی ازته و فسفاته در بخش کشاورزی دارای بیشترین استفاده می-باشند. جنس و گونه‌های PGPRای رایج و غالب به کاربرده شده در تولید این نوع کودها، عمدتاً شامل جنس‌های *سودوموناس*، *باسیلوس*، *آزوسپیریلوم* و *ازتوباکتر* می‌باشند. امروزه کاربرد ترکیبی و چندگانه PGPRها به جای استفاده از یک سویه در قالب کودهای زیستی مرسوم شده است تا ضمن جلوگیری از ابتلاء محصولات گیاهی به بیماری‌ها و آفت‌ها بر تقویت رشد گیاهان نیز تاثیرگذار باشد (Anonymous, 2006).استفاده از کودهای زیستی تولید شده در کشور و نمونه‌های وارداتی در برخی از موارد اثر بخش بوده و تأثیر معنی‌داری بر عملکرد برخی از محصولات زراعی از جمله گندم، جو، حبوبات و همچنین اسانس گیاهان دارویی داشته است اما در برخی از موارد این نوع کودها اثر بخش نبوده و در پاره‌ای از موارد انتظارات را برآورده نمی‌کنند. لازم به ذکر است که بهره‌گیری از این نوع کودها در کشاورزی، منوط به رعایت جنبه‌های کیفی و استفاده از سویه‌های موثر با توجه به ویژگی تحریک‌کنندگی رشد یا ویژگی‌های PGPRای آنهاست. کنترل کیفیت کودهای زیستی شامل مواردی از قبیل تعیین جمعیت میکروبی، توانایی انحلال فسفات معدنی و آلی نامحلول، توانایی سنتز اکسین و قدرت رهاسازی پتاسیم از کانی‌های حاوی پتاسیم، ... و همچنین ارزیابی پاسخ گیاهان به تلقیح آنها می‌باشد (Deaker and et al, 2011). براین اساس در این پژوهش چهار نوع کود زیستی رایج در کشور شامل بارور۲، بیوسوپرفسفات، نیتروکسین و سوپرنیتروپلاس از لحاظ ویژگی‌های فوق مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

چهار کود زیستی رایج در کشور شامل نیتروکسین، سوپرنیتروپلاس، بیوسوپرفسفات (تولیدی شرکت فناوری زیستی مهر آسیا هر سه محصول به صورت مایع) و بارور۲ (تولیده شده در شرکت زیست فناور سبز- به صورت جامد) تهیه و به لحاظ جمعیت میکروبی و ویژگی‌های PGPRای مورد بررسی قرار گرفتند. برای تعیین جمعیت میکروبی کودها، ابتدا سری‌های رقت تهیه شد و از سه رقت پایانی (رقت $۱۰^{-۹}$، $۱۰^{-۸}$ و $۱۰^{-۷}$) در ۲ تکرار به میزان ۱۰۰ میکرولیتر بر روی محیط جامد عمومی انتقال داده شد، برای این منظور از محیط کشت عمومی LB استفاده شد. قابل ذکر است که این مرحله در محیط‌های کشت نیمه اختصاصی Sperber، NF و Nfb نیز انجام شد. برای تهیه اولین رقت ($۱۰^{-۲}$) یک میلی‌لیتر از کودهای زیستی مایع (در مورد کود جامد ۱ گرم با فرض وزن ظاهری ۱ گرم بر سانتی مترمکعب)

به ۹۹ میلی‌لیتر آب مقطر استریل افزوده شد و سایر رقت‌ها تا رقت 10^{-9} در لوله های حاوی ۹ میلی لیتر آب مقطر استریل با انتقال ۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون میکروبی تهیه شد. علاوه بر شمارش میکروبی با توجه به ویژگیهای فنوتیپی کلنی‌ها، ایزوله‌های استفاده شده در هر کود نیز جداسازی شد.
برای تعیین ویژگیهایی نظیر حل‌کنندگی فسفات، تولید اکسین، رهاسازی پتاسیم و غیره به صورت زیر اقدام شد. برای بررسی میزان حل‌کنندگی فسفات توسط کودهای زیستی، ۵۰۰ میکرولیتر از رقت 10^{-2} هر کود زیستی در سه تکرار به ارلن‌های حاوی ۳۰ میلی‌لیتر محیط Sperber مایع افزوده شد. بقیه مراحل کار مطابق منابع زیر انجام شد (Sarikhani et al., 2013).
توان تولید ایندول استیک اسید کودهای زیستی انتخاب شده (۴ نوع کود زیستی و شاهد)، با استفاده از محیط Nutrient Broth در سه تکرار انجام گرفت. برای این منظور ۵۰۰ میکرولیتر از رقت 10^{-2} کود زیستی به ۳۰ میلی لیتر محیط NB (حاوی ۵۰ میلی‌گرم در لیترL-تریپتوفان یا فاقد آن) منتقل گردید و بعد از ۷۲ ساعت، سوسپانسیون باکتری سانتریفیوژ (۵۰۰۰rpm و به مدت ۱۰ دقیقه) و دو میلی لیتر از محلول صاف رویی با ۴ میلی‌لیتراز معرف سالکوفسکی ($H_2SO_{4(12M)}$+$FeCl_{3(0.5M)}$) مخلوط شد. این مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری و سپس با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۰ نانومتر قرائت گردید و مقدار تولید IAA توسط هر جدایه از مقایسه جذب نور در سوسپانسیون آن جدایه با منحنی استاندارد تهیه شده در غلظت‌های ۰، ۰/۵، ۱/۵، ۵ ،۷/۵ و ۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر IAA محاسبه شد (Deaker et al., 2011).
میزان رهاسازی پتاسیم هر کود زیستی با سه تکرار در محیط کشت Aleksandrov مایع حاوی کانی بیوتیت یا موسکویت مورد بررسی قرار گرفت (Sarikhani et al., 2013).

بحث و نتایج

با توجه به اینکه جمعیت میکروبی موجود در هر میلی‌لیتر (مایع) یا هر گرم (جامد) کود زیستی به عنوان یکی از ملاک‌های سنجش کیفیت کود زیستی می‌باشد، مطابق گزارش این پژوهش کود زیستی سوپرنیتروپلاس با داشتن جمعیت $8/5\times10^{8}$cfu/ml بیشترین جمعیت میکروبی را در محیط Nfb دارا بود (جدول ۱) این در حالی است که کودهای دیگر به غیر از نیتروکسین در این محیط فاقد جمعیت میکروبی بودند. کودهای زیستی بارور۲، سوپرنیتروپلاس، نیتروکسین و بیوسوپرفسفات در محیط LB به ترتیب دارای جمعیت میکروبی $2/9\times10^{8}$، $1/3\times10^{8}$، $3/2\times10^{7}$ و $7/2\times10^{6}$ کلنی در هر میلی‌لیتر کود بودند و در محیط اسپربر فقط دو کود بارور۲ و سوپرنیتروپلاس دارای رشد میکروبی همراه با هاله شفاف حاصل از حل‌کنندگی فسفات بودند. استانداردهای موجود در مورد کودهای زیستی نشان می‌دهد که بایستی جمعیت فعال و زنده بین 10^{6} تا 10^{9} به ازاء هر گرم حامل یا هر میلی‌لیتر کود زیستی باشد تا کود در زمان استفاده کلنیزاسیون بذر یا بستر کشت را به خوبی انجام دهد (Deaker et al., 2011) تفاوتهایی که در شمارش میکروبی در محیط کشت عمومی و نیمه اختصاصی دیده می‌شود را بایستی در ویژگیهای اختصاصی سویه های بکار رفته در هر نوع کود زیستی جستجو نمود. گر چه تفاوت قابل ملاحظه‌ای بین کودهای مایع و جامد دیده نمی‌شود اما به نظر ماندگاری جمعیت

میکروبی بر روی بستر جامد نسبت به محیط مایع طولانی‌تر بوده (عدم وجود شرایط تهویه مناسب برای کودهای زیستی مایع بقاء میکروارگانیسم‌ها را تحت تاثیر قرار داده و کاهش جمعیت میکروبی را به دنبال دارد) و این یک مزیت برای کود زیستی می‌تواند باشد اما از طرف دیگر فرایند تهیه کودهای زیستی مایع به مراتب ساده‌تر از تولید کودهای زیستی دارای حامل می‌باشد.

جدول۱- جمعیت میکروبی کودهای زیستی در چهار محیط کشت متفاوت

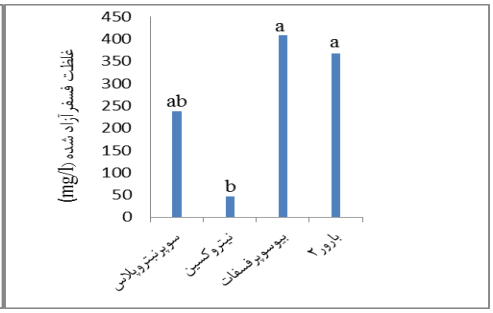
محیط کشت / کود زیستی	LB	Sperber	NF	Nfb
بارور۲	۲/۹۶×۱۰^{۸}	۴/۲×۱۰^{۸}	-	-
بیوسوپرفسفات	۷/۲×۱۰^{۶}	-	-	-
نیتروکسین	۳/۲×۱۰^{۷}	-	۳/۷×۱۰^{۷}	۴/۲×۱۰^{۷}
سوپرنیتروپلاس	۱/۳×۱۰^{۸}	۲/۸×۱۰^{۸}	۷/۱×۱۰^{۷}	۸/۵×۱۰^{۸}

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد بین کودهای زیستی از لحاظ قدرت حل‌کنندگی فسفات معدنی نامحلول (تری‌کلسیم‌فسفات) در محیط Sperber مایع تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ وجود دارد. کود زیستی بیوسوپرفسفات و بارور۲ با بیشترین میزان حل‌کنندگی و به ترتیب با مقادیری برابر با ۴۰۸/۳ و ۳۶۷/۳ میلی‌گرم بر لیتر فسفر و کود زیستی نیتروکسین کمترین میزان حل‌کنندگی (۴۶/۱ میلی‌گرم بر لیتر) را برای فسفات نامحلول داشتند (شکل۱). کودهای زیستی بارور۲ و بیوسوپرفسفات جز کودهای زیستی فسفاته هستند که جنس باکتری‌های به کار گرفته شده در آن متعلق به جنس‌های *پانتوآ*، *سودوموناس* و *باسیلوس* می‌باشد. این باکتری‌ها نقش مهمی در حل-کنندگی فسفات نامحلول خاک دارند، بنابراین انتظار نیز بر این بود که کودهای مذکور بیشترین حل-کنندگی را برای فسفات نامحلول داشته باشند. سویه‌های حل‌کنندگان فسفات با تولید اسیدهای آلی همانند؛ اگزالیک اسید، ملانیک اسید، سوکسینیک اسید و همچنین ترکیباتی از قبیل لاکتیک اسید، ایزوبوتیریک اسید و استیک اسید قادر به انحلال فسفات نامحلول هستند (Anonymous, 2006).

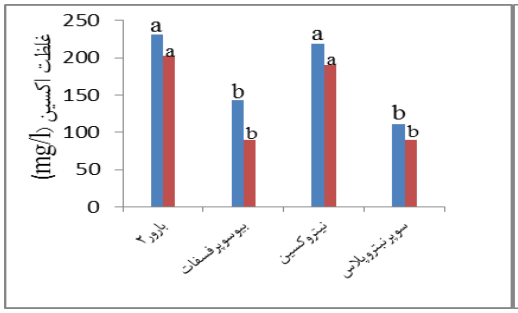
توان تولید اکسین توسط کودهای زیستی مذکور در حضور تریپتوفان و عدم حضور تریپتوفان مورد بررسی قرار گرفت و بین تیمارها تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. کود بارور۲ و نیتروکسین بیشترین مقدار سنتز اکسین را در حضور تریپتوفان (۲۳۰/۶ و ۲۱۸/۷ میلی‌گرم بر لیتر) داشتند که در عدم حضور تریپتوفان نیز کودهای مذکور از لحاظ مقدار سنتز اکسین (۲۰۱/۹ و ۱۹۰/۴ میلی‌گرم بر لیتر) با همدیگر هیچ تفاوتی نشان ندادند (شکل ۲). کود بیوسوپرفسفات و سوپرنیتروپلاس نیز از نظر تولید اکسین در حضور تریپتوفان و عدم حضور آن تفاوتی با همدیگر نداشتند. کود بارور۲ به عنوان یک کود فسفاته شناخته شده، اما با توجه به نتایج به دست آمده مشاهده شد که این کود دارای توان سنتز

اکسین حتی با غلظت بالاتر از کودهای ازته بود. از طرفی کودهای زیستی نیتروکسین و سوپرنیتروپلاس جز کودهای زیستی ازته بوده که جنس باکتری‌های غربال شده برای آن متعلق به جنس *ازتوباکتر* و *آزوسپیریلوم* می‌باشد. این باکتری‌ها تثبیت‌کننده نیتروژن بوده و در تولید هورمون-هایی نظیر اکسین نقش فعالی دارند. در بررسی که بر روی اثرات محرک رشدی سویه‌های بومی *ازتوباکتر کروکوم* بر رشد، عملکرد و جذب عناصر غذایی گیاه گندم در خاک‌های استان چهارمحال بختیاری انجام گرفت، مشخص شد که از بین ۷۰ سویه جداسازی شده ازتوباکتر در ۷۵ خاک ریزوسفری تنها سه سویه AZT-۱۳، AZT-۷۲ و AZT-۲۵ قادر به تولید اکسین در غلظت‌های ۷۰، ۶۷ و ۷۲ میلی‌گرم در لیتر بودند (رجایی و همکاران، ۱۳۸۶).

تجزیه واریانس داده‌های مربوط به قدرت رهاکنندگی پتاسیم از کانی‌های مسکوویت و بیوتیت نشان داد که کودهای زیستی یادشده فاقد اثر معنی‌دار بر رهاسازی پتاسیم هستند این در حالی است که وقتی سویه P13 بکاربرده شده در کود زیستی بارور۲ به تنهایی مورد ارزیابی قرار گرفت قادر به آزادسازی پتاسیم به مقدار ۶/۵ mg/g بود و در مقایسه با شاهد باعث افزایش ۲۷/۲۴٪ شد اما سویه P5 با نمونه شاهد تفاوتی را نشان نداد (Sarikhani et al., 2013).



شکل ۱- مقایسات میانگین قدرت حل‌کنندگی فسفات معدنی نامحلول



شکل ۲- مقایسات میانگین توان سنتز اکسین در حضور تریپتوفان و عدم حضور تریپتوفان

منابع

رجایی س، علیخانی ح و رئیسی ف، ۱۳۸۶. اثر پتانسیل‌های محرک رشد سویه‌های بومی *ازتوباکتر کروکوم* روی رشد، عملکرد و جذب عناصر غذایی در گندم، مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، سال یازدهم شماره چهل و یکم، ص ۲۹۶-۲۸۵.

Anonymous. 2006. Biofertilizer Manual, FNCA Biofertilizer Project Group. Japan Atomic Industrial Forum.

Deaker R, László Kecskés M, Timothy Rose M, Amprayn K, Krishnen G, Thi Kim Cuc T, Thuy Nga V, Thi Cong P, Thanh Hien N and Robert Kennedy I, 2011. Practical methods for the quality control of inoculant biofertilisers. ACIAR.

Sarikhani MR, Ebrahimi M, Oustan S and Aliasgharzad N, 2013. Application of potassium solubilizing bacteria a promising approach in sustainable agriculture Increasing of potassium releasing from k-containing minerals in presence of insoluble phosphate. The 1st International Conference on Environmental Crisis and its Solutions. Feb 13-14, Islamic Azad University, Khouzestan, Kish Islan, Iran.

تاثیر گوگرد، کودسبز و باکتریهای تیوباسیلوس و سودوموناس برآزادسازی فسفر و سولفات خاک از یک خاک آهکی

سامان ابراهیمی[۱]، علی عباسپور[۲]، حمیدرضا اصغری[۳]، علی اصغر نادری[٤]

۱-دانشجوی کارشناسی ارشد دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود، ۲-استادیار دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود، ۳-دانشیار دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود، ٤-مربی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود

مقدمه

درخاکهای ایران به دلیل وجود pH بالا، درصد زیاد کربنات کلسیم، کمی مواد آلی و خشکی زیاد مقدار فسفر قابل جذب کمتر از میزان مورد نیاز برای محصولات می‌باشد. زیرا قسمت بیشتر کود پس از ورود به خاک به ترکیبات نامحلول تبدیل می‌شوند بطوریکه بازده کودهای فسفری درخاکهای آهکی از ۲۰درصد بیشتر نمی‌شود (اسپینک و بابر ۱۹۴۷،تیسدل و همکاران ۱۹۹۳). استفاده از میکروارگانیسم‌های خاکزی که توانایی انحلال فسفر وتبدیل آن به فرم محلول را دارا می‌باشند، می‌تواند یکی از راههای افزایش قابلیت جذب فسفر باشد (اکبری و همکاران، ۱۳۸۸). از میان باکتریهای شناخته شده جنس‌های سودوموناس، باسیلوس و ریزوبیوم از موثرترین حل کننده‌های فسفات به شمار می‌روند (خان و همکاران ۲۰۰۹). بسیاری از محققان گزارش کرده‌اند که مصرف گوگرد و تولید اسیدسولفوریک درنتیجه اکسایش آن، باعث کاهش pH خاک شده، سولفات مورد نیاز را تامین کرده و باعث افزایش قابلیت جذب فسفر در خاکهای آهکی می‌شود (گراسیا، ۱۹۹۱). به این منظور اثرات باکتریهای به کار رفته، گوگرد وکودسبز بر آزاد سازی فسفر و سولفات از یک خاک آهکی، هدف این تحقیق است.

مواد و روش ها

نمونه برداری خاک جهت انجام این آزمایش از شهرستان شاهرود منطقه‌ای به نام درخانیاب صورت گرفت. نمونه خاک‌های مورد نیاز از عمق۳۰-۰ سانتی‌متری برداشته شده و پس از الک کردن آماده برای انجام آزمایش شدند. این آزمایش در شرایط انکوباسین ودر قالب طرح کاملاً تصادفی و در ۱۰ تیمار و ۳ تکرار انجام شد. تیمارها شامل: T_1- شاهد(۵۰ گرم نمونه خاک)، T_2-شاهد+گوگرد، T_3-شاهد+کودسبز، T_4-شاهد+کودسبز+ گوگرد، T_5-شاهد+کودسبز+تیوباسیلوس، T_6-شاهد+کودسبز+سودوموناس، T_7-شاهد+گوگرد+تیوباسیلوس، T_8-شاهد+گوگرد+سودوموناس، T_9-شاهد+کودسبز+گوگرد+تیوباسیلوس، T_{10}-شاهد+کودسبز+گوگرد+ سودوموناس. به هر کدام از تکرارها گوگرد به میزان ۰/۵درصد، باکتریها وکود سبز به میزان ۲درصد استفاده شدند. نمونه‌ها پس ازمخلوط شدن درظرف‌های مخصوص ریخته شده ورطوبت نمونه‌ها به حد۷۰ درصد ظرفیت زراعی رسیدند و بعداز توزین شدن، دردمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد آزمایشگاه نگهداری شدند. هر هفته نمونه‌ها وزن شده و وزن کم شده با آب مقطر به همان وزن اولیه رسیدند. در طول دوره‌های ۵،۲۰،۵۰،۱۰۰،۱۵۰روزه مقداری از هر نمونه جدا شده و پس از هوا خشک مورد آزمایش قرار گرفت. داده‌های بدست آمده بوسیله نرم افزار SAS آنالیز شد.

نتایج و بحث

برخی از خصوصیات خاک مورد استفاده قبل از انجام آزمایشات در جدول۱ ارائه داده شده است.

جدول۱- برخی از خصوصیات خاک مورد استفاده

بافت خاک	pH	EC (dS/m)	Pa (mg/kg)	Ps (mg/l)	SO4 (mg/l)
لوم	۷/۷۵	۰/۱۶	۴۲	۴/۸۵	۴/۴۵

Pa: فسفر قابل جذب Ps: فسفر محلول

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که تیمارهای کودی، زمان و اثر متقابل تیمارهای کودی× زمان هر سه برروی کلیه خصوصیات مورد آزمایش در سطح یک درصد معنی دار بودند.

جدول۲- میانگین مربعات فسفر قابل جذب، فسفر محلول، سولفات محلول، pH ، EC تحت تاثیر عوامل آزمایش

منابع تغییرات	درجه آزادی	Pa (mg/kg)	Ps (mg/l)	So4 (mg/l)	pH	EC (dS/m)
تیمارهای کودی	۹	۲۲۰,۸۷۴۳۹۷**	۴۱,۴۹۱۲۸۷۸**	۳۵۳,۷۸۱۲۲۰**	۱,۴۳۱۸۸۴۴**	۲,۷۳۵۷۳۱۵۶**
زمان	۴	۹۶۲,۹۶۷۹۸۸**	۱۵۱,۹۶۹۰۹۶۷**	۱۱۲۴,۰۲۵۷۱۲**	۵,۵۲۸۹۷۱۶۷**	۰,۳۶۲۰۹۷۶۷**
تیمارهای کودی × زمان	۳۶	۱۵,۴۱۹۳۱۱**	۶,۳۳۱۳۰۱۱**	۳۲,۲۵۴۱۲۶**	۰,۱۵۳۴۴۸۷۰**	۰,۰۰۵۲۰۳۲۲**
خطا	۲۰	۰,۰۱۰۰۵۵	۰,۰۱۲۵۱۸۷	۰,۰۲۹۵۳۶	۰,۰۱۹۶۱۶۰۰	۰,۰۰۰۱۱۴۲۶۷
ضریب تغییرات(درصد)		۰,۲۶۹۷۳۳	۱,۴۶۰۹۳۰	۰,۳۵۶۳۲۴	۰,۶۴۶۷۶۸	۴,۶۳۶۸۹۰

**: معنی دار در سطح یک درصد ns: عدم تفاوت معنی دار Pa : فسفر قابل جذب Ps: فسفر محلول

با توجه به جدول مقایسه میانگین در طول کل زمان(جدول۳) مشاهده می‌شود که بیشترین میزان فسفر قابل جذب، فسفر محلول و سولفات محلول مربوط به تیمار کود+ گوگرد+تیوباسیلوس (T_9) که اختلاف معنی داری با بقیه تیمارها داشته است. بیشترین کاهش pH و همچنین بیشترین میزان EC نیز مربوط به همین تیمار بود. در کلیه تیمارها میزان فسفر قابل‌جذب وسولفات محلول باهم اختلاف معنی‌داری داشتند. تیمارهای کودسبز+تیوباسیلوس (T_5) وکودسبز+ سودوموناس(T_6) از نظر میزان pH و EC اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند. سیفوئنتز و لیندمن (۱۹۹۳)، نتیجه گرفتند که مصرف گوگرد pH تیمارهای حاوی گوگرد را کاهش داده و میزان EC و سولفات خاک را افزایش می‌دهد. فعالیت‌های بیولوژیکی اثر مثبتی را روی آزادسازی فسفر خاک دارد. با استفاده از این روش می‌توانیم ذخایر زیاد فسفر راکه در خاکهای آهکی ایران به صورت غیرقابل استفاده درآمده است آزاد کرده و شرایط خاک بهبود یابد.

جدول۳- مقایسه میانگین فسفر قابل جذب، فسفر محلول، pH، EC تحت تاثیر عوامل آزمایش

تیمارهای کودی	Pa (mg/kg)	Ps (mg/l)	SO_4 (mg/l)	pH	EC (dS/m)
T_1	۴۲,۷۳۴۰۰j	۴,۹۱۲۰۰l	۴,۶۵۸۰۰j	۷,۶۳۴۰۰a	۰,۱۹۰۶۷h
T_2	۴۸,۰۲۲۰۰h	۵,۸۸۶۴۷g	۱۰,۴۱۱۳۳h	۷,۴۱۶۰۰b	۰,۸۵۲۰۰e
T_3	۴۶,۲۸۶۰۰i	۵,۲۷۴۰۰۰h	۶,۴۸۸۰۰i	۷,۵۴۷۳۳a	۰,۳۴۶۰۰g
T_4	۴۹,۷۵۴۰۰g	۶,۲۵۰۰۰f	۱۲,۳۲۶۰۰e	۷,۳۱۵۳۳b	۱,۰۵۶۰۰d
T_5	۵۰,۰۱۸۶۷f	۷,۲۳۴۰۰d	۱۱,۱۶۰۰۰f	۷,۰۶۰۶۷c	۰,۵۰۰۰۰f
T_6	۵۰,۴۵۲۰۰e	۷,۰۰۸۰۰e	۱۰,۷۹۰۶۷g	۷,۱۰۴۴۶۷c	۰,۵۱۲۰۰f
T_7	۵۳,۲۲۸۰۰c	۸,۳۱۶۰۰c	۱۶,۱۷۲۶۷c	۶,۸۹۷۳۳d	۱,۰۹۸۰۰c
T_8	۵۲,۶۲۲۰۰d	۸,۲۳۸۰۰c	۱۵,۶۷۰۰۰d	۶,۹۱۸۰۰d	۱,۰۸۴۰۰c
T_9	۵۴,۹۶۴۰۰a	۹,۷۵۶۰۰a	۱۹,۲۵۸۰۰a	۶,۷۸۲۶۷e	۱,۳۹۸۰۰a
T_{10}	۵۴,۵۲۸۰۰b	۹,۳۰۴۰۰b	۱۸,۵۲۳۰۰b	۶,۸۲۴۰۰de	۱,۳۵۸۰b

منابع

اکبری پ، قلاوند ا و مدرس ثانوی ع، ۱۳۸۸. اثرات سیستم های محتلف تغذیه و باکتریهای افزاینده رشد بر فنولوژی، عملکرد و اجزای عملکرد آفتابگردان، مجله الکترونیک تولید گیاهان زراعی، جلد دوم، شماره سوم،۱۳۴-۱۱۹.

- Cifuentes, F. R. and W. C. Lindemann. 1993. Organic matter stimulation of elemental sulfur oxidation in a calcareous soil. Soil Sci. Soc. Am. J., 57: 727-731

- Garcia JR.O. 1991. Isolation and characterization of Aciditiobacillus thiooxidansand Aciditiobacillus ferrooxidans from mineral minees. Revista Berasileira demicrobiologia, 20:1-6.

- Khan, A. A., Jilani, G., Akhtar, M.S., Saqlan Naqvi, S.M., and Rasheed, M. 2009. Phosphorus Solubilizing Bacteria: Occurrence, Mechanisms and their Role in Crop Production. J. Agric. Biol. Sci. 1(1):48-58.

- Spinks, J. W. T., and Barber, S. A. 1947. Study of fertilizer uptake using radioactive phosphorus. Sci. Agron., 27:145-155.

- Tisdale, S.L., Nelson, W. L., Beaton, J. D .and Havlin, J. L. 1993. Soil Fertility and Fertilizers. 5th ed. Mcmillon Publishing Co., New York.

بررسی تاثیر خاک فسفات به همراه کودسبز، گوگرد و باکتریهای سودوموناس و تیوباسیلوس بر فسفر قابل جذب و برخی خصوصیات شیمیایی خاک

سامان ابراهیمی[۱]، علی عباسپور[۲]، حمیدرضا اصغری[۳]، علی اصغر نادری[۴]

۱-دانشجوی کارشناسی ارشد دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود، ۲-استادیار دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود، ۳-دانشیار دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود، ۴-مربی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود

مقدمه

فسفر از عناصر اصلی مورد نیاز گیاه و یکی از عناصر مهم در تهیه محصول می‌باشد. مصرف بیش از حد و غیر اصولی کودهای شیمیایی فسفره باعث تحمیل اثرات زیان باری بر جامعه کشاورزی شده است. تحقیقات نشان می‌دهد که در طی سال‌ها افزایش مصرف این کودها نه تنها عملکرد محصولات زراعی را چندان افزایش نداده است، بلکه با ایجاد اختلال در تعادل عناصر غذایی باعث کاهش بازده محصول شده است (کریمیان، ۱۳۷۷). غلظت فسفات محلول در خاک معمولا خیلی پایین بوده و در حد ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم یا کمتر می‌باشد. خاک فسفات یکی از منابع اولیه برای تولید کودهای فسفاته می‌باشد. کاربرد مستقیم و به تنهایی خاک فسفات در خاکهای آهکی مناسب نبوده زیرا که به طور طبیعی و به دلیل فراوانی وجود کلسیم واکنش به سمت تشکیل آپاتیت سوق داده می‌شود. در این زمینه محققین تلاش کرده‌اند تا با استفاده از گوگرد، میکروارگانیسم‌های حل کننده فسفات، مواد آلی و باکتری‌های اکسید کننده گوگرد به خصوص انواع جنس تیوباسیلوس، کارایی خاک فسفات را در خاکهای آهکی افزایش دهند(Cifuentes and Iindemann, 1993، Khavazi et al., 2001). میکروارگانیسم‌های حل‌کننده فسفات با مکانیسم‌های مختلفی نظیر ترشح اسیدهای آلی و تولید آنزیم فسفاتاز، فسفات‌های نامحلول را حل می‌نمایند (Wiederholt and Johnson, 2005). هدف از انجام این تحقیق مطالعه اثرات باکتریها و گوگرد و کود سبز بر روی آزادسازی فسفر از خاک فسفات می‌باشد.

مواد و روش ها

خاک مورد استفاده برای انجام این آزمایش از اطراف شاهرود منطقه‌ای به نام چاه شهرداری انتخاب شد. نمونه خاک‌های مورد نیاز از عمق ۳۰ سانتی متری برداشته شده و پس از عبور دادن از الک ۲ میلی متری مورد آزمایش قرار گرفت. این آزمایش در شرایط انکوباسیون(دما و رطوبت ثابت) و در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۰ تیمار و ۳ تکرار انجام شد. تیمارها شامل: T_1-شاهد(۵۰گرم نمونه خاک)، T_2–شاهد+گوگرد، T_3– شاهد+کودسبز، T_4–شاهد+کودسبز+گوگرد،T_5–شاهد+کودسبز+تیوباسیلوس،T_6- شاهد+کودسبز+سودوموناس،T_7-شاهد+ گوگرد+ تیوباسیلوس،T_8–شاهد+گوگرد+سودوموناس، T_9– شاهد+ کودسبز+ گوگرد+ تیوباسیلوس، T_{10}– شاهد+کودسبز+ گوگرد+سودوموناس. به هر کدام از تکرارها خاک فسفات به میزان ۱ درصد اضافه شد. گوگرد به میزان ۰/۵ درصد، باکتریها و کودسبز به میزان ۲ درصد استفاده شدند. نمونه‌ها پس از مخلوط شدن در ظرف‌های مخصوص ریخته شده و رطوبت نمونه ها به حد ۷۰ درصد ظرفیت زراعی رسید و توزین شدند، در آخر هر هفته نمونه ها توزین شده و وزن کم شده با آب مقطر به وزن اولیه رسید. در طول دوره‌های ۵،۲۰،۵۰،۱۰۰،۱۵۰روزه مقداری از

هر نمونه جدا شده و پس از هوا خشک مورد آزمایش قرار گرفت. داده های بدست آمده بوسیله نرم افزار SAS تجزیه و تحلیل شد.

نتایج و بحث

برخی از خصوصیات خاک های مورد استفاده قبل از انجام آزمایشات در جدول۱ و ۲ ارائه داده شده است.

جدول۱- برخی از خصوصیات خاک مورد آزمایش

بافت خاک	pH	EC (dS/m)	Pa (mg/kg)	Ps (mg/l)
سیلت لوم	۷/۸۵	۰/۱۷	۲۷	۳/۴۵

Pa: فسفر قابل جذب Ps: فسفر محلول

جدول۲- برخی از خصوصیات خاک فسفات مورد استفاده

pH	EC (dS/m)	Pa (%)	Ps (%)
۸/۷	۰/۲۲	۳۷/۵	۰/۱۶

Pa: فسفر قابل جذب Ps: فسفر محلول

نتایج حاصل از تجزیه واریانس(جدول۳) نشان داد که بکارگیری و استفاده تیمارهای کودی در خاک بر روی فسفر قابل جذب، فسفر محلول خاک، pH و EC در سطح یک درصد معنی دار بوده است و همچنین تاثیر تیمار زمان نیز بر این خصوصیات در سطح یک درصد معنی دار بوده است. اثرات متقابل تیمارهای کودی و زمان نیز درسطح یک درصد بر روی خصوصیات فسفر قابل جذب و فسفر محلول و pH معنی دار بوده است ولی تاثیر معنی داری بر روی EC نداشته است. بشارتی و صالح راستین (۱۳۸۰) با بررسی تاثیر کاربرد مایه تلقیح تیوباسیلوس همراه با گوگرد مشاهده کردند که استفاده از مایه تلقیح همراه با گوگرد در خاک، روی تمام خصوصیات اندازه گیری شده تاثیر معنی داری در سطح یک درصد داشته است.

جدول۳- میانگین مربعات فسفر قابل جذب، فسفر محلول، pH، EC تحت تاثیر عوامل آزمایش

منابع تغییرات	درجه آزادی	Pa (mg/kg)	Ps (mg/l)	pH	EC (dS/m)
تیمارها کودی	۹	۲۷۸,۹۸۳۳۵۵**	۱۰۱۹,۷۵۸۴۲۷**	۱,۳۱۸۲۹۲۲۲**	۲,۵۹۶۴۰۶۵۹**
زمان	۴	۲۴۹۰,۳۰۹۵۸۳**	۳۳۴,۱۸۱۶۰۱**	۵,۵۵۳۴۲۷۶۷**	۰,۲۳۹۹۴۲۳۳**
تیمارهای کودی × زمان	۳۶	۱۹,۶۰۶۲۹۱**	۱۰,۶۹۸۳۶۸**	۰,۱۵۸۵۳۲۴۱**	۰,۰۰۷۵۰۳۴۴ns
خطا	۲۰	۰,۰۱۵۴۲۸	۰,۰۱۴۲۴۶	۰,۰۱۶۰۰۴۶۷	۰,۰۰۷۹۶۹۳۳
ضریب تغییرات(درصد)		۰,۳۶۸۳۰۲	۱,۱۴۰۰۳۸	۰,۹۱۸۲۴۸	۱۱,۱۱۰۲۵

**: معنی دار در سطح یک درصد ns: عدم تفاوت معنی دار Pa: فسفر قابل جذب Ps: فسفر محلول

جدول مقایسه میانگین ها در طول کل زمان(جدول ۴) نشان داد بالاترین میزان فسفر قابل جذب وفسفر محلول مربوط به تیمار کودسبز+ گوگرد+ تیوباسیلوس (T_9) بوده که بیشترین اختلاف معنی‌دار را با تیمار شاهد(T_1) داشت. نتایج نشان داد که در تمام تیمارها pH خاک نسبت به شاهد کاهش داشته ولی در تیمارهای (T_9) و (T_{10}) بیشترین کاهش pH مشاهده شد. با مقایسه میانگین این نتیجه حاصل آمد که بین دوباکتری، باکتری تیوباسیلوس تاثیر بیشتری را برروی فسفر قابل جذب و فسفر محلول وکاهش pH داشت، کاربرد گوگرد همراه با باکتری تاثیر بیشتری را روی خصوصییات در مقایسه با کاربرد آن به تنهایی یا همراه با کود سبز داشته است. گوگرد تاثیر بیشتری را بر روی اقزایش EC در مقایسه با تیمار کودسبز+ باکتری (T_5 و T_6) داشته است. بطور کلی میتوان گفت استفاده از خاک فسفات همراه با گوگرد و تلقیح با باکتری می تواند تاثیر زیادی را بر آزادسازی فسفر از آن داشته باشد. این راهکار می تواند روش مناسبی برای جایگزین شدن کودهای شیمیایی باشد.

جدول۴- مقایسه میانگین فسفر قابل جذب، فسفر محلول،pH، EC تحت تاثیر عوامل آزمایش

تیمارهای کودی	Pa (mg/kg)	Ps (mg/l)	pH	EC (dS/m)
T_1	۳۱,۴۶۰۰۰j	۴,۳۵۸۶۷i	۷,۸۰۶۰۰a	۰,۱۸۷۳۳g
T_2	۳۳,۸۸۰۰۰h	۵,۲۵۲۰۰g	۷,۴۸۹۳۳۲c	۰,۸۰۱۳۳d

T_3	۳۲,۷۵۲۶۷i	۴,۶۸۱۰۰h	۷,۶۹۸۰۰b	۰,۳۴۵۳۳f
T_4	۳۵,۴۲۶۷g	۵,۹۲۴۶۷f	۷,۳۹۶۶۷c	۱,۰۲۶۰۰c
T_5	۳۷,۶۱۰۰۰e	۷,۱۴۰۰۰d	۷,۲۱۰۶۷d	۰,۴۷۰۰۰e
T_6	۳۶,۸۳۰۰۰f	۶,۹۱۸۰۰e	۷,۲۵۳۳۳d	۰,۴۴۴۰۰e
T_7	۴۰,۶۴۸۰۰c	۸,۳۰۰۰۰c	۷,۰۴۶۶۷ef	۱,۰۷۸۶۷bc
T_8	۴۰,۲۹۴۰۰d	۸,۳۷۶۰۰c	۷,۱۰۳۳۳e	۱,۰۹۹۳۳b
T_9	۴۴,۱۱۵۳۳a	۱۰,۱۳۴۰۰a	۶,۹۵۵۳۳f	۱,۳۰۴۰۰a
T_{10}	۴۲,۹۰۲۰۰b	۹,۶۷۰۰۰b	۶,۹۸۴۰۰f	۱,۳۱۸۰۰a

میانگین های دارای حروف مشابه باهم اختلاف معنی داری ندارند Pa: فسفر قابل جذب Ps: فسفر محلول

منابع

بشارتی، ح.، صالح راستین، ن. ۱۳۸۰. بررسی تاثیر کاربرد مایه تلقیح باکتری های تیوباسیلوس همراه با گوگرد در افزایش قابلیت جذب فسفر، مجموعه مقالات ضرورت تولید صنعتی کودهای بیولوژیک در کشور، موسسه تحقیقات آب و خاک، صفحه ۲۹۳-۳۱۷.

کریمیان، ن.۱۳۷۷. پیامدهای زیاده روی مصرف کودهای فسفری. نشریه‌ی علمی پژوهشی خاک و آب، جلد ۱۲، شماره‌ی۴ . موسسه‌ی تحقیقات خاک و آب.

- Cifuentes, F. R. and W. C. Lindemann. 1993. Organic matter stimulation of elemental sulfur oxidation in a calcareous soil. Soil Sci. Soc. Am. J., 57:727-731.

- Khavazi, K, H. Besharati, F. Nourgholipour, and M. J. Malakouti. 2001. Effect of thiobacillus bacteria on increasing P availability from rock phosphate for corn grown on the calcareous soils of Iran. International Meeting on Direct Application of Rock Phosphate and related Appropriate Technology-Latest Development and Practical Experiences. Kuala Lumpur, Malaysia

- Wiederholt, R. and B. Johnson. 2005. Phosphorus behaviour in the environment. Nutrient Management Specialists. NM- 1298.

بررسی تأثیر نسبت‌های مختلف منیزیم به کلسیم (Mg/Ca) و شوری بر جذب برخی عناصر در گیاه سورگوم

فیروزه نورمندی پور[۱]، محمد هادی فرپور[۲] و مهدی سرچشمه پور[۳]
۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بخش خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان ،۲- دانشیار بخش خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان ،
۳- استادیار بخش خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

مقدمه

با پایین رفتن سطح آب‌های زیرزمینی ناشی از برداشت‌های بی‌رویه، منیزیم زیادی از اعماق و از طریق آبیاری وارد زمین‌های زراعی می‌شود. کیفیت آب آبیاری می‌تواند خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک را همانند رشد و تکامل گیاهان تحت تأثیر قرار دهد (حاج‌رسولیها، ۱۳۸۲). یکی از مهم‌ترین مسائل در حیات گیاه، جذب املاح معدنی از طریق ریشه است. جذب منیزیم توسط گیاهان تحت تأثیر عوامل زیادی از جمله دیگر کاتیون‌ها (مخصوصاً کلسیم و پتاسیم و به میزان کمتر سدیم)، pH خاک، میزان رطوبت، دما و فشردگی قرار دارد (کرایقد، ۲۰۰۱). افزایش منیزیم رشد گیاهان را مخصوصاً با کاهش جذب کلسیم و ایجاد کمبود آن، تحت تأثیر قرار می‌دهد (هورست، ۱۳۸۰). منیزیم معمولاً به مقداری کمتر از کلسیم و پتاسیم توسط گیاهان جذب شده و زیادی آن، جذب دو عنصر کلسیم و پتاسیم را تحت تأثیر قرار می‌دهد (اسمیت و رید، ۱۹۹۶).

همزیستی گیاهان با قارچ‌های میکوریزی، خصوصاً قارچ‌های میکوریز آربوسکولار، بعد از همزیستی تیره نخود با ریزوبیوم‌ها، یکی از مهم‌ترین ارتباطاتی است که بین گیاهان و قارچ‌ها وجود داشته و برای افزایش رشد و جذب عناصر مورد توجه می‌باشد. قارچ‌های میکوریز آربوسکولار عمدتاً رشد گیاهان را با بالا بردن جذب عناصر غذایی افزایش می‌دهند (چلوسک و همکاران، ۲۰۰۴). میکوریزا می‌تواند به گیاهان دارای تحمل متوسط به شوری کمک کند و از انتقال سدیم و کلر به بافت‌های برگ و ساقه جلوگیری کند (گیری و موکرژی، ۲۰۰۴). قارچ‌های میکوریزی تأثیر متفاوتی روی عملکرد گیاه دارند، در برخی آزمایش‌ها تلقیح با قارچ‌های میکوریز باعث افزایش وزن اندام هوایی گیاه شده و نشان داده شده که افزایش رشد نتیجه جذب بهتر عناصر است (علی‌اصغرزاده و همکاران، ۲۰۰۳). برخی آزمایشات عدم تأثیر قارچ میکوریز یا حتی کاهش عملکرد را گزارش کرده‌اند (بی و همکاران، ۲۰۰۳). فرانکویس و همکاران (۱۹۸۴) سورگوم را یک گیاه نیمه متحمل به شوری و با آستانه ۶/۸ دسی‌زیمنس بر متر گزارش کردند.

با توجه به مطالب فوق‌الذکر، بررسی حاضر با هدف مطالعه اثر شوری و نسبت‌های مختلف منیزیم به کلسیم (Mg/Ca) بر جذب برخی عناصر تحت آزمایش گلخانه‌ای روی گیاه سورگوم انجام شده است.

مواد و روشها

در تحقیق حاضر به منظور بررسی اثرات شوری و زیادی منیزیم نسبت به کلسیم آزمایش گلخانه‌ای روی گیاه سورگوم شامل ۲۴ تیمار در ۳ تکرار و در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. قارچ مورد استفاده در این تحقیق *Glomus sp.* بود. فاکتورها شامل نسبت‌های مختلف منیزیم به کلسیم که در ۴ سطح R_1، R_2، R_3 و R_4 به ترتیب معادل با ۰/۵، ۱، ۲ و ۴، سه سطح شوری S_0، S_1 و S_2 به ترتیب معادل با ۲، ۵ و ۱۰ دسی

زیمنس بر متر و دو سطح تلقیح M_0 و M_1 به ترتیب معادل با عدم تلقیح و تلقیح با میکوریز بودند. خاک مورد استفاده دارای بافت نسبتاً سبک و از نظر فسفر نیز نسبتاً فقیر بود که ۳ مرحله قبل از کاشت استریل و بعد از افزودن حدود ۸۰ گرم زادمایه به ازاء هر گلدان، کشت گیاه انجام شد. اعمال تیمارهای شوری ۲ هفته پس از سبز شدن گیاه انجام گرفت. محلول ۱۰۰ میلی‌مولار شامل ۷۰ میلی‌مولار نمک کلریدسدیم (NaCl) که در تمام تیمارها این میزان غلظت ثابت بود و ۳۰ میلی‌مولار باقیمانده نیز ترکیب نمک‌های کلریدکلسیم ($CaCl_2$) و کلرید منیزیم ($MgCl_2$) به‌عنوان تیمار شوری به‌کار برده شد. ابتدا خاک گلدان‌ها را با محلول‌های رقیق هر یک از نسبت‌های مربوطه به تعادل رسانده و سپس اعمال تیمارهای شوری با محلول‌های غلیظ همین نسبت‌ها طی ۷ مرحله آبیاری انجام تا شوری به حد مورد نظر رسید. داده‌های آزمایش توسط نرم‌افزار SAS تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

با توجه به نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) تأثیر تیمارهای مختلف و اثرات متقابل آن‌ها بر یکدیگر (به استثنای اثر متقابل شوری و نسبت‌ها بر کلسیم اندام هوایی) بر میزان کلسیم در ریشه و اندام هوایی در سطح یک درصد معنی‌دار شدند. نتایج مقایسه میانگین نشان داد با افزایش شوری، غلظت کلسیم در ریشه و اندام هوایی بطور معنی‌داری افزایش یافت. افزایش غلظت کلسیم در ریشه گیاهان غیرمیکوریزی تا شوری ۵ دسی‌زیمنس برمتر ادامه داشت و پس از آن کاهش یافت که می‌توان به انتقال بیشتر به اندام هوایی نسبت داد. در گیاهان میکوریزی فرایند جذب و انتقال روند یکسان داشته است. کوئینتر و همکاران (۲۰۰۲) بیان کردند که یکی از موارد تحمل به شوری در گیاه، تجمع کلسیم می‌باشد که در تنش‌ها ایفای نقش کرده و در اصلاح شوری دخالت می‌کند. با افزایش نسبت Mg/Ca، غلظت کلسیم با اختلاف معنی‌داری در ریشه کاهش یافت و به اندام هوایی منتقل گردید. این موضوع به دلیل رقابتی است که عناصر کلسیم، منیزیم و پتاسیم با هم دارند. این سه عنصر می‌توانند جایگاه‌های یکسانی را در مواضع مشترک اشغال کنند و در نتیجه افزایش منیزیم می‌تواند عوارض ناشی از کمبود کلسیم و پتاسیم را شدت بخشد که این نتایج با نتایج حاصل از تحقیق لیگت و ژیلبرت (۱۹۹۹) روی لوبیا و تحقیق بهرامپور (۱۳۸۵) روی پسته مطابقت دارد. عکس این مورد در ارتباط با غلظت منیزیم صدق کرد. افزایش منیزیم در ریشه‌های میکوریزی حاکی از این است که میکوریز توانسته از حرکت مقادیر زیاد منیزیم به اندام هوایی جلوگیری کند. با افزایش شوری غلظت منیزیم در ریشه و اندام هوایی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. با این تفاوت که در ریشه در سطوح بالاتر شوری، میزان جذب منیزیم توسط میکوریز افزایش یافته بود. این وضعیت نشاندهنده مقابله گیاه از طریق سیستم میکوریزی با افزایش این عنصر بوده و افزایش شبکه میکوریزی در عین حال توانسته موجب افزایش جذب برخی عناصر مورد نیاز مانند کلسیم و پتاسیم شود. نتایج با نتایج حاصل از تحقیق بهرامپور (۱۳۸۵) روی پسته مطابقت دارد. با توجه به جدول ۱ نیز تأثیر تمام تیمارها و اثرات متقابل آن‌ها بر میزان منیزیم اندام هوایی و ریشه در سطح یک درصد معنی‌دار شدند.

با افزایش نسبت Mg/Ca، غلظت سدیم در ریشه و اندام هوایی افزایش یافت. با توجه به نقش میکوریز مشاهده گردید که با افزایش نسبت Mg/Ca، غلظت سدیم در ریشه گیاهان میکوریزی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت، در حالی‌که در ریشه گیاهان غیرمیکوریزی اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. نتایج جدول ۱ نیز نشان می‌دهد که تأثیر میکوریز و اثر متقابل میکوریز و شوری بر سدیم ریشه فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشد. با افزایش نسبت

Mg/Ca، تجمع سدیم در اندام هوایی گیاهان فاقد میکوریز مشاهده شد، اما در گیاهان میکوریزی، سدیم بیشتری توسط ریشه جذب شده بود. به‌طور کلی، مقدار عنصر سدیم در گیاه تغییر چندانی نداشت و سدیم به‌دلیل مضر بودنش در گیاهانی که مقاومت کمی دارند، می‌تواند توسط میکوریزها در ریشه نگهداری شود و از انتقال آن به بخش‌های هوایی جلوگیری شود.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس تأثیر تیمارها بر غلظت عناصر در ریشه و اندام هوایی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات (MS)							
		Ca^{2+} ریشه	Ca^{2+} اندام هوایی	Mg^{2+} ریشه	Mg^{2+} اندام هوایی	Na^{+} ریشه	Na^{+} اندام هوایی	K^{+} ریشه	K^{+} اندام هوایی
نسبت Mg/Ca (R)	۳	۸/۸۵ **	۳/۸۶**	۰/۱**	۰/۰۰۴**	۰/۰۰۹**	۰/۰۲**	۰/۰۰۷**	۰/۳۱**
شوری (S)	۲	۲/۰۱ **	۱/۹۲**	۰/۰۶**	۰/۰۲۶**	۰/۰۰۸**	۰/۵۴**	۰/۰۱۵**	۱/۳۵**
میکوریزا (M)	۱	۱۰۶/۸**	۱۴/۲۲**	۰/۰۲**	۰/۰۱۱**	۰/۰۰۰۱n.s	۰/۲۳**	۰/۱۴**	۴/۲۸**
S * R	۶	۳/۶۹ **	۰/۰۱ n.s	۰/۰۳**	۰/۰۰۲ **	۰/۰۰۴ **	۰/۰۲**	۰/۰۰۴**	۰/۵۹**
M * R	۳	۲۱/۳۷**	۱/۷۱**	۰/۰۰۴**	۰/۰۰۲*	۰/۰۱۴**	۰/۰۴**	۰/۰۰۱ n.s	۰/۶۳**
M * S	۲	۲۰/۴۲**	۰/۲۲**	۰/۰۶**	۰/۰۰۳**	۰/۰۰۰۶ n.s	۰/۱۵**	۰/۰۱۹**	۰/۰۶n.s
M*S*R	۶	۹/۲۶ **	۰/۰۹**	۰/۱**	۰/۰۰۲ *	۰/۰۰۸**	۰/۰۲**	۰/۰۰۸**	۰/۴۵**
خطا	۴۸	۰/۰۶	۰/۰۲	۰/۰۰۰۸	۰/۰۰۰۶	۰/۰۰۰۸	۰/۰۰۰۸	۰/۰۰۰۷	۰/۰۷

* معنی‌دار در سطح ۵ درصد **معنی‌دار در سطح ۱ درصد n.s فاقد اختلاف معنی‌دار

با افزایش سطوح شوری غلظت سدیم در ریشه و اندام هوایی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت، به‌طوری که در سطوح S_1 و S_2، غلظت سدیم در ریشه بیشتر از اندام هوایی بود، اما در شوری بیشتر از ۵ دسی‌زیمنس برمتر غلظت سدیم در اندام هوایی افزایش یافت که می‌توان به فرایند انتقال سدیم از ریشه به اندام هوایی اشاره نمود. غلظت سدیم در اندام هوایی گیاهان میکوریزی در مقایسه با گیاهان غیرمیکوریزی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت و این می‌تواند به تحمل گیاه به شوری کمک کند. این نتایج نشان می دهند که احتمالاً قارچ میکوریز سیستم ساقه و مخصوصاً برگ‌ها را نسبت به جذب سدیم از خاک و یا با تجمع آن در ریشه و در نهایت تأخیر در جابه‌جایی آن به سیستم ساقه گیاهان تلقیح شده تعدیل نموده و از سمیت سدیم حفظ می کند (شکری و معادی، ۲۰۰۹).

با افزایش نسبت Mg/Ca، غلظت پتاسیم در اندام هوایی افزایش و در ریشه کاهش یافت که می‌توان به فرایند جذب توسط ریشه و انتقال به اندام هوایی اشاره نمود. هم‌چنین، روابط متقابل آنتاگونیسمی بین کلسیم، منیزیم و پتاسیم معمول می‌باشد، زیرا این یون‌ها دارای خواص شیمیایی خاصی می‌باشند که روی سطوح ریشه گیاه برای مکان‌های جذبی و انتقالی با یکدیگر رقابت می‌کنند. جمال و همکاران (۲۰۰۴) نیز نظر مشابهی ارائه نمودند. غلظت پتاسیم در گیاهان میکوریزی بیشتر از گیاهان غیرمیکوریزی و دارای اختلاف معنی‌دار و غلظت پتاسیم نیز در اندام هوایی در مقایسه با ریشه، بیشتر بود. با افزایش شوری، غلظت پتاسیم در ریشه و اندام هوایی کاهش یافت و به‌طورکلی غلظت پتاسیم در اندام هوایی بیشتر از ریشه بود که این نتایج با یافته های برین و همکاران (۱۳۸۵) روی گیاه گوجه‌فرنگی مطابقت دارد.

منابع

آیرز، آر. اس.، دی. دبلیو. وست‌کات. ۱۳۸۲. کیفیت آب برای کشاورزی. ترجمه شاپور حاج‌رسولیها. انتشارات دانشگاه تهران. ص ۱۴۳– ۱۴۰.

برین، م.، علی‌اصغرزاده، ن. و صمدی، ع. ۱۳۸۵. اثر قارچ‌های میکوریز آربوسکولار بر عملکرد و جذب عناصر غذایی در گوجه‌فرنگی تحت شوری حاصل از NaCl و مخلوط املاح. مجله علوم خاک و آب. جلد ۲۰ (۱). ص ۱۰۴– ۹۴.

بهرامپور، م. ۱۳۸۵. اثر منیزیم و کلسیم روی نهال‌های پسته رقم بادامی با توجه به روابط متقابل بین منیزیم و موقعیت میکوریزی گیاه. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان. ص ۸۷.

هورست، م. ۱۳۸۰. تغذیه معدنی گیاهان عالی. ترجمه بهمن خلده برین. جلد اول، ص ۴۹۵.

Aliasgharzadeh, N., P. S. Alizadeh and N. Saleh Rastin. 2003. Iron, Manganese and phosphorus utilization by mycorrhizal tomato at different P levels. In International Soil Tillage Research Organization Conference. Proc. of Conf., Queensland, Brisbane, Australia.

Bi, Y. L., X. L. Li and P. Christie. 2003. Influence of early stages of arbuscular mycorrhiza on uptake of zinc and phosphorus by red clover from a low-phosphorus soil amended with zinc and phosphorus. Chemosphere, 50 (6): 831-837.

Craighead, M. 2001. Magnesium deficiency in crops and its relevance to arable farming in New Zealand - a review. Agronomy New Zealand, 31: 53-62.

Francois, L.E., Donovan, T.J. and Maas, E.V. 1984. Salinity effects on seed yield, growth and germination of grain sorghum. Agron. J. 76: 741–744.

Giri, B. and K. G. Mukerji. 2004. Mycorrhizal inoculants alleviate salt stress in Sesbania aegyptiaca and Sesbania grandiflora under field conditions: evidence for reduced sodium and improved magnesium uptake. Mycorrhiza. 14: 307-312.

Jamal, S. F., P. Cadet, R. S. Rutherford and C. J. Straker. 2004. Effect of mycorrhiza on the nutrient uptake of Sugarcane. Proc S Afr Sug Technol Ass, 78: 343- 348.

Khanpour Ardestani, N., H. Zare-Maivan and F. Ghanati. 2011. Effect of different concentrations of potassium and magnesium on mycorrhizal colonization of maize in pot culture. African Journal of Biotechnology, 10 (73): 16548-16550.

Legget, J. E. and W. A. Gilbert. 1999. Magnesium uptake by soybean. Plant Physiology. 44: 1182-1186.

Quintero, F. J., M. Ohta, H. Shi, J. Zhu and J. M. Pardo. 2002. Reconstitution in yeast of the Arabidopsis SOS signaling pathway for Na^+ homeostasis. Proceedings of National Academy of Sciences (USA), 99: 9061- 9066.

Scheloske, S., M. Maetz, T. Schneider, U. Hildebrandt, H. Bothe and B. Povh. 2004. Element distribution in mycorrhizal and nonmycorrhizal roots of the halophyte Aster tripolium determined by proton induced X-ray emission. Protoplasma 223: 183–189.

Shokri, S. and B. Maadi. 2009. Effects of arbuscular mycorrhizal fungus on the mineral nutrition and yield of Trifolium alexandrinum plants under salinity stress. J. of Agronomy, 8: 79-83.

Smith, S. E. and D. J. Read. 1996. Mycorrhizal symbiosis. 2nd Edition, Academic Press, London.

تأثیر شرایط نگهداری بر فعالیت آنزیم ال-گلوتامینازدر بقایای گیاهی

زهره محمدی فشکل‌پشته [1]– فرشید نوربخش [2]
۱-دانشجوی کارشناسی ارشد گروه خاکشناسی دانشگاه صنعتی اصفهان،۲- استاد گروه خاکشناسی دانشگاه صنعتی اصفهان

مقدمه

مدیریت پسماندهای گیاهان و برگرداندن آن‌ها به زمین‌های زراعی از عوامل ضروری مدیریت حاصلخیزی برای کشاورزی پایدار می‌باشد. بخش آلی خاک در تولید انرژی، سوبسترا و تنوع بیولوژیکی لازم برای پایدار نگه‌داشتن فعالیت‌های متعدد در خاک، نقش حیاتی دارد. هم‌چنین مجموع فعالیت‌ها و فرآیندهای انجام شده در یک خاک مشخص، تنها زمانی می‌تواند از سطح مطلوبی برخوردار باشد که ساخت و تولید آنزیم‌های مختلف از منابع گوناگون که مهم‌ترین آن توده‌ی زنده‌ی میکروبی است، همواره صورت پذیرد. بقایای گیاهی از منابع اولیه‌ی تأمین ماده آلی خاک است که در بسیاری از سیستم‌های کشاورزی به خاک اضافه می‌گردد. موجودات ریز خاک از بقایای گیاهان به‌عنوان منبع کربن و انرژی استفاده می‌کنند که در نتیجه‌ی آن در شرایط هوازی دی‌اکسیدکربن، ترکیبات معدنی و مولکول‌های آلی موجود در هوموس تولید می‌شود. بقایای گیاهی به‌علت دارا بودن مقادیر فراوان عناصر غذایی، در چرخه‌ی این عناصر نقش مهمی دارند.

آنزیم ال-گلوتامیناز(ال-گلوتامین آمیدوهیدرولاز EC 3.5.1.2) نوعی آمیدوهیدرولاز است که هیدرولیز ال-گلوتامین را به آمونیاک و ال-گلوتامیک‌اسید کاتالیز می‌کند. این هیدرولاز اختصاصی بوده و پیوندهای کربن-نیتروژن غیرپپتیدی را در آمیدهای خطی می‌شکند. ال-گلوتامیناز از جمله آنزیم‌های مهم در چرخه‌ی نیتروژن است که در تأمین نیتروژن مورد نیاز گیاهان نقش مهمی ایفا می‌کند. فعالیت آنزیم ال-گلوتامیناز در خاک برای اولین بار توسط گالستین و ساکیان(۱۹۷۳) مورد بررسی قرار گرفت و گزارش شد که فعالیت ال-گلوتامیناز در خاک‌های تیمار شده با تولوئن در مقایسه با خاک‌های بدون تیمار تولوئن بیش‌تر است. سنجش فعالیت آنزیم ال-گلوتامیناز توسط فرانکنبرگر و طباطبایی (۱۹۹۱) انجام شد و با مطالعه‌ی تأثیر عواملی چون دما، pH، غلظت سوبسترا، وزن نمونه‌ی خاک و زمان انکوباسیون یک روش استاندارد برای سنجش فعالیت این آنزیم ارائه شد. فرانکنبرگر و طباطبایی(۱۹۸۲) برای اولین بار فعالیت دو آنزیم آمیداز و اوره‌آز را در نمونه‌های تازه، هواخشک و منجمدشده گیاهان اندازه‌گیری کردند و به این نتیجه رسیدند که با هواخشک شدن و منجمدشدن بافت گیاهی، فعالیت آنزیم در آن کاهش می‌یابد. از آن‌جا که نیتروژن به‌عنوان محدودکننده‌ترین عنصر در رشد گیاه، به‌طور عمده از تجزیه‌ی آنزیمی مواد آلی تأمین می‌شود بررسی آنزیم‌های مؤثر در چرخه‌ی نیتروژن امری ضروری به‌نظر می‌رسد. ال-گلوتامیناز یکی از اثرگذارترین آمیدوهیدرولازها برمعدنی شدن و در دسترس قرار گرفتن نیتروژن معدنی است. لذا این مطالعه با هدف بررسی اثر شرایط نگهداری بقایای گیاهی بر فعالیت آنزیم ال-گلوتامیناز انجام شد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری از بقایای گیاهی ذرت در تیر ماه و یونجه در مهر از مزارع دهنو واقع در استان اصفهان که هیچ‌گونه تنش آبی را در طول دوره‌ی رشد خود متحمل نشده بودند انجام گرفت. در مزارع به‌طور تصادفی اندام هوایی این گیاهان از قسمت طوقه قطع شده و برای انجام مراحل بعد به آزمایشگاه منتقل شدند. اندام هوایی ذرت و یونجه، پس از انتقال به آزمایشگاه به‌دقت شسته شده و به سه قسمت تقسیم شدند. مقداری از بقایا پس از خشک شدن سطحی، تا حد امکان خرد شده و برای انجام آزمایشات روی مواد گیاهی در یخچال با دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند. قسمتی از این بقایا با ازت مایع منجمد شده و برای انجام آزمایشات بر روی بقایای گیاهی منجمد شده در فریزر ۲۰- درجه نگهداری شدند. باقیمانده‌ی این گیاهان ابتدا به‌مدت یک هفته هواخشک شده و پس از آسیاب کردن از الک ۱ میلی‌متری عبور داده شد.

برای اندازه گیری فعالیت آنزیم ال – گلوتامیناز از روش فرانکنبرگر و طباطبایی (۱۹۹۱) که برای خاک ارائه شده بود، استفاده گردید. در این روش ۰/۱ گرم از بقایای گیاهی با ۰/۲ میلی لیتر تولوئن تیمار شد و پس از افزودن ۹ میلی لیتر بافر تریس (تریس هیدروکسی متیل آمینومتان، pH=10) و یک میلی لیتر محلول ۵۰ میلی مولار ال-گلوتامین، به مدت ۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوباسیون گردید. پس از خروج از انکوباتور بلافاصله ۳۵ میلی لیتر محلول$KCl\text{-}Ag_2\ SO_4$ (۲/۵ مولار نسبت به KCl و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر نسبت به $Ag_2\ SO_4$) به محتویات قبلی افزوده شد و بعد از مخلوط و سرد شدن در دمای محیط با استفاده از $KCl\text{-}Ag_2\ SO_4$ به حجم ۵۰ میلی لیتر رسید. در نهایت ۲۰ میلی لیتر از سوسپانسیون به ظرف مخصوص دستگاه تقطیر بخار آب منتقل و پس از افزودن ۰/۲ گرم MgO و تقطیر سوسپانسیون به مدت ۴ دقیقه، آمونیوم متصاعد شده توسط محلول معرف H_3BO_3 که در انتهای خروجی قسمت سرد کننده بخار دستگاه قرار داشت جمع آوری و محلول به دست آمده توسط اسید سولفوریک ۰/۰۰۲۵ مولار تیتر گردید. به موازات این اندازه گیری یک تیمار شاهد نیز در نظر گرفته شد، تیمار شاهد نمونه ای است که در شروع انکوباسیون، ال–گلوتامین دریافت نمی کند؛ اما پس از دو ساعت انکوباسیون و افزودن محلول $KCl\text{-}Ag_2\ SO_4$ یک میلی لیتر محلول ال–گلوتامین به آن اضافه شده و مقدار آمونیوم بلافاصله در سوسپانسیون اندازه‌گیری می شود. با کم کردن مقدار نیتروژن آمونیومی تیمار شاهد از تیمار اصلی، فعالیت آنزیم ال–گلوتامیناز بر حسب میکروگرم آمونیوم بر گرم مواد آلی در یک ساعت محاسبه و گزارش گردید. پس از تعیین مقدار فعالیت آنزیم ال–گلوتامیناز در همه‌ی نمونه‌ها، به مقایسات آماری با آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ پرداخته شد.

نتایج و بحث

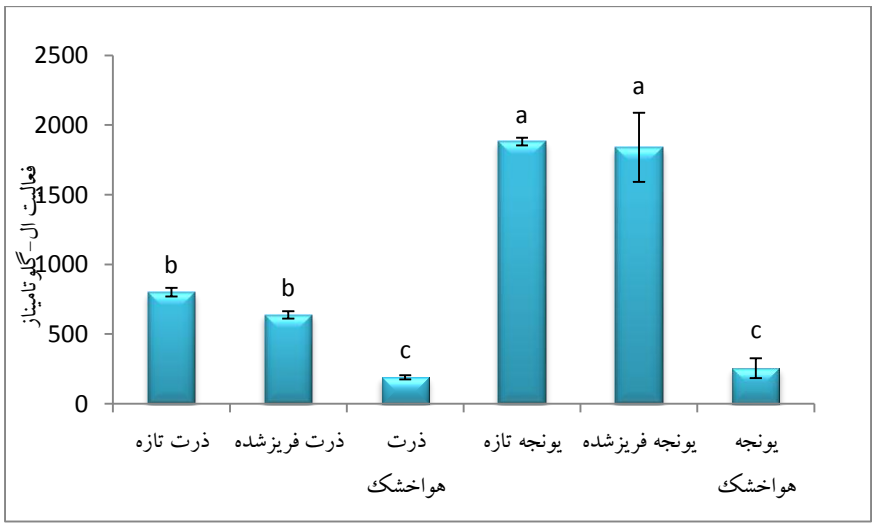
با داشتن فعالیت آنزیم ال–گلوتامیناز در شرایط مختلف، می‌توان میزان کاهش فعالیت این آنزیم را دربقایای گیاهی منجمد شده و هواخشک شده نسبت به بقایای گیاهی تازه محاسبه کرد. در هر دو گیاه ذرت و یونجه، درصد کاهش فعالیت بر اثر منجمد شدن بسیار کم‌تر از هواخشک شدن بود. در یونجه میزان کاهش فعالیت آنزیم بر اثر هواخشک شدن بیش‌تر از ذرت بود. احتمالاً این مشاهده به‌دلیل درصد رطوبت و حساسیت بیش‌تر

یونجه به هواخشک شدن است. ایزوآنزیم‌های مختلف در مواد آلی متفاوت، در شرایط مشابه رفتارهای گوناگونی از خود نشان می‌دهند(جدول ۱).

جدول ۱- مقایسه‌ی فعالیت آنزیم ال-گلوتامینازدر بقایای گیاهی منجمد و هواخشک با بقایای تازه

ماده‌ی آلی	فعالیت ال-گلوتامیناز	نسبت فعالیت	درصد کاهش فعالیت
ذرت تازه	۸۰۰(۳۰/۸)	۱	۰
ذرت منجمدشده	۶۳۸(۲۶/۳)	۰/۷۹۷	۲۰/۳
ذرت هواخشک‌شده	۱۸۹(۱۵/۶)	۰/۲۳۷	۷۶/۳
یونجه تازه	۱۸۸۱(۲۸/۱)	۱	۰
یونجه منجمدشده	۱۸۴۰(۲۴۸/۸)	۰/۹۷۸	۲/۲
یونجه هواخشک شده	۲۵۵(۷۱/۲)	۰/۱۳۵	۸۶/۵

اعداد داخل پرانتز خطاهای استاندارد(SE) هستند.



شکل ۱- مقایسه‌ی فعالیت ال-گلوتامیناز در بقایای گیاهی تازه، فریز و هواخشک شده

مقایسه‌ی فعالیت آنزیم ال-گلوتامیناز در دو گیاه نشان می‌دهد فعالیت ال-گلوتامیناز در بقایای تازه و منجمد یونجه بیش‌تر از بقایای تازه و منجمد ذرت است اما در بقایای هواخشک‌شده به علت توانایی بیش‌تر آنزیم برای حفظ تمامیت فضایی در ذرت فعالیت ال-گلوتامیناز در ذرت هواخشک بیش از یونجه‌ی هواخشک است. در هر دو گیاه، فعالیت آنزیم ال-گلوتامیناز در شرایط فریزشده نسبت به بقایای تازه علی‌رغم فعالیت کم‌تر آنزیم در گیاه منجمد، تفاوت معنی‌داری با هم ندارند اما این اختلاف آماری معنی‌دار در یونجه و ذرت بین بقایای هواخشک و تازه مشاهده شد(شکل ۱).

منابع

Dick R.P., Breakwill D. and Turco R. 1996. Soil enzyme activities and biodiversity measurements as integrating biological indicators. In: Doran, J.W., Jones, A.J. (Eds.), Handbook of Methods for Assessment of Soil Quality. pp: 247-272. Soil Sci. Soc. Am. J., Madison.

Frankenberger W.T. and Tabatabai M.A. 1991. Amidase and urease activity in plants. Plant and Soil. 64:153-166.

Frankenberger W.T. and Tabatabai M.A. 1991. L-glutaminase activity of Soils. Soil Biol. Biochem. 23: 869-874.

Galstyan, A.S. and Saakyan E.G. 1973. Determining of soil glutaminase activity. Dokiady adademii Nauk SSSR.289:1201-1202.

Ghollarata M. and Raiesi F. 2007. The adverse effect of soil salinization on the growth of trifolium alexandrinum L. and associated microbial and biological properties in a soil from Iran. Soil Biol. Biochem. 39: 1699-1702.

Keeney D.R. and Nelson D.W. 1982. Nitrogen-inorganic forms. In: Page, A.L. (Ed.), Methods of Soil Analysis. Part 2. Am. Soc. Agronomy, Madison, WI, pp. 643–698.

Prassad R. and Power J.F. 1997. Soil fertility management for sustainable agriculture. CRC. Boca Raton. FL. USA.

Tabatabai M.A. and Bremner J.M. 1972. Assay of urease activity in soils. Soil Biol. Biochem. 4: 479.

مطالعه اثر زمان و غلظت‌های سرب بر فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی خاک در رژیم‌های مختلف رطوبتی

معصومه تقی زاده اشکوایی

taghizade_87@yahoo.com

مقدمه

آلودگی محیطزیست و افزایش روند تخریب اکوسیستم‌های طبیعی از جمله خاک که جهان کنونی با آن رو به رو است، ناشی از برخورد غیرمسئولانه انسان با محیطزیست و استفاده نامناسب از منابع پایه می‌باشد. امروزه یکی از مسایل مهم زیست‌محیطی، آلوده شدن خاک‌های زیر کشت به فلزات سنگین مانند کادمیوم، نیکل و سرب می باشد [سپهری و همکاران 1385]. آلودگی محیطی خاک‌ها با فلزات سنگین باعث ایجاد اثرات سمی بر فرآیندهای بیوشیمیایی و بیولوژی خاک می‌شود [دیک و همکاران 1997]. در بین عناصر سنگین، کادمیوم و سرب به دلیل نیمه عمر طولانی در بدن انسان و حیوان، سمی بودن زیاد از اهمیت ویژه ای برخوردار هستند [سامانی مجد و همکاران 1386]. زمانی که این فلزات وارد خاک می‌شوند، برای مدت طولانی بدون تخریب شدن توسط میکروارگانیسم‌ها، در خاک باقی می‌مانند [ماسیاندارو و همکاران 2004]. فعالیت متابولیکی میکروارگانیسم‌های خاک برای چرخه موادآلی ضروری است. تحرک و عدم تحرک عناصر غذایی معدنی و کمیاب نیز نتیجه فعالیت‌های میکروبی است. چرخه ماده آلی توسط آنزیم‌های ویژه‌ای، کاتالیز می‌شود. این آنزیم‌ها بوسیله موجودات تولید شده و بصورت داخل یا خارج سلولی عمل می‌کنند [اصغرزاده1385]. بزرگترین بخش فسفر آلی در خاک فیتات است که در اثر تجزیه مواد آلی به‌وجود می‌آید. فسفر آلی قبل از این‌که بتواند مورد استفاده گیاه قرار گیرد باید به فسفر معدنی تبدیل شود. فسفاتازها آنزیم‌هایی هستند که پیوندهای استری C-O-P را هیدرولیز می‌کنند. آنزیم فسفاتاز از باکتری‌های خاک و ریشه گیاهان آزاد می‌شود [اسپیر و همکاران 1978].

مواد و روشها

نمونه‌برداری خاک از عمق 20-0 سانتی‌متری خاک انجام گرفت. بعد از هوا خشک شدن، خاک کوبیده و از الک دو میلی‌متری عبور داده شد. برای اعمال تیمارهای سرب و سطوح رطوبتی خاک، جهت اندازه‌گیری آنزیم فسفاتاز قلیایی خاک، ابتدا خاک به طریقه زیر آماده شد:

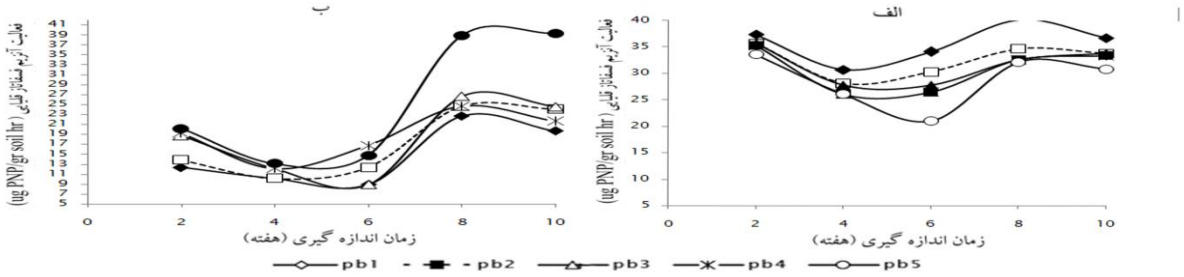
30 گلدان به ارتفاع 18 سانتی‌متر و قطر 20 سانتی‌متر انتخاب و یک کیلوگرم از خاک الک شده درون هر یک از آن‌ها ریخته شد از آنجایی که آزمایش در دو رژیم رطوبتی ظرفیت مزرعه و غرقاب انجام شد، در 15 گلدان، خاک ابتدا در پلاستیک ریخته شد. برای اعمال تیمارهای سرب از نمک استات سرب که یک نمک محلول در آب می‌باشد استفاده شد. به مقادیر 50، 100، 150 و 200 میلی گرم توزین شدند سپس با مقداری آب حل شدند وبه خاک گلدان‌ها اضافه گردیدند.

سپس گلدان‌ها در رطوبت موردنظر تنظیم گردیدند به‌طوری‌که برای اعمال تیمار غرقاب، 15 گلدان از آب پر شد و ارتفاع آب روی سطح خاک گلدان‌ها به 4 الی 5 سانتی‌متر رسانده شد. 15 گلدان دیگر نیز در حد رطوبت ظرفیت مزرعه تنظیم گردید. سپس در زمان‌های 2، 4، 6، 8 و 10 هفته، از هر گلدان جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی به نحوی نمونه برداری شد که خاک مورد آزمایش نماینده کل خاک بود.
برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم فسفاتاز ابتدا به میزان یک گرم خاک مرطوب توزین شد و یک میلی‌لیتر از محلول بسته موردنظر (مخصوص فسفومونواستراز قلیایی) و 4 میلی‌لیتر از محلول بافر مربوطه (برای فسفاتاز قلیایی pH=11) به آن افزوده شد و به ارلن شاهد فقط 4 میلی‌لیتر محلول بافر (قلیایی) اضافه می‌شود. محتوی ارلن‌ها را کمی به هم زده شده و درپوش آنها را بسته و به مدت یک ساعت در دمای 37 درجه سانتیگراد در انکوباسیون قرار گرفتند. بعد از انکوباسیون، 4 میلی‌لیتر هیدروکسید سدیم 0/5 مولار و یک میلی-لیتر کلرید کلسیم 0/5 مولار برای اتمام یافتن فعالیت آنزیمی بدان افزوده شده و به ارلن‌های شاهد یک میلی-لیتر محلول بسته مورد نیاز (قلیایی) اضافه شده و به تمام ارلن‌ها 90 میلی‌لیتر آب مقطر افزوده شد و کاملاً تکان داده شد سپس نمونه‌ها به وسیله کاغذ صافی واتمن 42 دو لایه صاف شدند. مقدار جذب(شدت رنگ زرد) در نمونه‌ها و شاهد و استاندارد به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج 420 نانومتر و به صورت میکروگرم پارانیتروفنل بر گرم خاک خشک در یک ساعت انکوباسیون(µgPNP. g-1Soil hr-1)محاسبه گردید.[طباطبایی وهمکاران 1969]

نتایج و بحث

اثر متقابل سه جانبه زمان × رطوبت × سرب بر فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی

با توجه به تجزیه واریانس اثر سرب و رطوبت بر فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی خاک در طی زمان، اثر متقابل سرب × زمان × رطوبت بر فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی معنی دار است و این اثر متقابل در شکل 1 نشان داده شده است. نتایج نشان داد که در شرایط رطوبت ظرفیت مزرعه، فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی با گذشت زمان در تمامی سطوح مورد مطالعه سرب ابتدا کاهش و سپس افزایش و دوباره کاهش اندکی یافت. به طوری که چهار هفته بعد از اعمال تیمارهای سرب، فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در تمامی سطوح مورد مطالعه سرب، کاهش یافت. فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در هفته ششم در مقادیر 50، 150 و 200 میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک افزایش اندکی داشت به طوری که با هفته چهارم تغییر چندانی نشان نداد (شکل 1). اما فعالیت آنزیم در مقادیر صفر و 100 میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک کاهش یافت. در هفته هشتم، فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در تمامی سطوح مورد مطالعه سرب افزایش نشان دادبه طوریکه فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در بیشترین مقدار خود قرار داشت. سپس در هفته دهم فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی کاهش اندکی در تمامی سطوح مورد مطالعه سرب نشان داد(شکل 1). در مقابل در شرایط غرقاب، روند تقریباً مشابهی در فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی مشاهده شدو فقط از لحاظ مقادیر فعالیت آنزیم متفاوتند که مقادیر فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در شرایط غرقاب بیشتر از رطوبت ظرفیت مزرعه بود.



شکل1- تغییرات فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در طی زمان‌های مختلف اندازه‌گیری در (الف) رطوبت ظرفیت مزرعه و(ب) غرقاب

احتمالاً در هفته هشتم، در رطوبت ظرفیت مزرعه میکروارگانیسم‌های تولید کننده آنزیم فسفاتاز قلیایی بیشترین فعالیت را داشتند و احتمالاً شرایطی مانند رطوبت، اکسیژن، عناصر غذایی و شرایط شیمیایی خاک در هفته هشتم برای فعالیت میکروارگانیسم‌های خاک در حد مطلوبی بود و شرایط را برای تولید بیشتر آنزیم فراهم کرده است.

همچنین با توجه به نتایج در شرایط غرقاب، روند تغییرات فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در دو سطح رطوبتی تقریباً مشابه بود. می‌توان به این نتیجه دست یافت که احتمالاً رطوبت تاثیر چندانی بر روند فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی نداشت و همچنین آنزیم فسفاتاز با فراهم بودن سایر شرایط محیطی می‌تواند در هر رطوبتی به فعالیت خود ادامه دهد. این نتیجه که فعالیت آنزیم فسفاتاز کمتر به تغییرات رطوبتی خاک حساس می‌باشد را نیز مازادوری [مازادوری و همکاران 1996] در تحقیقاتش به آن دست یافت. یانگ و همکاران [2006] تفاوتی در فعال‌سازی یا بازدارندگی سرب بر فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی مشاهده ننمودند.

منابع

اصغرزاده، ن.ع.، 1385. روش های آزمایشگاهی در بیولوژی خاک (ترجمه). انتشارات دانشگاه تبریز، 522 صفحه.

سامانی مجد، س.، ا. تائبی و م. افیونی.، 1386. آلودگی خاک حاشیه خیابان های شهری به سرب و کادمیوم. مجله محیط شناسی، شماره 43، صفحه 10-1.

سپهری، م.، ن. صالح راستین، ه. اسدی رحمانی و ح. علیخانی. 1385. اثرات آلودگی خاک به کادمیوم بر توان گره زایی و تثبیت نیتروژن سویه های بومی سینوریزوبیوم ملیلوتی، مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، جلد 10، شماره 1، صفحه 162-153.

Dick, R.P. 1997. Enzyme activities as integrative indicators of soil health, In: pankhurst C.
E., Doubee, B. M., Gupta, V. V. S. R., Grace, P. R. (Eds,). Soil Biota : Management in Sustainable Farming Systems. CSIRO, East Melbourne, pp. 238-244.

Masciandaro, G., B. Ceccanti, S. Benedicto, H. C. Lee and F. Cook. 2004. Enzyme activity
and C and N pools in soil following application of mulches. Can. J. Soil Sci. 84 : 19-30.

Mazadori, C., C. Ciavatta, D. Motecchio and C. Gessa. 1996. Effects of lead pollution on

different soil enzyme activities. Biol Fertil Soils, 22: 53-58.
Spier, T. W. and D. J. Ross. 1978. Soil phosphatase and sulphatase. PP. 197-250. In: R. G.
Burns (ed). Soil enzymes. Academic Press New York.
13- Tabatabai, M. A. and J. M. Bremner. 1969. Use of p-nitrophenylphosphate for assay of soil
phosphatase activity. Soil Biol. Biochem. 1: 301-307.
Yang, Z., Sh. Liu, D. Zheng, Sh. Feng. 2006. Effects of cadium, zinc and lead on soil enzyme activities. Journal of Environmental Sciences, 18: 1135-1141.

اثر تنش خشکی و قارچ‌های میکوریز آربسکولار *گلوموس موسه‌ای* و *گلوموس ورسیفرم* بر رشد و ویژگی‌های فیزیولوژیک پایه نارنج

زهرا پیمانه[1] ،مهدی زارعی[2]
۱-به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد ،۲- استادیار بخش علوم خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز

مقدمه

کمبود آب یک پی‌آمد جهانی است، کشاورزی و تولید غذا را تهدید می‌کند. مقاومت به تنش خشکی در تمام گیاهان وجود دارد. مقاومت به تنش‌های غیر زنده پیچیده و این پیچیدگی به علت اثرات متقابل بین فاکتورهای تنش، تغییرات ملکولی، بیوشیمیایی و فیزیولوژیک است. در تمام گیاهان تنش خشکی سبب کاهش فتوسنتز و کاهش رشد گیاهان می‌شود (رزمجو و همکاران ۲۰۰۸) قارچ میکوریز تغییرات فیزیولوژیک در گیاه ایجاد می‌کند و سبب سازگاری بهتر گیاه با خاکهای با میزان آب پایین و افزایش رابطه آب گیاه می‌شود مکانیسم‌هایی که بوسیله آن قارچ میکوریز سبب افزایش مقاومت به خشکی گیاهان میزبان می‌شود به طور کامل شناخته نشده است، به طور کلی میتوان دلایل زیر را بیان کرد: ۱- افزایش جذب آب بوسیله هیف‌های خارجی ۲- تنظیم روزنه‌ها بوسیله هورمون‌ها ۳- افزایش جذب عناصر غذایی ۴- تنظیم اسمزی بیشتر در گیاهان میکوریزی (آج و همکاران ۲۰۰۳). بیشتر گونه‌های مرکبات مانند نارنج، رافلمون، نارنج سه برگ، کلئوپاترا ماندریا و... دارای تارهای کشنده کم و کوتاه و به شدت وابسته به همزیستی میکوریزی، بیشتر از گونه گلوموس هستند. هدف از این تحقیق بررسی اثر تنش خشکی و قارچ‌های میکوریز آربسکولار گلوموس موسه‌ای و گلوموس ورسیفرم بر رشد و ویژگی‌های فیزیولوژیک پایه نارنج در شرایط گلخانه در یک خاک آهکی بوده است.

مواد و روش‌ها

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار در شرایط گلخانه انجام گردید. فاکتورهای مورد استفاده در آزمایش شامل قارچ میکوریز آربسکولار در سه سطح شامل *گلوموس موسه‌ای*، *گلوموس ورسیفرم* و شاهد و تنش خشکی در ۴ سطح شامل: دورهای آبیاری ۲، ۴، ۶ و ۸ روز بود. گلدان‌هایی بدون زهکش انتخاب و با الکل سترون سطحی گردید. خاک سترون گردیده و به مقدار ۵ کیلوگرم به هر گلدان افزوده گردید. دانهال‌ها به تعداد ۲ عدد در هر گلدان منتقل گردید و بعد از گذشت یک ماه از کاشت تیمارهای آبی اعمال گردید. در مرحله داشت بعد از اعمال تیمارهای تنش آبی دمای سطح برگ با دماسنج مادون قرمز (فرو سرخ) مدل (kyoritsu-5500)، درجه سبزی برگ با دستگاه کلروفیل سنج SPAD، قطر با کولیس، ارتفاع گیاه با خط کش و تعداد برگ اندازه‌گیری گردید. بعد از گذشت ۶ ماه از کاشت برداشت صورت گرفت. برگها جدا و مساحت برگ‌ها به وسیله دستگاه اندازه‌گیری سطح برگ (Windias) اندازه‌گیری گردید. مقداری از ریشه‌ها (۰/۵ گرم) نمونه برداری و برای اندازه‌گیری درصد کلنیزاسیون ریشه به روش کورمانیک و مک گرو (۱۹۸۲) انجام گردید. اندام‌های گیاه شامل اندام هوایی و ریشه با استفاده از آب مقطر شستشو و در آون در دمای

۷۰ درجه سلسیوس تا زمانی که وزن خشک آنها ثابت شود قرار داده شدند و سپس وزن آنها تعیین شد. تجزیه آماری با کمک نرم افزار آماری SAS و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون LSD انجام و نمودارها با Excel رسم گردید.

نتایج و بحث

با افزایش شدت تنش خشکی درصد کلنیزاسیون ریشه بصورت قابل توجهی کاهش یافت که نشان دهنده اثر بازدارندگی تنش خشکی بر گسترش قارچ است. علاوه بر این در تیمارهای بدون قارچ هیچ گونه اندام قارچ مشاهده نشد. درصد کلنیزاسیون قارچ *گلوموس موسه‌ای* نسبت به قارچ *گلوموس ورسیفرمی* بیشتر بوده است. آب بر جوانه زدن اسپور اثر مستقیم دارد. علت دیگر کاهش کلنیزاسیون ریشه تغییرات ترشحات ریشه در طول تنش خشکی است (سنگ تراش و همکاران ۲۰۰۹). اثر قارچ و تنش خشکی بر عملکرد ماده خشک اندام هوایی و ریشه، سطح برگ، تعداد برگ، ارتفاع بوته، قطر پایین ساقه نشان دهنده اثر معکوس تنش خشکی و اثر مثبت قارچ در پایه نارنج است. اثر قارچ و تنش خشکی بر سطح برگ نسبت به سایر پارامترهای مورفولوژیک بارزتر بوده، بطوریکه با افزایش شدت تنش خشکی سطح برگ گیاهان بطور مشخصی کاهش یافته است. تنش خشکی بر عملکرد ماده خشک گیاهان اثر منفی دارد. منشعب شدن ریشه در گیاهان در معرض تنش خشکی در وزن خشک ریشه اثر دارد و گونه‌های مختلف گیاهان عکس العمل‌های متفاوتی نسبت به تنش خشکی دارند. کاهش در رشد ریشه در گیاه بامیه در شرایط تنش خشکی متوسط و شدید گزارش شده است (فاروغ و همکاران ۲۰۰۹). مهمترین عامل محدود کننده رشد گیاهان در معرض تنش خشکی، کاهش تقسیم سلولی و طویل شدن سلول‌ها است و علت آن کاهش فشار تورگر است، گیاهان در معرض تنش خشکی با تنظیم اسمزی و نگه داشتن فشار تورگر سلول‌ها، به رشد خود ادامه می‌دهند. سطح برگ یکی از مهمترین عوامل در فتوسنتز و وزن خشک گیاه و نسبت به تنش خشکی به شدت حساس است. کمبود آب رشد برگ را کاهش و موجب کاهش سطح برگ، تعداد برگ و وزن برگ می‌شود (شائو و همکاران ۲۰۰۸) با افزایش شدت تنش خشکی عدد قرائت شده توسط کلروفیل متر کاهش پیدا کرده است دو گونه قارچ میکوریز آربسکولار سبب افزایش عدد قرائت شده توسط کلروفیل متر شده است. با افزایش شدت تنش خشکی دمای سطح برگ افزایش پیدا کرده در حالی که قارچ سبب کاهش دمای سطح برگ شده است. مهمترین عامل کاهش فتوسنتز بسته شدن روزنه‌های برگ در زمان تنش خشکی است. گلوتامات (ماده پیش‌ساز کلروفیل و پروتئین) و نیتروژن (مورد نیاز برای سنتز کلروفیل) در شرایط تنش خشکی برای تنظیم فشار اسمزی صرف ساخت پرولین می‌شود علاوه بر این افزایش فعالیت کلروفیلاز تخریب کلروفیل را باعث می‌شود (شانی و بنیگل ۲۰۰۵) افزایش گونه‌های فعال اکسیژن در زمان تنش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان را افزایش و برای تولید این دسته از آنزیم‌ها جاسمونیک اسید تولید می‌شود (پریز و همکاران ۱۹۹۳). کمبود آب باعث بسته شدن روزنه‌ها و کاهش تعرق و افزایش دمای پوشش سبز گیاهان می‌شود. محمدیان و همکاران (۲۰۰۱) پیشنهاد کردند در شرایط تنش خشکی برگهای چغندرقند در برابر تنش خشکی پژمرده و خم می‌شود و بر روی سطح خاک قرار می‌گیرند در نتیجه سطح در برابر نور افزایش

و دمای سطح برگ افزایش می‌یابد. در طول تنش خشکی پتانسیل آب برگ کاهش در نتیجه فعالیت‌های فتوسنتزی کاهش و منجر به کاهش هدایت روزنه‌ای و سرعت تعرق می‌شود (رزاقی و همکاران ۲۰۱۱).

جدول ۱- مقایسه میانگین‌های اثر قارچ میکوریز و تنش خشکی بر درصد کلنیزاسیون ریشه، وزن خشک اندام‌هوایی و ریشه (گرم در گلدان) ارتفاع بوته (سانتی متر)، تعداد برگ، سطح برگ (سانتیمتر مربع)، دمای سطح برگ (درجه سلسیوس) و قطر پایین ساقه (میلیمتر) و عدد قرائت شده توسط کلروفیل متر در نارنج.

	دور آبیاری (روز)			
	۲	۴	۶	۸
کلنیزاسیون ریشه				
بدون قارچ	۰۰/۰۰g	۰۰/۰۰g	۰۰/۰۰g	۰۰/۰۰g
گلوموس موسه‌ای	۸۰/۸۲a	۷۱/۰۷bc	۵۰/۶۲d	۳۹/۳۶ef
گلوموس ورسیفرم	۷۳/۰۱b	۶۳/۹۲c	۴۳/۵۸de	۳۴/۲۶f
وزن خشک اندام هوایی				
بدون قارچ	۲۲/۲۵abc	۱۷/۴۱de	۱۱/۵۲fg	۱۰/۴۳g
گلوموس موسه‌ای	۲۵/۷۵a	۲۱/۳۳bc	۱۹/۴۳cd	۱۴/۶۵ef
گلوموس ورسیفرم	۲۴/۹۰ab	۲۰/۵۲cd	۱۷/۷۲cd	۱۴/۵۶ef
ارتفاع بوته				
بدون قارچ	۵۸/۰۰ab	۵۱/۵bcd	۴۳/۳۳cd	۳۹/۸۳d
گلوموس موسه‌ای	۶۷/۰۰a	۶۱/۸۳ab	۵۹/۳۳ab	۵۴/۸۳abc
گلوموس ورسیفرم	۶۴/۱۷ab	۶۱/۸۲ab	۶۰/۶۷ab	۵۲/۳۳bcd
تعداد برگ				
بدون قارچ	۸۷/۰۰abc	۷۸/۳۳bcd	۷۰/۶۷cd	۶۶/۶۷d
گلوموس موسه‌ای	۹۹/۶۷a	۸۳/۰۰bcd	۷۸/۳۳bcd	۷۱/۳۳cd
گلوموس ورسیفرم	۹۳/۶۷ab	۸۱/۰۰bcd	۷۳/۰۰cd	۷۰/۳۳d
سطح برگ				
بدون قارچ	۱۸/۱۵d	۱۶/۹۸d	۱۴/۳۰de	۸/۴۱e
گلوموس موسه‌ای	۳۳/۳۹a	۲۸/۵۳ab	۲۷/۴۷ab	۲۴/۷۵bc
گلوموس ورسیفرم	۲۷/۹۹ab	۲۵/۶۶bc	۲۰/۰۹cd	۱۸/۱۲d
دمای سطح برگ				
بدون قارچ	۲۳/۸۰cd	۲۳/۹۵bc	۲۵/۰۹b	۲۶/۴۷a
گلوموس موسه‌ای	۲۰/۲۷e	۲۱/۳۵e	۲۲/۶۲d	۲۴/۰۷bc
گلوموس ورسیفرم	۲۲/۶۳d	۲۳/۲۴cd	۲۴/۱۵bc	۲۵/۰۷b
قطر پایین ساقه				
بدون قارچ	۵/۵۲cd	۵/۰۱de	۴/۹۸de	۴/۰۹e
گلوموس موسه‌ای	۷/۲۷a	۶/۲۱abc	۵/۸۸bcd	۵/۶۷bcd
گلوموس ورسیفرم	۷/۳۰a	۶/۶۹ab	۵/۶۶bcd	۵/۰۹cde
عدد قرائت شده توسط کلروفیل متر				
بدون قارچ	۵۵/۶۷abc	۴۸/۱۱de	۴۵/۵۳ef	۴۱/۹۷f
گلوموس موسه‌ای	۵۸/۱۲ab	۵۲/۴۲cd	۴۸/۴۷de	۴۶/۵۲e
گلوموس ورسیفرم	۵۷/۰۱a	۵۴/۸۷abc	۵۳/۲۴bc	۴۵/۰۹ef

*اعدادی که در هر ردیف یا ستون دارای یک حرف مشترک هستند از لحاظ آماری با آزمون LSD در سطح ۵ درصد معنی‌دار نمی‌باشند.

منابع

Auge RM, Moore JL, Stutz JC, Sylvia DM, Al-Agely AK and Saxton AM, 2003. Relating foliar dehydration tolerance of mycorrhizal Phaseolus vulgaris to soil and root colonization by hyphae. J Plant Physiol 160: 1147–56.

Farooq M, Wahid A, Kobayashi N, Fujita D and Basra SMA, 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. Agron. Sustain. Dev 29: 185–212

Kormanik PP and McGraw AC, 1982. Quantification of vesicular-arbuscular mycorrhizae in plant root. In:Methods and principles of mycorrhizal reseach, ed. By Schenk N .C, The American Phytopathological Society, St. Paul 37-45.

Mohammadian R, Khoyi FR, Rahimian Moghaddam HM, Ghassemi- Golezani K and Sadeghian SY, 2001. The effects of early season drought on stomatal conductance, leaf-air temperature difference and proline accumulation in sugar beet genotypes. J. Agric. Sci. Technol 3: 181-192.

Pérez AG, Sanz C, Richardson DG and Olías JM, 1993. Methyl jasmonate vapor promotes β-carotene synthesis and chlorophyll degradation in Golden Delicious apple peel. J. Plant Growth Regul 12: 163–167.

Razmjoo K, Heydarizadeh Pand Sabzalian MR, 2008. Effect of salinity and drought stresses on growth parameters and essential oil content of Matricaria chamomile. Int. J. Agric. Biol 10: 451–454.

Razzaghi F, Ahmadi SH, Adolf VI, Jesen CR, Jacobsen SE, Andersen MN, 2011. Water relations and transpiration of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) under salinity and soil drying. J. Agron. Crop Sci 197 (5): 348-360.

Sangtarash MH, Qaderi MM, Chinnappa CC and Reid DM, 2009. Differential responses of two Stellaria longipes ecotypes to ultraviolet-B radiation and drought stress Flora-Morphology, Distribution. Flora Morphology Functional Ecology of Plants 204(8): 593-603.

Shani U and Ben-Gal A, 2005. Long-term response of grapevines to salinity: Osmotic effects and ion toxicity. American Journal of Enology and viticulture 56(2): 148-154.

Shao HB, Chu LY, Shao MA, Abdul Jaleel C and Hong-Mei M, 2008. Higher plant antioxidants and redox signaling under environmental stresses. Comp. Rend. Biol 331: 433–441.

Shrestha YH, Ishii T and Kadoya K, 1995. Effect of vesicular–arbuscular mycorrhizal fungi on the growth, photosynthesis, transpiration and the distribution of photosynthates of bearing Satsuma mandarin trees. J Jpn Soc Hort Sci 64: 517–25.

اثر قارچ *گلوموس موسه‌ای* بر رشد و تغییرات آنزیم‌های آنتی اکسیدان در برگ رافلمون در شرایط تنش خشکی

زهرا پیمانه[1] ،مهدی زارعی[2]
۱-به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، ۲- استادیار بخش علوم خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز

مقدمه

همزیستی میکوریزی در بیشتر از ۹۰ درصد از گونه‌های گیاهان وجود دارد و برای هر دو طرف رابطه‌ای مثبت و مفید می‌باشد و بیشتر از نوع میکوریز آربسکولار است. این رابطه همزیستی سبب افزایش مقاومت به خشکی در گیاهان میزبان می‌شود و هیف‌های قارچ در جذب آب مشارکت دارند (ریوزولوزان و ازکن ۱۹۹۵)، و بر روی فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان موثر است (گرامیندا و همکاران ۲۰۰۴)، امروزه پذیرفته شده است که قارچ میکوریز بر افزایش مقاومت به خشکی گیاهان از طریق اثر بر روی خصوصیات فیزیولوژی، ملکولی و تغذیه‌ای گیاهان موثر هستند (علی اصغر زاده و همکاران ۲۰۰۶). قارچ میکوریز با افزایش فعالیت و میزان آنتی اکسیدان‌ها مقاومت به خشکی مرکبات را افزایش می‌دهند (وو و همکاران ۲۰۰۶) اما هنوز نقش دقیق قارچ‌های میکوریز بر افزایش واکنش‌های متابولیسم اکسیژن ناشناخته است هرچند که فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها را افزایش می‌دهد. به علت کمبود اطلاعات در زمینه اثر قارچ میکوریز بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان این پژوهش با هدف بررسی اثر قارچ *گلوموس موسه‌ای* بر رشد و تغییرات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در برگ رافلمون در شرایط تنش خشکی انجام گردید.

مواد و روش‌ها

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه انجام گردید. فاکتورهای مورد استفاده در آزمایش به شرح زیر می‌باشند: قارچ میکوریز آربسکولار در دو سطح شامل *گلوموس موسه‌ای* و شاهد، تنش خشکی در ۴ سطح شامل: دور آبیاری ۲، ۴، ۶ و ۸ روز. خاک سترون شده و به مقدار ۵ کیلوگرم به هر گلدان افزوده گردید. برای تلقیح قارچ میکوریز آربسکولار مقدار ۷۰ گرم از مایه تلقیح قارچ *گلوموس موسه‌ای* شامل اسپور، هیف و قطعات ریشه‌ای و بستر در ۵ سانتیمتری خاک گلدان قرار داده شد و با خاک زیر بطور کامل مخلوط گردید. به مقدار مساوی با مایه تلقیح قارچی از گلدانهای شاهد نگهداری شده در مرحله کشت تله‌ای نیز به تیمارهای بدون قارچ در کشت اصلی اضافه گردید. بعد از گذشت ۶ ماه از کاشت برداشت صورت گرفت. مقداری از نمونه‌های برگ جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربیک پراکسیداز و گوایکول پراکسیداز نمونه برداری و در فویل آلومینیومی قرار داده شد و در فریزر و در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری گردید. مقداری از ریشه‌ها (۰/۵ گرم) نمونه برداری و رنگ‌آمیزی ریشه به روش کورمانیک و مک گرو (۱۹۸۲) انجام گردید. اندام هوایی با استفاده از آب مقطر شستشو و در آون در دمای ۷۰

درجه سلسیوس تا زمانی که وزن خشک آنها ثابت شود قرار داده شدند. در ادامه وزن خشک محاسبه گردید. برای تعیین غلظت پروتئین از روش برادفورد (۱۹۷۶) استفاده گردید. اندازه‌گیری میزان فعالیت کمی آنزیم آسکوربیک پراکسیداز از روش ناکانو و آسادا (۱۹۸۱)، اندازه‌گیری میزان فعالیت کمی آنزیم کاتالاز از روش دهیندزا و همکاران (۱۹۸۱)، اندازه‌گیری میزان فعالیت کمی آنزیم سوپراکسیددسموتاز از روش بیچامپ و فریدوویچ (۱۹۷۱) و اندازه‌گیری میزان فعالیت کمی آنزیم گوایکول پراکسیداز از روش چانس و ماهلی (۱۹۹۵) استفاده شد. تجزیه آماری و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون LSD با کمک نرم افزار آماری SAS انجام و نمودارها با Excel رسم گردید.

نتایج و بحث

تلقیح قارچ میکوریز آربسکولار بطور موفقیت آمیزی ریشه‌ها را کلنیزه نموده است. با افزایش شدت تنش خشکی درصد کلنیزاسیون ریشه کاهش پیدا کرده است. در تیمارهای بدون قارچ هیچ گونه اندام قارچ مشاهده نشده است. نتایج این تحقیق با تحقیقات (وو و همکاران ۲۰۰۶) مشابهت داشته است. مقایسه عملکرد ماده خشک ریشه نشان می‌دهد که رشد اندام هوایی با افزایش شدت تنش خشکی رابطه معکوس دارد بطوریکه با افزایش شدت تنش خشکی عملکرد ماده خشک اندام هوایی و پروتئین کل کاهش پیدا کرده است و اثر قارچ مثبت و سبب افزایش عملکرد ماده خشک اندام هوایی و پروتئین کل نسبت به تیمارهای بدون قارچ شده است. با افزایش شدت تنش خشکی فعالیت آنزیمهای کاتالاز، گوایکول پراکسیداز و آسکوربیک‌پراکسیداز افزایش یافته، قارچ نیز سبب افزایش فعالیت آنزیم‌ها نسبت تیمارهای بدون قارچ شده است. با افزایش شدت تنش خشکی فعالیت آنزیم سوپراکسیددسموتاز افزایش پیدا کرده است اما در دور آبیاری ۸ روز نسبت دور آبیاری ۶ روز فعالیت آنزیم سوپراکسیددسموتاز کاهش پیدا کرده ولی همواره در تیمارهای دارای قارچ نسبت به تیمارهای بدون قارچ فعالیت این آنزیم بیشتر بوده است (جدول ۱). اچتیو و بارکیو در سال ۱۹۷۸ علت کاهش پروتئین با افزایش شدت تنش خشکی را آسیب‌های حاصل از تنش خشکی به مکانیسم‌های تولید پروتئین دانستند و بیان کرده‌اند که این کاهش به دلیل افزایش فعالیت آنزیم پروتئیناز و یا تجزیه شدن پروتئین‌های تولید شده یا هر دو مورد می‌باشد. وو و همکاران (۲۰۱۱) بر روی نارنج سه برگ تلقیح شده با قارچ *گلوموس موسه‌ای* و وو و همکاران (۲۰۰۶) طی دو تحقیق بر روی نارنج سه برگ تلقیح شده با قارچ *گلوموس ورسیفرم* دریافتند که تنش خشکی موجب کاهش غلظت پروتئین می‌شود و نتایج مشابه‌ای را برای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بدست آورده‌اند. قارچ سبب گسترش سیستم هیف در اطراف ریشه و متعاقباً افزایش تماس ریشه با خاک می‌شود و در نتیجه توانایی جذب آب در آنها بیشتر می‌گردد. علاوه بر این قارچ موجب افزایش جذب عناصر غذایی از خاک می‌گردد که سبب افزایش رشد می‌باشد. برخی محققین تأثیر قارچ میکوریز بر رشد گیاهان میزبان در طول تنش خشکی را وابسته به بهبود تغذیه فسفر بیان نموده‌اند. هیف‌های خارج ریشه‌ای، تنظیمات روزنه‌ای و به طور غیر مستقیم تغذیه فسفر و جذب آب را در ریشه‌های میکوریز افزایش می‌دهند (نلسون و سفیر، ۱۹۸۲).

جدول ۱- مقایسه میانگین های اثر قارچ میکوریز و تنش خشکی بر درصد کلنیزاسیون ریشه، وزن خشک اندام‌هوایی (گرم در گلدان) غلظت پروتئین کل در برگ ($mg\ g^{-1}fw$)، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گوایکول پراکسیداز، آسکوربیک‌پراکسیداز و سوپراکسیددسموتاز ($Ug^{-1}fw$) در برگ رافلمون.

	دورهای آبیاری (روز)			
	۲	۴	۶	۸
کلنیزاسیون ریشه				
بدون قارچ	۰d	۰d	۰d	۰d
گلوموس موسه‌ای	۸۶/۴۹a	۷۳/۱۸b	۵۶/۹۲c	۴۶/۵۵c
وزن خشک اندام هوایی				
بدون قارچ	۱۳/۹۴bc	۱۱/۴۵cd	۹/۰۸d	۵/۹۱e
گلوموس موسه‌ای	۱۷/۹۲a	۱۵/۱۴b	۱۲/۱۸c	۹/۳۶d
پروتئین کل				
بدون قارچ	۶۵/۵۸b	۵۴/۸۵bcd	۴۹/۵۱cd	۴۷/۵۸d
گلوموس موسه‌ای	۸۰/۰۷a	۵۹/۷۴bc	۵۵/۱bcd	۴۹/۳۹cd
کاتالاز				
بدون قارچ	۴۸۳/۴c	۷۲۲/۳۱b	۷۵۷/۶۵ab	۷۹۱/۶۴ab
گلوموس موسه‌ای	۶۲۵/۴bc	۷۵۵/۱۳ab	۷۹۳/۲۵ab	۸۹۹/۶۶a
سوپراکسید دسموتاز				
بدون قارچ	۲۱۴/۰۷d	۲۴۴cd	۴۴۲/۰۷b	۳۶۳/۸bc
گلوموس موسه‌ای	۲۵۵/۶cd	۲۶۴/۸cd	۶۰۳/۶a	۴۴۶/۸b
گوایکول پراکسیداز				
بدون قارچ	۶۷/۸۹d	۷۸/۹۷cd	۸۴/۵۱c	۱۰۱/۷۰b
گلوموس موسه‌ای	۶۹/۸۳d	۹۷/۴۷b	۹۹/۳۰b	۱۱۵/۷۶a
آسکوربیک پراکسیداز				
بدون قارچ	۳۸۹/۲۳e	۷۲۵/۸۵c	۷۳۲/۹۹bc	۸۰۴/۷۴abc
گلوموس موسه‌ای	۶۲۰/۴d	۷۶۲/۴۸bc	۸۱۳/۲۷ab	۸۸۷/۵۴a

*اعدادی که در هر ردیف یا ستون دارای یک حرف مشترک هستند از لحاظ آماری با آزمون LSD در سطح ۵ درصد معنی‌دار نمی‌باشند.

منابع

Achituv M and Barakiva A, 1978. Metabolic pathway of alpha-ketoglutarate in citrus leaves as affected by phosphorus nutrition. Plant Physiology 61: 703-705.

Aliasgharzad N, Neyshabouri MR and Salimi G, 2006. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi and *Bradyrhizobium japonicum* on drought stress of soybean. Biologia 61: 324–328.

Beauchamcp and Fridovich I, 1971. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. Analytical Biochemistry 44: 276-287.

Bradford M, 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantitates of protein utilizing the principles of protein dyebinding. Analytical Biochemistry 72: 248-245.

Chance B and Maehly AC, 1995. Assay of catalase and peroxidase.PP.764-765 in: S.P. Culowic, and N.O. Kaplan(eds). Methods in enzymology Vol.2.Academic Press Inc. New York.

Dhindsa R Sand Plumb-Dhindsa Pand Thorpe TA, 1981. Leaf senescence: Correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation and deceased levels of superoxide desmutase and catalase. J. of Experimental Botany 32: 93-101.

Garmendia I, Goicoechea N and Aguirreolea J, 2004 Antioxidant metabolism in asymptomatic leaves of Verticillium-infected pepper associated with an arbuscular mycorrhizal fungus. J. Phytopathol 152:593–599

Kormanik PP and McGraw AC, 1982. Quantification of vesicular-arbuscular mycorrhizae in plant root. In:Methods and principles of mycorrhizal reseach,ed. By Schenk N .C, The American Phytopathological Society, St.Paul 37-45.

Nakano Y and Asada K, 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplast. Plant Cell Physiology 22: 867-880.

Nelsen CE and Safir GR, 1982. Increased drought tolerance of mycorrhizal onion plants caused by improved phosphorus nutrition. Planta 154: 407-13.

Ruiz-Lozano JM, Azcón R, 1995. Hyphal contribution to water uptake in mycorrhizal plants as affected by the fungal species and water status. Physiol Plant 95:472–478

Wu QS, and Xia RX, 2006. Reactive oxygen metabolism in non-mycorrhizal citrus (Poncirus trifoliata) seedlings subjected to water stress. J. Plant Physiology 163: 1101—1110.

Wu QS, Xia RX and Zou YN, 2008. Improved soil structure and citrus growth after inoculation with three arbuscular mycorrhizal fungi under drought stress. European J. of Soil Biology 44: 122–128.

Wu QS, Zou YN and He XH, 2011. Differences of hyphal and soil phosphatase activities in drought-stressed mycorrhizal trifoliate orange (Poncirus trifoliata) seedlings in Scientia. Horticulturae 129(2): 294-298.

بررسی گلخانه‌ای تاثیر ورمی واش و مقایسه آن با کنه‌کش شیمیایی پروپال بر کنترل آفت کنه تارتن دونقطه‌ای(*Tetranychus urticae*(Koch)) برروی گیاه لوبیاقرمز رقم الموت

زهراآقامحمدی[1] – حسینعلی علیخانی[2] – جاماسب نوذری[3]

۱و۲- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و دانشیار گروه مهندسی علوم خاک،دانشکده پردیس کشاورزی و منابع طبیعی،دانشگاه تهران.۳- استادیار گروه آموزشی گیاهپزشکی، دانشکده پردیس کشاورزی و منابع طبیعی،دانشگاه تهران.

مقدمه

ورمی‌واش، عصاره ورمی‌کمپوست، مایع قهوه‌ای مایل به قرمزرنگی است که سرشار از اسیدهای آمینه، ویتامین‌ها، مواد مغذی مانند نیتروژن، پتاسیم، منیزیم، روی، کلسیم، آهن، مس و برخی هورمون‌های رشد مانند اکسین، سیتوکینین و ریزسازواره‌های مفید می‌باشد که مصرف آن به عنوان یک کود بیولوژیک موجب افزایش کمی و کیفی عملکرد محصول می‌شود. مشاهده شده است که ورمی‌واش علاوه بر این که یک کود بیولوژیک است، می‌تواند آفات گیاهی را نیز سرکوب کند. مقابله با هجوم کنه دونقطه‌ای در گیاهان خیار و گوجه‌فرنگی و شته در بوته حبوبات (لوبیا) با افزودن ورمی‌کمپوست توسط آرانکون و همکاران (۲۰۰۷) و یاردیم و همکاران(۲۰۰۶) و همچنین سرکوب سوسک خیار و کرم تنباکو گوجه‌فرنگی بوسیله خیساندن خاک با ورمی واش توسط ادواردز و همکارن(۲۰۰۶-۲۰۰۷) گزارش شده است. با توجه به اهمیت اقتصادی خسارات ناشی از هجوم کنه دونقطه‌ای به گیاهان روش‌های مختلفی برای کنترل آن پیشنهاد شده است که در حال حاضر برای مبارزه با آن کنه‌کش پروپال بیشترین مصرف را دارد. این قبیل مواد شیمیایی به خاطر دارابودن اثرات سوء عناصر سنگین پیامدهای زیان‌باری برای محیط زیست دارد. استفاده از ورمی‌واش می‌تواند موجب کاهش چشمگیری در استفاده از آفت‌کش‌های شیمیایی شود.تحقیق حاضر باهدف بررسی تاثیر ورمی‌واش (حاصل از کود گاوی و برگ چنار) بر کنترل آفت کنه دونقطه‌ای گیاه لوبیا قرمز و مقایسه آن با کنه‌کش پروپال در شرایط گلخانه‌ای انجام شده است.

مواد و روش

به منظور بررسی تاثیر ورمی‌واش در کنترل آفات گیاهی، آزمایشی به صورت بلوک‌های کاملاً تصادفی باچهار تکرار در سال ۱۳۹۲ در گلخانه و آزمایشگاه گروه مهندسی علوم خاک و گروه حشره‌شناسی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران(کرج)انجام شد. فاکتورهای مورد آزمایش در این تحقیق عبارت است از غلظت‌های مختلف- ورمی‌واش(V)-شامل سه سطح-V_0(آب مقطر)-V_1(ورمی‌واش‌غلیظ،از سوسپانسیون ۱:۱۰)- V_2(ورمی‌واش با ۱/۲ غلظت)، فاکتور دوم شامل- آفت‌کش شیمیایی پروپال(P)-در سه سطح-P_0(آب مقطر)- P_1(پروپال غلیظ، یک درهزار)- P_2(پروپال با ۱/۲ غلظت)و فاکتور سوم شامل دو سطح استریل(S_0)و غیر استریل(S_0). در مجموع تاثیر ۱۷

تیمار به صورت ترکیبی از فاکتورهای مذکور بر روی کنه تارتن دونقطه‌ای (*Tetranychus urticae*(Koch)) مورد بررسی قرار گرفت.

ورمی‌واش از ورمی‌کمپوست (حاصل از برگ چنار و کودگاوی) به نسبت یک به ده آب مقطر عصاره‌گیری گردید. بدین صورت که صد و پنجاه گرم ورمی‌کمپوست با هزار و پانصد میلی‌لیتر آب مقطر با شیکر دورانی، ۱۸۰ دور در دقیقه به مدت سی دقیقه شیک شد و با استفاده از قیف بوخنر و کاغذصافی واتمن عصاره‌گیری گردید(رحمت‌پور و همکاران ۱۳۸۹). ۵۰۰ میلی‌لیتر از ورمی‌واش عصاره‌گیری شده و پانصد سی‌سی آب مقطر توسط اتوکلاو به مدت بیست دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد استریل شدند(رحمت‌پور و همکاران ۱۳۸۹). بذرهای رقم الموت لوبیا قرمز، با الکل ۹۶ درجه به مدت ده ثانیه و هیپوکلریدسدیم ۱۰٪ به مدت پانزده دقیقه ضدعفونی و سپس طی شش نوبت با آب مقطر استریل شستشو شدند. بذرهای ضدعفونی‌شده به تعداد چهار عدد، در گلدان‌های ۴ کیلویی، به ابعاد ۲۰×۲۵ سانتی‌متر کشت شده و از طریق روش وزنی تا حد رطوبت حد ظرفیت زراعی با آب مقطر آبیاری شدند. همچنین از هفته دوم کشت، به همه گلدان‌ها محلول غذایی هوگلند، یک بار در هفته تا پایان آزمایش اضافه گردید.

بعد از یک ماه از کاشت گیاهان، آلودگی مصنوعی توسط کنه تارتن دونقطه‌ای به صورت دستی(سی عدد کنه برای هر گلدان) روی گیاهان ایجاد شد. بعداز گذشت ۴۸ ساعت از ایجاد آلودگی مصنوعی،تیمارهای مورد نظر به صورت دستی روی گیاهان اسپری شدند به صورتی که کاملاً پشت و روی برگ‌ها را پوشش دادند. ۴۸ ساعت بعد از اسپری، تعداد کنه‌های زنده توسط ذره‌بین دستی شمارش شده و درصد تلفات توسط فرمول هندرسون–تیلتون برآورد گردید(طالبی جهرمی ۱۳۸۶). تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام گردیدو برای مقایسه میانگین-ها از آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد($P<0.05$) استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس مشاهدات نشان داد که ورمی واش تأثیر بسیار معنی‌داری($p<0.0001$)بر کنترل آفت کنه دارد(سامیا و همکاران، ۲۰۰۷) ، (ناندینی و همکاران ۲۰۱۰).پروپال مصرفی با غلظت کامل در این آزمایش تلفات ۱۰۰٪ و پروپال با ۱/۲ غلظت تلفات ۵۱,۳٪ را نشان داد، درحالی که ورمی‌واش با غلظت $\frac{1}{2}$ درصد تلفات ۴۸,۷٪ و ورمی‌واش باغلظت کل تلفات ۶۴,۳۵٪ را نشان داد (میناتچی و همکاران ۲۰۱۰) بدین مفهوم که ورمی-واش با نصف غلظت می‌تواند مثل پروپال با نصف غلظت عمل کند. ورمی‌واش با غلظت کامل بیش از ۵۰٪ آفت را سرکوب کرده بود. ورمی‌واش استریل نیز مثل ورمی‌واش غیراستریل عمل کرده بود به طوری که ورمی‌واش استریل بانصف غلظت تلفات ۵۹,۵۷٪ و ورمی‌واش استریل با غلظت کامل تلفات ۶۴,۳۵٪ را نشان داد. یعنی استریل کردن ورمی‌واش تأثیر منفی یا مثبت در کنترل آفات توسط آن نداشت. از طرف دیگر مخلوط ورمی‌واش باغلظت $\frac{1}{2}$ و

پروپال با نصف غلظت و مخلوط ورمی‌واش با غلظت کامل و پروپال با نصف غلظت تلفات ۱۰۰٪ را نشان دادند در حالی که پروپال با نصف غلظت به تنهایی تلفات ۵۱٪ را نشان داد،یعنی می‌توان با مخلوط کردن پروپال با نصف غلظت و ورمی‌واش با غلظت $\frac{1}{2}$ هم سرکوب ۱۰۰٪ آفات را داشت و هم میزان مصرف سموم شیمیایی را به میزان ۵۰٪ کاهش داد، که ورمی‌واش از این طریق می‌تواند هم نیاز غذایی گیاه را تأمین کند و به عنوان محرک رشد عمل کند و هم آفات گیاهی را کنترل کند.نتایج آنالیز واریانس (جدول ۱) نشان داد که فرض یکسان بودن اثرات تیمارها در سطح احتمال یک درصد وجود ندارد و اختلاف بین تیمارها معنی‌دار می‌باشد.

جدول۱) جدول تجزیه واریانس میانگین داده‌های درصد تلفات حاصل از درصد تأثیر تیمارهای مختلف آفت‌کش شیمیایی پروپال و ورمی‌واش بر روی آفت کنه تارتن دونقطه‌ای (*Tetranychus urticae*(Koch)

منابع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	احتمال
تیمار	۱۶	۸۰۳۹۵/۹۷	۵۰۲۴/۷۴	<۰/۰۰۰۱
اشتباه	۵۱	۲۶۲۸/۰۰	۵۱/۵۲	_
کل	۶۷	۸۳۰۲۳/۹۷	_	_
				CV=۱۰/۰۶

گروهبندی داده‌های به دست آمده بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن(جدول۲) تأثیر قطعی مخلوط ورمی‌واش با پروپال را با تلفات ۱۰۰٪ در بالاترین سطح در گروه A قرار داد و در اولویت‌های بعدی تیمار ورمی‌واش با غلظت کامل با تلفات ۶۶ ٪ و ورمی‌واش با $\frac{1}{2}$ غلظت با تلفات ۵۰٪ را به ترتیب در گروه‌های B و C قرار داد.

جدول۲) جدول گروه‌بندی درصد تلفات حاصل از تأثیر تیمارهای مختلف آفت‌کش شیمیایی پروپال و ورمی‌واش بر روی آفت کنه تارتن دونقطه‌ای (*Tetranychus urticae*(Koch)) بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن.

نام تیمار	میانگین	گروهبندی	نام تیمار	میانگین	گروهبندی
$v_2p_2s_1$	۱۰۰/۰۰	a	$v_1p_os_1$	٦٦/٣٣	b
$V_1P_2S_o$	۱۰۰/۰۰	a	$V_1P_oS_o$	٦٠ .٨٣	bc
$V_1P_2S_1$	۱۰۰/۰۰	a	$V_oP_2S_o$	٥٣/٣٣	c
$V_oP_1S_o$	۱۰۰/۰۰	a	$V_2P_oS_1$	٥١/٦٦	c
$V_1P_1S_1$	۱۰۰/۰۰	a	$V_2P_oS_o$	٥٠/٨٣	c
$V_2P_1S_o$	۱۰۰/۰۰	a	$V_oP_oS_1$	٢٠/٠٠	d
$V_2P_1S_1$	۱۰۰/۰۰	a	$V_oP_oS_o$	٥/٨٣	e
$V_1P_1S_o$	۱۰۰/۰۰	a	Control	۴/۱۶	e
$V_2P_2S_o$	۱۰۰/۰۰	a			

V_0-ورمی‌واش صفر=آب مقطر، V_1- ورمی‌واش با غلظت کامل، V_2- ورمی‌واش با ۱/۲ غلظت، P_o- پروپال صفر= آب مقطر، P_1- پروپال با دز کامل، P_2- پروپال با نصف دز، S_o- غیراستریل، S_1- استریل. $V_0P_0S_0$- آب مقطر، $V_0P_1S_0$- پروپال غلیظ، $V_0P_2S_0$- پروپال با نصف دز، $V_1P_0S_0$- ورمی‌واش غلیظ، $V_1P_1S_0$- مخلوط ورمی‌واش غلیظ و پروپال با دز کامل، $V_1P_2S_0$- مخلوط ورمی‌واش غلیظ و پروپال با نصف دز، $V_2P_0S_0$- ورمی‌واش با۱/۲غلظت، $V_2P_1S_0$ - مخلوط ورمی‌واش ۱/۲غلظت و پروپال با دز کامل، $V_2P_2S_0$ - مخلوط ورمی‌واش ۱/۲غلظت و پروپال با نصف دز، $V_0P_0S_1$- آب مقطر استریل، $V_0P_1S_1$- پروپال بادز کامل استریل، $V_0P_2S_1$- پروپال با نصف دز استریل، $V_1P_0S_1$- ورمی-واش غلیظ استریل، $V_1P_1S_1$-مخلوط ورمی‌واش غلیظ استریل و پروپال با دز کامل، $V_1P_2S_1$ - مخلوط ورمی‌واش غلیظ استریل و پروپال با نصف دز، $V_2P_0S_1$- ورمی‌واش با۱/۲ غلظت استریل، $V_2Pp_1S_1$- مخلوط ورمی‌واش با۱/۲غلظت استریل و پروپال با دز کامل، $V_2P_2S_1$- مخلوط ورمی‌واش با۱/۲ غلظت استریل و پروپال با نصف دز.

منابع

Nath G and Singh K , 2011. Effect of Foliar Spray of Biopesticides and Vermiwash of Animal, Agro and Kitchen Wastes on Soybean (Glycine max L.) crop. Botany Research International 4 (3), Pp: 52-57 .ISSN 2221-3635.

Meenatchi RS, Giraddi VS, Patil AS, Vastrad and D. P. Biradar, 2011. Effect of vermitechnologies on jasmine insect pests. Karnataka J. Agric. Sci.,24 (3)Pp : 312 - 315.

Clive A .Edwards , Norman Q. Arancon , Marcus Vasko-Bennett , Ahmed Askar GeorgeKeeney a, 2009. Effect of aqueous extracts from vermicomposts on attacks by cucumber beetles (Acalymnavittatum) (Fabr.)on cucumbers and tobacco hornworm (Manduca sexta) (L.) ontomatoes. Pedobiologia journalhomepage: www.elsevier.de/pedobi.

بررسی آزمایشگاهی تاثیر ورمی‌واش و مقایسه آن با کنه‌کش شیمیایی پروپال بر کنترل آفت کنه تارتن دونقطه‌ای (*Tetranychus urticae(Koch)*) بر روی گیاه لوبیاقرمز رقم الموت

زهراآقامحمدی[1] – حسینعلی علیخانی[2] – جاماسب نوذری[3]

۱و۲- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و دانشیار گروه مهندسی علوم خاک،دانشکده پردیس کشاورزی و منابع طبیعی،دانشگاه تهران.۳- استادیار گروه آموزشی گیاهپزشکی، دانشکده پردیس کشاورزی و منابع طبیعی،دانشگاه تهران.

مقدمه

ورمی‌واش، عصاره ورمی‌کمپوست، مایع قهوه‌ای مایل به قرمزرنگی است که سرشار از اسیدهای آمینه، ویتامین‌ها، مواد مغذی مانند نیتروژن، پتاسیم، منیزیم، روی، کلسیم، آهن، مس و برخی هورمون‌های رشد مانند اکسین‌ها، سیتوکینین و ریزسازواره‌های مفید می‌باشد که مصرف آن به عنوان یک کود بیولوژیک موجب افزایش کمی و کیفی عملکرد محصول می‌شود.مشاهده شده است که ورمی‌واش علاوه بر این که یک کود بیولوژیک است، می‌تواند آفات گیاهی را نیز سرکوب کند. کارلا و پندی (۲۰۱۰) بیان کردند که ورمی‌کمپوست‌های متفاوت تأثیر بازدارندگی متغیری برفعالیت تخم‌گذاری نماندها دارند. نتایج این تحقیق کاهش شدید در تخم‌گذاری نماتدها راتوسط عصاره‌های مایع چندین ورمی‌کمپوست نشان داد. مقابله با هجوم کنه دونقطه‌ای در گیاهان خیار و گوجه‌فرنگی و شته در بوته حبوبات (لوبیا) با افزودن ورمی‌کمپوست توسط آرانکون و همکاران (۲۰۰۷) و یاردیم و همکاران(۲۰۰۶) و همچنین سرکوب سوسک خیار و کرم تنباکو گوجه‌فرنگی بوسیله خیساندن خاک با ورمی واش توسط ادواردز و همکارن(۲۰۰۶-۲۰۰۷) گزارش شده است. با توجه به اهمیت اقتصادی خسارات ناشی از هجوم کنه دونقطه‌ای به گیاهان روش‌های مختلفی برای کنترل آن پیشنهاد شده است که در حال حاضر برای مبارزه با آن کنه‌کش پروپال بیشترین مصرف را دارد. استفاده از ورمی‌واش می‌تواند موجب کاهش چشمگیری در عوارض ناشی از مصرف آفت-کش‌های شیمیایی شود و بدین طریق هزینه‌های نهاده‌های کشاورزی را کاهش دهد.

مواد و روش

به منظور بررسی تاثیر ورمی‌واش در کنترل آفات گیاهی، آزمایشی به صورت بلوک‌های کاملاً تصادفی باچهار تکرار در سال ۱۳۹۲ در گلخانه و آزمایشگاه گروه مهندسی علوم خاک و گروه حشره‌شناسی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران(کرج)انجام شد. فاکتورهای مورد آزمایش در این تحقیق عبارت است از غلظت‌های مختلف- ورمی‌واش(V)-شامل سه سطح-V_0(آب مقطر)-V_1(ورمی‌واش‌غلیظ،از سوسپانسیون ۱:۱۰)- V_2(ورمی‌واش با ۱/۲ غلظت)، فاکتور دوم شامل- آفت‌کش شیمیایی پروپال(P)-در سه سطح-P_0(آب مقطر)- P_1(پروپال غلیظ، یک

درهزار)– P_2(پروپال با ۱/۲ غلظت)و فاکتور سوم شامل دو سطح استریل(S_0)و غیر استریل(S_0). در مجموع تاثیر ۱۷ تیمار به صورت ترکیبی از فاکتورهای مذکور بر روی کنه تارتن دونقطه‌ای (*Tetranychus urticae*(Koch)) مورد بررسی قرار گرفت.

بعد از یک ماه از رشد گیاهان،دیسک‌های برگی به ابعاد ۲۰ سانتی‌متر مربع از گیاه لوبیا تهیه گردید بدین صورت که ابتدا برگ‌های سالم از گیاه رقم الموت لوبیاقرمز، بریده شد و هم اندازه هر برگ ابری زیر آن تعبیه گردید، سپس داخل پتری به ابعاد۸×۸ سانتی‌متر قرار داده شدو پتری با آب مقطر پرشد تاابرکاملاً خیس شده و برگ تازه بماند و رطوبت خود را حفظ نماید. سپس روی هر برگ پنج عدد کنه تارتن دولکه‌ای بالغ قرار داده شد.بعد از گذشت چهل-وهشت ساعت از ایجاد آلودگی مصنوعی،در همان روز ورمی‌واش با نسبت یک به ده آب مقطر از ورمی‌کمپوست عصاره گیری شد.صد گرم از ورمی‌کمپوست باهزار میلی‌لیتر آب مقطر روی شیکر دورانی، صدوهشتاد دور در دقیقه به مدت سی دقیقه قرار گرفت و سپس با قیف بوخنر و کاغذ صافی واتمن معمولی عصاره‌گیری انجام شد(رحمت‌پور و همکاران ۱۳۸۹).نصف عصاره مورد نظر و دویست‌پنجاه سی‌سی آب مقطر با اتوکلاو به مدت بیست دقیقه و در دمای صدوبیست درجه سانتی‌گراداستریل گردید. تیمارها توسط برج سمپاش به مقدار سه میلی‌لیتر روی هر دیسک اسپری شدند. بیست‌وچهار ساعت بعدازاسپری تعداد کنه‌های مرده زیر بینوکولر شمارش شدند و درصد تلفات توسط فرمول هندرسون بدست آمد(طالبی جهرمی ۱۳۸۶). تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام شد و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح احتمال خطای پنج درصد($p<0.05$)استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس مشاهدات نشان داد که ورمی واش تأثیر معنی‌داری($p<0.0001$)بر کنترل آفت کنه دارد(سامیا و همکاران، ۲۰۰۷) ، (ناندینی و همکاران ۲۰۱۰).در این آزمایش پروپال با دز یک در هزار(طبق توصیه شرکت سازنده) به تنهایی تلفات ۷۳٫۶۸٪ را نشان داد و پروپال با نصف دز هیچ تلفاتی را نشان نداد،این در حالی بود که مخلوط پروپال کامل با ورمی‌واش غلیظ و همچنین پروپال با نصف دز و ورمی‌واش با$\frac{1}{2}$ غلظت درصد تلفات ۱۰۰٪ را نشان دادند.به این مفهوم که درصد تلفات نشان داده شده حاصل از تیمار مخلوط ورمی‌واش رقیق با پروپال با نصف دز بیشتر از پروپال با دز کامل به تنهایی بوده است و نکته قابل توجه این است که مخلوط پروپال با نصف دز و ورمی‌واش با ۱/۲ غلظت تاثیری برابر با مخلوط ورمی‌واش غلیظ و پروپال با دز کامل نشان داد .لذا طبق نتایج فوق بهترین روش مبارزه با آفات استفاده از پروپال با نصف دز و ورمی‌واش با ۱/۲ غلظت می‌باشد که میزان مصرف آفت کش و در پی آن خسارت به محیطزیست را به میزان ۵۰٪ کاهش می‌دهد و همچنین افزودن ورمی‌واش به گیاه نیاز غذایی آن را تأمین کرده و به عنوان محرک رشد عمل می‌کند. از طرف دیگر باعث کاهش هزینه‌های کلان مواد شیمیایی خواهد شد. باتوجه به مشاهدات این آزمایش چنین اثبات می‌شود که استریل کردن ورمی‌واش

تأثیری در ویژگی کنترل کنندگی آفت ندارد. نتایج آنالیز واریانس (جدول۱) نشان داد که فرض یکسان بودن اثرات تیمارها در سطح احتمال یک درصد وجود ندارد و اختلاف بین تیمارها معنی‌دار می‌باشد.

جدول۱) جدول تجزیه واریانس میانگین داده‌های درصد تلفات حاصل از درصد تأثیر تیمارهای مختلف آفت‌کش شیمیایی پروپال و ورمی‌واش بر روی آفت کنه تارتن دونقطه‌ای (*Tetranychus urticae*(Koch)).

منابع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	احتمال
تیمار	۱۶	۱۲۳۷۷۶/۴۶	۷۷۳۶/۰۲	<۰/۰۰۰۱
اشتباه	۵۱	۱۸۰۰/۰۰	۳۵/۲۹	_
کل	۶۷	۱۲۵۵۷۶/۴۷	_	_
				CV=۱۲/۰۲

گروهبندی داده‌های به دست آمده بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن(جدول2) تأثیر قطعی مخلوط ورمی‌واش با پروپال را با تلفات ۱۰۰٪ در بالاترین سطح در گروه A و در اولویت‌های بعدی تیمار پروپال با دز کامل ۷۵٪ و ورمی‌واش باغلظت کامل ۲۰٪ رادر گروه‌های پایین‌تر قرار داد.

بنابراین استفاده از ترکیب آفت کش پروپال با آفت کش بیولوژیک ورمی‌واش به نسبت ۵۰ درصد بجای مصرف آفت کش پروپال تمام غلظت می‌تواند آفات گیاهی را کنترل کرده و مواد غذایی مورد نیاز گیاه را نیز تامین کند.

جدول۲) جدول گروه‌بندی درصد تلفات حاصل از تأثیر تیمارهای مختلف آفت‌کش شیمیایی پروپال و ورمی‌واش بر روی آفت کنه تارتن دونقطه‌ای (*Tetranychus urticae*(Koch)) بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن

نام تیمار	میانگین	گروهبندی	نام تیمار	میانگین	گروهبندی
$v_2p_2s_1$	۱۰۰/۰۰	a	$v_1p_os_o$	۲۰/۰۰	e
$v_1p_1s_o$	۱۰۰/۰۰	a	$v_op_os_o$	۱۰/۰۰	f
$v_2p_1s_1$	۱۰۰/۰۰	a	$v_op_2s_o$	۵/۰۰	f
$v_2p_2s_o$	۱۰۰/۰۰	a	$v_op_os_1$	۵/۰۰	f
$v_2p_1s_o$	۹۵/ ۰۰	a	$v_1p_os_1$	۰/۰۰	g
$v_1p_2s_o$	۸۵/۰۰	b	$v_2p_os_o$	۰/۰۰	g
$v_1p_2s_1$	۸۰/۰۰	c b	$v_2p_os_1$	۰/۰۰	g
$v_op_1s_o$	۷۵/۰۰	c	control	۰/۰۰	g
$v_1p_1s_1$	۶۰/۰۰	d			

V_0-ورمی‌واش صفر=آب مقطر، V_1- ورمی‌واش با غلظت کامل، V_2- ورمی‌واش با ۱/۲ غلظت، P_o- پروپال صفر= آب مقطر، P_1- پروپال با دز کامل، P_2- پروپال با نصف دز، S_o- غیراستریل، S_1- استریل. $V_0P_0S_0$- آب مقطر، $V_0P_1S_0$- پروپال غلیظ، $V_0P_2S_0$- پروپال با نصف دز، $V_1P_0S_0$- ورمی‌واش غلیظ، $V_1P_1S_0$- مخلوط ورمی‌واش غلیظ و پروپال با دز کامل، $V_1P_2S_0$- مخلوط ورمی‌واش غلیظ و پروپال با نصف دز، $V_2P_0S_0$- ورمی‌واش با۱/۲غلظت، $V_2P_1S_0$ - مخلوط ورمی‌واش ۱/۲غلظت و پروپال با دز کامل، $V_2P_2S_0$ - مخلوط ورمی‌واش ۱/۲غلظت و پروپال با نصف دز، $V_0P_0S_1$- آب مقطر استریل، $V_0P_1S_1$- پروپال بادز کامل استریل، $V_0P_2S_1$- پروپال با نصف دز استریل، $V_1P_0S_1$- ورمی-واش غلیظ استریل، $V_1P_1S_1$-مخلوط ورمی‌واش غلیظ استریل و پروپال با دز کامل، $V_1P_2S_1$ - مخلوط ورمی‌واش غلیظ استریل و پروپال با نصف دز، $V_2P_0S_1$- ورمی‌واش با۱/۲ غلظت استریل، $V_2Pp_1S_1$- مخلوط ورمی‌واش با۱/۲غلظت استریل و پروپال با دز کامل، $V_2P_2S_1$- مخلوط ورمی‌واش با۱/۲ غلظت استریل و پروپال با نصف دز.

منابع

1- Nath G and Singh K , 2011. Effect of Foliar Spray of Biopesticides and Vermiwash of Animal, Agro and Kitchen Wastes on Soybean (Glycine max L.) crop. Botany Research International 4 (3), Pp: 52-57 .ISSN 2221-3635.

2- Meenatchi RS, Giraddi VS, Patil AS, Vastrad and D. P. Biradar, 2011. Effect of vermitechnologies on jasmine insect pests. Karnataka J. Agric. Sci.,24 (3)Pp : 312 - 315.

3- George S, 2006. Role of vermicompost,vermiwash and other organics in the management of thrips and mites in chilli. Department of Agricultural Entomology College of Agriculture University of Agritural sciences Dharwad-580005.

4- Clive A .Edwards , Norman Q. Arancon , Marcus Vasko-Bennett , Ahmed Askar GeorgeKeeney a, 2009. Effect of aqueous extracts from vermicomposts on attacks by cucumber beetles (Acalymnavittatum) (Fabr.)on cucumbers and tobacco hornworm (Manduca sexta) (L.) ontomatoes. Pedobiologia journalhomepage: www.elsevier.de/pedobi.

5- Pramod Kumar t, 2007. Biological management of Alternaria blight of Onion.Department of Plant Pathology College of Agriculture,Dharwad University of Agricultural Sciences, Dharwad-580005.

سینتیک حذف علف کش بوتاکلر در محیط مایع توسط سویه جدیدی از سودوموناس جداسازی شده از مزارع برنج

الهه خوشحال نخجیری[1]، احمد علی پوربابایی[2]، محسن فرح بخش [3]
۱-کارشناسی ارشد بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک دانشگاه تهران، ۲-استاد گروه خاکشناسی دانشگاه تهران، ۳-استادیار گروه خاکشناسی دانشگاه تهران
elahe.nakhjiri@ut.ac.ir

مقدمه

ایران با ۶۲۶۰۰۰ هکتار اراضی برنج در گیلان و مازندران و ۱۳ منطقه وسیع دیگر یکی از بزرگترین تولید کنندگاه برنج در آسیا می باشد و سالیانه هر ایرانی ۳۴ کیلوگرم برنج مصرف میکند در سال ۲۰۱۰ ایران ۲/۳ میلیون تن برنج تولید کرد که به طور میانگین ۴/۸ تن در هکتار بود(rice today 2013). Herdt و همکارانش، در سال ۱۹۹۱ تعداد ۳۰ عدد از مهمترین عوامل زیستی بازدارنده تولید برنج را رتبه بندی کرده و نشان دادند که علفهای هرز در این بین بالاترین رتبه را در ممانعت از رشد برنج دارند. کاهش پتانسیل تولید محصول با بی توجهی در کنترل علفهای هرز تا رنج ۴۵تا ۹۵٪ اندازه گیری شده است، که به عواملی چون نوع کشت، فصل رشد، فضای گیاه، نوع و میزان کوددهی، شرایط اکولوژیکی و آب و هوایی، طول دوره رشد گیاه، نوع و میزان هجوم علفهای هرز وابسته است. در سال ۱۹۹۲ تخمین واقعی از میزان ضرر ناشی از علفهای هرز در تولید برنج ۵۰ میلیون تن بوده که بالغ بر۹ میلیارد دلار است(E. M. CASTIN.1987).

بوتاکلر(N-Butoxymethyl-2-chloro-2,6-diethylacetanilide) از علف کش های سیستمیک انتخابی از گروه کلرواستامید برای برنج است و در درجه اول توسط شاخساره و بعد توسط ریشه جذب میشود، قابل انتقال در سراسر گیاه بوده و در غلظتهای بالاتر در بخش رویشی تجمع می یابد. این علف کش برای علف هرز پهن برگ برنج، سوروف مورد استفاده قرار میگیرد. بوتاکلر علاوه بر سورف ها بر روی برخی پهن برگها و جگنهای دیگر اثر می گذارند. میزان توصیه شده آن حدود ۱ تا ۴/۵ کیلوگرم در هکتار ، فعالیت آن وابسته به آب در سیستم های آبیاری غرقاب و کشتهای غرقاب چون برنج است. طبق گزارش FAO میزان توصیه بوتاکلر باید۳ تا ۴ لیتر در هکتار باشد(FAO ,2009). بوتاکلر با اثر بر تقسیم سلولی و توقف سنتز پروتئین بر روی گیاه اثر میگذارد و به سرعت قابل انتقال به بافتهای گیاهی ست این علف کش قبل از ظهور گیاه هدف در شالیزارها استفاده شده و حلالیت آن۲۰mg/l در دمای ۲۰درجه سانتیگراد بوده و به خوبی در حلالهای آلی چون اتر، استون، بنزن،اتانول، هگزان حل می شود. در خاک به مدت ۳تا ۵ هفته پایدار است. و از نظر کلاس خطرناکی در رتبه ی ۳(نسبتا خطرناک) قرار دارد. دوز حاد آن برای موش ۴۷۴۷mg/l و برای خرگوش۵۰۱۰mg/l و غلظت کشندگی آن در هوا بعد از ۴ ساعت بیش از ۳,۳۴mg/l می رسد ، غلظت کشندگی آن برای ماهی ها۲,۴ mg/lاست. طبق تحقیقات Sinha و همکاران در ۱۹۹۵ در دوزهای کمتر از ۲۰میکروگرم بر لیتر طی ۷۲ ساعت سبب ایجاد ناهنجاری در لنفسیتهای خون انسان می شود(Sinha S_،۱۹۹۵). مطالعه حاضر با هدف بررسی سینتیک تجزیه علفکش بوتاکلر (یکی از پر

مصـرفترین علفکـش هـای مـزارع بـرنج ایـران) توسـط سـویه ای از سـودوموناس جـدا شـده از خـاک هـای مزارع برنج و تحمل به غلظتهای بالای این علفکش ، انجام شده است.

مواد و روشها

نمونه های خاک از مرکز تحقیقات برنج گیلان تهیه و برای انجام آزمایشات به تهران منتقل شد. پس از هوا خشک کردن خاک و عبور آن از الک ۲ میلیمتری، ویژگیهای فیزیکی و شیمیایی و زیستی خاک مورد ارزیابی قرار گرفت. برای غربالگری باکتریها، به محیط نمکی M9(Roland M.Atlas.2010) استریل، ۵ گرم خاک و بوتاکلرEC ۶۰٪ با غلظت اولیهppm ۵۰ اضافه شد و در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد به دور از نور گرماگذاری شد. پس از ۵ روز گرماگذاری، به میزان ۵٪ از محیط یاد شده به فلاسکی جدید با غلظت ppm۱۰۰ علفکش منتقل و به همین ترتیب تا غلظت ppm۳۰۰ انتقال داده شد. سویه برتر از نظر میزان رشد در محیط نهایی تحت نام PK انتخاب گردید. آزمایشات شناسایی براساس صفات بیوشیمیایی از قبیل تست OF، اکسیداز، کاتالاز و آزمایشات میکروسکپی شامل رنگ آمیزی گرم و بر اساس صفات ماکروسکوپی کلنی در محیط نوترینت آگار انجام شد(Anne Honson.2012). آزمون MIC (حداقل غلظت بازدارنده رشد سویه)طبق روش (Jenifer M.Andrew.2001) در محیط کشت M9 و در حضور علف کش بوتاکلر درغلظت های ppm۵۰۰ تا ppm۲۵۰۰ پس از تلقیح ۱ میلی لیتر از سوسپانسیون یکسان سازی شده باکتری معادل ۰/۵ مک فارلند و گرماگذاری به مدت ۱۵ روز در دمای ۳۰ درجه بررسی گردید. آزمایشات تجزیه علفکش بوتاکلر در محیط M9 به همراه غلظت ppm۱۰۰ علفکش بوتاکلر و سلول های رشد یافته در محیط M9 حاوی گلوکز، در زمانهای ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۶۰ و ۷۲ ساعت با روش رنگ سنجی در طول موج ۲۹۰ نانومتر انجام شد.

نتایج و بحث

آزمایشات فیزیکی، شیمیایی و زیستی:

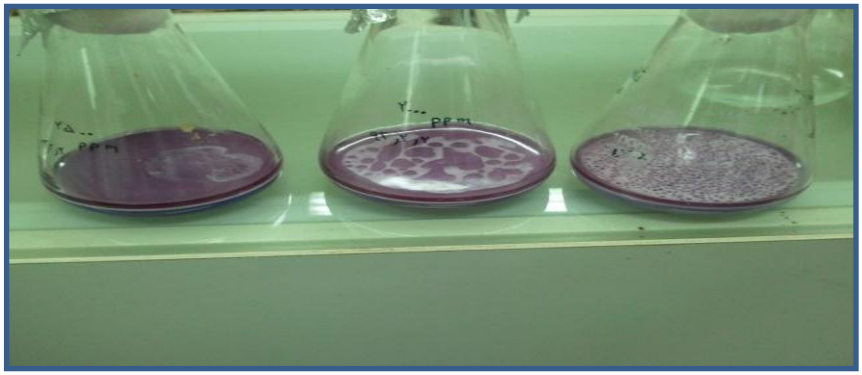
نتایج اولیه حاصل از آزمایشات فیزیکی و شیمیایی خاک نشان داد خاک از نوع رسی با ۵۶٪ رس، ۳۲٪ سیلت و ۱۲٪شن میباشد درصد رطوبت اشباع آن ۵۲٪ بوده و میزان مواد آلی آن ۰،۰۵۲٪ بوده و غلظت برخی عناصر در آن به شرح جدول ۱ می باشد، میزان pH خاک ۸/۲ و میزان CEC آن meq/100gsoil ۲۳/۴ همچنین درصد احتمالی جمعیت باکتری MPN در آنg /CFU^{5}۱۰ ×۱/۱ برآورد شد. در محیط های کشت اولیه M9 تعداد زیادی کلنی باکتری ظاهر شد، ولی در کشت های بعدی حاوی غلظت های بالاتر علف کش بوتـاکلر، تعـداد کلنـی هـا کاهش یافت. ازبین کلنی های رشد یافته، کلنی های که فراوانی بیشتری نشان دادند بعنوان جدایه برتر و سازش یافته در حضور علف کش تحت نام جدایه PK انتخاب گردید. نتایج آزمایشـات مورفولـوژی و بیوشـیمیایی روی باکتری جدا سازی شده نشان داد که جدایه PK یک باسیل گرم منفی، هوازی اجباری ، مولد پیگمان سبز آبی ، مولد کاتالاز و اکسیداز و لاکتوز منفی بوده و بر طبق کتاب برجی متعلق به جنس سودو موناس و احتمـالا گونـه آئروجینوزا شناخته شد.

جدول۱- برخی عناصر غذایی خاک مورد مطالعه

ویژگی خاک	مقدار	ویژگی خاک	مقدار
روی	۱/۶۱۴mg/kg	فسفر	۱۳/۲۰۸mg/kg
مس	۱/۹۰۴ppm	کلسیم	۱۱/۸ meq/l
منگنز	۲/۳۱۴ppm	منیزیم	۱/۸ meq/l
سدیم	۱۲/۱meql100gr	نیتروژن کل	%۰/۰۲۵۹

تعیین میزان MIC :

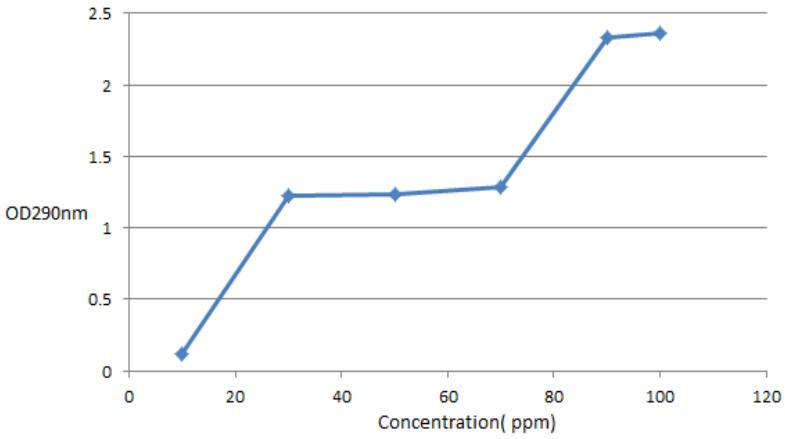
همانطور که در شکل ۱ مشاهده میشود با انکوبه کردن ارلن ها در دمای ۳۰ درجه طی ۱۵ روز، رشد سلول ها و کدورت ناشی از فعالیت باکتری در غلظتهای ۱۵۰۰ppm بسیار زیاد بوده در ۲۰۰۰ppm کمتر و در ۲۵۰۰ppm به طور قابل ملاحظه ای کم شده است و می توان نتیجه گرفت غلظت ۲۵۰۰ppm باعث محدود کردن رشد باکتری و معادل MIC علف کش بوتاکلر برای سویه PK می باشد.



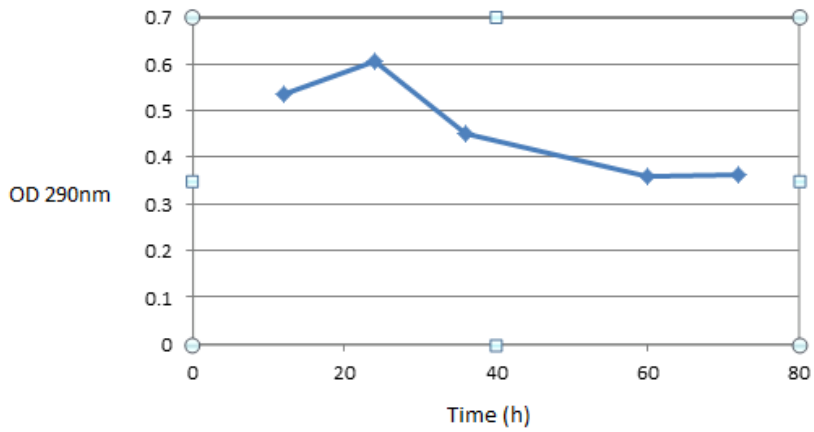
شکل ۱- به ترتیب از راست به چپ سه غلظت نهایی ۱۵۰۰ppm، ۲۰۰۰ppm و ۲۵۰۰ppm

سینتیک تجزیه زیستی علف کش بوتاکلر:

حداکثر جذب بوتاکلر طبق NLM آمریکا ۲۹۰nm گزارش داده شده است. غلظتهایppm ۱۰، ۳۰، ۵۰، ۷۰، ۹۰،۱۰۰ از بوتاکلر تهیه شده و در حلال اتانول به نسبت اتانول/ بوتاکلر ۱:۴ تهیه و OD آن در nm ۲۹۰ توسط دستگاه uv/vis spectrophotometer قرائت گردید (شکل ۲). همچنین به همین ترتیب محلول رویی نمونه های تیمار شده با باکتری نیز با اتانول رقیق شده و OD آن در nm ۲۹۰ قرائت گردید (شکل ۳). نتایج نشان میدهد سویه PK پس از گذشت ۷۲ ساعت غلظت اولیه بوتاکلر ۱۰۰ppm را به میزان ۷۰ درصد تجزیه نموده است.



شکل۲- تغییرات دانسیته نوری علف کش بوتاکلر در غلظت های مختلف



شکل ۳- میزان حذف علف کش بوتاکلر درنمونه های تیمار شده با سویه PK در غلظت ppm ۱۰۰در طی ۷۲ ساعت گرماگذاری در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد

منابع

محدثی ،ع و م، محمد شریفی و عطاریان ، علیزاده و راسخ ،ح و م علیجان تمینی،، مطالعه تاثیر تیمارهای مختلف شخم دوم در کنترل جمعیت علفهای هرز مزارع برنج، اولین همایش علوم علفهای هرز ایران، ۱۳۸۴

Anne Hanson, American Society for Microbiology, 2012 ,www.asm.org.

E. M. CASTIN AND K. MOODY.1987. Butachlor performance as affected by water overflowing from a herbicide- treated field. International Rice Research Institute

Jenifer M, Andrews. 2001. Determination of minimum inhibitory concentrations. Department of microbiology.

Rice Today.International Rice Resech Institute. March 2013

Roland M.Atlas. Handbook of Microbiological Media fourth Edition.2010.CRC Press.

Sinha S, Panneerselvam N, Shanmugam G, Genotoxicity of the herbicide butachlor in cultured human lymphocytes, 1995.

بررسی میزان جذب عناصر غذایی پرمصرف در اندام هوایی بذور تلقیح شده با باکتری های محرک رشد در گیاه گندم در شرایط شور

کبری ثقفی[1]-احمد اصغرزاده[2]-جعفر احمدی[3]-نرگس معبودی[4]-الهه ملک زاده[4]-شیدا طباخیان[4]

۱-دانشجوی دکتری اصلاح نباتات دانشگاه بین المللی امام خمینی و کارشناس موسسه تحقیقات خاک و آب

۲-استادیار عضو هیات علمی موسسه تحقیقات خاک و آب

۳-دانشیار عضو هیات علمی دانشگاه بین المللی امام خمینی

٤- کارشناس آزمایشگاه شیمی موسسه تحقیقات خاک و آب

مقدمه

تنش شوری یکی از مهمترین و رایج ترین تنشهای محیطی است که تولیدات کشاورزی را با محدودیت روبرو ساخته و بر متابولیسم، آناتومی و مورفولوژی گیاه تأثیر می گذارد وبه این ترتیب راندمان تولید را در مناطقی که با این پدیده مواجه هستند به شدت کاهش می دهد. این تنش علاوه بر اثرمنفی بر روی عملکرد، باعث بروز یا تشدید سایر تنش ها مخصوصا تنش کمبود عناصر غذایی برای گیاه می شود(حق نیا، ۱۳۷۵). مطالعات انجام شده بیانگر این است که بخش عمدهٔ مشکلات تغذیه‌ای گیاهان در شرایط شور، از طریق تغییر در قابلیت استفاده عناصر غذایی ،ایجاد اختلال در جذب و توزیع عناصر غذایی توسط ریشه‌ها و یا کاهش رشد آنها از طریق مختل کردن متابولیسم عناصر غذایی که به طور عمده مربوط به کاهش جذب آب توسط گیاه است می باشد (ملکوتی و همکاران، ۱۳۸۱). امروزه بهره گیری از پتانسیلهای مفید موجود در میکروارگانیسم های خاکزی مخصوصا باکتر یهای محرک رشد که با انجام فرآیندهای مختلف زیستی در رشد گیاه و چرخه عناصر غذایی خاک دخالت دارند توجه محققین بسیاری را برای رفع معضلات مربوط به افت عملکرد ناشی از ایجاد اختلال در جذب و توزیع عناصر غذایی و در نتیجه کاهش رشد گیاه در شرایط تنش های محیطی به خود جلب نموده است و استفاده از این موجودات به طور روز افزونی افزایش یافته است (اخگرو همکاران،۱۳۹۰) . هرچند چگونگی ارتباط و تحریک رشد گیاهان توسط این باکتری ها به طور کامل شناخته شده نیست اما برای اولین بار (لیفشیتز و همکاران، ۱۹۸۷) عنوان کردند که باکتری های محرک رشد گیاه می توانند از دو راه مستقیم و غیرمستقیم بر رشد و نمو گیاه اثر مفید داشته باشند افزایش غیرمستقیم رشد گیاه زمانی اتفاق می افتد که این باکتری ها برخی از اثرات مضرمیکروارگانیسم های بیماری زا نظیر قارچ هارا بااستفاده از یک یا چندین مکانیسم حذف و یا تعدیل نمایند در صورتی که افزایش مستقیم رشد گیاه معمولا مستلزم تولید یک ترکیب خاص و موثر بررشد گیاه و یا تسهیل در جذب عناصرغذایی مورد نیاز گیاه توسط این باکتری ها است و می تواند در نتیجه عواملی همچون ۱: تثبیت نیتروژن، ۲: حل فسفات های کم محلول، ۳: تأمین آهن از طریق تولید سیدروفورها ی میکروبی ، ۴: تولید فیتوهورمون هایی چون اکسین ها، سیتوکینینها و جیبرلینها، ۵: کاهش اتیلن و تولید انواع آنزیم ها مانند (Acc deaminas آمینو سیکلو پروپان ۱-

کربوکسیلات) وافزایش قابلیت دسترسی به عناصر غذایی باشد(خاوازی و همکاران، ۱۳۸۰). بنابراین با توجه به پتانسیل باکتر یهای دارای ویژگیهای فوق در کاهش اثرات زیانبار تنش های محیطی از جمله شوری بر رشد گیاهان، و وجود مشکل تنش شوری در بسیاری از خاک های زیر کشت و ضرورت استفاده از راهکارهای بیولوژیک برای مقابله با این قبیل تنش ها، این پژوهش با هدف مطالعه و بررسی تاثیر و نقش این باکتریها به صورت جداگانه و ترکیبی بر دو رقم مقاوم و حساس گیاه گندم در بهبود شرایط رشد و جذب عناصر غذایی گیاه گندم در شرایط شور طراحی گردید.

مواد و روش ها

این آزمایش در سال زراعی ۹۱-۱۳۹۰ در گلخانه موسسه تحقیات خاک و آب در کرج با استفاده از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملا تصادفی در ۳ تکرار به اجرا در امد. فاکتور اول: رقم گندم: شامل دو رقم: قدس (حساس به شوری) و کویر (متحمل به شوری) فاکتور دوم: فاکتور شوری در سه سطح:S1 ۰/۳۳۵ (شوری آب آبیاری به عنوان شاهد)، :S2 ۶ دسی‌زیمنس بر متر و :S3 ۱۴ دسی‌زیمنس بر متر که از طریق اضافه نمودن نمک به آب با EC معادل ۳۳۵ میکروزیمنس بر متر، تهیه گردید. فاکتور سوم: باکتری‌های PGPR در پنج سطح شامل یک تیمار شاهد(عدم تلقیح)، سه تیمار شامل سویه های اصلی به صورت تلقیح بذر با تک تک باکتری‌ها+یک تیمار مرکب از ترکیب سه تایی سویه های اصلی که به ترتیب عبارت بودند از:B1: *شاهد بدون تلقیح B2: آزوسپیریلوم لیپوفروم سویه OF B3: ازتوباکتر کروکوکوم سویه شماره ۵ B4: سودوموناس فلورسنس سویه ۱۶۹ B5 :آزوسپیریلوم لیپوفروم سویه OF+ ازتوباکتر کروکوکوم سویه شماره ۵+ سودوموناس فلورسنس سویه ۱۶۹)* در سه تکرار و برای هر یک از ارقام به طور جداگانه در شرایط کاملا مشابه انجام شد. پس از استریل و اماده سازی بذها و قبل از تلقیح، تراکم جمعیت باکتری‌ها به روش شمارش کلونی تعیین گردید به طوری که در هر میلی‌لیتر مایه تلقیح 10^8سلول باکتری وجود داشت. برای کاشت بذرها از گلدانهای پلاستیکی به ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر با قطر دهانه ۲۵ سانتی‌متر استفاده شده و به هر گلدان ۴/۵ کیلوگرم ماسه اضافه شد. در هر گلدان تعداد ۱۵ بذر جوانه زده در عمق ۲ سانتی‌متری و با فواصل مساوی کاشته شدند. یک هفته بعد از کشت جهت آبیاری گلدان‌ها و به منظور تامین نیازهای غذایی از محلول غذایی هوگلند[1] استفاده شد. این محلول هفته ای ۳ بار به مقدار توصیه شده و متناسب با تعداد گلدان‌ها تهیه و پس از تنظیم Ph تا حد رطوبت Fc به گلدان‌ها اضافه شد. برای جلوگیری از وارد شدن شوک به گیاهان تیمارهای شوری به صورت تدریجی اعمال گردید. هم چنین به منظور اطمینان از حصول شوری مورد نظر هر هفته یک بار هدایت الکتریکی آب زیر گلدانی اندازه گیری می شد.

پس از اتمام دوره رشد، گیاهان از سطح خاک قطع شده و سپس اقدام به اندازه گیری صفات مورد نظر گردید. برای اندازه گیری غلظت عناصر غذایی، گیاهان در انکوباتور با دمای ۷۰ درجه سلسیوس به مدت ۹۶ ساعت خشک و سپس توزین شد. برای اندازه گیری نیتروژن نمونه های خشک شده از روش هضم تر و برای انداز ه گیری عناصر فسفر، پتاسیم، کلسیم، منیزیم، از روش هضم خشک به طریق سوزاندن به این منظور نیتروژن با روش کجلدال، پتاسیم، با روش فلیم فتومتری، فسفر با روش اسپکتروفوتومتری و کلسیم و منیزیم با دستگاه جذب اتمی اندازه گیری شد.

نتایج و بحث:

نتایج حاصل از آنالیز واریانس(جدول۱) در مورد کلیه صفات بررسی شده بیانگر تاثیر معنی دار فاکتورهای رقم، شوری و باکتری در سطح احتمال ($P<0.01$) بوده است.همچنین اثر متقابل شوری و باکتری در مورد کلیه عناصر غذایی به غیر از فسفر و نیتروژن تفاوت معنی داری را نشان داده است. نتایج مقایسه میانگین نشان داد میزان جذب عناصر غذایی در دو رقم حساس و متحمل با هم تفاوت داشته است به طوریکه گیاه مقاوم درمجموع قادر به جذب بیشتر عناصر غذایی بوده است. میانگین درصد افزایش درجذب عناصر غذایی در رقم متحمل نسبت به رقم حساس در ازت=۲۱,۳% ، فسفر۳۵,۷۸٪ ، پتاسیم=۱۲,۹۵٪، کلسیم=۷,۱۹ ٪ و منیزیم ۲۳,۲۶٪ بوده است.نتایج بیانگر تاثیر معنی دار افزایش سطح شوری در کاهش جذب عناصر غذایی نسبت به تیمار شاهد بوده است. (Pessarakli et al,1994) علت کاهش جذب آب در گندم را کاهش، قابلیت تراوایی ریشه که توسط هدایت هیدرولیکی سیستم ریشه بیان می شود، عنوان کردند. همچنین نتایج بیانگر تاثیر معنی دار باکتریهای محرک رشد در میزان جذب عناصر غذایی در گیاهان تلقیح شده نسبت به شاهد(عدم تلقیح) بوده است. هر چند سویه های مختلف باکتری در ارقام مختلف تاثیر متفاوتی را در جذب عناصر غذایی نشان داده اند ولی نکته قابل توجه تاثیر چشمگیر تیمار مرکب از چند سویه (*As+Az+Ps*) نسبت به سایر سویه هایی که به صورت منفرد بوده اند میباشد. مطالعات بسیاری در خصوص تاثیر بیشتر و سودمندتر تلقیح توأم باکتر یهای محرک رشد بر رشد و عملکرد گیاهان در مقایسه با کاربرد منفرد آنها گزارش شده است.(حمیدی و همکاران، ۱۳۸۶و رخزادی و همکاران، ۱۳۸۷) به نظر می رسد ترکیب انواع باکتر یهای محرک رشد میتواند امکان برقراری رابطه ای سینرژیست و تشدید کننده را فراهم نمایدکه نتیجه آن افزایش اثرات مفید باکتر یها شامل افزایش جذب آب و عناصر غذایی توسط گیاه از خاک است که در نهایت منجر به تولید بیشتر محصول در گیاه می شوند.

دلایل متعددی برای افزایش میزان جذب عناصر غذایی در گیاهان تلقیح شده با باکتریها گزارش شده است ولی در مجموع میتوان گفت که مصرف باکتریها گیاه را در شرایط بهتری قرارداده است این مساله سبب کاهش اثرات تنش شوری و افزایش جذب عناصر غذایی در شرایط تنش میشود. افزایش میزان جذب عناصر غذایی عمدتا به دلیل تولید تنظیم کننده های رشد گیاه توسط باکتری و اثر آنها بر رشد ریشه بوده که جذب آب و مواد غذایی را از خاک بهبود می بخشد.

جدول ۱- تجزیه واریانس عناصر غذایی

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات (MS)				
		ازت	فسفر	پتاسیم	کلسیم	منیزیم
ژنوتیپ	۱	۳۶۱۷/۲۴**	۲۵۹/۳۹**	۷۰۵۵/۸۲**	۷۰۱/۹۱**	۳۸۱/۳۱**
شوری	۲	۸۸۱۶/۵۰**	۲۷۸/۰۴**	۵۸۴۷۵/۶۶**	۱۳۰۴۵/۲۰**	۴۳۰/۱۳**
باکتری	٤	۱۸۹۴/۵۱**	۶۲/۵۲**	۷۰۱۱/۱۷**	۱۵۷۰/۲۵**	۱۳۶/۰۱**
ژنوتیپ×شوری	۲	۶/۴۳ ns	۰/۴۲ ns	۲۹۲۹/۱۸ ns	۱۱/۷۸ ns	۵/۸۷ ns
ژنوتیپ× باکتری	٤	۱۱۰/۸۷ ns	۱/۱۱ ns	۲۳۶۳/۳۵ ns	۲۷۵/۳۹ ns	۶/۷۹ ns
شوری ×باکتری	۸	۱۵۸/۱۶ ns	۸/۹۹ ns	۱۱۶۹/۲۶ ns	۴۰/۶۷ ns	۲/۹۶ ns
ژنوتیپ×شوری× باکتری	۸	۳۷/۷۱ ns	۱/۴۵ ns	۳۲۶/۲۵ ns	۱۴۵/۲۴ ns	۲/۳۰ ns
خطا	٦۰	۷۰/۷۱	۳/۰۹	۷۳۲/۸۷	۱۲۸/۴۲	۱۴/۲۶
ضرب تغییرات		۱۲/۷۰	۱۴/۷۲	۱۸/۵۷	۱۴/۰۲	۱۹/۱۱

* و ** به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ و ns : غیر معنی‌دار.

منابع:

اخگر، ع.،ک. خاوازی و ن.عطایی.۱۳۹۰. جداسازی، شناسایی و بررسی کارآیی باکتری های ریزوسفری دارای توان تولید آنزیم ACC دآمیناز در کاهش اثرات تنش شوری بر رشد کلزا. مجله آب و خاک. سال ۱، شماره ۲۵، صفحات ۴۱-۲۹.

ملکوتی، م. ج.، پ. کشاورز، س. سعادت و ب. خلدبرین. ۱۳۸۱. تغذیه گیاهان در شرایط شور، معاونت امور باغبانی، وزارت جهاد کشاورزی، ۲۳۳ صفحه

حق‌نیا، غ. ح. (مترجم). ۱۳۷۵. راهنمای تحمل گیاهان نسبت به شوری. چاپ سوم. انتشارات جهاد دانشگاهی دانشگاه مشهد

خاوازی، ک.، ه. اسدی رحمانی و م. ج. ملکوتی. ۱۳۸۴. ضرورت تولید صنعتی کودهای بیولوژیک در کشور. وزرات جهاد کشاورزی، سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی مؤسسه تحقیقات خاک و آب.

حمیدی، آ.، ا. اصغرزاده، ر. چوگان، م. دهقان شعار، ا. قلاوند و م. ج. ملکوتی. ۱۳۸۶. بررسی کاربرد کودهای ریزوباکتریایی افزاینده رشد گیاه (PGPR) در زراعت ذرت با نهاده کافی. علوم محیطی. سال ۴، شماره ۴، صفحات ۲۰-۱.

رخزادی، ا.، ا. اصغرزاده، ف. درویش، ق. نورمحمدی، ا. مجیدی و و. توشیح. ۱۳۸۷. ارزیابی اثر کودهای بیولوژیک آزوسپیریلوم، ازوتوباکتر، پسودوموناس و مزوریزوبیوم بر تجمع ماده‌ی خشک و عملکرد نخود (*Cicer arietinum* L.). دهمین کنگره علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران

Lifshitz R., Kloepper J.W., Kozlowski M., Simonson C., Carlson J., Tipping E.M., and Zaleska I. 1987. Growth promotion of canola (rapeseed) seedling by a strain of *Pseudomonas putida* under gnotobiotic conditions. Can. J. Microbiol. 33: 390-395.

Pessarakli C., Andres, J.1994. Phosphorus management in broadacre organic farming systems. A report for the rural industries research and development corporation.

پاسخ تنفس میکروبی خاک به کاربرد علف‌کش‌های اکسی‌فلورفن و ترفلان

حسن فلاح[1]، فرشید نوربخش[2]، حسن کریم مجنی[3]
۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک دانشگاه صنعتی اصفهان ۲- استاد گروه خاکشناسی دانشگاه صنعتی اصفهان ۳- استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه صنعتی اصفهان

مقدمه

با مصرف سموم شیمیایی از جمله علف‌کش‌ها، این احتمال وجود دارد که موجودات زنده غیر هدف مانند میکروارگانیسم‌های خاک تحت تاثیر قرار گیرند (Sebiomo et al., 2011). میکروارگانیسم‌های خاک نقش مهمی در تجزیه مواد آلی و بازچرخ عناصر غذایی در اکوسیستم‌های طبیعی و کشاورزی ایفا می‌کنند (De Lorenzo et al., 2001). هر عاملی که باعث اختلال در فعالیت میکروبی خاک شود، ممکن است در درازمدت از حاصلخیزی خاک بکاهد. مطالعات نشان داده‌اند که برخی از سموم شیمیایی باعث کاهش شدت فرآیندهای بیولوژیکی خاک‌ها می‌گردند (Hussain et al., 2009, Andrea et al., 2000). به عنوان مثال یکی از پیامدهای منفی کاربرد آفت‌کش‌ها، تاثیر آنها بر تنفس میکروبی خاک می‌باشد. یائو و همکاران (۲۰۰۶) با بررسی اثر استامیپراید[1] بر تنفس میکروبی خاک، اظهار داشتند که مصرف این سم حتی در غلظت معمول مزرعه‌ای تاثیر منفی شدیدی بر تنفس میکروبی خواهد داشت (Yao et al., 2006). از آنجایی که تنفس خاک به عنوان معیاری از میزان فعالیت میکروبی است، بنابراین می‌تواند به عنوان شاخصی برای ارزیابی تاثیر عوامل محیطی ازجمله سموم کشاورزی، بر فعالیت میکروارگانیسم‌های خاک باشد. علف‌کش‌های اکسی‌فلورفن[2] و ترفلان (تریفلورالین[3]) از جمله سمومی هستند که مصرف آنها در کشور ما رایج می‌باشد. این مطالعه با هدف بررسی اثر این دو علف‌کش بر تنفس میکروبی خاک صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری به صورت مرکب از عمق ۰- ۱۵ سانتی‌متری یک خاک با بافت رسی و آهکی از مزرعه تحقیقاتی دانشگاه صنعتی اصفهان واقع در شرودان و خاک دیگری با بافت لومی و آهکی از منطقه چم‌آسمان واقع در حاشیه رودخانه زاینده‌رود صورت گرفت. هر دو خاک در زمان نمونه‌برداری زیر کشت یونجه بودند. نمونه‌های ۵۰ گرمی خاک پس از هواخشک کردن و عبور از الک ۲ میلی‌متری با محلول‌هایی که حاوی ۲ میلی‌گرم کربن گلوکزی بر گرم و ۰/۲ میلی‌گرم نیتروژن نیترات پتاسیمی بر گرم (جهت تحریک رشد میکروبی) و ماده تجاری علف‌کش‌های اکسی‌فلورفن و ترفلان با غلظت‌های ۰، ۰/۵، ۱۰ و ۵۰ میلی‌گرم ماده موثر بر کیلوگرم بودند، تیمار شدند. میزان آب مصرفی به گونه‌ای بود که رطوبت نمونه‌ها به ۵۰ درصد ظرفیت نگه‌داشت رطوبتی برسد. سپس تیمارها در انکوباتور در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و میزان دی‌اکسید کربن ناشی از تنفس میکروبی، در زمان‌های ۱، ۲، ۳، ۴، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ روز پس از انکوباسیون، با استفاده از سود و

[1] Acetamiprid
[2] Oxyfluorfen
[3] Trifluralin

کلرید باریم و تیتراسیون سود باقیمانده با اسیدسولفوریک اندازه‌گیری شد (Zibliske, 1994). مقاسیه میانگین نتایج بدست آمده، به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی به روش آزمون LSD و با کمک نرم‌افزار SAS انجام شد.

نتایج و بحث

در خاک شرودان اثر غلظت، اثر زمان انکوباسیون و اثر متقابل برای علف‌کش‌های اکسی‌فلورفن و ترفلان معنی‌دار شده است (جدول ۱ و ۲). با اضافه شدن کربن و نیتروژن فعالیت میکروبی افزایش یافته و در غلظت صفر (شاهد) اکسی‌فلورفن میزان تنفس در روز اول به بیشترین مقدار خود رسید (شکل ۱). از طرفی میزان تنفس بیشینه در غلظت صفر، بیش از سایر تیمارها بوده است. پس از گذشت روز اول سرعت تنفس کاهش پیدا کرده و در روز دوم به ۱۸/۸۵ میلی‌گرم دی‌اکسید کربن بر کیلوگرم خاک بر روز رسید. در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم اکسی‌فلورفن، مقدار بیشینه سرعت تنفس (۳۰/۲۴ میلی‌گرم دی‌اکسید کربن بر کیلوگرم بر روز) در روز اول رخ داد (شکل ۱) که در مقایسه با غلظت صفر، ۱۴/۶ درصد کاهش نشان داد. در غلظت‌های ۱۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیز شدت تنفس در روزهای اول بیشتر بود ولی حضور اکسی‌فلورفن موجب شد که مقدار بیشینه تنفس نسبت به شاهد افت پیدا کند. ماکزیمم شدت تنفس در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اکسی‌فلورفن (شکل ۱)، نسبت به بیشینه تنفس در غلظت صفر ۴۲/۸ درصد کاهش داشت. در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اکسی‌فلورفن، بیشینه سرعت تنفس با کاهش ۵۱/۵ درصدی نسبت به غلظت صفر، برابر با ۱۷/۱۷ میلی‌گرم دی‌اکسید کربن بر کیلوگرم بر روز شد (شکل ۱). یکی از فعالیت‌های اصلی میکروارگانیسم‌های خاک، تجزیه مواد آلی می‌باشد. در این فرآیند اغلب کربن مواد آلی خاک به صورت گاز CO_2 آزاد می‌گردد. تغییر در ساختار جمعیت میکروبی، بر تجزیه مواد آلی تاثیر می‌گذارد و اندازه‌گیری تنفس خاک با تعیین مقدار CO_2 آزاد شده، می‌تواند بیانگر میزان فعالیت میکروبی خاک باشد. گاسوامی و همکاران (۲۰۱۲) در بررسی اثر حشره‌کش‌های آزادیراکتین[1]، تریازوفوس[2] و کاربارل[3] بر تنفس خاک، اظهار داشتند که این حشره‌کش‌ها در غلظت‌های معمول توصیه شده اثر بازدارندگی کمی بر تنفس دارند اما با افزایش غلظت، اثر بازدارندگی بر تنفس میکروبی به طور چشمگیری افزایش می‌یابد (Goswami et al., 2012). در حضور علف‌کش ترفلان بیشینه تنفس در غلظت $0/5\ mg\ Kg^{-1}$، در روز اول اتفاق افتاد (شکل ۲) با این تفاوت که مقدار بیشینه تنفس ۴۴/۲ درصد نسبت به غلظت صفر (شاهد) کاهش پیدا کرد. در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ترفلان، علاوه بر کاهش ۴۵/۲ درصدی بیشینه تنفس نسبت به غلظت صفر، حداکثر سرعت تنفس با یک روز تاخیر در روز دوم پس از انکوباسیون رخ داد (شکل ۲). در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ترفلان، ماکزیمم سرعت تنفس، ۶۰/۱ درصد نسبت به غلظت صفر کاهش پیدا کرد و در روز دوم پس از انکوباسیون اتفاق افتاد (شکل ۲).

نتایج حاصل از خاک چم‌آسمان نشان داد که اثر غلظت، اثر زمان انکوباسیون و اثر متقابل علف‌کش‌های اکسی‌فلورفن و ترفلان معنی‌دار بوده است (جدول ۱ و ۲). در غلظت صفر اکسی‌فلورفن، شدت تنفس در روز اول بیشتر از بقیه زمان‌ها بود. سپس با افزایش دوره انکوباسیون و کاهش فعالیت میکروبی، کاهش پیدا می‌کند

[1] Azadiractin
[2] Triazophos
[3] Carbaryl

(شکل ۳). در غلظت $mg\ Kg^{-1}$ ۰/۵ اکسی‌فلورفن، مقدار بیشینه تنفس در روز اول بوده است و از طرفی کاهش معنی‌داری نسبت به غلظت صفر نداشت (شکل ۳). ماکزیمم سرعت تنفس در غلظت $mg\ Kg^{-1}$ ۱۰، اگرچه در روز اول بود (شکل ۳) ولی نسبت به غلظت صفر، ۲۸ درصد کاهش داشته است. در غلظت $mg\ Kg^{-1}$ ۵۰، حداکثر سرعت تنفس ۲۹/۹ درصد نسبت به غلظت صفر کاهش داشت که این میزان با سه روز تاخیر، در روز سوم پس از انکوباسین اتفاق افتاده است و بعد از روز چهارم پس از انکوباسیون به شدت کاهش پیدا کرد (شکل ۳). در غلظت $mg\ Kg^{-1}$ ۰/۵ ترفلان (شکل ۴)، بیشترین مقدار سرعت تنفس برابر با ۳۴/۷۶ میلی‌گرم دی‌اکسید کربن بر کیلوگرم بر روز بوده است که نسبت به غلظت صفر ۱۷/۹ درصد کاهش داشت. بیشینه تنفس در غلظت‌های $mg\ Kg^{-1}$ ۱۰ و $mg\ Kg^{-1}$ ۵۰ ترفلان با یک روز تاخیر در روز دوم پس از انکوباسیون اتفاق افتاد (شکل ۴) و به ترتیب ۳۲/۳ و ۵۱/۳ درصد نسبت به غلظت صفر کاهش نشان داد. با کاهش میزان تنفس میکروبی خاک در اثر افزایش غلظت علف‌کش‌ها، می‌توان این طور نتیجه گرفت که حضور علف‌کش‌های اکسی‌فلورفن و ترفلان در هر دو خاک باعث کاهش جمعیت و یا فعالیت میکروارگانیسم‌های خاک شده است. با افزایش غلظت علف‌کش‌ها و همچنین افزایش زمان انکوباسیون تاثیر منفی این دو علف‌کش بر تنفس خاک بیشتر می‌گردد به طوری که در غلظت‌های زیاد نه تنها از سرعت تنفس میکروبی کاسته می‌شود بلکه اوج شدت تنفس با تاخیر زمانی اتفاق می‌افتد.

جدول ۱: تجزیه واریانس مقادیر تنفس میکروبی در حضور اکسی‌فلورفن در خاک‌های شرودان و چم-آسمان

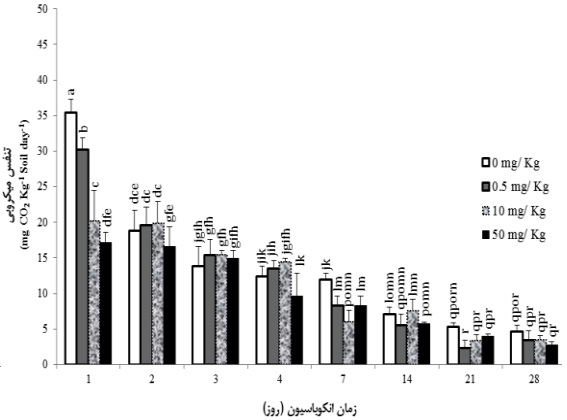
منابع تنوع	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		شرودان	چم‌آسمان
غلظت اکسی‌فلورفن	۳	۶۱/۲۱**	۲۳۶/۴۱**
زمان انکوباسیون	۷	۷۲۴/۴۰**	۱۳۷۱/۰۸**
غلظت× زمان	۲۱	۲۹/۲۵**	۷۵/۲۷**
خطای آزمایش	۶۴	۳/۲۲	۳/۲۳
کل	۹۵		

**نشان دهنده معنی‌دار بودن اختلاف تیمارها در سطح احتمال ۰/۰۱ می‌باشد.

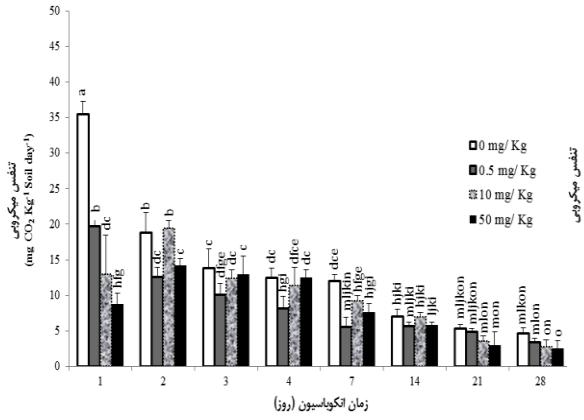
جدول ۲: تجزیه واریانس مقادیر تنفس میکروبی در حضور ترفلان در خاک‌های شرودان و چم‌آسمان

منابع تنوع	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		شرودان	چم‌آسمان
غلظت ترفلان	۳	۱۴۰/۴۵**	۲۲۷/۶۸**
زمان انکوباسیون	۷	۳۸۵/۲۱**	۱۱۰۹/۲۵**
غلظت× زمان	۲۱	۵۰/۸۳**	۶۳/۳۱**
خطای آزمایش	۶۴	۲/۹۷	۳/۷۳
کل	۹۵		

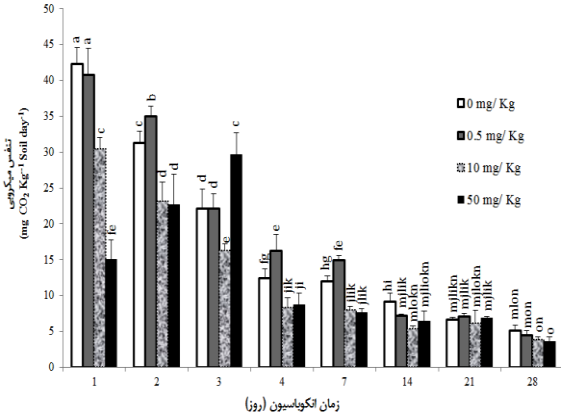
**نشان دهنده معنی‌دار بودن اختلاف تیمارها در سطح احتمال ۰/۰۱ می‌باشد.



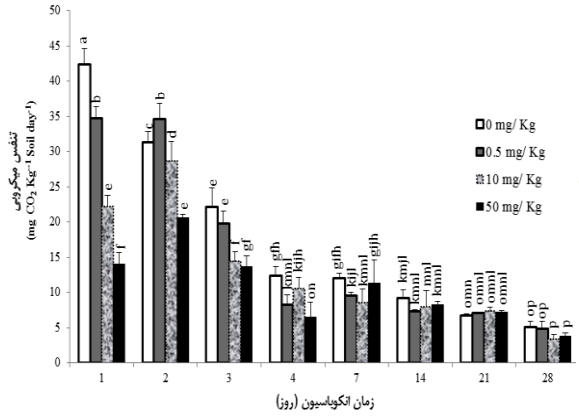
شکل ۱: تنفس خاک شرودان در حضور اکسی‌فلورفن



شکل ۲: تنفس خاک شرودان در حضور ترفلان



شکل ۳: تنفس خاک چم‌آسمان در حضور اکسی‌فلورفن



شکل ٤: تنفس خاک چم‌آسمان در حضور ترفلان

(حروف مشابه در هر شکل نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح احتمال ۰/۰۵ می‌باشد)

منابع

Andrea M, Peres T, Luchini L and Pettinelli Jr A, 2000. Impact of long-term pesticide applications on some soil biological parameters. Journal of Environmental Science & Health 35: 297-307.

De Lorenzo ME, Scott GI and Ross PE, 2001. Toxicity of pesticides to aquatic microorganisms: a review. Environ. Toxicol. Chem 20: 84-98.

Goswami MR, Tripathi S, Roy S and Mukhopadhyay A, 2012. Impact of Some Insecticides Application on Soil Respiration in an Alluvial Soil. Sci. & Cult 78: 164-168.

Hussain S, Siddique T, Saleem M, Arshad M and Khalid A, 2009. Impact of pesticides on soil microbial diversity, enzymes, and biochemical reactions. Advances in Agronomy 102: 159-200.

Yao X h, Min H, Lu ZH and Yuan HP, 2006. Influence of acetamiprid on soil enzymatic activities and respiration. European Journal of Soil Biology 42: 120-126.

Zibliske LM, 1994. Carbon Mineralization. PP. 835- 863. In: Madison WI, Weavez RW, Methods of soil analysys part 2, SSSA.

پاسخ فسفومونواسترازها به افزودن آهک در خاک‌های اسیدی با مدیریت متفاوت

ساجده خسروزاده قمی[1]، فرشید نوربخش[2]
[1]دانشجوی اسبق کارشناسی ارشد، [2]استاد دانشگاه صنعتی اصفهان

مقدمه

فسفر یکی از عناصر غذایی ضروری برای گیاهان و میکروارگانیسم‌ها است. فسفر آلی برای قابل دسترس شدن می‌بایست به فرم معدنی تبدیل شود که این فرایند توسط آنزیم فسفاتاز انجام می‌شود(هربین و نیل ۱۹۹۰). فسفومونواسترازها به عنوان فراوان‌ترین گروه فسفاتازها در خاک می‌باشند که به دو گروه اسید و آلکالین فسفاتاز تقسیم می‌شوند(ویور و همکاران ۱۹۹۴). خاک‌های اسیدی از جمله عوامل محدود کننده فعالیت گیاهان و میکروارگانیسم‌های خاک می‌باشد(هاینز و سوایفت ۱۹۸۹). برای کاهش اثرات مخرب اسیدیته خاک آهک توصیه می‌شود(اسپارکس ۱۹۹۶). براساس مطالعات گذشته، با افزودن آهک به خاک‌های اسیدی pH افزایش داشته و فعالیت آنزیم اسید و آلکالین فسفاتاز در پاسخ به افزایشpH به ترتیب کاهش و افزایش یافته‌اند(آکوستا مارتینز و طباطبایی ۲۰۰۰)،(دیک و همکاران ۲۰۰۰). پیش‌تر گزارش شده است که هر گونه تغییر مدیریت خاک بر فعالیت آنزیم فسفاتاز تأثیر گذار است. تغییرات مدیریتی از جمله انواع سیستم‌های شخم(دیک ۱۹۸۴)، تاریخچه کشت(جوردن و همکاران ۱۹۹۵)، مدیریت بقایای گیاهی(دودور و طباطبایی ۲۰۰۲) و تناوب زراعی(دنگ و طباطبایی ۱۹۹۷) با تغییر در ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک، کمیت و کیفیت ماده آلی موجب تغییر در ساختار و تنوع عملکردی جمعیت میکروبی و در نتیجه فعالیت آنزیم فسفاتاز می‌شوند. تحقیقات متعدد نشان داده‌اند مدیریت‌های متفاوت و افزودن آهک بر فعالیت آنزیم فسفاتاز مؤثرند، اما اطلاعات کافی در مورد تأثیر تاریخچه مدیریتی خاک و افزودن آهک به خاک‌های اسیدی وجود ندارد. بنابراین در این تحقیق تلاش بر این است که تأثیر تاریخچه مدیریتی متفاوت و افزودن کربنات کلسیم در دو دوره زمانی بلند مدت و کوتاه مدت که ممکن است بر فعالیت دو آنزیم اسید و آلکالین فسفاتاز مؤثر باشند، مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

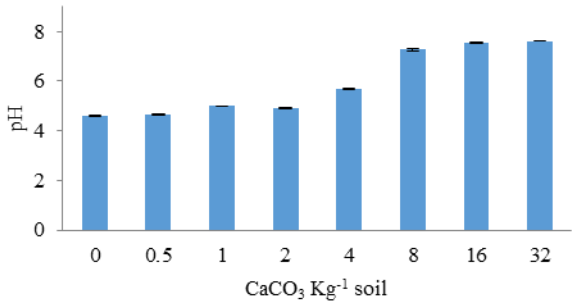
نمونه‌برداری به صورت مرکب از لایه سطحی ۱۵-۰ سانتی‌متری خاک‌های دو منطقه واقع در استان گیلان انجام شده است. هر منطقه دارای دو کاربری می باشد. منطقه لاهیجان با کاربری چای کاری و اراضی رهاشده، منطقه لنگرود با کاربری چای کاری و سبزی‌کاری می‌باشند. به منظور افزایش pH خاک‌ها، کربنات کلسیم آزمایشگاهی در سطوح ۰، ۰/۵، ۱، ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲ گرم بر کیلوگرم خاک افزوده شد. سپس رطوبت خاک‌ها را به ۵۰٪ ظرفیت نگه‌داری آب خاک[1] رسانده و برای دو سری آزمایش کوتاه مدت (۷ روز) و بلند مدت (۷۳ روز) در انکوباتور در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم اسید و آلکالین فسفاتاز از روش ارائه شده توسط طباطبایی و برمنر(۱۹۶۹) و طباطبایی و عیوضی(۱۹۷۷) استفاده گردید(ویور و همکاران ۱۹۹۴). pH خاک‌های تیمار شده در سوسپانسیون ۲:۱ آب به خاک توسط دستگاه pH متر قرائت گردید. نتایج آماری شامل تجزیه واریانس و مقایسات میانگین به روش LSD با نرم افزارver9.0SAS انجام گردید.

---

[1]- Water Hold Capacity

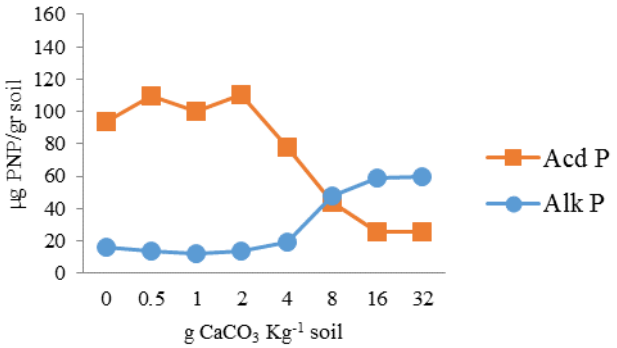
نتایج و بحث

با افزودن کربنات کلسیم، pH خاک‌ها در هر دو زمان انکوباسیون (۷ روزه و ۷۳ روزه)، به طور قابل توجهی افزایش یافته است(شکل ۳-۱).



شکل ۳-۱ اثر کربنات کلسیم بر افزایش pH در خاک لاهیجان در انکوباسیون کوتاه مدت
T = اراضی چای‌کاری F= اراضی رها شده

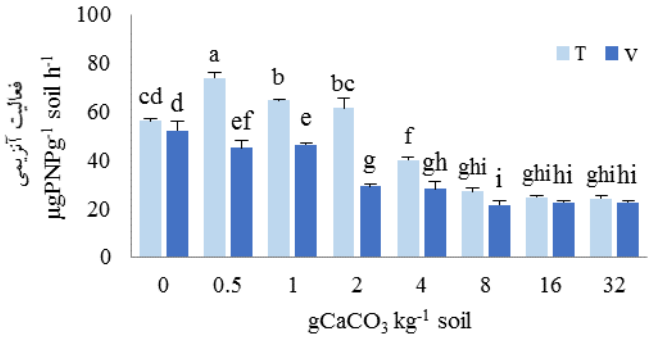
شکل (۳-۲) نشان می‌دهد که فعالیت آنزیم اسید و آلکالین فسفاتاز در پاسخ به افزایش pH به ترتیب کاهش و افزایش یافته است. این روند در خاک‌های دو منطقه و نیز در انکوباسیون بلند مدت مشابه بوده است. گزارش شده است سرعت سنتز و رهاسازی آنزیم اسید و آلکالین فسفاتاز توسط میکروارگانیسم‌های خاک و پایداری آنزیم‌ها وابسته به pH خاک می‌باشد(اکنلر و طباطبایی ۲۰۰۳). به طوری که اسید فسفاتاز و آلکالین فسفاتاز به ترتیب در خاک‌های اسیدی و قلیایی فعالیت بیشتری دارند(جوما و طباطبایی ۱۹۷۸).



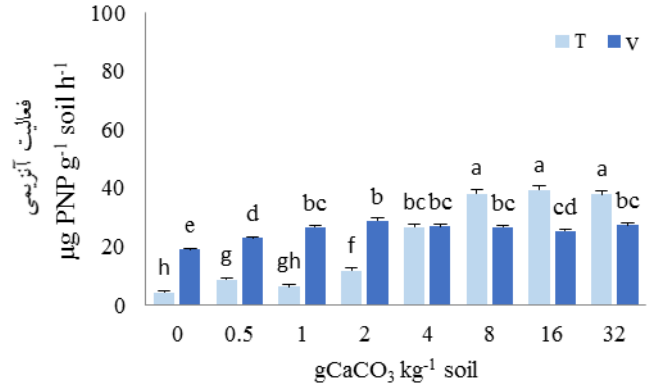
شکل ۳-۲ فعالیت آنزیم اسید (AcdP) و آلکالین (AlkP) فسفاتاز در برابر کربنات کلسیم در خاک لاهیجان با کاربری اراضی رها شده در انکوباسیون کوتاه مدت

روند تغییرات فعالیت فسفومونواسترازها در پاسخ به تیمارهای کربنات کلسیم در کاربری‌های مختلف هر منطقه مشابه نبوده است، این تفاوت نشان می‌دهد که تاریخچه مدیریتی و تیمار کربنات کلسیم به طور معنی‌داری بر فعالیت اسید و آلکالین فسفاتاز در دو منطقه تأثیرگذار بوده است (شکل ۳-۳) و (شکل ۳-۴). گزارش شده است که تغییرات مدیریتی خاک باعث تغییر در مقدار کربن آلی و فعالیت میکروبی و در نتیجه فعالیت آنزیمی می-

شود(دیک ۱۹۸۴). علاوه براین تغییر در ترکیب، توزیع و نیز ویژگی شیمیایی کربن آلی بر دینامیک و فرآیندهای میکروبی تأثیر می‌گذارد(دودور و طباطبایی ۲۰۰۲). هرچند فعالیت آنزیم‌ها به تغییرات مدیریتی خاک حساس هستند، اما پاسخ اسید و آلکالین فسفاتاز به افزودن کربنات کلسیم بیان‌گر این موضوع است که شدت رهاسازی آنزیم فسفاتاز که توسط میکروارگانیسم‌ها و گیاهان تولید می‌شود، بر اساس مقدار ارتوفسفات مورد نیاز گیاهان و میکروارگانیسم‌ها تعیین می‌شود که شدیداً pH خاک بر روی آن تأثیر گذار است(اکنلر و طباطبایی ۲۰۰۳). در انکوباسیون بلند مدت نیز روند پاسخ فسفومونواسترازها مشابه انکوباسیون کوتاه مدت بوده است. هر چند مجموع فعالیت فسفومونواسترازها در خاک‌های اسیدی تحت تأثیر اسید فسفاتاز است و در انکوباسیون بلند مدت نیز میزان فعالیت اسید فسفاتاز بیش از آلکالین فسفاتاز بوده است، با گذشت زمان افزایش فعالیت آلکالین فسفاتاز قابل توجه است.



شکل ۳-۳ اثر متقابل عامل مدیریت و کربنات کلسیم بر آنزیم اسید فسفاتاز در خاک لنگرود در انکوباسیون کوتاه مدت T = اراضی چای کاری V = اراضی سبزی کاری



شکل ۳-٤ اثر متقابل عامل مدیریت و کربنات کلسیم بر آنزیم آلکالین فسفاتاز در خاک لنگرود در انکوباسیون کوتاه مدت T = اراضی چای کاری V = اراضی سبزی کاری

با افزودن آهک ودر نتیجه افزایش pH و گذشت زمان، قابلیت دسترسی سوبسترا افزایش یافته و مواد آلی بعد از واکنش با آهک به فرم قابل دسترس برای میکروارگانیسم‌ها تبدیل می‌شوند که موجب افزایش جمعیت میکروبی و تولیدات آنزیمی می‌شود(فوئنتس و همکاران ۲۰۰۶). گزارش شده است که فعالیت آلکالین فسفاتاز در ترشحات

گیاهان عالی دیده نمی‌شود و کاملاً در ارتباط با تولیدات میکروبی است(ویور و همکاران ۱۹۹۴)، از این رو به نظر می‌رسد این افزایش، علاوه بر افزایش pH به دلیل افزایش فعالیت میکروبی باشد.

نتیجه‌گیری

این تحقیق نشان داد تاریخچه مدیریتی در خاک‌های تحت تیمار کربنات کلسیم بر میزان فعالیت فسفومونواسترازها تأثیر معنی داری دارد. همچنین گذشت زمان موجب شد واکنش کربنات کلسیم مؤثرتر انجام شود، به طوری که در انکوباسیون بلند مدت روند پاسخ آسید و آلکالین فسفاتاز در هر یک از تیمارهای کربنات کلسیم به طور قابل توجهی مشخص‌تر بوده است.

منابع

Acosta-Martinez V, Tabatabai MA, 2000. Enzyme activity in a limed agriculture soil. Biology and Fertility of Soils 31: 85 – 91

Deng SP, Tabatabai MA, 1997. Effect of tillage and residue management on enzyme activities in soil: phosphatase and arylsolphatase. Biology and Fertility of Soils 24:141–146

Dick WA, 1984. Influence of long-term tillage and crop rotation combinations on soil enzyme activities. Soil Science Society of America Journal 48:569 – 574

Dick WA, Cheng L, Wang P, 2000. Soil acid and alkaline phosphatase activity as pH adjustment indicator. Soil Biology and Biochemistry 32: 1915 – 1919

Dodor DE, Tabatabai MA, 2002. Effect of cropping systems and microbial biomass in arylamidase activity in soils. Biology and Fertility of Soils 35: 253 – 261

Ekenler M, Tabatabai MA, 2003. Responses of phosphatses and arylsulphatase in soils to liming and tillage system. Journal of Plant Nutrition and Soil Science 166: 281 – 290

Fuentes JP, Bezdicek DF, Flury M, Albrecht S, Smith JL, 2006. Microbial activity affected by lime in a long-term no-till soil. Soil Tillage Research 88: 123 – 131

Haynes RJ, Swift RS, 1988. Effect of lime and phosphate additions on change in enzyme activities, sulphur and phosphorus in an acid soil. Biology and Fertility of Soils 6:153 – 158

Herbien SA, Neal JL, 1990. Soil pH and phosphatase activity. Communication in Soil Science and Plant Analysis. 21: 439 – 456

Jordan D, Kremer RJ, Bergfield WA, Kim KY, Cacnio VN, 1995. Evaluation of microbial methods as potential indicators of soil quality in historical agricultural fields. Biology and Fertility of Soils 19: 297-302

Juma NG, Tabatabai MA, 1978. Distribution of phosphomonoesterase in soil. Soil Science 126: 101 – 108

Sparks DL, 1996.Method of Soil Analysis. Part 3 – Chemical methods. PP 491- 515. American Society of Agronomy Inc.

Weaver R, Angle JS, Bottomley PS, 1994. Method of Soil Analysis. Part 2– Microbiological and Biochemical Properties. PP 775 – 814. Soil Science Society of America Inc.

بررسی کارایی همزیستی برخی سویه های ریزوبیومی همزیست با یونجه بومی خاک های استان البرز

سینا عظیمی[۱]،حسینعلی علیخانی[۲]،مژگان لطفی[۳]
۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه مهندسی علوم خاک دانشگاه تهران، ۲- دانشیار، گروه مهندسی علوم خاک دانشگاه تهران، ۳- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه مهندسی علوم خاک دانشگاه تهران

مقدمه

یونجه از مهمترین گیاهان علوفه ای است که از وسعت پراکندگی آن میتوان نتیجه گرفت که این گیاه قابلیت سازگاری و محصول دهی زیاد را در دامنه وسیعی از نظر خاک و شرایط اقلیمی دارا می باشد و حتی در شرایط سخت آب و هوایی نیز می تواند علوفه ای با کیفیت خوب تولید کند (Heidari Sharyfabad, 1380). یونجه به دلیل دارا بودن سیستم ریشه ای عمیق و دوره رشد طولانی، سبب از دست رفتن آب کمتری از خاک سطحی نسبت به گیاهان یکساله می شود و خطر بالا آمدن سفره آب زیرزمینی را کاهش می دهد (Dunin *et al.*, 2001). هم چنین به دلیل همزیستی با باکتری های تثبیت کننده نیتروژن در خاک، باعث حاصلخیزی و تقویت خاک می شود (Rastegar, 1384) . امروزه در برنامه ریزی برای سیستم های کشاورزی پایدار، استفاده از همزیستی ریزوبیوم - لگومینوز ضرورتی اساسی تلقی می شود .تمام فواید این همزیستی و شرط اصلی برای این که بتوان از آن به عنوان جایگزین مناسب برای کودهای شیمیایی نیتروژنی استفاده کرد، این است که گیاه از ابتدای رویش در خاک تعداد کافی از سویه های فعال و کاملاً مؤثر *ریزوبیوم* را در اختیار داشته باشد، به طوری که سیستم همزیستی بتواند با حداکثر توان و ظرفیت خود تثبیت نیتروژن را انجام دهد . برای نیل به این هدف، در صورتی که تعداد باکتریهای ریزوبیومی در خاک کافی نباشد و یا انواع بومی از کارایی مناسبی برخوردار نباشند، تلقیح باکتری های ریزوبیومی با بذر ضروری است. اطلاعات کمی در مورد شناسایی سویه های با کارایی همزیستی بالا برای گیاه یونجه وجود دارد. شناسایی سویه های با کارایی همزیستی بالا، سبب بهبود عملکرد یونجه می شود (Zhao-Hai *et al.*, 2007). هدف از این پژوهش، بررسی توانایی سویه های ریزوبیوم جمع آوری شده از خاک های زیر کشت یونجه در استان البرز در تثبیت نیتروژن (کارایی همزیستی) می باشد.

مواد و روشها

تهیه نمونه های گره از سیستم ریشه ای گیاه یونجه: ابتدا تعدادی از بوته های شاداب موجود در مزرعه یونجه دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران انتخاب و با دقت از خاک خارج و به آزمایشگاه بیولوژی منتقل گردید. نمونه ها در تشت آب قرارداده شدند، تا خاک اضافی اطراف ریشه ها به آرامی جدا گردد. پس از شستشو کامل و حذف تمامی خاک و دیگر ذرات چسبیده به سطح ریشه و غده ها، هر غده به همراه اندکی از ریشه دوطرف غده از سیستم ریشه ای گیاه جدا شدند، سپس سطوح غده ها با وایتکس ضد عفونی شده و با آب مقطر استریل هفت بار کاملاً شسته شدند و سرانجام پس از خشک شدن با کاغذ صافی، درون ظروف شیشه ای حاوی سیلیکاژل (ماده رطوبت گیر) قرار داده شدند. سیلیکاژل دارای یک معرف رطوبتی است که با جذب رطوبت، از آبی به قرمز تغییر رنگ می دهد. از نمونه های غده برای جداسازی و خالص سازی باکتری *سینوریزوبیوم ملیلوتی* استفاده

شد.

آماده سازی و جوانه دارکردن بذور یونجه: بذور سالم و یکنواخت یونجه رقم بمی بصورت دستی جدا گردید و پس از آن ضدعفونی کردن بذور انجام شد، بدین صورت که بذور برای مدت ۵ ثانیه در الکل ۹۶ درجه و سپس به مدت ۱/۵ دقیقه در وایتکس پنج درصد غوطه ور شدند و سرانجام با آب مقطر استریل هفت بار کاملاً شسته شدند تا مواد ضدعفونی کاملاً از اطراف بذر شسته شوند. بذور استریل یونجه درون آب آگار منتشر شده و درون انکوباتور در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد نگه داری شدند. هنگامیکه طول ریشه چه به حدود ۳-۲ میلی متر رسید زمان انتقال آنها به گلدانها می باشد. که معمولاً زمان جوانه زدن ۲۴ ساعت و یا حتی کمتر طول می کشد.

تهیه مایه تلقیح *سینوریزوبیوم ملیلوتی*: به تعداد جدایه های باکتری موردنظر که قصد اندازه گیری کارایی همزیستی بود، ارلن کوچک ۱۰۰ میلی لیتری آماده کرده و در هرکدام حدود ۲۰ میلی لیتر محیط کشت YMA ریخته و سپس همه ارلن ها را در اتوکلاو استریل کرده و پس از اینکه کاملاً سرد شدند، توسط لوپ از کلونی خالص هرکدام از این ۱۸ کلونی برداشته و به محیط کشت درون ارلن تلقیح شدند. ارلن ها به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۸-۲۶ درجه سانتی گراد و محفظه ای تاریک بر روی شیکر قرار داده شد. پس از گذشت ۷۲ ساعت مایه تلقیح آماده شد. جمعیت جدایه های باکتری براساس استاندارد مک فارلند تنظیم گردید.

مقایسه جدایه ها از نظر کارایی همزیستی (S.E): این آزمون در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار در شرایط گلخانه ای و در گلدانهای حاوی پرلیت و ماسه (به نسبت ۱به۹) استریل شده، طراحی و بشرح زیر اقدام شد. به منظور تعیین میزان موثر بودن سویه های باکتری، بذور ضدعفونی شده یونجه درون گلدانهای حاوی شن و پرلیت استریل، کشت شده و با سویه مشخصی از سویه های خالص *سینوریزوبیوم ملیلوتی* تلقیح گردید. سپس گلدانهای کشت شده هر روز با محلول غذایی هوگلند استریل آبیاری شدند.

تیمارهای آزمایشی اعمال شده شامل: ۱) شاهد: گیاهان یونجه کشت شده با باکتری ریزوبیومی تلقیح نشده و محلول غذایی استفاده شده نیز فاقد نیتروژن بود. ۲) تلقیح: گیاهان یونجه با یکی از جدایه های موردنظر باکتری *سینوریزوبیوم ملیلوتی* تلقیح شده ولی نیتروژن ترکیبی در محلول آبیاری روزانه آن استفاده نشد. ۳) نیتروژن: گیاهان یونجه با باکتری *سینوریزوبیوم ملیلوتی* تلقیح نگردیده ولی به طورروزانه با محلول غذایی حاوی کود نیتروژنی آبیاری شدند. پس از آماده کردن ماسه و پرلیت به مقدار کافی و مخلوط کردن این دو به نسبت ۱۰درصد پرلیت به ۹۰ درصد شن، آنها را درون گلدانهای ۱ کیلوگرمی ریخته و پس از وزن کردن دقیق و کشیدن آلومینیوم فویل به جای درپوش، آنها را به اتاق اتوکلاو منتقل کرده و همه گلدانها پس از استریل کردن دردمای ۱۰۰درجه سانتی گراد مجدداً به گلخانه منتقل شدند. از بذور سالم و یکنواخت یونجه رقم بمی که انتخاب و استریل شده بودند، تعداد پنج عدد در هر گلدان استریل در عمق یک سانتی متری از سطح گلدان کشت شد. روی هر بذر یک میلی لیتر از مایه تلقیح آماده شده ریخته شد. به هر گلدان مقدار ۱۵۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه گردید تا به رطوبت ظرفیت زراعی برسد. تعداد جدایه های باکتری مورد آزمایش ۱۸ عدد بود و با احتساب سه تکرار برای هر تیمار، ۵۴ گلدان با بذر را با ۱ml از زادمایه سویه های مختلف *سینوریزوبیوم ملیلوتی* با جمعیت 5×10^{8} CFU از باکتری تلقیح کرده که این ۵۴ گلدان با محلول هوگلند استریل فاقد نیتروژن آبیاری شدند. از طرف دیگر ۳ گلدان با محلول هوگلند حاوی ۸۰ میلی گرم نیتروژن در لیتر آبیاری شدند. ۳ گلدان هم بصورت شاهد منفی منظور شدند که با باکتری تلقیح نشدند و محلولی که برای آبیاری آنها استفاده می شد نیز فاقد نیتروژن بود. با مصرف روزانه حدود ۱۰۰ میلی لیتر محلول غذایی رطوبت گلدانها بصورت وزنی به حد FC

۸۰٪ می رسید. دمای حداکثر و حداقل گلخانه بین ۱۸-۲۸ درجه سانتی گراد و طول دوره روشنایی ۱۴ ساعت تنظیم گردید. واکاری در هفته اول انجام شد و تنک کردن گیاهان در حدود روز سی ام پس از کشت صورت گرفت و تا پایان دوره کشت سه گیاه در هر گلدان باقی ماند. در پایان دوره رشد که حدوداً سه ماه طول کشید، گیاهان هر گلدان برداشت و وزن تر و خشک آنها اندازه گیری شد. سیستم ریشه ای گیاه به طور کامل از خاک خارج شد و در تشتی پر از آب شستشو داده شد. شاخص های وزن تر و خشک ریشه، وزن تر و خشک گره و تعداد گره ها اندازه گیری شدند. نتایج با استفاده از نرم افزار آماری SAS مورد تجزیه و تحلیل قرارگرفتند و مقایسه میانگین ها نیز به روش آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

با توجه به جدول ۱ مشاهده می شود که نمونه ی شاهد مثبت (P.C) رشد بهتری نسبت به شاهد منفی (N.P) و B65 از خود نشان داد و نمونه ی B65 هم رشد بسیار بهتری نسبت به نمونه ی شاهد منفی از خود نشان داده است.

جدول ۱- اثر سویه های ریزوبیومی بر برخی صفات رشد یونجه بومی

وزن P.C اندام هوایی	وزن P.C ریشه	وزن N.C اندام هوایی	وزن N.C ریشه	وزن B65 اندام هوایی	وزن B65 ریشه
0.952	0.376	0.058	0.07	1. 350	0.508
0.530	0.312	0.335	0.107	1.058	0.412
1.104	0.618	0.767	0.189	0.237	0.083
0.984	0.650	0.106	0.66	0.282	0.094

باکتری *سینوریزوبیوم ملیلوتی* باعث افزایش معنی دار ویژگی های فوق شد. ضمناً تلقیح گیاهان لگومینوز با جدایه های بومی ریزوبیومی مقاوم به شوری و خشکی در شرایط نامساعد محیطی علاوه بر کاهش آلودگی محیط زیست، می تواند باعث بهبود رشد گیاه می شود. (Motahari, 1384) با مطالعه آثار تلقیح شش سویه متفاوت از باکتری *سینوریزوبیوم ملیلوتی* به دو رقم گیاه یونجه بمی و آمریکایی گزارش داد که بیشترین وزن خشک ریشه گیاه مربوط به هر دو رقم بمی و آمریکایی تلقیح شده با سویه های W.T و nifk بود و گیاهان تلقیح شده با این سویه ها به مراتب وزن خشک بیشتری را نسبت به گیاهان تلقیح شده با سویه nifH نشان دادند. (Abolhasani, 1386) اظهار داشت تلقیح گیاهان لگومینوز با جدایه های بومی ریزوبیومی در شرایط نامساعد محیطی، تأثیر مثبتی در رابطه همزیستی لگوم ریزوبیوم داشته و در نتیجه افزایش تعداد گره های فعال، تثبیت زیستی نیتروژن و افزایش عملکرد گیاه را به دنبال دارد بنابر این، به منظور حفظ محیط زیست و نیل به کشاورزی پایدار، استفاده از پتانسیل های بیولوژیک برای کاهش مصرف کودهای نیتروژنه در اراضی زیر کشت لگومینوزها ضروری است.

منابع

Abolhasani, M. 1386. Native isolates resistant to drought and salinity of Sinorhizobiom

meliloti Soils of Kerman province. 10th Iraninan Soil Science Congress, Karaj.

Heidari Sharyfabad, H. 1380. Plants and Salinity. Research Institute of Forests and Rangelands press, Tehran, 199 pp.
Motahari, M. 1384. Effects of salinity on nitrogen fixation in two cultivars of alfalfa Agrobacterium Tvmafashyns Bami and U.S. MSc Thesis, Faculty of Science, Shahid Bahonar University of Kerman.
Rastegar, M. A. 1384. Agriculture Forage Crops. Berhmand press, Tehran.
Dunin FX, Smith CJ, Zegelin SJ, Leuning R, Denmead OT and Poss R, 2001. Water balance changes in a crop sequence with lucerne. Aust. J. Agric. Res. 52: 247-261.
Zhao-Hai Z, Wen-Xin C, Yue-Gao H, Xin-Hua S and Dan-Ming C, 2007. Screening for highly effective Sinorhizobium meliloti strains for Vector Alfalfa and testing of its competitive nodulation ability in the field. Pedosphere 17: 219- 228.

جداسازی قارچ‌های حل کننده فسفر از خاک‌های جنگلی اطراف معدن سنگ فسفات کوه سپیدلار

غزاله سادات ذریه کرمانشاهی(۱) ابراهیم ادهمی(۲) اصغر نقی ها(۳)
۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم خاک دانشگاه یاسوج ۲ و ۳- استادیار دانشگاه یاسوج

مقدمه

با توجه به اثرات نامطلوب مصرف بی‌رویه کودهای شیمیایی، یافتن روش‌های جایگزین و کاستن مصرف آن‌ها ضروری به نظر می‌رسد. در حال حاضر کودهای زیستی به‌عنوان جایگزینی برای کودهای شیمیایی، جهت افزایش حاصلخیزی خاک در کشاورزی پایدار مطرح می باشند (وو و همکاران، ۲۰۰۵). در کشاورزی ارگانیک که از کود شیمیایی استفاده نمی‌شود، مخلوط سنگ فسفات با کمپوست و مایه زنی آن با ریزجانداران حل کننده‌ی فسفر (قارچ، باکتری و اکتینومیست) امکان پذیر است. ریزجانداران حل کننده‌ی فسفات در تمام خاک‌ها یافت می‌شوند اما تعداد آن‌ها در خاک‌های مختلف با هم متفاوت بوده و بستگی به خاک، اقلیم و تاریخچه کشت دارد. ریزموجودات حل کننده فسفر معمولا در خاک‌های دارای شرایط مناسب، توسعه پیدا می‌کنند. استان کهگیلویه و بویراحمد با داشتن جنگل‌های بلوط دارای خاک‌های با ماده‌ی آلی مناسب است که منطقه‌ی ریزوسفری آن‌ها، شرایط مناسب برای رشد میکروارگانیسم‌های خاکی را دارند و در مناطق مجاور معادن سنگ فسفات استان، برای بررسی و جداسازی گونه‌های قارچی حل کننده‌ی فسفات مناسب است.

مواد و روشها

جمع آوری نمونه خاک:

پنج نمونه خاک از خاک‌های جنگلی اطراف معدن سنگ فسفات کوه سپیدلار کهکیلویه و بویر احمد از عمق سطحی نمونه برداری شد. مقداری از نمونه جهت جداسازی قارچ و مخمر و باقیمانده‌ی خاک پس از هوا خشک شدن، از الک ۲ میلی متری عبور داده شد و برای تعیین خصوصیات خاک استفاده گردید. خصوصیات خاک شامل بافت خاک به روش هیدرومتر، درصد ماده‌ی آلی (OM) به روش اکسیداسیون با اسید کرومیک و سپس تیتره کردن با فروس آمونیوم سولفات، درصد کربنات کلسیم معادل (CCE) به روش خنثی سازی با اسید کلریدریک، pH در خمیر اشباع، ظرفیت تبادل کاتیونی به روش جانشینی کاتیون‌ها با استات سدیم، فسفر به روش اولسن و فسفر آلی محلول در بیکربنات سدیم ۰/۵ مولار با pH = ۸/۵ اندازه‌گیری شدند.

در پنج ارلن، ۹۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی ریخته و پس از سترون نمودن توسط دستگاه اتوکلاو، ۱۰ گرم خاک به هر ارلن اضافه گردید. به منظور تهیه‌ی یک سوسپانسیون یکنواخت، ارلن‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در ۲۰۰ دور در دقیقه تکان داده شد. در مرحله‌ی بعد رقت‌های سریالی از هر نمونه تا رقت 10^{-7} در حجم نهایی ۱ میلی‌لیتر تهیه گردید. سپس در سه تکرار از هر لوله‌ی آزمایش ۱۰۰ میکرولیتر برداشت و داخل محیط کشت Pikovskay انتقال و کشت سفره‌ای داده و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت یک هفته گرم خانه گذاری شد. پرگنه‌های

رشد یافته روی محیط کشت Pikovskay از نظر تولید هاله در اطراف خود بررسی شدند و هر کدام که هاله‌ی بزرگتری داشت در ارزیابی مرحله بعد استفاده گردید. از میان قارچ‌ها، ۴ قارچ هاله‌ی بسیار بزرگ و روشن بر روی محیط کشت ایجاد کردند که برای بررسی کمی انحلال فسفر، در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با هفت سطح قارچ شامل شاهد، قارچ‌های شماره گذاری شده از ۱ تا ۴ که بر اساس مرحله قبل انتخاب شدند و همچنین قارچ آسپرژیلوس نایجر با و بدون تری کلسیم فسفات برای مقایسه توانایی قارچ‌های جداسازی شده، با سه تکرار انجام شد. کشت قارچ در محیط کشت مایع پایه در ظروف ارلن مایر انجام گرفت. ترکیبات محیط کشت مایع پایه در یک لیتر آب مقطر عبارت از: ۰/۴ گرم NH_4Cl، ۰/۷۸ گرم KNO_3، ۰/۱گرم NaCl، ۰/۱ گرم $CaCl_2.2H_2O$، ۰/۵گرم $MgSO_4.7H_2O$، ۰/۵ میلی‌گرم $FeSO_4.7H_2O$، ۱/۵۶ میلی‌گرم $MnSO_4.H_2O$ ، ۱/۴ میلی‌گرم $ZnSO_4.7H_2O$ ، ۳۰ گرم گلوکز و منبع فسفر شامل تری کلسیم فسفات ($Ca_3(PO_4)_2$) به میزان ۴ گرم در لیتر بود. ۱۰۰ میلی‌لیتر از محیط کشت ساخته شده در ارلن‌ها ریخته و سترون شد. بر اساس پژوهش ریس و همکاران (۱۹۹۹)، جمعیت یکسان از هر گونه که حاوی $۱۰^{۷} \times ۵–۱$ در میلی‌لیتر کنیدی قارچ باشد، می‌بایست به محیط کشت انتقال یابد. به همین منظور، دیسک‌هایی با قطر ۶ میلی‌متر از محیط کشت PDA حاوی $۱۰^{۷} \times ۵–۱$ کنیدی به محیط کشت مایع پایه در ظروف ارلن مایر مایه‌زنی و در دمای ۲۸ درجه سلسیوس و ۱۵۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ روز گرم خانه گذاری شد. در فواصل زمانی ۵،۱۰، ۱۵ و ۲۰ روز، از ۱۰ میلی‌لیتر محتویات هر ارلن در زیر هود برداشته شد و در لوله‌ی آزمایش ریخته و در g ۵۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شده و با کاغذ صافی واتمن ۴۲ صاف شد. مقدار فسفر محلول به روش وانادومولیبدات (روش آبی) (کو، ۱۹۹۶) و pH با pH متر اندازه‌گیری شد.

نتایج و بحث

خاک‌های مورد مطالعه دارای بافت سنگین بودند و مقدار رس آن‌ها از ۳۳ تا ۵۵ درصد متغیر بود. مقدار ماده‌ی آلی در خاک‌های مورد مطالعه از ۰/۳۴ تا ۹/۹۸ درصد متغیر بود. مقدار فسفر به روش اولسن در خاک‌های جنگلی مورد مطالعه از ۶/۷ تا ۱۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک متغیر بود و مقدار فسفر آلی در بیکربنات سدیم نیز از ۷/۸ تا ۲۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک بود. این نتایج نشان می‌دهد که خاک‌های مورد مطالعه دارای مقدار زیادی فسفر قابل جذب گیاه هستند و مجموع فسفر آلی و معدنی محلول در بیکربنات سدیم تا حدود ۳۰ میلی-گرم بر کیلوگرم خاک در برخی از آن‌ها می‌رسد. معمولا مقدار فسفر به روش اولسن در خاک‌های کود نخورده بسیار کم می‌باشد (خان میرزایی و همکاران، ۲۰۰۹). در پژوهشی که توسط خان میرزایی و همکاران (۲۰۰۹) در جنگل‌های گربایگان فسا انجام شده، مقدار فسفر به روش اولسن و فسفر آلی عصاره گیری شده با بیکربنات را کمتر از ۵ میلی گرم بر کیلوگرم خاک گزارش کردند. مقادیری به دست آمده در آزمایش حاضر (جدول ۱)، بیانگر غنی بودن خاک‌های مورد مطالعه از ترکیبات فسفر محلول و فعال بودن سازوکارهای انحلال فسفر در این خاک‌ها است.

جدول۱- برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مورد مطالعه

نمونه‌ها	٪ رس	٪سیلت	٪شن	٪کربنات کلسیم معادل	٪ماده آلی	فسفر اولسن (mg/kg)	فسفر آلی (mg/kg)
۱	۳۹/۰	۳۵/۱	۲۵/۸	۳۶/۲	۵/۷۹	۱۴/۶	۹/۲۷
۲	۳۳/۴	۵۹/۲	۷/۲۸	۴۶/۲	۹/۹۸	۱۷/۹	۱۳/۵۶
۳	۵۵/۴	۳۸/۷	۵/۸۴	۶۴/۴	۰/۳۴	۶/۷۵	۷/۸۰
۴	۴۳/۴	۲۹/۲	۲۷/۳	۵۵/۶	۲/۷۲	۱۰/۷	۲۱/۳
۵	۴۳/۴	۳۱/۲	۲۵/۳	۱۴/۴	۱/۳۶	۷/۳۰	۸/۴۰

از نتایج آزمون کیفی در مجموع ۴ قارچ حل کننده فسفر که هاله‌ی بزرگتری داشتند، جداسازی شد. نتایج حاصل از جداسازی قارچ‌های حل‌کننده فسفر نشان داد که دو نمونه‌ی خاک دارای قارچ‌های حل کننده فسفر بودند. از نمونه خاک‌های ۱ و ۴ هر کدام ۲ قارچ ریسه‌ای جداسازی گشت. مقادیر حاصل از بررسی کمی انحلال فسفر و pH اندازه‌گیری شده برای ۶ نوع قارچ جداسازی شده و نمونه شاهد، در جدول۲ آمده است.

جدول۲- pH محیط کشت و مقدار فسفر حل شده در زمان‌های مختلف توسط قارچ‌های انتخاب شده

کد قارچ	pH				فسفر محلول (میلی گرم بر لیتر)			
	زمان (روز)				زمان (روز)			
	۵	۱۰	۱۵	۲۰	۵	۱۰	۱۵	۲۰
شاهد	۶/۴۰	۵/۵۲	۶/۰۸	۵/۹۴	۸/۵۹	۱۵/۳	۱۷/۱	۲۸/۹
آسپرژیلوس*	۴/۳۴	۳/۷۶	۵/۱۸	۴/۸۸	۲۲۲	۴۲۹	۴۱۶	۷۲۲
آسپرژیلوس**	۳/۰۷	۲/۲۴	۲/۲۹	۲/۲۹	۶/۷۶	۱۶/۳	۲/۳۸	۱۰/۰
۱	۴/۴۶	۴/۲۱	۴/۲۵	۴/۳۶	۲۵۹	۴۸۲	۸۹۲	۵۷۶
۲	۴/۹۰	۴/۲۳	۴/۲۴	۴/۱۶	۱۱۶	۳۵۶	۳۴۸	۴۸۳
۳	۵/۶۱	۵/۶۷	۵/۷۷	۵/۴۲	۱۴/۸	۲۵/۱	۸۳/۰	۱۶۶
۴	۵/۸۶	۵/۶۱	۵/۵۰	۵/۱۷	۲۶/۹	۳۵/۵	۴۲/۸	۵۹/۹

آسپرژیلوس*، با تری کلسیم فسفات - آسپرژیلوس**، بدون تری کلسیم فسفات

میزان حل شدن فسفر توسط قارچ‌های جداسازی شده نسبت به شاهد به جز قارچ آسپرژیلوس بدون تری کلسیم فسفات، افزایش قابل ملاحظه‌ای را نشان داد و با افزایش زمان از ۵ روز به ۲۰ روز، انحلال فسفر افزایش یافت (جدول ۲). محدوده انحلال فسفر در تیمار فاقد قارچ در محدوده ۸/۵۹ تا ۲۸/۹ ، در قارچ آسپرژیلوس با تری کلسیم فسفات از ۲۲۲ تا ۷۲۲، در قارچ ۱ از ۲۵۹ تا ۵۷۶، در قارچ ۲ از ۱۱۶ تا ۴۸۳، در قارچ ۳ از ۱۴/۸ تا ۱۶۶ و در قارچ ۴ از ۲۶/۹ تا ۵۹/۹ میلی‌گرم بر لیتر بود. بیشترین مقدار انحلال فسفر در قارچ ۱ انجام شد که ۸۹۲ میلی گرم بر لیتر بود. این قارچ توانایی انحلال فسفر را در تمام مراحل به جز روز ۲۰، بیشتر از قارچ آسپرژیلوس نشان داد. جداسازی قارچ‌های حل کننده‌ی فسفر از این خاک‌ها رضایت بخش بود و جدایه‌هایی با قدرت بالای انحلال فسفر جداسازی گردید. محدوده pH در محیط رشد قارچ آسپرژیلوس با تری کلسیم فسفات، ۳/۷۶ تا ۵/۱۸ بود. در قارچ‌های ۱ و ۲ نیز، pH در محدوده ۵-۴ متغیر بود. در حالی که در قارچ آسپرژیلوس بدون تری کلسیم فسفات که کمترین توانایی حل نمودن فسفر را نشان داد، pH در محدوده ۳-۲ تغییر نمود. این نتیجه نشان می‌دهد کاهش pH محیط رشد به تنهایی مسئول حل شدن فسفر در محیط رشد قارچ نمی‌باشد. قارچ-های حل کننده فسفات از سازوکارهای متفاوتی برای انحلال ترکیبات فسفر در خاک استفاده می‌کنند که برای نمونه می‌توان از اسیدی شدن و کلاته شدن و یا تولید فیتو هورمون‌هایی مثل اسید ایندول استیک (IAA) نام برد (وایتلا، ۲۰۰۰؛ مهناز و لازارویتس، ۲۰۰۶). پیشنهاد می‌گردد ارزیابی توانایی انحلال سنگ فسفات قارچ‌های جداسازی شده در محیط کشت مصنوعی و محیط کشت بقایای آلی نیز بررسی گردد.

منابع

Khanmirzaei A, Adami E, Kowsar SA and Sameni AM, 2009. Organic and Inorganic Forms of phosphorus in a Calcareous Soil Planted with Four Species of Eucalyptus in Southern Iran'. Communications in Soil Science and Plant Analysis 40: 19,3194-3210.

Kuo S, 1996. Total organic phosphorus, In Methods of Soil Analysis. Sparks, D.L. (ed.), SSSA. Madison, WI.

Mehnaz S and Lazarovits G, 2006. Inoculation effects of Pseudomonas putida, Gluconacetobacter azotocaptans, and Azospirillum lipoferum on corn plant growth under green house conditions. Microbial Ecology 51: 326–335.

Reyes I, Bernier L, Regis Simard R, Antoun H, 1999. Effect of nitrogen source on the solubilization of different inorganic phosphates by an isolate of *Penicillium rugulosum* and two UV-induced mutants, FEMS. Microbiology Ecology 28: 281-290.

Whitelaw MA, 2000. Growth promotion of plants inoculated with phosphate sol-ubilizing fungi. Advance in Agronomy. 69: 99–151.

Wu SC, Cao ZH, Li ZG, Cheung KC and Wong MH, 2005. Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. Geoderma 125(1-2): 155-166.

آنالیز عنصری و گروه های عاملی در اسید هیومیک مستخرج از ورمی کمپوست

نداجدیدالاسلام [1] ، شاهین شاهسونی[2]، حمیدرضا اصغری[3]
1- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه صنعتی شاهرود،2 - استادیار گروه علوم خاک دانشگاه صنعتی شاهرود، 3- دانشیار گروه زراعت دانشگاه صنعتی شاهرود

مقدمه

امروزه به دلیل افزایش اهمیت مسائل زیست محیطی توجه بیشتری به کودهای زیستی (بیولوژیک) برای جایگزینی با کودهای شیمیایی شده است. از آنجا که مدیریت کود از عوامل اصلی در نیل به کشاورزی پایدار محسوب می گردد، لذا جایگزینی تدریجی کودهای زیستی به دلیل مزایای نسبی این کودها و به علاوه ارزانی آنها نسبت به کودهای شیمیایی خصوصاً کودهای نیتروژنی و فسفاتی می تواند بار سنگین یارانه را از دوش دولت برداشته و گامی دیگر در جهت شکوفایی اقتصاد کشور به حساب آید. از طرف دیگر مصرف کودهای زیستی بدون نگرانی از اثرات سوء زیست محیطی غالباً موجب بهبود شرایط فیزیکی- شیمیایی و زیستی خاک ها شده، افزایش حاصلخیزی و باروری اراضی را به دنبال دارند (پیر انوشه و همکاران، 1389).

اورلو و بیریوکووا (1996)، گزارش دادند که ورمی کمپوست منبع غنی از مواد هیومیک بوده و دارای 36-17٪ اسید هیومیک و 30-13٪ اسید فولویک است. مواد هیومیک بخش اصلی و مهم تشکیل‌دهنده مواد آلی طبیعی در خاک است. (وانگ و همکاران، 2007) اسید هیومیک بخش خاص و با ثباتی از مواد هوموسی است که دارای تعامل با طیف گسترده ای از مواد از جمله فلزات و آلاینده‌های آلی موجود در آب و خاک می باشد(یتس و همکاران، 1997). مقدار اسید هیومیک استخراج شده به نوع عصاره گیر، زمان عصاره گیری، شرایط استخراج و نوع بستر آلی اولیه (منبع استخراج اسید هیومیک) استخراج بستگی دارد (استیونسون، 1994).

گروه های عاملی در مواد هیومیک به احتمال زیاد در عرضه مواد مغذی به ریشه های گیاه و سیستم های زیستی در خاک تاثیر دارند (اشنیتزر و دسجاردینز، 1965).

باتوجه به اینکه وجود گروه های عاملی و میزان عناصر موجود در اسید هیومیک مستخرج از ورمی کمپوست مساله بسیار مهمی می باشد بنابراین تحقیق حاضر میزان عناصر و همچنین گروه های عاملی موجود را بررسی می کند.

مواد وروش ها

آنالیز عنصری اسید هیومیک

ترکیبات عنصری C، H، N و S در نمونه های اسید هیومیک با دستگاه آنالایزر (ElementarAnalysen System GmbH Vario EL) اندازه گیری شد. محتوای O نیز از اختلاف درصد بقیه عناصر طبق فرمول زیر محاسبه شد (نمونه های خاکستر بدون آب): O%= 100 - (C+H+N+S)% . مقدار خاکستر نیز برای نمونه های جامد اسید هیومیک بر حسب درصد پس سوزاندن نمونه ها در کوره الکتریکی با دمای 480 درجه به مدت 8 ساعت محاسبه شد.

اندازه گیری گروههای عاملی اسید هیومیک

اسیدیته کل و گروههای کربوکسیلی طبق روش پیشنهادی پیج، (1982) اندازه گیری شد و همچنین گروههای عاملی OH–فنلی نیز از تفاضل بین اسیدیته کل و گروههای کربوکسیلی محاسبه گردید (پیج، 1982).

اسیدیته کل

100- 50 میلی گرم از اسید هیومیک (فریز شده به صورت خشک) را داخل ارلن 125 میلی لیتری در پوش دار ریخته و دقیقا 20 میلی لیتر باریم هیدروکسید ($Ba(OH)_2$) 0/2 مولار اضافه شد. ارلن با اتمسفر گاز نیتروژن (با پر کردن محفظه خالی با گاز نیتروژن و بستن در پوش آن به منظور جلوگیری از خروج گاز نیتروژن) به مدت 24 ساعت و در دمای اتاق و با شدت 150 rpm شیک گردید. سوسپانسیون با کاغذ صافی فیلتر شد و باقی سوسپانسیون نیز با آب مقطر جوشانیده شده (بدون CO_2) شسته شد. محلول تهیه شده با اسید HCL 0/5 مولار تا زمانی که pH به 8/4 برسد تیتر شد. اسیدیته کل طبق فرمول زیر محاسبه گردید که Vb و V_s به ترتیب حجم اسید مصرفی (ml) برای نمونه شاهد و نمونه اسید هیومیک است و Na نرمالیته اسید مصرفی (مول بر لیتر) و P وزن نمونه اسید هیومیک (mg)، At اسیدیته کل بر حسب میلی اکی والان بر گرم ($mmol\ g^{-1}$) مواد هیومیک است.

$$A\ t = 1{,}000(V\ b - V\ s)\ Na\ /P.$$

گروه های کربوکسیل

100- 50 میلی گرم از اسید هیومیک (فریز شده به صورت خشک) را داخل ارلن 125 میلی لیتری در پوش دار ریخته و دقیقا 10 میلی لیتر کلسیم استات (Ca(CH 3 COO)2) ا مولار و 40 میلی لیتر آب مقطر جوشانیده شده (بدون CO_2) اضافه شد. طبق روش قبلی شیک شد و محلول مورد آزمایش تهیه شد و با سود 0/1 مولار تا زمانی که pH به 9/8 برسد تیتر شد. گروه های کربوکسیلی طبق فرمول زیر محاسبه گردید که Vb و Vb به ترتیب حجم سود مصرفی (ml) برای نمونه اسید هیومیک و نمونه شاهد بود و و Nb نرمالیته باز مصرفی (مول بر لیتر) و P وزن نمونه اسید هیومیک (mg)، Ac گروه های کربوکسیلی کل بر حسب میلی اکی والان بر گرم ($mmol\ g^{-1}$) مواد هیومیک است.

$$A\ c = 1{,}000(V\ s - V\ b)\ N\ b\ /P.$$

گروه های OH-فنولی

از تفاضل اسیدیته کل با گروه های کربوکسیلی بدست آمد.

نتایج و بحث

طبق نتایج حاصله از این تحقیق اسید هیومیک استخراج شده از ورمی کمپوست از لحاظ مقدار گروه های عاملی با اسید هیومیک هایی که از خاک استخراج شده بودند تقریبا در یک محدوده می باشند (جدول 1). مقادیر گروه های عاملی نقش بسیار مهمی در حاصلخیزی خاک دارد و با افزایش بار منفی در اسید هیومیک (گروه های

کربوکسیلی و OH-فنلی)، این بخش با ثبات ماده آلی ورمی کمپوست می تواند نقش مهم تر و بهتری در قابلیت جذب عناصر و همچنین خاکدانه سازی در خاک را ایفا کند. اثبات شده است که، موادآلی بر روی خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و زیستی تاثیرات مطلوبی دارد که همین امر در مجموع باعث افزایش حاصلخیزی خاک و همچنین افزایش توان خاک برای رشد بهینه گیاهان خواهد شد. از جمله خصوصیات هوموس به عنوان موادآلی کاملا تجزیه شده، می توان به افزایش قدرت جذب و نگهداری عناصر غذایی نظیر فسفر، منگنز، بور، آهن و روی در خاکهای زراعی اشاره کرد (اشنیتزر[1]، 1978).

جدول 1- مقایسه گروه های عاملی اسید هیومیک استخراج شده از ورمی کمپوست (در این تحقیق) با تحقیقات قبلی(استونسون1994)(cmol/kg).

	اسیدیته کل	کربوکسیلی کل	OH-فنلی
گزارشات قبلی	890 -560	570 -150	570 -210
در این تحقیق	570	301	269

طبق نتایج حاصله از این تحقیق اسید هیومیک استخراج شده از ورمی کمپوست از لحاظ عناصر تشکیل دهنده باعناصر تشکیل دهنده اسید هیومیک هایی که از خاک استخراج شده بودند تقریبا در یک محدوده می باشند. (جدول2)

با توجه به نقش کلیدی آنالیز عنصری و عناصر تشکیل دهنده و همچنین نسبت های بین عناصر ساختاری اسید هیومیک فعالیت و نقش آن در خاک انجام می پذیرد برای مثال نسبت H/C بیان کننده ی نسبت اشباع شدگی اسید هیومیک می باشد به عبارت دیگر با افزایش این نسبت مواد هیومیک اشباع تر می شوند (استونسون 1994; کامپیتلی و همکاران، 2006). همچنین این نسبت بیان کننده نسبت ترکیبات آروماتیک می باشد و با افزایش این نسبت ترکیبات آروماتیک افزایش و بر ترکیبات آلیفاتیک کاهش می یابد (امیر[2] و همکاران، 2008 و 2010). از نسبت O/C نیز برای شناسایی تیپ های مختلف مواد هیومیک استفاده میشود. درصد خاکستر معیار مهم برای کیفیت و حاصلخیزی خاک محسوب می شود و هرچه این مقدار کمتر شود در واقع واکنش پذیری مواد هیومیک در خاک افزایش می یابد

جدول2-مقایسه درصد وزنی عناصر تشکیل دهنده اسید هیومیک استخراج شده از ورمی کمپوست (در این تحقیق) با تحقیقات قبلی (پیج، 1982) (بر اساس درصد وزن خشک)

	خاکستر	S	N	O	H	C
گزارشات قبلی	3/7 -0/8	2/4 -1/7	5/0 -3/5	33-30	5/0 -3/0	62 -52

[1]Schnitzer
[2] Amir

در این تحقیق	2/6	0/5	3/7	37/1	3/9	54/8

نتیجه گیری

یکی از نتایج این تحقیق اینست که اسید هیومیک استخراج شده از ورمی کمپوست با اسید هیومیک استخراج شده از خاک از نظر گروه های عاملی و آنالیز تفاوتی ندارد و می توان برای افزایش ماده آلی خاک و به طبع آن اسید هیومیک خاک ورمی کمپوست استفاده می گردد و یا مواد هیومیک را از ورمی کمپوست استخراج و در خاک استفاده کرد.ورمی کمپوست به عنوان یک منبع غنی از هیومیک می تواند نقش کلیدی در افزایش ماده آلی خاک داشته باشد اسید هیومیک استخراج شده از ورمی کمپوست دارای مقدار زیادی گروه های عاملی و درصد بالایی از عناصر ساختاری مثل نیتروژن و گوگرد و اکسیژن می باشد که می تواند عملکرد این اسید هیومیک استخراج شده از آنرا در خاک بیافزاید.

منابع

پیر انوشه، ه. و جمالی، امام.، 1389, مقایسه اثر کودهای زیستی با کودهای شیمیایی بر رشد، عملکرد و درصد روغن آفتابگردان (Helianthus *annuss* L.) در سطوح مختلف تنش خشکی. نشریه بوم شناسی کشاورزی، ، ج 2، ش 3، ص 501-492.

Orlov D and Biryukova ON, 1996 Humic substances of vermicomposts. Agrokhimiya, 1996; 12: 60-67

Wang Q, Wei S, Huang Y and Zhang J, 2007. Characteristics of isothermal adsorption and desorption of aluminum ionto/from humic acids. Resources and Environment.

Yates L, Engebreston R and Haakenson TJ, R. Von wandruszka, Anal Chim. Acta, 1997 .356, 295–301.

Stevenson FJ,1994. Humus Chemistry Genesis, Composition, Reactions: John Wiley & Sons, New York.

Schnitzer M, and Desjardins JG, 1965. Carboxyl and phenolic hydroxyl groups in some organic soils and their relation to the degree of humification. Can. J. Soil Sci . Vol. 45.

Page AL, 1982 Methods of Soil Analysis. Agronomi 9, ASA, SSSA, Madison, Wiscosin, USA.

Campitelli PA, Velasco MI and Ceppi SB, 2006. Chemical and physicochemical characteristics of humic acids extracted from compost, soil and amended soil. Talanta; 69, 1234–1239

Amir S, Jouraiphy A, Meddich A , Gharous ME , Winterton P and Hafidi M, 2010. Structural study of humic acids during composting of activated sludge-green waste: Elemental analysis, FTIR and 13C NMR. J Hazard Mater 2010; 177: 524–529.

تاثیر کاربرد لجن فاضلاب بر برخی خصوصیات بیولوژیکی خاک

مریم فتحی[۱]، مصطفی چرم[۲]، نعیمه عنایتی ضمیر[۳]
۱- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه شهید چمران اهواز،۲- دانشیار گروه علوم خاک دانشگاه شهید چمران اهواز
۳- استادیار گروه علوم خاک دانشگاه شهید چمران اهواز

مقدمه

لجن فاضلاب با دارا بودن مواد آلی به عنوان منبعی کلان از عناصر میکرو و ماکرو به شمار می‌رود که بر خصوصیات فیزیکی (ظرفیت نگهداشت آب، نفوذپذیری خاک، تهویه و...) و شیمیایی (ماده آلی، pHخاک، هدایت الکتریکی، ظرفیت تبادل کاتیونی، افزایش غلظت عناصر سنگین و...) خاک و در نتیجه بر خصوصیات بیولوژیکی آن اثرگذار است. زمان و همکاران (۲۰۰۴)، اظهار داشتند که استفاده از پساب و لجن های صنعتی و شهری به دلیل دارا بودن کربن و نیتروژن می‌توانند اثرات مفیدی بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و بیولوژیکی خاک داشته باشند. گارسیا و همکاران (۲۰۰۴)، بیان کردند که به منظور اطمینان از موثر بودن و بی خطر بودن فاضلاب‌ها به عنوان یک اصلاح کننده در خاک، کنترل و بررسی کیفیت شیمیای این مواد ضروری است و به همین منظور اثر این مواد را بر شاخص‌های بیولوژیکی اندازه‌گیری می‌کنند. امروزه شاخص‌های کیفی حساس خاک که اثر این‌گونه مواد کاربردی در خاک را بازتاب می‌کنند، رو به گسترش است. سانگ و لی (۲۰۱۰) با ارزیابی جنبه‌های اقتصادی و زیست محیطی مصرف لجن فاضلاب بر خاک و گیاه گزارش نمودند، لجن فاضلاب باعث بهبود خصوصیات خاک مانند رطوبت، ماده آلی، تنفس، تخلخل و وزن مخصوص ظاهری می-گردد، که از این رو بر خصو صیات بیولوژیکی خاک نیز اثرگذار است.

در این پژوهش اثر لجن فاضلاب بر میزان تنفس، جمعیت میکروبی و زیتوده خاک قبل از کشت و بعد از برداشت گیاه ذرت مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

نمونه‌ی خاک از مزرعه دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز نمونه‌برداری و پس از هوا خشک شدن از الک ۲ میلی‌متری گذرانده شد و برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک شامل: بافت خاک به روش هیدورمتری(اسپارک،۱۹۶۶)، pHدر گل اشباع (اسپارک ۱۹۹۶)، EC در عصاره گل اشباع (اسپارک، ۱۹۹۶)، نیتروژن کل به روش کجلدال (اسپارک، ۱۹۹۶)، ماده آلی به روش اکسایش تر (اسپارک، ۱۹۹۶)، فسفر قابل جذب به روش اولسن (اسپارک، ۱۹۹۶)،کلسیم و منیزیم به روش تیتراسیون با ورسین (ژوپتا، ۲۰۰۴) اندازه‌گیری گردید. نمونه لجن فاضلاب نیز از تصفیه‌خانه غرب اهواز جمع‌آوری و پس از هوا خشک شدن و عبور دادن از الک ۲ میلی‌متری برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن اندازه‌گیری شد(جدول ۲).

جدول ۱- برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی اولیه خاک مورد مطالعه

پارامتر	pH	ECe dSm-1	ماده آلی ٪	ازت ٪	بافت	فسفر قابل جذب mgkg-1	Ca meq/lit	Mg meq/lit
نمونه خاک	۷/۶۷	۱/۶۲	۰/۴۴	۰/۱۳۲	سیلتی لوم	۸/۷	۸/۴۷	۵/۳

جدول ۲- برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی لجن فاضلاب مورد مطالعه

نمونه	pH*	EC* dSm^{-1}	ماده آلی ٪	ازت ٪	رطوبت وزنی٪	فسفر کل $mgkg^{-1}$	Ca** $mgkg^{-1}$	Mg** $mgkg^{-1}$
لجن فاضلاب	۷/۷۵	۸/۲	۲۰/۵	۱/۵	۳۰/۲۱	۸۶۵۰	۶۶/۹	۳۱/۷۵

*: در عصاره یک به ۲ لجن فاضلاب اندازه‌گیری شد.

** : در عصاره خاکسترگیری شده لجن فاضلاب اندازه‌گیری شد.

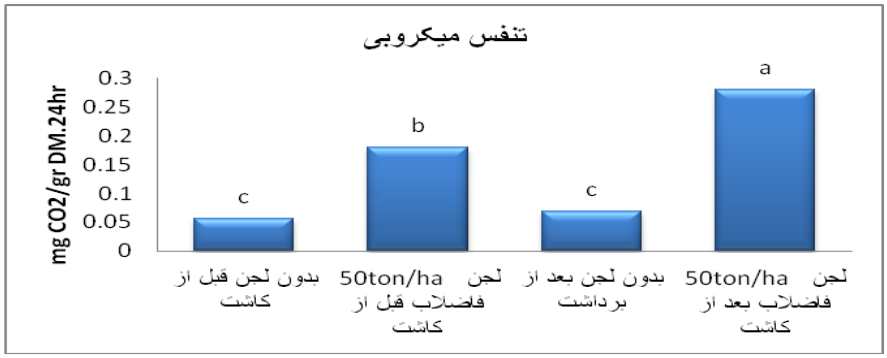
به منظور اعمال تیمار لجن فاضلاب خاک با دو سطح صفر و ۵۰ تن در هکتار لجن فاضلاب مخلوط گردید. بدین ترتیب که پس از کوبیدن و عبور دادن لجن فاضلاب از الک ۲ میلی‌متری ۶ هفته قبل از کشت ذرت به خاک‌ها اضافه شد. سپس گلدان‌ها در شرایط مناسب رطوبتی برای تجزیه اولیه فاضلاب و افزایش تأثیر آن در خاک قرار داده شدند. بعد از ۶ هفته کود NPK به مقدار لازم به گلدانها اضافه و بذر ذرت رقم سینگل کراس ۷۰۴ به تعداد سه بذر در هر گلدان کاشته شد و پس از استقرار بوته به یک بوته تنک شد. رطوبت خاک نیز در حد ۷۰ درصد ظرفیت زراعی حفظ شد. ۷۸ روز پس از کاشت، گیاهان برداشت شدند و خاک تازه گلدان‌ها جهت انجام آزمایشات استفاده شد. تنفس میکروبی خاک به روش اندرسون و همکاران(۱۹۸۲) قبل از کاشت و بعد از برداشت، کربن توده زنده میکروبی به روش تدخین- استخراج (جنکینسون و لاد ۱۹۸۲) و جمعیت میکروبی از روش تهیه سری رقت و شمارش تعداد کلونی‌های قابل مشاهده (کفیل زاده و همکاران ۲۰۰۹) اندازه گیری شدند. نتایج این پژوهش در قالب طرح کاملا تصادفی مورد ارزیابی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها شامل تجزیه واریانس (ANOVA) و مقایسه میانگین به روش دانکن با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۷ انجام شد.

نتایج و بحث

اثر لجن فاضلاب و کشت ذرت بر تنفس میکروبی در شکل ۱ نشان داده شده است. تنفس خاک بهترین شاخص برای سنجش فعالیت ریزجانداران تجزیه کننده مواد آلی می‌باشد. اثر لجن فاضلاب بر تنفس میکروبی خاک در سطح ۰/۰۰۱ معنی‌دار شد همچنین کشت ذرت نیز بر تنفس میکروبی خاک اثر معنی داری ($p<0.001$) داشت. اما بین مقدار تنفس میکروبی خاک بدون لجن فاضلاب، قبل از کاشت و بعداز برداشت ذرت اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

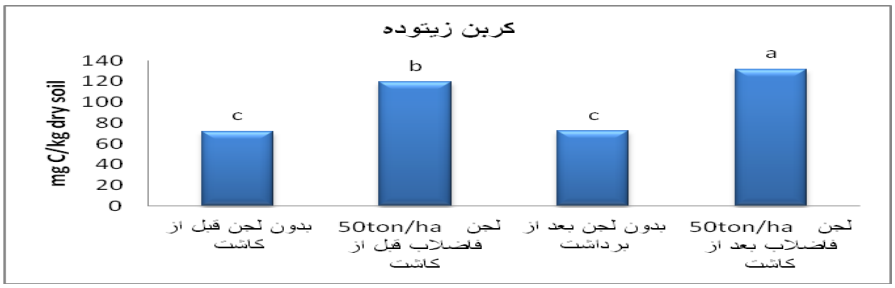
فرناندس و همکاران(۲۰۰۵) نشان دادند که استفاده از لجن فاضلاب باعث افزایش میزان تنفس خاک می‌شود. قربانی و همکاران (۱۳۸۷)، در بررسی تغییرات تنفس میکروبی در برابر افزایش عناصر سنگین در لجن، به این نتیجه رسیدند که غلظت پایین و در حد متعارف عناصر سنگین تأثیر منفی بر تنفس خاک نخواهد داشت و سبب افزایش تنفس میکروبی خاک می‌گردد. تفاوت میان داده‌ها که در نتایج مطالعات وجود دارد کاملا بستگی به خصوصیات خاک از جمله (مواد آلی، نسبت C/N، مقدار مواد غذایی و...) و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک دارد. دمای خاک، مقدار رطوبت و مواد آلی خصوصیاتی هستند که بیشترین تأثیر را بر فعالیت، تراکم جمعیت و اکولوژی جانداران ریز خاک دارد. به طور قابل توجه بافت خاک نیز می‌تواند به طور موثری بر تنفس خاک

تأثیرگذار باشد. مثلا در بافت‌های شنی یا رسی کاهش تنفس مشاهده شده است. اگرچه میکروب‌های خاک در تنفس کل خاک سهم عمده‌ای دارند اما مطالعات اندکی در ارتباط بین تنفس خاک و فعالیت میکروبی وجود دارد.



شکل ۱- اثر لجن فاضلاب و کشت ذرت بر تنفس میکروبی خاک

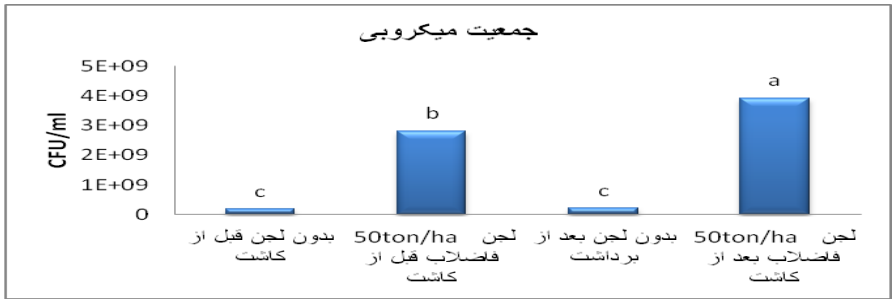
اثر لجن فاضلاب و کشت ذرت بر کربن توده زنده میکروبی در شکل ۲ نشان داده شده است. اثر لجن فاضلاب بر کربن توده زنده میکروبی خاک در سطح ۰/۰۰۱ معنی دار شد و کشت ذرت نیز بر کربن توده زنده میکروبی خاک اثر معنی دار داشت اما بین مقدار کربن توده زنده میکروبی در تیمار بدون لجن قبل از کاشت و بعد از برداشت ذرت اختلاف معنی داری مشاهده نگردید. زیست توده میکروبی برای تعیین سطح پاسخ میکروبی خاک نسبت به مدیریت، تغییرات زیست محیطی، بهم خوردگی محل و جمعیت خاک اندازه‌گیری می‌شود. حجتی و همکاران(۱۳۸۵)، نشان دادند افزایش لجن فاضلاب سبب افزایش معنی دار بیومس میکروبی و عملکرد گیاه ذرت نسبت به شاهد می‌گردد. فرناندز و همکاران (۲۰۰۵)، نشان دادند که تنفس پایه، توده زنده میکروبی و فعالیت آنزیمی خاک ارتباط مثبتی با مقدار لجن داشتند و با افزایش مقدار لجن، این پارامترها در خاک افزایش یافتند.



شکل۲- اثر لجن فاضلاب و کشت ذرت بر کربن زیتوده خاک

اثر لجن فاضلاب و کشت ذرت بر جمعیت میکروبی در شکل ۳ نشان داده شده است. اثر لجن فاضلاب بر جمعیت میکروبی خاک در سطح ۰/۰۰۱ معنی‌دار شد همچنین کشت ذرت نیز بر جمعیت میکروبی خاک اثر معنی داری ($p<0.001$) داشت. اما بین مقدار جمعیت میکروبی خاک بدون لجن فاضلاب، قبل از کاشت و بعداز برداشت ذرت اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. حجتی و همکاران (۱۳۸۵)، کاربرد سطوح مختلف لجن را بر شاخص بیومس میکروبی خاک بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که افزایش سطح لجن باعث افزایش این شاخص شده است و دلیل آن را افزایش سطح کربن آلی دانستند، با افزایش کربن آلی میزان سوبسترای مورد

نیاز جمعیت‌های میکروبی هتروتروف افزوده شده و ناگزیر جمعیت میکروبی افزایش می‌یابد. لجن فاضلاب اثر قابل توجهی روی فعالیت و جمعیت میکروبی خاک دارد. جمعیت میکروبی به عنوان شاخصی از تغییرات کیفیت خاک است. کاربرد لجن می‌تواند جمعیت و فعالیت میکروبی خاک را به سبب افزایش کربن قابل دسترس و عناصر غذایی افزایش دهد و هم به سبب حضور فلزات سنگین و دیگر آلوده کننده‌ها، آن را کاهش دهد (چلویی، ۱۳۹۰).



نمودار۳- اثر لجن فاضلاب و کشت ذرت بر جمعیت میکروبی خاک

مطابق نتایج ارائه شده در این تحقیق و تحقیقات سایرین مشاهده می‌شود که لجن فاضلاب اثرات مثبتی بر خصوصیات بیولوژیکی خاک دارد و در سطح و شرایط بکار رفته شده سبب افزایش تنفس، بیومس و جمعیت میکروبی خاک آلوده به لجن فاضلاب نسبت به خاک غیرآلوده می‌شود، پس استفاده از لجن فاضلاب با رعایت سایر اصول زیست‌محیطی در خاک‌ها توصیه می‌شود.

منابع

چلویی، م. (۱۳۹۰). جداسازی اثرات لجن فاضلاب و ازدیاد فعالیت میکروبی بر غلظت و توزیع گونه های شیمیایی عناصر روی و کادمیم درخاک. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه شهید چمران.

حجتی، س. نوربخش، ف و خاوازی، ک. ۱۳۸۵. تأثیر لجن فاضلاب بر شاخص بیومس میکروبی خاک، فعالیت آنزیمی و عملکرد ذرت. مجله علوم خاک و آب، جلد ۲۰، شماره ۱. ص، ۹۳-۸۴.

رضایی نژاد، ی. و افیونی ، م. ۱۳۷۹. اثر مواد آلی بر خواص شیمیایی خاک، جذب عناصر به وسیله ذرت و عملکرد آن، مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی. ۴ (۴) : ۲۸-۱۹.

Garcia-Gil, J. C. Plaza, C, Senesi, N. Bruneti, G and Polo, A. 2004. Effect of sewage sludge amendment on humic acids and microbiological properties of a semiarid Mediterranean soil. Biology and Fertility of Soils. 39: 320-328.

Kafilzade, F., Mirzaei, N and Krgar. M. 2009. Isolation and identification of mercury resistant bacteria from water and sediment of Kor River. Iran. Journal of Microbial World. (1):43-49.

Zaman, M., Matsushima, M.,Chang, S. X., Inubushi, K. Nguyen, L. Goto, F. and Yoneyema, T. 2004. Nitrogen mineralization, N2O production and soil microbiological properties as affected by long-term application of sewage sludge compost. Biology and Fertility of soils. 40: 101-109.

ارزیابی ترکیب جمعیت میکروبی خاک‌های متأثر از شوری و پوشش گیاهی، با استفاده از الگوی اسید چرب فسفولیپیدی

محسن برین[۱]، ناصر علی اصغرزاد[۱]، میرحسن رسولی صدقیانی[۲]، مهدی مهیجی[۳]، حسین پوریوسف[٤]، مهناز حیدری ریکان[٥]
۱ به‌ترتیب دانشجوی دکتری و استاد گروه علوم خاک دانشگاه تبریز؛ ۲ دانشیار گروه علوم خاک دانشگاه ارومیه؛
۳ دانشجوی دکتری اصلاح نبات دانشگاه تبریز؛ ٤ دانشجوی علوم خاک دانشگاه ارومیه؛ ٥ عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی ارومیه

مقدمه

تاکنون مطالعات، پروژه‌ها و همایش‌های مختلف در مورد پیامدهای افزایش شوری برتغییر پوشش گیاهی در اکوسیستم بالای سطح زمین[۱] صورت گرفته، اما به ندرت مطالعه‌ای در مورد اثرات شوری، پوشش گیاهی و تنش‌های مختلف محیطی بر اکوسیستم زیر سطح زمین[۲] انجام شده‌است. خاک یک سیستم بیولوژیک، پویا و پیچیده می‌باشد. قسمت عمده‌ای از این پیچیدگی را می‌توان به دلیل بخش زنده خاک دانست (نانی‌پیری و همکاران، ۲۰۰۳). هستی بخش توانا مدیریت خاک را به طور طبیعی به موجودات خاکزی سپرده است و برای انجام چنین کاری توانایی لازم را در طبیعت آنها نهاده‌است. (صالح راستین، ۱۳۸۴). در این میان جوامع میکروبی خاک نقش حیاتی و محوری در تجزیه مواد آلی، چرخه عناصر، حاصلخیزی خاک و سلامت گیاهان ایفا می‌کنند (بینگ رو و همکاران، ۲۰۰۶). به همین دلیل برای ارزیابی تغییرات در اکوسیستم خاک، نیاز به تکنیک‌ها و روش‌هایی دارد که بتوان جوامع میکروبی خاک را شناسایی و مورد سنجش قرار داد. یک روش نسبتاً سریع برای ارزیابی زیست توده و ترکیب جوامع میکروبی در خاک استفاده از الگوهای اسید چرب فسفولیپیدی (PLFA) می‌باشد. تجزیه PLFA ترکیب جوامع میکروبی، بیوماس هر گروه و وضعیت تغذیه‌ای – فیزیولوژیکی جوامع میکروبی را برآورد می‌نماید (کاردون و گیج، ۲۰۰۶).

مواد و روشها

نمونه‌برداری از مزارع یونجه، پیاز و همچنین سالیکورنیا از شورزارهای دشت تبریز با شوری‌های متفاوت انجام شد. به ترتیب از مزارع پیاز و یونجه ۳۹ و ۲۹ نمونه مرکب، وهمچنین ۲۶ نمونه مرکب خاک و ریشه سالیکورنیا از شورزارهای دشت تبریز بر داشت شد و در داخل کلمن حاوی یخ به آزمایشگاه منتقل گردید. حدود ۱۰۰ گرم

[1] Aboveground
[2] Underground

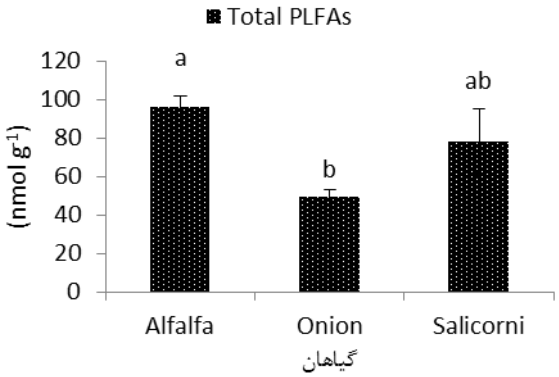
خاک داخل پلاستیک، برای تجزیهPLFA و NLFA در فریزر (۲۰- درجه سلسیوس) قرار داده‌شد حدود یک کیلوگرم خاک برای انجام آزمایش‌های فیزیکی و شیمیایی مورد استفاده قرار گرفت. برای استخراج اسیدچرب از روش فراست گارد و همکاران (۱۹۹۱) استفاده شد. این روش شامل چهار مرحله می باشد: مرحله اول استخراج چربی، مرحله دوم (جدا سازی چربی‌ها)، مرحله سوم (متیلاسیون و تشکیل اسید چرب متیل استر (FAME)) و مرحله چهارم (تجزیه کروماتوگرافی گازی (GC)) می‌باشد. فراوان‌ترین اسیدهای چرب فسفولیپیدی مورد استفاده برای باکتری‌های گرم منفی شامل: 16:1ω7t، 18:1ω7، cy17:0 و cy19:0 بوده در صورتی که فراوان‌ترین اسیدهای چرب فسفولیپیدی مورد استفاده برای باکتری‌های گرم مثبت شامل i14:0، i15:0، i16:0 و a17:0 بود. اسیدهای چرب فسفولیپیدی 10Me16:0، 10Me17:0 و 10Me18:0 به عنوان نشانگرهای زیستی برای اکتینومیست‌ها، اسید چرب فسفولیپیدی 18:2ω6,9 برای قارچ‌های ساپروفیت و اسید چرب خنثی 16:1ω5 NLFA برای قارچ‌ریشه آربوسکولار مورد استفاده قرار گرفتند (السن و همکاران، ۱۹۹۵؛ علی اصغرزاد و همکاران، ۲۰۱۰؛ برین و همکاران، ۲۰۱۳). داده‌های حاصل از اندازه‌گیری خصوصیات فیزیکی، شیمیائی، و NLFA و PLFA خاک با کاربرد تجزیه عامل‌ها به روش تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) به منظور گروه‌بندی و کاهش حجم جامعه صورت گرفت.

نتایج و بحث

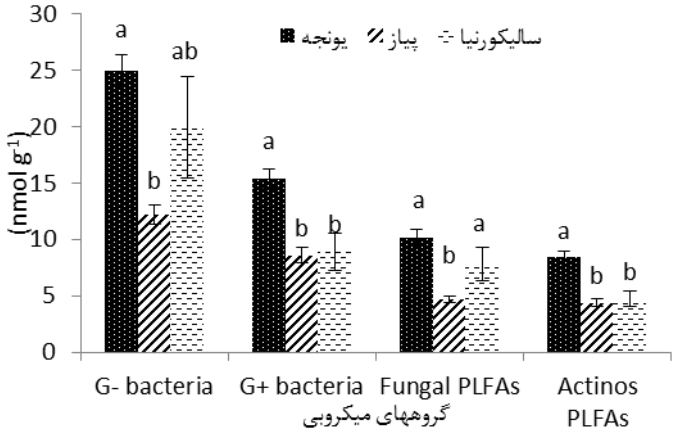
یکی از فرضیه‌های این بود که بیشترین جمعیت میکروبی در خاک اطراف ریشه یونجه (به‌دلیل شرایط مناسب از نظر گیاه، خاک و رطوبت) و کمترین جمعیت میکروبی در خاک اطراف ریشه سالیکورنیا (به‌دلیل شوری نسبتاً بالا و شرایط نامناسب خاک) مشاهده شود. در حالی‌که بیشترین (۳۴۷/۶ نانومول بر گرم) و کمترین (۱۵/۴ نانومول بر گرم) مقدار PLFA کل در خاک اطراف ریشه سالیکورنیا بدست آمد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد (شکل ۱) که بین نمونه‌های خاک اطراف ریشه سالیکورنیا و دو گیاه دیگر از نظر این صفت اختلاف معنی‌دار وجود نداشت در حالی‌که بین یونجه و پیاز اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. بیشترین و کمترین میانگین به ترتیب مربوط به یونجه و پیاز بود. نکته قابل تامل این بود که بیشترین مقدار PLFA کل در خاک اطراف ریشه سالیکورنیا با شوری بسیار بالا (حدود ۷۴-۶۵ میلی‌موس بر سانتیمتر) بدست آمد که حتی بیشتر از نمونه‌های خاک اطراف ریشه یونجه بود. با توجه به نتایج بدست آمده از نمونه خاک‌های لجن دریاچه، می‌توان بیان داشت که احتمالاً

مواد آلی می‌توانند تحمل به شوری را در میکروب‌ها افزایش دهند چون میکروب‌ها برای مقابله با استرس شوری، سنتز و تولید ترکیبات تنظیم کننده فشار اسمزی (ترکیبات آلی مثل گلوتامین، پرولین، گلایسین، بتائین و غیره) می‌کنند که برای تولید این ترکیبات نیاز به مقدار زیادی انرژی دارند که این انرژی را از مواد آلی کسب می‌کنند (اورن، ۱۹۹۹). از جمله دلایل پایین بودن جمعیت میکروبی خاک اطراف ریشه پیاز، احتمالاً به دلیل استفاده بسیار زیاد از ماسه (خاک‌های شنی به‌دلیل دارا بودن بافت درشت، دارای خلل و فرج درشت بیشتر و سطح ویژه پایین و بار الکتریکی جزیی، فاقد ظرفیت نگهداری عناصر و مواد غذایی و آب کافی، برای میکروارگانیسم‌های خاک می‌باشند)، کاربرد سموم کشاورزی، وجود احتمالی ماده آلیسین (یک ماده ضد قارچ و باکتری) در مواد مترشحه گیاه پیاز و همچنین اغلب میکروارگانیسم‌ها در داخل میکروپورهای خاکدانه‌ها وجود دارند و در خاک شنی به‌دلیل عدم وجود ساختمان مناسب خاک و فقدان یا حداقل خاکدانه-سازی، جمعیت میکروبی به شدت پایین می‌باشد (کانگ، ۲۰۰۵) هچنین می‌توان بیان داشت که جمعیت میکروبی در نمونه‌های خاک اطراف ریشه گیاهان مختلف به‌صورت زیر می‌باشد (شکل ۲).

اکتینومیست‌ها < قارچ‌های ساپروفیت < باکتری‌های گرم مثبت < باکتری‌های گرم منفی



شکل ۱- اسید چرب فسفولیپید کل در خاک اطراف گیاهان مختلف



شکل ۲- اسید چرب فسفولیپیدی گروه‌های مختلف میکروبی

منابع

صالح راستین، ن. ۱۳۸۴. مدیریت پایدار از دیدگاه بیولوژیک خاک. ضرورت تولید صنعتی کودهای بیولوزیک در کشور (مجموعه مقالات – چاپ دوم). انتشارات سنا، تهران، ایران. ۳۱-۵.

Aliasgharzad, N., Mårtensson, L.M., Olsson, P.A. 2010. Acidification of a sandy grassland favours bacteria and disfavours fungal saprotrophs as estimated by fatty acid profiling. Soil Biol. Biochem., 42: 1058-1064.

Barin, M., Aliasgharzad, N., Olsson, P.A., Moghaddam, M., Rasoli-Sadaghiani, M.H. 2013. Abundance of arbuscular mycorrhizal fungi in relation to soil salinity around Lake Urmia in northern Iran analyzed by use of lipid biomarkers and microscopy. Pedobiology, DOI: 10 1016.

Bing-Ru, L., Guo-Mei. J., Jian, C., and Gang, W. 2006. A Review of Methods for Studying Microbial Diversity in Soils. Pedosphere, l6: 18-24

Cardon, Z.G. and Gage, D.J. 2006. Resource exchange in the rhizosphere: molecular tools and the microbial perspective. Ann. Rev. Ecol. Evol. System., 37: 459–488.

Frostegård, Å., Tunlid, A. and Bååth, E., 1991. Microbial biomass measured as total lipid phosphate in soils of different organic content. J. Microbiol. Meth., 14: 151-163.

Kang, S. 2005. Spatial structures of soil microbial communities and their Controlling factors. A Dissertation of Degree of Doctor of Philosophy. Faculty of Environmental Sciences, University of Virginia.

Nannipieri, P., Ascher, J., Ceccherini, M.T., Landi, L., Pietramellara, G. and Renella, H. 2003. Microbial diversity and soil function. Eur. J. Soil Sci., 54: 655–670.

Oren, A. 1999. Bioenergetic aspects of halophilism. Microbiology and Molecular. Biol. Rev., 63: 334-348.

تاثیر اگروباکتریوم رایزوژنز بر ریشه زایی قلمه های گل کاغذی

صفورا هاشمی پور[۱]، عبدالکریم اجرائی[۲]، بهنام بهروزنام[۲]
۱- دانشجوی کارشناسی ارشد باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم
۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، گروه باغبانی، جهرم، ایران

مقدمه

گل کاغذی با نام انگلیسی Bougainvillea و نام علمی *Bougainvillea sp.* از خانواده Nyctiginaceae می باشد که منشا آن نواحی گرمسیری و نیمه گرمسیری آمریکای جنوبی است(قاسمی قهساره و کافی، ۱۳۹۰). گل کاغذی را از طریق بذر، قلمه، خوابانیدن ساقه و کشت بافت می توان تکثیر نمود. ازدیاد بوسیله قلمه بیشتر متداول است (Gordon, 2002). این گیاه یکی از گیاهان زینتی مهم در جنوب ایران است و رنگ های متفاوت این گیاه برای زیباسازی فضای سبز شهری لازم است و ریشه زایی قلمه در گل کاغذی سفید به سختی صورت می گیرد بنابراین استفاده از موادی که ریشه زایی قلمه ها را تسهیل کنند لازم است.

اگروباکتریوم رایزوژنز یک باکتری بیماری زای خاکزی است که باعث بیماری موئی شدن ریشه یا ریشه انبوهی در گیاهان دو لپه ای می شود. این باکتری گیاهان دو لپه را آلوده میکند که باعث تولید ریشه های مویین تراریخته میشود این ریشه ها از ثبات بالایی برخوردار بوده و مقدارتولید آنها تا چهار برابر ریشه های معمولی بوده است(فارسی،م.۱۳۸۳). بیماری زایی این باکتری به حضور یک پلاسمید بزرگ القاء کننده ریشه (Ri) در باکتری بستگی دارد(Mukundan, *etal*., 1997). بیماری موئی شدن ریشه با انتقال قطعه ای از پلاسمید به نام T-DNA به درون سلول گیاهی، ادغام پایدار این قطعه درون ژنوم گیاه و بیان ژن های این قطعه ایجاد می شود (Gelvin, 2003. & Giri, *etal*., 2000). ژن های سرطان زایی با دو مکانیسم متفاوت باعث ایجاد ریشه های موئی در گیاهان می شوند. در یکی از این مکانیسم ها، ژن های سرطان زایی آنزیم های تولید کننده اکسین را کد می کنند و به این ترتیب منجر به ریشه می شوند. در مکانیسم دوم به نظر می رسد باعث افزایش حساسیت سلول های گیاهی نسبت به اکسین می شوند (Aoky and Syono, 2000)در پژوهشی به مطالعه واکنش ریشه زایی برخی از گیاهان باغبانی در تلقیح با *Agrobacterium rhizogenes* پرداختند و به این نتیجه رسیدند که استفاده از اگروباکتریوم رایزوژنز در بعضی از گیاهان، مشکل سخت ریشه زایی را مرتفع نموده است. اگروباکتریوم رایزوژنز باعث افزایش ریشه زایی بطور معنی داری در سطح ۵ درصد شده است(عزیزی و همکاران، ۱۳۸۶). در پژوهشی بیان شد که استفاده از اگروباکتریوم رایزوژنز می تواند باعث بهبود ریشه زایی در گیاهان می شود هم در شرایط درون شیشه ای و هم شرایط برون شیشه ای بخصوص در گیاهان چوبی، اما انگیزش ریشه در جنس های علفی محدودتر است(Caboni and Damino, 1996). در پژوهشی تاثیر تلقیح اگروباکتریوم رایزوژنز روی ریشه زایی درون شیشه ای *Vitis vinifera* را بررسی کردند. نمونه های انگور در کشت درون شیشه ای با دو استرین از اگروباکتریوم رایزوژنز آلوده شدند. هر دو استرین باعث افزایش معنی داری در تعداد و توسعه ریشه ها، طول و وزن آنها شدند(Martins, *etal*., 2003). استفاده از باکتری هایی نظیر آگروباکتریوم رایزوژنز جهت ریشه زائی روشی نو و بدیع می باشد و روش متداول تلقیح قلمه گیاه با آن، آغشته نمودن قلمه با

این باکتری می باشد. ویژگی این آزمایش با دیگر آزمایش های مشابه انجام شده این است که در این پژوهش به جای آغشته نمودن قلمه ها با باکتری اگروباکتریوم رایزوژنز از تزریق زیر پوستی آنها استفاده می شود.

مواد و روش ها

در این پژوهش تاثیر باکتری اگروباکتریوم رایزوژنز بر ریشه زایی قلمه های گل کاغذی سفید مورد بررسی قرار گرفت، عملیات اجرایی این پژوهش در اسفند ۱۳۹۱ در شهر بندرعباس انجام گرفت. قلمه های نیمه خشبی به بلندی ۲۰ سانتی متر و با قطر برابر از گل کاغذی سفید را به گونه ای تهیه کردیم که قلمه ها از یک سانتی متری گره پائینی قلمه قطع شدند. برای اینکه بتوانیم باکتری را به قلمه ها تزریق کنیم ابتدا باید یک کلونی از باکتری را در محیط کشت مایع کشت دهیم، به همین منظور ۲/۵ گرم پودر LB BROTH (ساخت کشور کانادا) را در ۱۲۵ سی سی آب مقطر حل کردیم و در اتوکلاو به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد قرار دادیم. بعد از اتوکلاو و خنک شدن درب فالکون ها را در شرایط استریل و زیر هود باز کردیم و ۱۰ میکرولیتر از محلول آنتی بیوتیک ریفامپیسین(ریفامپین) و یک کلونی از باکتری *Agrobacterium. Rhizogenes* به محیط های کشت LB اضافه شد و بعد داخل شیکر انکوباتوردار با دمای ۲۸درجه سانتی گراد و۱۶۰ تا ۱۸۰ دور در دقیقه به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد . بعد از ۲۴ ساعت که باکتری در محیط کشت مایع رشد کرد بوسیله دستگاه Bio Photometer غلظت باکتری (OD_{600} =۰/۵ و OD_{600}=۰/۷) را بدست آوردیم. جهت ضد عفونی قلمه ها، ابتدا نیمه پائین قلمه ها که در ماسه قرار می گیرد را به مدت ۴۵ ثانیه در بنومیل یک در هزار قرار داده و به مدت ۱۰ دقیقه در هوای آزاد قرار داده شد تا خشک شود. سپس به هریک از قلمه ها مقدار ۱۰ واحد (هر واحد سرنگ انسولین ۰/۱ میلی لیتر است) اگروباکتریوم رایزوژنز توسط سرنگ انسولین از قسمت جدا شده قلمه و از زیر پوست به محل گره ها تزریق شد. پس از ۷۰ روز قلمه ها را از خاک خارج کرده و صفات مربوط به ریشه زایی اندازه گیری کردیم. صفات مورد بررسی در این آزمایش شامل: مقایسه میزان ریشه دهی در طول زمان، تعداد ریشه ها، طول بلند ترین ریشه، وزن تر ریشه ها ، وزن خشک ریشه ها و درصد قلمه های ریشه دار شده می باشد. لازم به ذکر است که برای تعیین سرعت ریشه دهی در تیمارهای فوق از روز بیستم پس از اعمال تیمارها، هر پنج روز به صورت تصادفی یکی از قلمه ها از هر گلدان بیرون آورده شد و ریشه زایی آن مورد بررسی قرار گرفت. در این پژوهش تعداد ۳ تیمار و ۳ تکرار داشتیم که برای هر تکرار ۱۵ قلمه در نظر گرفته شد که جمعاً ۱۳۵ قلمه به کار برده شد. طرح آماری کاربردی طرح کاملا تصادفی می باشد که مقایسه میانگین ها توسط آزمون چند دامنه ای دانکن صورت گرفت و جهت تجزیه آماری داده ها از نرم افزار رایانه ای MSTATC استفاده شد.

نتایج و بحث

استفاده از اگروباکتریوم رایزوژنز باعث کاهش زمان ظهور اولین ریشه در قلمه های گل کاغذی شده است به صورتی که اولین ریشه در تیمار OD_{600} =۰/۵ بیست و پنج روز پس از کاشت مشاهده شد این در حالی بود که

ریشه زایی در تیمار شاهد ده روز پس از آن و در روز سی و پنجم مشاهده شد. در تیمار OD_{600} =۰/۷ اگروباکتریوم رایزوژنز نیز در روز سی ام ریشه زایی مشاهده گردید که نسب به تیمار شاهد ریشه زایی پنج روز کاهش یافته است، همانطور که از نتایج مشاهده می گردد هر دو سطح باکتری زمان ریشه زایی را نسبت به تیمار شاهد کاهش داده اند. استفاده از باکتری اگروباکتریوم رایزوژنز اثر معنی داری بر درصد ریشه زایی قلمه های گل کاغذی سفید داشته است. بطوریکه با افزایش سطح باکتری ابتدا درصد ریشه زایی افزایش معنی داری یافته و سپس طی یک روند تدریجی کاهش یافته که معنی دار نمی باشد. همانگونه که در این جدول مشاهده می شود، بیشترین درصد ریشه زایی با مقدار ۷۳/۳ درصد مربوط به سطح OD_{600} =۰/۵ از باکتری بوده است. درصد ریشه زایی با استفاده از باکتری در غلظت هایOD_{600} =۰/۵ وOD_{600} =۰/۷ به ترتیب با ۷۳/۳و ۷۰/۸ درصد نسبت به تیمار شاهد با ۵۶/۷ درصد افزایش معنی داری داشته است.

جدول ۱- مقایسه اثر غلظت های مختلف باکتری بر صفات ریشه زایی

سطوح باکتری / صفت	صفر	۰/۵	۰/۷
	OD		
درصد ریشه زایی (٪)	۵۶/۷^{b}	۷۳/۳^{a}	۷۰/۸^{a}
طول ریشه (cm)	۸/۴^{b}	۹/۹^{a}	۸/۹^{ab}
تعداد ریشه در قلمه	۵/۰^{b}	۸/۰^{a}	۵/۴^{b}
وزن تر ریشه (g)	۰/۴۹۶^{a}	۰/۵۲۳^{a}	۰/۴۷۳^{a}
وزن خشک ریشه (g)	۰/۲۲۴^{a}	۰/۲۳۳^{a}	۰/۲۵۲^{a}

میانگین های موجود در هر ردیف که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح ۵٪ آزمون دانکن اختلاف معنی داری با هم ندارند.

همانطوریکه در جدول بالا مشاهده می شود، استفاده از باکتری اگروباکتریوم رایزوژنز اثر معنی داری بر طول ریشه داشته است. بطوریکه سطح OD_{600} =۰/۵ از باکتری با میانگین ۹/۹ سانتی متر دارای بیشترین طول ریشه بوده است و نسبت به شاهد با میانگین ۸/۴ سانتی متر دارای اختلاف معنی داری می باشد، اما با تیمار OD_{600} =۰/۷ تفاوت معنی داری ندارد. نتایج نشان دادند که، استفاده از باکتری اگروباکتریوم رایزوژنز اثر معنی داری بر تعداد ریشه در هر قلمه داشته است. بطوریکه با افزایش سطح باکتری تعداد ریشه در قلمه نیز افزایش معنی داری یافته است و پس از آن نیز در سطح OD_{600} =۰/۷ دچار کاهش معنی داری شده است. در این رابطه سطح OD_{600} =۰/۵ با میانگین ۸ عدد دارای بیشترین تعداد ریشه بوده است و دارای اختلاف معنی داری با سطوح شاهد وOD_{600} =۰/۷ می باشد و تیمار شاهد نیز با میانگین ۵ عدد دارای کمترین تعداد ریشه بوده است.
همچنین همانطور که مشاهده می شود، استفاده از باکتری اگروباکتریوم رایزوژنز اثر معنی داری بر وزن تر ریشه نداشته است و وزن تر ریشه حتی با استفاده از باکتری در غلظت های متفاوت، نسبت به شاهد تفاوت معنی داری از خود نشان نداده است و تنها در تیمارOD_{600} =۰/۵ از باکتری با میانگین ۰/۵۲۳ گرم نسبت به دیگر سطوح، افزایشی را داشته است اما این افزایش معنی دار نمی باشد همچنین استفاده از باکتری اگروباکتریوم رایزوژنز اثر معنی داری بر وزن خشک ریشه نداشته است و وزن خشک تنها در تیمار OD_{600} =۰/۷ از باکتری با میانگین ۰/۲۵۲ گرم نسبت به دیگر سطوح، افزایشی را داشته است که همانگونه که ذکر شد این افزایش

معنی دار نمی باشد. بطور کلی می توان نتیجه گرفت که بهترین تیمار برای کاهش زمان ریشه زایی تیمار OD_{600} =۰/۵ می باشد که ده روز نسبت به تیمار شاهد زمان ریشه زایی را کاهش داده است. اگر هدف ما افزایش درصد ریشه زایی، طول ریشه و تعداد ریشه در هر قلمه باشد بهترین تیمار OD_{600} =۰/۵ می باشد که نسبت به شاهد تفاوت معنی داری در سطح ۵ درصد داشته است. در پژوهش Macafee, *etal*., 1993 مشاهده شد که استرین A4 باعث بهبود در تعداد، درصد ریشه زایی و افزایش کیفیت ریشه های مشاهده شده می شود ، همچنین تفاوت معنی داری بین تیمار استرین A4 و تیمار شاهد وجود داشت که با نتایج بدست آمده در این پژوهش همخوانی دارد.

منابع

فارسی، م. و باقری، ع.، ۱۳۸۳ ، اصول اصلاح نباتات، انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد

قاسمی قهساره، م. و کافی، م،۱۳۹۰ ، گلکاری علمی و عملی، جلد۲ ، انتشارات دانشگاه اصفهان

عزیزی، م. و همکاران، ۱۳۶۸،مطالعه واکنش ریشه زایی برخی از گیاهان باغبانی در تلقیح با *Agrobacterium rhizogenes* ، مجله علوم و صنایع کشاورزی ویژه باغبانی ، جلد ۲۱، شماره ۲، ۷۹– ۸۷

Aoky, S., Syono, K., 2000, The roles of Ri*rol* and N*grol* genes in hairy root induction in *Nicotiana debneyi*. Plant Science, 159: 183-189.

Caboni, E.; Damiano, C.; 1996: Root induction by *Agrobacterium rhizogenes* in almond. Plant Sci. 118, 203-28.

Gelvin, S.B. 2003. *Agrobactrium*-Mediated plant transformation: the biology behind the "Gene-Jockeying" tool. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 67: 16-37

Giri, A., M.L. Narasu. 2000. Transgenic hairy roots: recent trends and applications. Biotecnology Advances, 18: 1-22.

Gorden, B, 2002, Gudenlines for *Bougainvillea spp*. Instiute of food and Agriculture science. University of Florida. 43: 158_189.

Macafee, B. J. EE White. L.E. Pelcher, Lapp. M.S. 1993. Root induction in pine (Pinus) and larch (Lar/x) spp. Using *Agrobacterium rhizogenes.* Plant Cell, Tissue and Organ Culture 34: 53-62.

Martins , T & Domingod , C & Novo , C & Lourenco , P , 2003. Effect of *Agrobacterium rhizogenes* infection on in vitro rooting of *Vitis vinifera* , Vitis , 42(3) , 159-161.

Mukundan, U., H.G. Dawada, S. Ratnaparki. 1997. Hairy root culture and secondry metabolite production. pp 1-22. Agro Botanica, New Dehli.

بررسی تأثیر خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک بر فعالیت آنزیم اوره‌آز در شماری از خاک‌های استان اصفهان

الهام میرپاریزی[1]، فرشید نوربخش[2]، محمد مهدی مجیدی[3]

۱-دانشجوی دکترا خاکشناسی علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان ، ۲-استاد دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان ، ۳- دانشیار دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان

e.mirparizi@ag.iut.ac.ir

مقدمه

اوره‌آز (اوره آمیدوهیدرولاز EC۳,۵,۱,۵) آنزیمی است که هیدرولیز اوره به دی‌اکسیدکربن و آمونیاک را انجام می‌دهد. این آنزیم به‌طور گسترده در طبیعت وجود داشته است و در میکروارگانیسم‌ها، گیاهان و جانوران خاکزی قابل تشخیص است، طباطبایی و برمنر(۱۹۹۴). کوکسون و لپیس (۱۹۹۶) اظهار داشتند که آگاهی از سطح فعالیت این آنزیم نقش مهمی در مصرف صحیح کود اوره، اطلاع از توان تصعید، آبشویی نیتروژن و مسائل زیست محیطی دارد. دیک و طباطبائی (۱۹۹۳) بیان کردند که ویژگی‌های بیولوژیک خاک‌ها را می‌توان به عنوان معیارهای سنجش تأثیر تنش‌های اکولوژیک مورد استفاده قرار داد. گارسیا و هرناندز (۱۹۹۷) دریافتند که سنجش‌های آنزیمی می‌تواند معیار و شاخص مفیدی در بررسی تأثیر تخریب اراضی و یا فعالیت‌های حفاظت خاک باشد. بررسی عوامل خاکی مؤثر بر شاخص‌های بیولوژیک از اطلاعات ضروری است که با این بررسی‌ها می‌توان معادلات آماری بین ویژگی‌های خاک با شاخص‌های بیولوژیک را به‌دست آورد. لذا با اندازه‌گیری ویژگی‌هایی از خاک که اندازه‌گیری آن‌ها سهولت بیش‌تری دارند، می‌توان برآوردی از شاخص‌های بیولوژیک در خاک را به‌دست آورد.

مواد و روشها

مجموعه خاک‌های مورد مطالعه (۲۲ نمونه) از عمق ۱۵-۰ سانتی‌متری برداشت شدند. اکثر مناطق نمونه‌برداری از مزارع تحت کشت رایج غلات از جمله گندم و جو استان اصفهان انتخاب شدند. بافت خاک به روش هیدرومتر(گی و باودر، ۱۹۸۶)، مقدار pH و هدایت الکتریکی (ECe) خاک‌ها در سوسپانسیون ۱ به ۲/۵ (رودس، ۱۹۸۲)، کربن آلی به روش واکلی بلاک (نلسون و سامرز، ۱۹۸۶) و کربنات کلسیم معادل خاک‌ها با استفاده از روش خنثی‌سازی با اسید و تیتراسیون برگشتی با سود و در حضور معرف فنول فتالئین(آلیسون، ۱۹۶۵)، به عنوان خصوصیات فیزیکوشیمیایی تعیین شدند. پتانسیل معدنی‌شدن نیتروژن طی دوره انکوباسیون ۳ ماهه (PMN) با استفاده از روش ارائه شده توسط کینی و نلسون،۱۹۸۲ و مقدار نیتروژن معدنی‌شده در شرایط بی هوازی(N_{ana}) با استفاده از روش ارائه شده توسط باندی و میسینگر(۱۹۹۴) به عنوان ذخایر نیتروژن اندازه‌گیری شدند. به منظور بررسی جذب نیتروژن از نمونه خاک‌های مورد مطالعه، کشت گلخانه‌ای گیاه شاهی از خانواده چلیپاییان (*Lepidium sativum*) در قالب طرح کاملاً تصادفی در گلخانه دانشگاه صنعتی اصفهان انجام گرفت. غلظت نیتروژن گیاه به روش کلدال بر حسب $\mu g\ N\ g^{-1}$ dry weight (برمنر و مولوانی، ۱۹۹۶) و جذب نیتروژن توسط گیاه شاهی طبق رابطه زیر به‌دست آمد.

جذب نیتروژن توسط گیاه (µg N pot^{-1}) = غلظت نیتروژن (µg N g^{-1} dry weight) × عملکرد (g pot^{-1})

به منظور بررسی تأثیر هر یک از پارامترهای اندازه‌گیری شده بر فعالیت‌های آنزیمی در خاک، فعالیت آنزیم اوره‌آز با استفاده از روش ارائه شده توسط طباطبایی و برمنر(۱۹۹۴) اندازه‌گیری شد.

نتایج و بحث

خاک‌های مورد مطالعه بافت‌های متفاوتی از لوم شنی تا رسی را داشتند. کلیه خاک‌ها آهکی بوده و تعدادی از این خاک‌ها در محدوده خاک‌های شور قرار گرفتند (جدول ۱). خلاصه‌ای از ویژگی‌های خاک‌های مورد مطالعه در جدول۱ نشان داده شده است.

جدول ۱- خلاصه‌ای از ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی اندازه‌گیری شده در مطالعه ۲۲ نمونه خاک

	رس	سیلت	شن	pH	ECe[۱]	OC[۲]	CCE[۳]	N_i[۴]
	(٪)	(٪)	(٪)		dS m^{-1}	g kg^{-1}	g kg^{-1}	mg N kg^{-1}
حداقل	۵	۱۱	۵	۷/۲	۱/۱	۰/۵	۱۰۴	۱۹/۳
حداکثر	۵۷	۵۱	۸۴	۷/۹	۳۱/۵	۲۳/۷	۵۷۴	۴۸/۳
میانگین	۳۵/۱۸	۳۴/۹۵	۲۹/۸۶	۷/۶۳	۶/۵	۱۱/۸	۳۹۳	۳۰/۷
ضریب تغییرات[۵] (٪)	۳۹/۰۲	۲۹/۴۹	۶۴/۱۵	۲/۶۹	۱۳۱	۵۰/۷	۳۴	۲۵/۴

۱- هدایت الکتریکی عصاره اشباع، ۲- کربن آلی، ۳- کربنات کلسیم معادل، ۴- نیتروژن معدنی اولیه، ۵- Coeficient of variation

رابطه همبستگی ساده بین فعالیت آنزیم اوره‌آز با صفات فیزیکوشیمیایی و ذخایر نیتروژن در جدول ۲ ملاحظه می‌شود. در پژوهش حاضر همبستگی معنی‌داری بین درصد ذرات خاک (شن، سیلت و رس) و فعالیت آنزیم اوره‌آز مشاهده نشد. مطالعات زانتوا (۱۹۷۷) مشخص کرد که فعالیت آنزیم اوره‌آز همبستگی منفی معنی-داری با درصد شن و همبستگی مثبت معنی‌داری با درصد رس داشته در حالی که میان فعالیت این آنزیم با درصد سیلت هیچ رابطه‌ای مشاهده نکرد. ارتباطی منفی و نزدیک به معنی‌داری بین هدایت الکتریکی عصاره اشباع نمونه خاک‌های مورد مطالعه با فعالیت آنزیم اوره‌آز مشاهده شد (جدول ۲). کوکسون و لپیس (۱۹۹۶) در مطالعه‌ای با بررسی ۲۶ نمونه خاک از کشور عمان همبستگی منفی معنی‌داری بین فعالیت آنزیم اوره‌آز و شوری خاک‌ها به‌دست آوردند. نوربخش و همکاران (۱۳۸۰) در نمونه خاک‌های استان اصفهان ارتباط خطی معکوس بین فعالیت آنزیم اوره‌آز و هدایت الکتریکی عصاره اشباع گزارش کردند ($r = ۰/۴۹۲^{*}$). کربن آلی خاک‌ها با فعالیت آنزیم اوره‌آز ($r = ۰/۹۲^{***}$) همبستگی معنی‌داری نشان داد (جدول ۲). اتول و همکاران (۱۹۸۵) فعالیت اوره‌آز را در دو وضعیت زراعی مورد بررسی قرار داده ، نتایج آن‌ها نشان داد که فعالیت آنزیم اوره‌آز به مقدار کربن آلی بستگی زیادی داشته از طرفی در وضعیت کاربری مرتع فعالیت آنزیم نامبرده بیش از وضعیت مزرعه است. بین کربنات کلسیم اندازه‌گیری شده در خاک‌های مورد مطالعه با آنزیم اندازه‌گیری شده رابطه معکوسی وجود دارد. رائو و گای (۱۹۸۵) در مطالعه خاک‌های هندوستان به این نتیجه رسیدند که همبستگی منفی معنی-داری بین درصد آهک و میزان فعالیت آنزیم اوره‌آز وجود دارد. از آنجایی که این آنزیم در معدنی‌شدن نیتروژن اهمیت دارد، لذا بین فعالیت آنزیم اوره‌آز با نیتروژن معدنی اولیه همبستگی معنی‌داری به‌دست آمد($r = ۰/۴۳^{*}$). آمونیوم تأثیری منفی بر فعالیت آنزیم اوره‌آز گذاشته است. مطالعات مک کارتی (۱۹۹۲) نشان داد که آمونیوم بر فعالیت آنزیم اوره‌آز تأثیر بازدارندگی دارد. ارتباط بین نیترات با فعالیت آنزیم اوره‌آز معنی‌دار شد ($r = ۰/۴۸^{*}$). پتانسیل معدنی‌شدن نیتروژن در شرایط هوازی با فعالیت اوره‌آز ($r = ۰/۵۵^{**}$) همبستگی معنی‌داری نشان

داد(جدول ۲). زمان و همکاران (۱۹۹۹) اظهار داشتند که همبستگی معنی‌داری بین معدنی‌شدن نیتروژن و فعالیت آنزیم‌های پروتئاز ($r = ۰/۵۷^{***}$) و اوره‌آز($r = ۰/۵۶^{***}$) وجود دارد. دودور و طباطبایی (۲۰۰۲) اظهار کردند که رابطه مثبت معنی‌داری بین مقدار نیتروژن معدنی و فعالیت آنزیم آریل‌آمیداز وجود دارد. این آنزیم نقش مهمی در واکنش‌های ابتدایی معدنی‌شدن نیتروژن در خاک‌ها دارد(جدول ۲).

جدول ۲-رابطه همبستگی ساده بین فعالیت آنزیم اوره‌آز و صفات فیزیکو شیمیایی و و ذخایر نیتروژن در مطالعه ۲۲ نمونه خاک

UR	ذخایر نیتروژن	UR[۱]	خصوصیت خاک
۰/۴۳*	$N_i^{۶}$ (mg N kg^{-1})	۰/۰۵	رس (٪)
۰/۴۸*	$NO_3^{-۷}$ (mg N kg^{-1})	-۰/۱۲	سیلت (٪)
۰/۵۵**	PMN[۷] (mg N kg^{-1})	۰/۰۳	شن (٪)
۰/۶۷***	$N_{ana}^{۸}$ (mg NH_4^+-N kg^{-1}	-۰/۲۱	pH
۰/۵۴**	غلظت نیتروژن گیاه (µg N g^{-1} dry weight)	-۰/۰۰۶	ECe[۲] (ds/m)
۰/۶**	جذب نیتروژن در گیاه (µg N pot^{-1})	۰/۹۲***	OC[۳] (g kg^{-1})
		-۰/۲۲	CCE[۴] (g kg^{-1})

*، **، *** و ns به ترتیب بیانگر معنی‌دار بودن در سطح آماری ۰/۰۵، ۰/۰۱، ۰/۰۰۱ و غیر معنی‌دار است.

۱- فعالیت آنزیم اوره آز (mg NH_4^+-N kg^{-1} h^{-1})،۲- هدایت الکتریکی عصاره اشباع، ۳- کربن آلی، ۴- کربنات کلسیم معادل، ۵- نیتروژن معدنی اولیه، ۶- نیترات، ۷- پتانسیل معدنی‌شدن نیتروژن در شرایط هوازی، ۸- معدنی‌شدن نیتروژن در شرایط بی‌هوازی

پتانسیل معدنی‌شدن نیتروژن در شرایط بی‌هوازی با فعالیت اوره‌آز($r = ۰/۶۷^{***}$) همبستگی معنی‌داری را نشان داد(جدول ۲). مطالعات اکنلر و طباطبایی (۲۰۰۴) نشان داد که در شرایط بی‌هوازی همبستگی معنی‌داری بین فعالیت آنزیم بتا-گلوکزآمینیداز در دو خاک مرطوب ($r = ۰/۸^{***}$) و هوا خشک شده ($r = ۰/۸۶^{***}$) وجود دارد. این همبستگی معنی‌دار به دلیل نقش این آنزیم در واکنش‌های معدنی‌شدن نیتروژن است. فعالیت آنزیم اوره‌آز با غلظت نیتروژن گیاه ($r = ۰/۵۴^{**}$) و جذب نیتروژن گیاه ($r = ۰/۶^{**}$) همبستگی معنی داری را نشان داد(جدول ۲).

همبستگی‌های چند متغیره گام به گام:

نتایج بررسی همبستگی چند متغیره برای فعالیت آنزیم اوره‌آز نشان می‌دهد که، کربن آلی (OC) ۸۵ درصد و نیترات (NO_3^-) ۰/۰۵ درصد از تغییرات مدل فعالیت آنزیم اوره‌آز (UR) را توجیه می‌کنند که معادله برازش شده آن در سطح احتمال ۰/۰۳ در رابطه [۱] نشان داده شده است.

$$UR=-۱۲/۸۱+ ۴/۳۷\ OC + ۰/۹۲\ NO^-_3 \qquad R=۰/۹^{***} \qquad [۱]$$

منابع

نوربخش، ف. حاج رسولی‌ها، ش. و امتیازی. گ. ۱۳۸۰. تأثیر برخی از ویژگی‌های خاک بر فعالیت آنزیم اوره‌آز در شماری از خاک‌های استان اصفهان، مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی. جلد۵. شماره۳. صفحات ۹۵-۱۰۶.

Tabatabai, M. A. 1994. Soil Enzymes. In: R. W. Weavar, J. S. Angel and P. S. Bottomely (Eds.), *Methods of soil Analysis*. Part 2. SSSA Book, Soil Science Society of America. WI. PP.775-833.

2.Cookson, P. and G. L. Lepiece. 1996. urease enzyme activities in soils of Batinah region of the Sultanate of Oman. *J. Arid Environ*. 32:225-238.

3.Dick, W. A. and M. A. Tabatabai. 1993. Significance and potential use of soil enzyme. F. B. Metting (Ed.), Soil Microbial Ecology. *Appl. In Agric. and Environ. Manage*., Marcel Dekker, Inc., New Tork. 95-127.

4.Garcia, C. and T. Hernandez. 1997. Biological and biochemical indicators in derelict soils subject to erosion, *Soil. Biol. Biochem*. 29:171-177.

5. Gee, W and W. Bauder. S1986. Particle Size Analysis. Pp.383-411. In: A. Klute(Ed.),Method of Soil Analysis. Part 1. Am. Soc. Agron. Madison. WI,USA.

Rhouds, J. D. 1982. Soluble Salts. Pp. 167-169. In: A. L. Page et al (Eds.), Methods of Soil Analysis, Part2. Am. Soc. Agron. Madison WI, USA.

Nelson, D. W and L. P. Sommers. 1986. Total carbon, organic carbon and organic matter. Pp. 539-579. *In*: A. L. Pag (Eds.), Method of Soil Analysis. Part 2. American Society of Agronomy, Madison WI, USA.

Allison, L. E., C. D. Modie. 1965. Carbonate. Pp. 1379-1396. *In:* Blck (Ed.), Method of Soil Analysis, Part 2. Am. Soc. Agron. Madison. WI, USA.

Keeney, D. R. and D. W. Nelson. 1982. Nitrogen-inorganic forms.In: A. L. Page (Eds),Methods of Soil Analysis. Part II. American Society of agronomy. Madison WI,USA. 643-698.

Bundy, L. G. and J. J. Meisinger. 1994. Nitrogen availability indices. Pp. 951-984. *In*: Weaver et al (Eds.), Methods of soil analysis. part 2. Soil Science Society of America, Madision, Wisconsin. USA.

Bremner, J. M. 1996. Nitrogen - Total. In: Sparks DL (ed). Methods of soil analysis, part 3. Soil Science S2w3ociety of America. Book Series 5, Madison, Wis. 1085-1121.

Zantua, M. I., L. C. Dumenil and J. M. Bremner. 1977. Relationships between soil urease activity and other soil properties. *Soil. Sci. Soc. Am. J*. 41:350-352.

نوربخش، ف. حاج رسولی‌ها، ش. و امتیازی. گ. ۱۳۸۰. تأثیر برخی از ویژگی‌های خاک بر فعالیت آنزیم اوره‌آز در شماری از خاک‌های استان اصفهان، مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی. جلد۵. شماره۳. صفحات ۹۵-۱۰۶.

OToole, P. M., A. Morgan and S. J. McGarry. 1985. A Comoarative study of urease activities in pasture and tillage soils. *Commun. Soil. Sci. Plant. Anal*. 16(7):759-773.

15.Rao, D. L., N. and S. K. Ghai. 1985. urease and dehydrogenase activity of alkali and reclaimed soils. Aus. J. Soil. Res. 23:661-665.

Mccarty, G. W., D. R. Shorgen and J. M. Bremner. 1992. Regulation of urease production in soil by microbial assimilation of nitrogen. *Biol. Fertil. Soils*. 12:261-264.

Zaman, M. Di, H. J. Cameron, K. C. and Framoton, C. M. 1999. Gross nitrogen mineralization and nitrification rates and their relationships to enzyme activities and the soil microbial biomass in soil treated with dairy shed effluent and ammonium fertilizer at different water potentials. *Biol. Fertil. Soils*. 29:178-186.

Dodor, D. E. and M. A. Tabatabai. 2002. Effect of cropping system and microbial biomass on arylamidase activity in soils. *Biol. Fertil. Soils*. 35:253-261.

Ekenler Mine and M. A. Tabatabai. 2004. B-Glucosaminidase Activity as an Index of Nitrogen Mineralization in Soils. *Commun. Soil. Sci. Plant. Anal*. 35:1081-1094.

اثرپذیری پارامترهای ترمودینامیکی فرآیند آمونیفیکاسیون ال- هیستیدین از بقایای آلی مختلف

درنا ستار بروجنی[۱]، فرشید نوربخش[۲]
[۱]- دانشجوی اسبق کارشناسی ارشد
[۲]- استاد دانشگاه صنعتی اصفهان

مقدمه

پاسخ جوامع میکروبی نسبت به سیستم‌های مدیریتی مختلف بسیار سریع است. از این رو شاخص‌های مرتبط با این بخش از خاک، می توانند در رسیدن به مدیریتی بهتر، موثر باشند. از میان شاخص‌های مربوط به جامعه میکروبی بررسی وضعیت آنزیم‌ها و فرآیندهای میکروبی در خاک، سریع‌تر و با صرفه‌تر از روش‌های دیگر است. آنزیم‌ها در واقع گروهی از تولیدات میکروبی هستند که پاسخ سریع به تغییرات محیطی نشان می دهند(سیکس و همکاران۲۰۰۴). در بین خیل عظیم آنزیم های موجود در خاک، آنزیم‌هایی که مسئول فراهم کردن عناصر ضروری همچون نیتروژن هستند مورد توجه قرار گرفته‌اند. فرایند معدنی شدن ال-هیستیدین به کمک مجموعه‌ای از این آنزیم‌ها صورت می‌گیرد که نقش مهمی را در چرخه نیتروژن خاک بر عهده دارد. از طرفی صرف اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی، نمی تواند دیدگاه روشنی از موجودیت این آنزیم در اختیار قرار دهد. از این رو بررسی پارامترهایی که بتواند وضعیت و ماهیت آنزیم‌ها را مشخص سازد، اهمیت دارد. پارامترهای ترمودینامیکی شامل انرژی فعال سازی (E_a) و ضریب دمایی (Q_{10}) بیانگر خصوصیات آنزیم‌ها در گستره خاصی از شرایط محیطی هستند(تراسار و همکاران۲۰۰۷). اندازه‌گیری این پارامترها با هدف درک بهتر از موجودیت آنزیم‌ها، مورد مطالعات گسترده‌ای قرار گرفته است. فرانکنبرگر و طباطبائی(۱۹۹۱) Q_{10} آنزیم ال- آسپاراژیناز مربوط به ۸ نوع خاک مختلف ایالت آیوا را در دمای ۱۰ تا ۵۰ درجه سانتی‌گراد تعیین کردند. آن‌ها Q_{10} را از ۱/۱۲ الی ۱/۷۰ با میانگین ۱/۳۹ گزارش کردند. همین محققین Q_{10} آنزیم ال- گلوتامیناز ۹ خاک مختلف را در دمای ۱۰ تا ۵۰ درجه سانتی‌گراد ۱/۱۹ الی ۱/۸۵ با میانگین ۱/۴۹ گزارش کردند. با بررسی‌های صورت گرفته، دریافتیم، علیرغم اهمیت فرآیند آمونیفیکاسیون ال-هیستیدین در خاک، به آن پرداخته نشده است. بنابراین با هدف بررسی پارامترهای ترمودینامیکی فرآیند آمونیفیکاسیون ال-هیستیدین با دو مدیریت بقایای یونجه و گندم، مطالعه حاضر انجام شد.

مواد و روشها

نمونه مرکب خاک، از عمق ۰ تا ۱۵ سانتی‌متری مزرعه تحقیقاتی دانشگاه صنعتی اصفهان واقع در لورک و مرکز تحقیقات شوری رودشت (32^o 32' N; 51^o 23' E) تهیه گردید. ۲ نمونه گیاهی گندم و یونجه به مدت ۷۲ ساعت در آون با درجه حرارت ۶۰ الی ۶۵ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. سپس نمونه‌ها آسیاب و از الک ۱ میلی‌متری عبور داده شدند. بقایای گیاهی گندم و یونجه به میزانی که ۱ گرم بر کیلوگرم کربن آلی خاک را افزایش دهند بر خاک‌های مرطوب (۴۰ درصد ظرفیت نگهداری اب) افزوده و به مدت ۲ هفته در دمای ۲۵ خشک اضافه گردید. سپس نمونه‌های خاک به مدت ۱۰ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور نگهداری شدند. پس از آن نمونه‌ها با KCl ۲/۵ مولار عصاره‌گیری شدند. مقدار نیتروژن آمونیومی عصاره حاصله توسط دستگاه تقطیر بخار اب تعیین شد. علاوه بر نمونه‌های خاک تیمارشده با بقایای گیاهی، نیتروژن

آمونیومی تیمار شاهد(بدون بقایای گیاهی) اندازه‌گیری شد. مقدارQ_{10} به صورت نسبت سرعت واکنش در دمای معین به سرعت واکنش در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد کمتر از آن تعیین می‌شود(استنفورد و اسمیت۱۹۷۲). و انرژی اکتیواسیون(E_a) توسط معادله آرنیوس($K=A \exp(-E_a/RT)$) حاصل می‌شود.

نتایج و بحث

پس از اضافه کردن بقایای گیاهی گندم و یونجه به نمونه‌های خاک و اعمال شرایط، ضریب دمایی(Q_{10}) فرآیند آمونیفیکاسیون ال- هیستیدین در دمای ۱۰ تا ۴۰ درجه سانتی‌گراد، محاسبه شد که نتایج در جدول۱ نشان داده شده است.

جدول ۱- مقدار ضریب دمایی(Q_{10}) برای خاک‌های تیمارشده با بقایا در دماهای مختلف

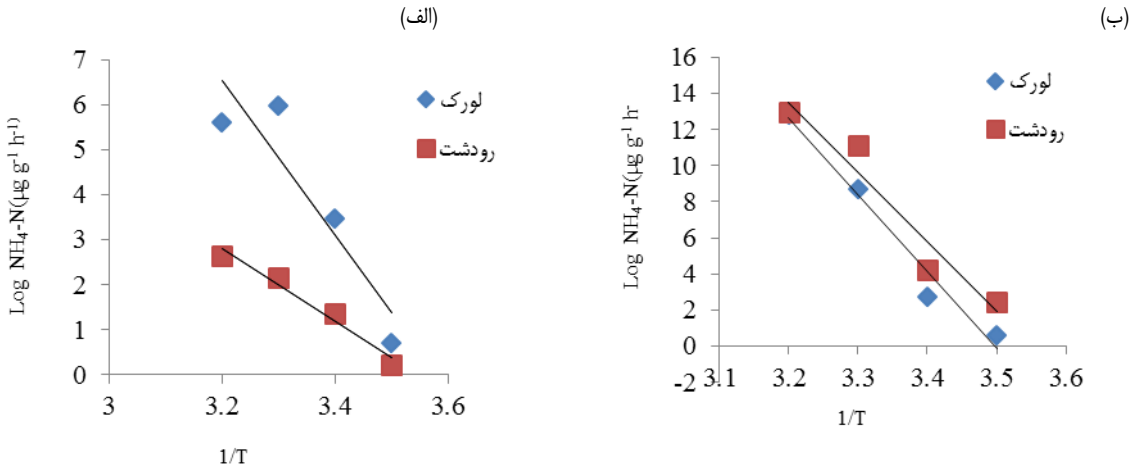
مدیریت	خاک های مورد	(Q_{10}) در دمای			
	مطالعه	۲۰ C°	۳۰ C°	۴۰ C°	میانگین
بقایای	لورک	۴/۹	۱/۷۲	۰/۹۳	۲/۵۱
گندم	رودشت	۶/۵۲	۱/۵۷	۱/۲۲	۳/۱۰
بقایای	لورک	۴/۴۵	۳/۱۵	۱/۴۸	۳/۰۲
یونجه	رودشت	۱/۷	۲/۶۴	۱/۱۷	۱/۸۳

پس از اضافه کردن بقایای گندم به خاک‌ها دیده شد که میانگین ضریب دمایی در خاک رودشت با مقدار ۳/۱۰ بیش‌تر از خاک لورک با مقدار۲/۵۱ است. و بعد از اضافه کردن بقایای یونجه میانگین ضریب دمایی حالتی بر عکس دارد به این صورت که در خاک لورک بیش از خاک رودشت دیده شد. وابستگی واکنش‌های آنزیمی نسبت به دما یک امر واضح است(مارتینز و طباطبایی۲۰۰۱). در نتیجه تجزیه بقایای گیاهی و سرعت معدنی شدن نیتروژن نیز متأثر از دماست. همانطور در نتایج این مطالعه نیز دیده می‌شود، تجزیه پذیری بقایا کاملاً از دما تأثیر پذیرفته است و نوع خاک در درجه دوم اهمیت قرار میگیرد. اضافه کردن بقایای یونجه در خاک لورک از ضریب دمایی بالاتری نسبت به بقایای گندم برخوردار است. اما همین بقایای یونجه در خاک رودشت نتیجه-ای برعکس نشان میدهد. سهولت تجزیه پذیری بقایای یونجه با C/N:12.7 نسبت به بقایای گندم با مقدار C/N:22.4 کاملا واضح است و می‌توان بیشتر بودن معدنی شدن نیتروژن را نیز به همین ترتیب توجیه کرد(نوربخش و دیک ۲۰۰۵). شاخص Q_{10} یک آنزیم ثابت نیست و بسته به انرژی فعال‌سازی آنزیم در محیط فعالیت آن و دمایی که این شاخص محاسبه می‌گردد، متغیر است(تراسار و همکاران۲۰۰۷). از این رو لازم است تا به بررسی انرژی فعال‌سازی پرداخته شود. شکل لگاریتمی معادله آرنیوس به صورت زیر است :

$$\text{Log } K = (-E_a/2.303\ RT) + \log A$$

K = ثابت سرعت R = ثابت گازها A = فاکتور پایه نمایی T= دمای مطلق (°k) E_a= انرژی فعال‌سازی

طبق این معادله وقتی کهLog K در مقابل1/T (دمای مطلق برحسب کلوین) رسم شود یک رابطه خطی نتیجه می‌شود. شیب هر کدام از روابط خطی برابر $E_a/2.303\ R$ است. انرژی فعال‌سازی واکنش برحسب کیلوژول بر مول از روی شیب معادله بدست می‌آید(طباطبایی و همکاران۲۰۰۲). شیب این خطوط در خاک‌های مورد بررسی در شکل ۱ نشان داده شده است. الگوی متفاوت آن بیانگر متفاوت بودن انرژی فعال‌سازی آمونیفیکاسیون ال- هیستیدین در این خاک‌ها، پس از اعمال بقایای گندم و یونجه است.



شکل ۱- نمودار معادله آرنیوس برای شدت فرآیند
آمونیفیکاسیون ال-هیستیدین در خاک‌های تیمارشده با بقایای گندم (الف)، با بقایای یونجه(ب)

انرژی فعال‌سازی انرژی مورد نیاز برای کمپلکس آنزیم- سوبسترا می‌باشد که با توجه به نوع سوبسترا و خاک (منبع آنزیم) متغیر است. به عبارتی برای واکنش سوبسترا و تبدیل محصولات، مولکول‌های آن ابتدا باید مقدار مشخصی انرژی را جذب کنند(طباطبایی و همکاران۲۰۰۲). مقدار Ea به دو عامل ممکن است بستگی داشته باشد: نخست اختلاف در سوبسترای واکنش و دوم، اختلاف در آنزیم‌های موثر. با توجه به این که سوبسترای به کار رفته در این مطالعه یکسان است، پس اختلاف در مقادیر انرژی فعال‌سازی ناشی از اختلاف آنزیمی‌هایی است که از منشأهای متفاوتی تولید شده اند. نتیجتاً تولید شکل‌های متفاوت آنزیمی از تفاوت کیفیت ماده آلی حاصل می شود. . برنز (۱۹۷۸) اظهار می‌دارد با افزایش میزان ماده آلی، آنزیم یا سوبسترا به وسیله کلوئیدها جذب سطحی می‌شوند. و تمایل آنزیم به سوبسترا و تشکیل کمپلکس آنزیم – سوبسترا کاهش می‌یابد. به عبارتی انرژی اکتیواسیون افزایش می‌یابد. مقادیر زیاد انرژی اکتیواسیون با اضافه کردن بقایای یونجه صحت این موضوع را تأیید می‌کند(جدول ۲). انرژی فعال‌سازی اندک باعث می‌شود تشکیل کمپلکس آنزیم- سوبسترا به آسانی صورت گیرد. از طرفی انرژی فعال‌سازی کمتر در یک واکنش نشان دهنده افزایش شدیدتر سرعت واکنش در پی افزایش مشخصی در دما می‌باشد(پالمر۲۰۰۱). این روند با مقایسه مقادیر انرژی فعال سازی در خاک‌های زراعی (جدول۲) و سرعت افزایش شدت فرایند آمونیفیکاسیون ال- هیستیدین به دما (جدول ۱) در تحقیق حاضر قابل مشاهده است. میانگین انرژی فعال‌سازی آنزیم آمیداز برای چند نوع گیاه مختلف از جمله یونجه، و سویا ۴۷ کیلوژول بر مول توسط فرانکنبرگر و طباطبایی(۱۹۸۲) و برای آنزیم اوره آز ۵۱ کیلوژول بر مول توسط طباطبایی و برمنر (۱۹۷۲) گزارش گردید. در تحقیقی که بر روی آنزیم آریل سولفاتاز انجام گرفت، میانگین انرژی فعال‌سازی بقایای گندم، تنباکو و آفتابگردان را ۴۰ کیلوژول بر مول گزارش کردند (پراسی و

اسکارپونی۱۹۸۴). روی هم رفته در این مطالعه مشاهده شد که جوامع میکروبی در خاک‌های مختلف، از بقایای گیاهی گندم و یونجه متأثر شده و با نشان دادن پارامترهای ترمودینامیکی مختلف این تفاوت‌ها را نشان دادند.

جدول۲- مقادیر انرژی فعال‌سازی آنزیم ال- هیستیدین در خاک‌های تیمار شده با بقایای گیاهی

خاک‌های مورد مطالعه	بقایای گندم Ea (KJ/mol)	بقایای یونجه Ea (KJ/mol)
لورک	۲۲۵	۶۱۱
رودشت	۱۱۱	۵۳۸

منابع

Burns RG, 1978. Enzyme activity in soil: Some theorical and paractical consideration. PP.295- 340. In: R.G. Burns (Ed.), Soil Enzymes. Academic Press, London.

Frankenberger Jr, and Tabatabai MA, 1982. Amidase activity and urease activities in plants. *Plant Soil*. 64: 153-166.

Frankenberger Jr, and Tabatabai MA, 1991_a. L-Asparaginase activity of soils. *Biol. Fertile. Soils*. 11:6-12.

Frankenberger Jr, and Tabatabai MA, 1991_b. L-glutaminase activity in soils. *Soil Biol. Biochem*. 23:869-874.

Martinez VA, and Tabatabai MA, 2001. Arylamidase activity in soils. *Soil Biol. Biochem*. 33: 17- 23.

Nourbakhsh F, and Dick RP, 2005. Net nitrogen mineralization or immobilization potential in a residue-amended calcareous soil. *Arid Land. Res.* 19: 299-306.

Palmer T, 2001. *Enzymes: Biochemistry, Biotechnology, Clinical chemistry*.

Perruci P, and Scarponi V, 1984. Arylsulfatase activity in soils amended with crop residues: Kinetic and thermodynamic parameters. *Soil. Biol. Biochem*. 16: 605-608.

Six J, Bossuyt H, Degryze S, and Denef K, 2004. A history of research on the link between (micro)aggregates, soil biota and soil organic matter dynamics. *Soill Till. Res*. 79: 7- 31.

Stanford G, and Smith SJ, 1972. Nitrogen mineralization potential of soils. Soil Sci. Soc. Am. Proc. 36:465-472.

Tabatabai MA, and Bremner JA, 1972. Assay of urease activity in soils. Soil Biol. Biochem. 9: 9-13.

Tabatabai MA, Gracia-Manzanedo AM, and Acosta. Martinez V, 2002. Substrate specificity of arylamidase in soils. *Soil Biol. Biochem*. 34:103-110.

Trasar-Capeda C, Gill-Sotresb F, and Leiro's MC, 2007. Thermodynamic parameters of enzymes in grass land soils from Galicia, NW Spain. *Soil Biol. Biochem*. 39: 311-319.

بررسی اثر کلونیزاسیون میکوریزا بر جذب فسفر گیاه شبدر برسیم در سطوح مختلف فسفر و تنش شوری خاک.

محسن کلهر[۱]، حبیب اله نادیان[۲]، بیژن خلیل مقدم[۳]

۱-دانشجوی کارشناسی ارشد علوم خاک دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان ،۲-دانشیار گروه خاکشناسی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان،۳ -استادیار گروه خاکشناسی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

مقدمه

فسفر یکی از عناصر غذایی مهم در تغذیه گیاهی بوده و پس از نیتروژن و پتاسیم بیشترین مصرف را در دنیا دارد، به طوریکه سالانه ۸۰۰ هزار تن در ایران مصرف میشود (سالاردینی، ۲۰۰۳). به دلیل اینکه فسفر در خاک عنصر متحرکی نیست، محل جذب آن محدود به مناطق باریک اطراف ریشه میشود که از چند میلیمتر تجاوز نمیکند. از طرف دیگر میزان فسفری که در گیاهان مختلف از خاک برداشت میشود با نوع گیاه فرق میکند و این تفاوت با افزایشسن گیاه بیشتر میشود که علت این تفاوت محلهای گیرنده خاص فسفر روی ریشه است که جذب فعال این عنصر را با پدیده حامل باعث میشود (هنسینگر،۲۰۰۵).فقر فسفر یکی از عوامل اصلی گرسنگی کشورهای در حال توسعه آسیا میباشد و نیاز به مصرف کودهای فسفری در این قاره مشهود است (سالاردینی، ۲۰۰۳). قارچهای میکوریزا از مهمترین همزیستهای گیاهان زراعی هستند. گیاهان مختلف به علت داشتن خصوصیات منحصر به فرد از جمله مشخصات مورفولوژیکی ریشه دارای همزیستی متفاوتی با این قارچها میباشند به همین علت کارایی همزیستی برای هر گیاه با دیگری متفاوت است (هانی و نادیان،۲۰۰۷).ریشه‌های میکوریزایی قادرند نسبت به ریشه‌های غیر میکوریزایی، فسفر بیشتری در واحد طول ریشه جذب کنند(نادیان،۲۰۰۱). از آنجایی که گیاه شبدر مورد استفاده درمنطقه اهواز درخاک-های آهکی قرار دارند، دراین خاکها کمبود فسفر یکی از شایع‌ترین کمبودهای عناصر غذایی است، و میکوریزا در افزایش سنتز پروتئین نقش دارد، افزایش کارایی جذب آب و مقاومت به امراض وبیماری درطی این همزیستی ممکن است بر روی مواد موثره درگیاه شبدر اثر بخش باشد، که این امر از لحاظ اقتصادی مهم است. از آنجایی که قارچ میکوریزا برای جذب فسفر در خاک نیاز به مقداری فسفر بهینه یا اولیه دارد، در این تحقیق سعی می‌شود که با دادن سطوح مختلف فسفر به خاک و بررسی منحنی جذب فسفر در گیاه به این مقدار فسفر بهینه خاک که مورد نیاز قارچ میکوریزا برای ایجاد همزیستی با گیاه می باشد دست یافت، و مشاهده کرد که قارچ میکوریزا در چه حدی از میزان فسفر خاک با تنش روبرو می‌شود و با کاهش جذب فسفر از خاک روبرو می‌شود.

مواد و روشها

این آزمایش به صورت گلدانی و در گلخانه دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین انجام خواهد شد. شهر ملاثانی در ۳۶ کیلومتری شمال شرقی اهواز و درحاشیه شرقی رودخانه کارون با عرض جغرافیایی ۳۱ درجه و ۳۶ دقیقه و طول جغرافیایی ۴۸ درجه و ۵۳ دقیقه با ارتفاع ۵۱ متر از سطح دریا واقع شده است.. تیمارهای این آزمایش شامل ۶سطح فسفر(۰، ۴، ۸، ۱۲، ۲۰و۴۰)برحسب میلی‌گرم‌برکیلوگرم، در این آزمایش از کود پتاسیم منو فسفات به صورت محلول

استفاده خواهد شد، ۲سطح مایکوریزا (حضور و عدم حضور مایکوریزا)، ۲سطح شوری(با شوری متوسط و بدون شوری) و ۴تکرار، که جمعا به ۹۶ واحد آزمایشی (گلدان) نیاز خواهد بود. این طرح در استان خوزستان تا به حال انجام نشده است. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی انجام خواهد شد. خاک مورد مطالعه در این آزمایش از مزرعه و از عمق ۰-۲۰ سانتی‌متر تهیه و از الک ۲ میلی متر عبور داده شده و با ۶۰ درصد ماسه به طور یکنواخت مخلوط خواهد شد،برای حذف عوامل پاتوژن، قارچ و باکتری‌های بومی خاک، مخلوط حاصل با استفاده از اتوکلاو و دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد و فشار PSI ۱۵ به مدت ۲ ساعت استریل خواهند شد، گلدانهای پلاستیکی تهیه شده با الکل کاملا ضد عفونی و استریل خواهند شد. در کف گلدانها جهت زهکشی تعدادی سوراخ یک اندازه ایجاد خواهد شد، بذور استفاده شده با محلول هیپوکلریت سدیم ۱۰درصد به مدت ۲۰ دقیقه ضد عفونی شده و با آب مقطر شستشو داده، و در ژرمیناتور قرار می دهیم تا جوانه بزنند. پس از اینکه طول ریشه ها به ۱تا ۱/۵سانتی متر رسید، گیاهچه‌ها به گلدانها انتقال داده خواهند شد، به این ترتیب که ابتدا درون هر گلدان ۵ حفره به عمق ۳ سانتی‌متر و به فاصله ۵ سانتی‌متر از یکدیگر توسط میله شیشه‌ای تمیز ایجاد خواهد گردید. سپس در تیمارهای مایکوریزی مقداری اینوکلوم(مایه تلقیح از ریزوسفر گیاه شبدر برسیم تلقیح شده با قارچ گلوماس اینترارادسیز(Glomus intraradices) تهیه خواهد شد). و در هر حفره قرار داده خواهند شد، که ریشه آنها روی مایه تلقیح قرار خواهد گرفت. سپس روی آنها با اینوکلوم و ماسه نرم پوشیده خواهد شد، و بعد گلدانها آبیاری خواهند شد تا رطوبت در حد FC تنظیم گردد. به منظور جلوگیری از آلودگی احتمالی تیمارهای تلقیح نشده با قارچ، تلقیح گلدان‌های مایکوریزایی در قسمت جداگانه‌ای انجام خواهد شد. برای اعمال شوری از آب نمک(سدیم کلرید) استفاده خواهد شد و یک Ec مشخص وثابت برای شوری استفاده می شود. کود فسفر نیز به صورت محلول به گلدان‌های مورد نظر داده می شود. با توجه به فقیر بودن خاک از عناصر غذایی، هر هفته مقدار ۱۰ میلیگرم در لیتر محلول غذایی اسمیت – اسمیت به گلدانها اضافه گردید (اسمیت و اسمیت،۱۹۸۱). اندازه گیری فسفر از روش خاکسترگیری خشک و با استفاده از مولیبدات آمونیوم و توسط دستگاه اسپکتروفتومتر صورت گرفت.نمودارها با استفاده از نرم افزار EXCELرسم شد. برای آنالیز دادهها از نرم افزار SAS استفاده شد و مقایسه میانگین ها توسط روش چند دامنهای دانکن صورت پذیرفت.

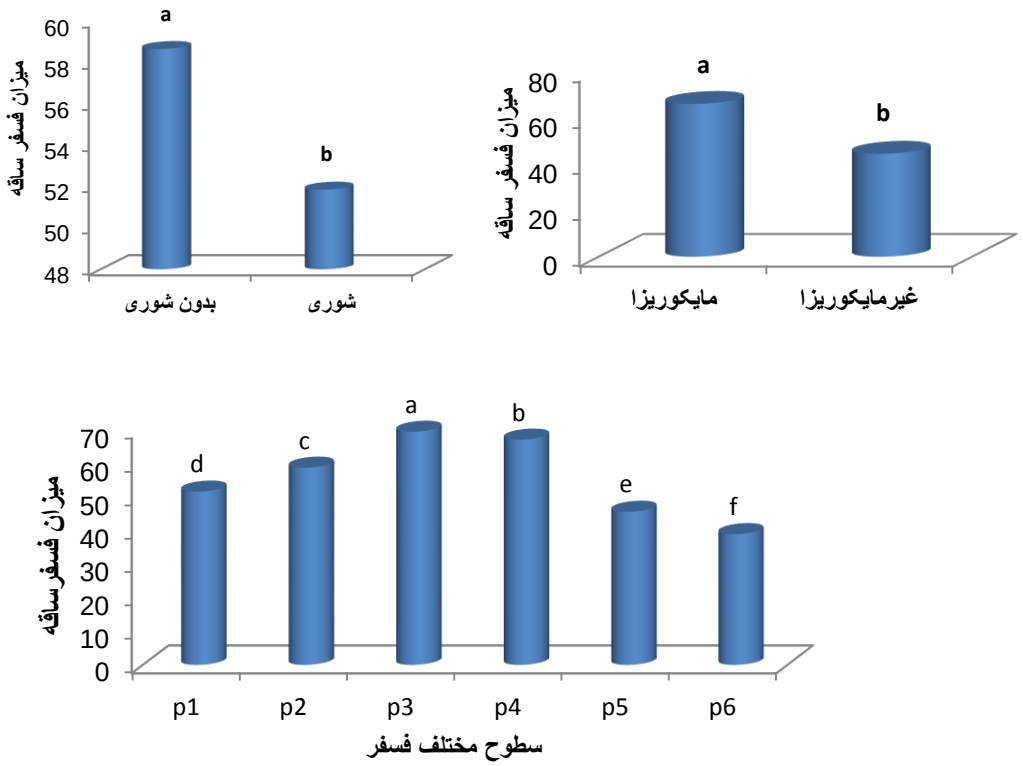
نتایج و بحث

تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱)، نشان داد که میکوریزا، شوری و سطوح مختلف فسفر بر روی جذب فسفر ریشه و اندام هوایی شبدر برسیم در سطح یک درصد تفاوت معنی دار ایجاد کرد. و اثرات متقابل میکوریزا، شوری و سطوح مختلف فسفر در میزان جذب فسفر ریشه معنی داری دارد. ولی بر میزان جذب فسفر ساقه اثر معنی داری نداشته است. علت بالا بودن جذب فسفر در گیاهان میکوریزایی ممکن است به خاطر رشد بیشتر میسیلیومهای خارجی به ازاء واحد طول ریشه گیاه میزبان بوده باشد. از طرفی در محیط خاک ریشههای میکوریزایی فسفر را از مناطقی دورتر از مناطق تخلیه فسفر در اطراف ریشه توسط توسعه هیف‌ها جذب می‌کنند و جذب فسفر از محلول خاک را بطور مشهودی افزایش می‌دهند.

جدول ۱- تجزیه واریانس جذب فسفر ریشه و اندام هوایی در گیاه شبدر تحت تاثیر قارچ میکوریزا و شوری و سطوح فسفر

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		میزان فسفراندام هوایی	میزان فسفرریشه
میکوریزا	۱	۱۱۱۸۰**	۸۲۸۵**
شوری	۱	۱۱۱۶**	۷۵۷**
فسفر	۵	۲۳۰۵**	۲۹۲۹**
میکوریزا*شوری	۱	۰/ ۴۲ns	۲۷/۵۶ns
میکوریزا*فسفر	۵	۱۷۲	۶۸/۳۸ns
شوری*فسفر	۵	۳۴۴ns	۱۱/۳۹**
میکوریزا*شوری*فسفر	۵	۲۱۶ns	۴۶/۳۹ns
خطا	۶۹	۱۷۹	۶۹
ضریب تغییرات ٪	-	۲۴/۲۴	۶/۵۲

ns، * و ** به ترتیب به منزله عدم تفاوت معنی‌دار، تفاوت در سطح ۵ درصد و تفاوت در سطح ۱ درصد می‌باشد.



شکل ۱- مقایسه میزان جذب فسفر در اندام هوایی گیاه شبدر تحت تاثیر میکوریزا، شوری و سطوح مختلف فسفر

منابع

حیدری شریف آباد، ح.، ۱۳۸۰. گیاه و شوری. انتشارات موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع.
سالاردینی ع، ۱۳۹۰ . حاصلخیزی خاک ، انتشارات دانشگاه تهران. صفحه های ۱۲۴-۱۱۹
هانی، الف. نادیان،ح. و برزگر، ع. ۱۳۸۶ . بررسی وابستگی میکوریزی و عملکرد دو نوع شبدر در سطوح مختلف فسفر. مجله علوم خاک و آب. جلد۲۲.شماره ۲ . صفحه ۲۷۶.

Auge, R. M. 2000. Arbuscular mycorrhizae and soil/plant water relations. Canadian Journal of Soil Scientia, 84: 373-381

Bago, B., Pfeffer, P. E., and Shachar-Hill, Y. 2000. Carbon metabolism and transport in arbuscular mycorrhizas. Plant Physiology 124: 949-957.

Hani, A. and Nadian, H., 2007. Mycorrhizal dependence and performance of two species of clover at different phosphorus levels.Journal of Soil and Water Science.21: 276.

Hinsinger, P., Gobran, G. R., Gregory, P. J. and Wenzel, W. W., 2005. Rhizosphere geometry and heterogeneity arising from root mediated physical and chemical processes. New Phytologist., 168: 293-303.

Nadian, H., 2001. Inoculation effect of three arbuscularmycorrhizal fungi on P inflow in berseem clover. Iranian Congress of Soil Science. Shahrekord University, 25-29 August. pp. 135-138.

Salardini, A. A., 2003. Soil fertility.University of Tehran Press. Pp. 119-124. . Smith, F. A. and Smith, S. E., 1981. Mycorhizal infection and growth of *Trifoliumsubterraneum*: Use of sterilized soil as a control treatment. New Phytologist, 88: 299-309.

Singh, R. P., Choudhary, A., Gulati, A., Dahiya, H.C., Jaiwal. P.K., and Sengar, R.S. 1997. Response of plants to salinity in interaction with other abiotic and factors. In: Jaiwal P.K., Singh, R.P., and Gulati, A. (eds) Strategies for improving salt tolerance in higher plants. Science Publishers, Enfield, N, H, Pp. 25-39.

بررسی اثرات قارچ *Glomus moseae* و باکتری *Pseudomonas putida* بر اسیدیته (PH) خاک اطراف ریشه گیاه آویشن دنائی

هیلا رسولی[1]، شهرام اشرف [2]، فرزانه بهادری [3]

۱-کارشناسی ارشد خاکشناسی دانشگاه آزاد واحد دامغان ۲- استادیار گروه خاکشناسی دانشگاه آزاد واحد دامغان ۳-عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی استان سمنان

hilar87@yahoo.com

مقدمه

افزایش جمعیت جهان سبب افزایش فشار بیشتر بر اراضی کشاورزی به منظور تولید بیشتر محصولات کشاورزی میشود. تا حدود سالهای ۱۹۰۰ در جهان به ویژه در ایالات متحده تقاضا برای افزایش تولیدات کشاورزی به طور عمده با زیر کشت بردن اراضی جدید تامین می شد ولی این روش دوام چندانی نداشت (خاوازی و همکاران، ۲۰۰۵). آسیب های زیست محیطی و تغییر بافت شیمیایی، فیزیکی و بیولوژیک خاکها و مشکلات بهداشتی ، دلایل مهم بازگشت به کودهای آلی با تغییراتی در قالب کشاورزی آلی یا ارگانیک بوده است (ترک و همکاران، ۲۰۰۶). کودهای زیستی، میکروارگانیسم‌هایی هستند که قادرند عناصر غذایی خاک را در یک فرآیند زیستی تبدیل به مواد مغذی همچون ویتامینها و دیگر مواد معدنی کرده و به ریشه خاک برساند. (سینگ وو کاپور،۱۹۹۹). در حال حاضر استفاده از بیوتکنولوژی خاک با هدف استفاده از پتانسیل ارگانیسم های مفید خاکزی به منظور تولید حداکثر محصول، در ضمن توجه به بهبود کیفیت خاک و رعایت بهداشت و ایمنی محیط زیست، مورد توجه قرار گرفته است.

زمینه های کاربردی علم بیوتکنولوژی خاک علاوه بر تولید کودهای بیولوژیک، شامل استفاده از ارگانیسم های مفید خاکزی به منظور حذف سموم و یا سایر آلاینده های خاک، تجزیه سریع بازمانده های گیاهی، بهبود ساختمان فیزیکی خاک، اصلاح خاک های فرسوده، کمک به حفظ سلامت گیاه و موارد دیگری از این قبیل هستند. آویشن گیاهی است معطرازخانواده نعناعیان (Lamiaceae)که ازگیاهان دارویی با ارزش ومتداول درطب سنتی وجدید دنیاست و از آن درصنایع غذایی، دارویی، بهداشتی وآرایشی استفاده متنوعی می شود (گشسبی و همکاران، ۱۳۹۰). در این تحقیق با توجه به اهمیت موضوع توسط سنجش های مختلف فیزیکی و شیمیایی خاک بر آنیم تا تاثیر دو باکتری سودوموناس پوتیدا و قارچ گلوموس موسوآ که محققین آنها را به عنوان میکروارگانیسمهای موثر معرفی نمودند در خاک های ریزوسفری گیاه آویشن دنایی در منطقه سمنان مورد ارزیابی قرار دهیم. به طور خلاصه می توان اهداف این تحقیق را در بررسی اثر استفاده از کودهای زیستی در در ایجاد شرایط شیمیایی بهینه خاک ریزوسفری آویشن ذکر نمود.

مواد و روشها

مراحل انجام آزمایش مورد نظر در دو مرحله اصلی گلخانه‌ای و آزمایشگاهی طبقه بندی شد. در گلخانه پس ازآماده سازی زمین، نقشه کشت در کرتهای(۱*۱) با فاصله ۵۰ سانتی متر از هم و فاصله ۵۰ سانتی متر بین تکرارها و در۶ ردیف اجرا گردید. بذرها براساس نقشه کشت با سه تیمار وسه تکرار(مجموعاً ۹ کرت) در قالب طرح بلوکهای کامل تصادفی کشت گردید. بافت خاک براساس نتایج آزمون خاک، شنی رسی است. عامل اصلی ،استفاده از قارچ میکوریز در دو سطح شامل قارچ گلوموس موسوآ و بدون مصرف قارچ و باکتری به عنوان عامل فرعی در دو سطح کاربرد باکتری سودوموناس پوتیدا و عدم کاربرد باکتری در قالب آزمایش فاکتوریل ۲×۲ بر پایه طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار مورد آزمون قرار گرفت. از خاک محیط ریشه بوته های خارج شده تا عمق ۳۰ سانتیمتر هرکدام به مقدار ۲ کیلو برداشت ودر کیسه های پلاستیکی با نصب اتیکت مشخصات کرت به آزمایشگاه منتقل شد.

اسیدیته خاک با استفاده از دستگاه pH متر در گل اشباع اندازه گیری شد. به منظور انجام آزمایشات، پس از هوا خشک شدن ، نمونه های خاک از الک ۲ میلی متری رد شدند. برای تهیه گل اشباع در حدود ۳۰۰ گرم از خاک برداشت شده و تا ظهور علائم گل اشباع آب مقطر به خاک اضافه شد.

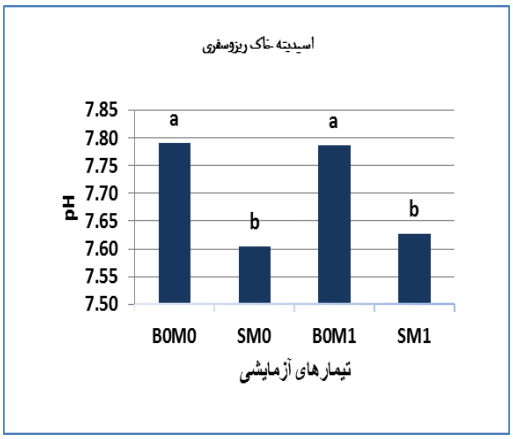
نتایج وبحث

نتایج حاصل نشان می دهد اعمال تیمار باکتری سودوموناس پوتیدا در اسیدیته خاک در سطح ۱٪ معنی دار بوده است ولی اعمال تیمار قارچ گلوموس موسوآ اثر معنی داری بر نتایج اسیدیته حاصله از خاک ریزوسفری نشان نداده است. همچنین مشاهده جدول آنالیز واریانس نشان می دهد اثر متقابل کاربرد دو میکروارگانیسم در کاهش (pH) معنی دار است. یعنی اثر متقابل دو میکروارگانیسم در این مورد مثبت می باشد. نتایج مقایسه میانگین نیز نشان می دهد تیمارهای شاهد و اعمال تیمار قارچ به تنهایی بالاترین میزان اسیدیته و بعد از آن اعمال تیمار قارچ به تنهایی و یا به همراه باکتری کمترین میزان اسیدیته را ایجاد کرده است. با توجه به نتایج بدست آمده به نظر می رسد توانایی سویه های باکتری و یا قارچ به کار رفته در ایجاد اختلاف معنی دار از لحاظ بحث حاصلخیزی خاک پایین بوده و یا لااقل از طریق کاهش اسیدیته خاک نقش زیادی در افزایش جذب عناصر غذایی مختلف توسط گیاه نداشته باشد. با توجه به اینکه قابلیت فراهمی عمده عناصر پرمصرف و کم مصرف در (pH) های پایین تر از ۶,۵ در حدی است که برای گیاهان مفید بوده و کمبود ناشی از عناصر کم مصرف را مرتفع می نماید لذا توجه به میانگین پ.هاش تیمارها موید عدم تاثیر (pH) های موجود در جذب ویژه عناصر پرمصرف و کم مصرف توسط گیاه می باشد. لذا در صورتی که نقش میکروارگانیسم های به کار رفته مثبت باشد نتایج با تحقیقات ساراهامبال و همکاران (۲۰۱۰) و همخوانی دارد چرا که این محققین، خروج H^+ از سلولهای ریشه که نتیجه آن اسیدی شدن ریزوسفر است و کاهش اسیدیته به ۵ یا کمتر از ۵ ، انحلال عناصر کم مصرف و به دنبال آن افزایش فراهمی آنها را به عنوان مکانیسم اصلی در افزایش تحرک مواد معدنی و

افزایش رشد گیاهان پیشنهاد دادند. همچنین سشادرا و همکاران (۲۰۰۲) و مکانیسمهای دیگری مانند تولید اسیدهای معدنی مانند اسید سولفوریک، نیتریک و کربنیک که کاهش (pH) خاک را در بردارد به عنوان مکانیسم موثر معرفی نمودند. و در صورتی که نقش میکروارگانیسم های به کار رفته در کاهش (pH) مثبت نباشد نتایج با تحقیقات شهاب و احمد (۲۰۰۸) مطابقت دارد. به طور کلی می توان گفت تغییرات ایجاد شده (pH) خاک ریزسفری گیاه آویشن دنایی توسط تیمارها، که در مواردی معنی دار و در مواردی بدون معنی بوده اند، عملاً باعث تغییرات معنی داری در افزایش و یا کاهش معنی دار عناصر پرمصرف ازت، پتاسیم و فسفر نشده است. در مورد خاکهای دیگر با خصوصیات متفاوت نیز آزمایش انجام گیرد تا شرایط انواع خاک نیز مورد بررسی قرار گیرد.

جدول نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف باکتری و قارچ بر اسیدیته خاک ریزوسفری

منبع تغییرات	اسیدیته خاک
قارچ	۰/۸۱۳
باکتری	۲۵/۳۸۱**
اثر متقابل قارچ و باکتری	۴۱/۳۴۳*



نمودار اثر تیمارهای باکتری و قارچ بر اسیدیته خاک ریزوسفری گیاه آویشن

منابع:

گشسبی، ف.، شمسی محمود آبادی، ح. و ع. زارع زاده. ۱۳۹۰. بررسی میزان ودرصد اسانس سه گونه آویشن دنایی (Thymus daenensis)، آویشن آناتولی(Thymus fallax) وآویشن باغی (Thymus vulgaris) درزمان گلدهی کامل در استان یزد. اولین همایش ملی مباحث نوین در کشاورزی. دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه.

Khavazi, K, Asadi-Rahmani, H, Malakouti, M. J. 2005. Necessity for the production of Biofetilizers in Iran.Ministry – e- Agriculture. Press second Eddition, 439p.

Sarathambalm C., M. Thangaraju, C. Paulraj, and M. Gomathy. 2010. Assessing the Zinc solubilization ability of *Gluconacetobacter diazotrophicus* in maize rhizosphere using labelled ^{6S} Zn compounds. Indian J. Microbio1.50 (1):103-109.

Seshadre, S., Muthukumarasamy, R., Lakshminarasimhan, C. And Ignaacimuthu, S. 2002. Solubilization of inmorganic phosphates by *azospirillumhaiopraeferans.*Curro Sci. 79(5): 565-567.

Shahab, S., and N. Ahmed. 2008. Effect of various parameters on the efficiency of zinc phosphate solubilization by indigenous bacterial isolates. Afr. J. Biotechnol. 7(10): 543-1549.

Sing, S and K. K. Kapoor. 1999. Inoculation with phosphate solluhilizing microorganisms and a vesicular arbuseularmycorrhizal fungus improves dry matter yield and nutrient uptake by wheat grown in a sandy soil. BioI.Fertil Soils. 28:139-144.

Turk, MA, Assef, TA, Hameed, K.M., and Tawaha, A.M. 2006. Significance of mycorrhiza. World journal Agriculture Science 2(1): 16-20.

پیامد هوموسی شدن کاه یونجه بر جذب سرب از یک آب آلوده

رقیه باقری[1]، علی اکبر صفری سنجانی[2]
۱-کارشناسی ارشد علوم خاک دانشگاه بوعلی سینا همدان ۲-استاد گروه خاکشناسی دانشگاه بوعلی سینا همدان
bagheri_elahe_70@yahoo.com

مقدمه

سرب با انباشته شدن در بدن انسان و دیگر جانداران و افزایش غلظت آن در زنجیره خوراکی جانداران می‌تواند به مرز زیان‌باری رسیده و بیماری‌های گوناگونی را پدید آورد (پورانیک و پاکنیکار، ۱۹۹۷). بنابراین نیاز است که پیش از رهاکردن پساب‌های دارای سرب به سیستم گردآوری پساب شهری یا رهاکردن آن در زیستگاه‌ها، این فلز از آن‌ها جداسازی گردد و یا غلظت آن کاهش داده شود (دنگ و همکاران، ۲۰۰۷). روش‌های فیزیکوشیمیایی به کار رفته در پالایش و بهسازی آب و خاک، از دیدگاه ساخت، نگهداری، خرید مواد شیمیایی و یا دستگاه‌های مورد نیاز، پیچیده، گران و پرهزینه هستند. از این رو در سال‌های گذشته نگاه‌ها بیشتر بر روش-های جذب زیستی[1] یون‌ها در محلول‌های آبی بوده است (ترشینا و همکاران، ۱۹۹۹). پژوهش‌های فراوانی روی گرفتن سرب از محلول‌های آبی با برخی فراورده‌های کشاورزی و مانده‌های کم ارزش مانند برگ ذرت (بابارینده و همکاران، ۲۰۰۶)، خاک اره (عبدالغنی و همکاران، ۲۰۰۷)، خاکستر پوسته شلتوک (فنگ و همکاران، ۲۰۰۴)، سبوس گندم (فرج زاده و منجی، ۲۰۰۴)، کربن فعال شده از مانده‌های کشاورزی (پریسامی وناماسیواما، ۱۹۹۶) و... انجام یافته است. در این پژوهش، تلاش می‌شود پیامد درجه هوموسی شدن کاه یونجه در پاک‌سازی پساب-های دارای سرب آزمون شود، و در راستای کاربردی نمودن هر چه بیشتر روش‌های پالایش زیستی پساب‌های آلوده به این فلز، گامی دیگر برداشته شود.

مواد و روشها

کاه یونجه از کشت‌زارهای استان همدان گردآوری گردید. پس از آسیاب کردن و گذراندن از الک ۲ میلی متری در دمای آزمایشگاه برای ۱، ۲۰ و ۶۰ روز در رطوبت ۷۰ درصد نگهداری و در هر یک از روزهای یاد شده نمونه‌هایی برداشت و ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیک آن‌ها اندازه‌گیری شد.
برای بررسی همدماهای جذب سرب بر مانده گیاهی در آغاز غلظت‌های ۰، ۲، ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰، ۱۲۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم در لیتر سرب از نمک نیترات سرب در محلول ۰/۰۰۱ نرمال نیترات سدیم در پ–اچ ۶ ساخته و سپس هر یک از آن‌ها بر یک گرم از سوسپانسیون مانده به حجم ۲۰۰ میلی‌لیتر بکار رفت. پس از شیک کردن و تکان دادن در دمای آزمایشگاه و رسیدن به تعادل، اندازه سرب جذب شده بر مانده‌ها با پالایش سوسپانسیون مانده‌ها بر کاغذ صافی به کمک دستگاه جذب اتمی مدل واریان ۲۲۰ برآورد گردید. میزان فلز جذب شده در حالت تعادل از معادله زیر محاسبه می‌شود (نسر، ۱۹۹۷).

[1] Biosorption

$$q = \frac{(C_o - C_e)V}{M} \quad (۱)$$

که در آن: q– اندازه سرب جذب شده بر یک گرم از وزن نگهدارنده (mg/g)، C_o– غلظت نخستین سرب (mg/l)، C_e– غلظت تعادلی سرب (mg/l)، V– حجم محلول (l)، M– وزن نگهدارنده (gr).

برای تعیین ویژگی‌های جذب سرب از مدل لانگمیر و فروندلیخ بهره‌گیری شد. همدمای جذب لانگمیر به شکل زیر می‌باشد (لانگمیر، ۱۹۱۶).

$$q_e = \frac{Q_m K_L C_e}{1 + K_L C_e} \quad (۲)$$

در این معادله: C_e: غلظت در حال تعادل سرب بر حسب میلی‌گرم در لیتر، q_e: مقدار سرب جذب شده در واحد وزن جذب کننده بر حسب میلی‌گرم در گرم، Q_m: بیشترین مقدار سربی که می‌تواند جذب شود بر حسب میلی‌گرم در گرم، K_L: ثابت وابسته به انرژی جذب بر حسب لیتر در میلی‌گرم می‌باشد.

همدمای جذب فروندلیخ به شکل زیر می‌باشد (فروندلیخ، ۱۹۰۶):

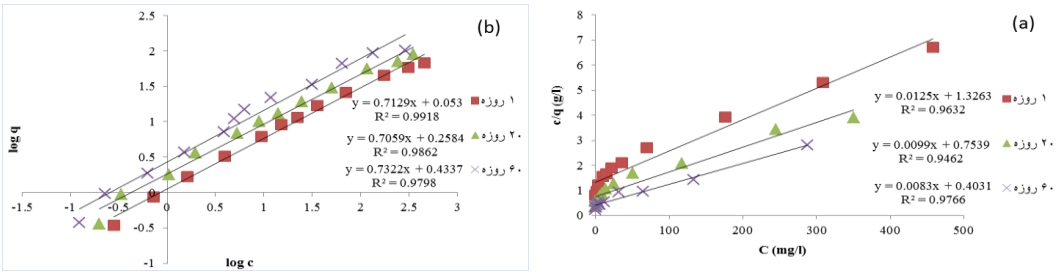
$$q_e = K_F C_e^{1/n} \quad (۳)$$

در این معادله: C_e و q_e تعاریف قبلی را دارند، K_F: ضریب توزیع بر حسب لیتر بر کیلوگرم و n: شدت جذب است.

برای به دست آوردن پارامترهای این معادلات از روش رگرسیون خطی استفاده شد. این پژوهش در سه تکرار در غالب طرح آماری کاملا تصادفی و به کمک نرم افزارهای SAS و Excel انجام گردید.

نتایج و بحث

جهت تعیین ایزوترم‌های جذب از نمونه‌های کاه یونجه هوموسی شده در ۱، ۲۰ و ۶۰ روز به عنوان جاذب استفاده شد، آزمایش‌ها در pH=۶ و با غلظت‌های اولیه مختلف از یون‌های فلزی (C_o) انجام شد. در شکل ۱ مدل‌های خطی ایزوترم لانگمیر، فروندلیخ بر روی داده‌های حاصل از آزمایش‌های جذب سرب بر روی جاذب‌ها (کاه یونجه با درجه هوموسی شدن مختلف) نشان داده شده است.



شکل ۱: نمودارهای حاصل از برازش نتایج حاصل از آزمایش‌های جذب سرب بر روی مدل‌های لانگ میر(a) و فروندلیخ (b)

هر دو مدل لانگمیر وفروندلیخ برازش بهینه‌ای با داده‌های جذب در هر سه نمونه نشان دادند. ضرایب ایزوترم-های بدست آمده در جذب سرب بر روی نمونه‌های کاه یونجه در جدول شماره ۱ آمده است.

جدول ۱: پارامترها و ضرایب همبستگی مدل‌های لانگمیر و فروندلیخ بر جذب سرب بر روی کاه یونجه

نوع ایزوترم	پارامترهای ایزوترم	زمان (روز) ۱	۲۰	۶۰
لانگمیر	q_m (mg/g)	^{c}۷۹/۷۵۳	^{b}۱۰۴/۱۷۴	^{a}۱۲۱/۹۸۷
	K_l	^{c}۰/۰۰۹۴	^{b}۰/۰۱۲۶	^{a}۰/۰۲۰۱
	**R^2	۰/۹۶۳	۰/۹۴۶	۰/۹۶۶
فروندلیخ	N	^{b}۱/۴۰۵	^{b}۱/۴۱۲	^{a}۱/۴۵۵
	K_f	^{c}۱/۱۳۶	^{b}۱/۸۱۴	^{a}۳/۰۴۹
	R^2	۰/۹۹۱	۰/۹۸۶	۰/۹۷۲

*میانگین‌های دارای دست کم یک حرف یکسان در پایه آماری ۵٪ ناهمانندی چشم گیری ندارند.

**همگی R^2 ها در پایه آماری یک درصد معنی دار هستند.

مقدار q_{max} در مدل لانگمیر بیشینه گنجایش جذب است که به طور معنی داری ($p<۰/۰۱$) در نمونه ۱ روز پس از انکوباسیون کمتر از نمونه ۲۰ روزه و در آن نیز کمتر از نمونه ۶۰ روز پس از انکوباسیون بود. که نشان می‌دهد با هوموسی کردن کاه یونجه گنجایش جذب افزایش یافته و مانده‌های گیاهی هوموسی شده توان بهتری در جذب و پالایش سرب آب‌های آلوده دارند. ثابت وابسته به انرژی پیوند (k_l) که نشان دهنده قدرت نگه‌داری سرب به وسیله جذب‌کننده (کاه یونجه) است نیز با پیشرفت فروزینگی و هوموسی شدن کاه یونجه افزایش معنی داری ($p<۰/۰۱$) نشان داد.

در رابطه فرندلیخ ضریب توزیع (k_f) نشان دهنده تمایل جذب یون می‌باشد. ضریب توزیع کوچکتر نشان می‌دهد که بیشتر سرب در سیستم محلول بوده و جذب جاذب (کاه یونجه با درجه تجزیه گوناگون) نشده است. برعکس مقادیر زیاد k_f نشان دهنده جذب بیشتر سرب می‌باشد. همانگونه که در جدول ۱ مشاهده می‌شود با گذشت زمان انکوباسیون مقدار k_f افزایش می‌یابد، پس سرب موجود در محلول کمتر و جذب بیشتر می‌شود، به گونه ای که از ۱/۱۳۶ در یک روز پس از انکوباسیون به ۱/۸۱۲۴ در روز بیستم انکوباسیون و در نهایت در کاه یونجه هوموسی شده (۶۰ روز پس از انکوباسیون) به ۳/۰۴۹ رسیده است. این مطلب نشان می‌دهد که کاه یونجه هوموسی شده سرب را با تمایل بیشتری جذب می‌کند.

گذشت زمان انکوباسیون به طور معنی داری ($p<۰/۰۱$) پارامتر n را نیز افزایش داد. شدت جذب در نمونه‌های ۱ و۲۰ روزه تفاوت معنی داری نداشتند ولی در نمونه ۶۰ روز پس از انکوباسیون شدت جذب به طور چشمگیری افزایش می‌یابد.

ایزوترم‌های لانگمیر و فروندلیخ، جذب تک لایه‌ای را نشان می‌دهند (اسکیبان و همکاران، ۲۰۰۷)، بنابراین می‌توان دریافت که سرب به گونه تک لایه بر روی کاه یونجه جذب شده است. اندازه q_m مدل لانگمیر نشان دهنده اندازه یون فلزی لازم برای پوشش تک لایه رویه جذب کننده می‌باشد که این برای کاه یونجه هوموسی

شده در ۶۰ روز بیشترین است و نشان می‌دهد که اندازه بیشتری از فلز برای پوشش تک لایه آن نیاز است. از این رو گنجایش مانده هوموسی شده در ۶۰ روز در جذب سرب بسیار بالاتر از مانده هوموسی نشده (برداشت شده در روز نخست) می‌باشد. رویهمرفته از این بررسی می‌توان دریافت که جذب سرب در نمونه‌های کاه یونجه ۶۰ روزه و هوموسی شده با توان و انرژی بیشتری انجام شده است.

به طور کلی نتایج این بررسی نشان داد که از کاه یونجه می‌توان همانند یک گیرنده شایسته برای جداسازی فلز سنگین سرب از محلول‌های آبی بهره‌گیری نمود. در اثر هوموسی کردن کاه یونجه ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیک آن تغییر می‌یابد. مجموعه این تغییرات منجر به افزایش سطح ویژه (به علت ریز شدن ذرات) و افزایش بارها و گروه‌های عاملی منفی می‌شود. از این رو گنجایش مانده هوموسی شده در ۶۰ روز و همچنین انرژی پیوند آن در جذب سرب بسیار بالاتر از مانده هوموسی نشده (برداشت شده در روز نخست) می‌باشد. داده‌های حاصل از جذب سرب بر روی کاه یونجه در هر سه زمان انکوباسیون به خوبی با هر دو معادله لانگ میر و فروندلیخ همخوانی داشتند. از آنجایی که ایزوترم‌های فروندلیخ و لانگمیر جذب تک لایه‌ای را نشان می‌دهند، می‌توان دریافت که سرب به گونه تک لایه‌ای بر کاه یونجه جذب می‌شود. رویهمرفته از این بررسی می‌توان دریافت که جذب سرب در نمونه‌های کاه یونجه ۶۰ روزه و هوموسی شده با توان و انرژی بیشتری انجام شده است.

منابع

Abdel-Ghani, N. T., Hefny, M. and El- Chaghaby, G. A. F. 2007. Removal of lead from aqueous solution using low cost abundantly available adsorbent. Int. J. Environ. Sci. Tech. 4(1): 67- 73.

Babarinde, N. A. A., Babalola, J. O., and Sanni, R. A. 2006. Biosorption of lead ions from aqueous solution bymaize leaf. International Journal of Physical Sciences, Vol. 1: 23-26.

Deng, L., Su, Y., Su, H., Wang, X., and Zhu, X. 2007. Sorption and desorption of lead(II) from wastewater by green algae Cladophora fascicularis. J. Hazard. Mater., 143: 220-225.

Farajzade, N. A., and Monji, A. B. 2004. Adsorption characteristics of wheat barn towards heavy meta cation. Separation and Purification Technology, 38: 197- 207.

Feng, Q., Lin, Q., Gong, F., Sugita, S., and Shoya, M. 2004. Adsorption of lead and mercury by rice husk ash. J. Coll. Interf. Sci., 278: 1- 8.

Freundlich, HMF. 1906. Uber die Adsorption in Losungen. J Phys Chem;57: 385-470.

Langmuir, I. 1916. The Constitution and Fundamental Properties of Solids and Liquids. J An Chem Soc;38:2221-95.

Nassar, M. M. 1997. The kinetics of basic dyes removal using palmfruit bunch. Adsorpt. Sci. Technol, 15: 609–617.

Periasamy, K., and Namasivayama, C. 1996. Adsorption of Pb (II) by peanut hull carbon from aqueous solution. Separation Science and Technology, 30: 2223- 2237.

Puranik, P.R., and Paknikar, K.M. 1997. Biosorption of lead and zinc from solutions using Streptoverticillium cinnamoneum waste biomass. Journal of Biotechnology, 55: 113-124.

Sciban, M., Radetic, B., Kevresan, Z., and Klasnja M. 2007. Adsorption of heavy metals from electroplating wastewater by wood sawdust. Bioresource Technology. 98: 402-409.

Tereshina, VM., Marin, AP., and Kasyakov, VN. 1999. Different metal sorption capacities of cell wall polysaccharides of Aspergillus niger. Appl Biochem Microbiol 35:389–392.

اثر کاربرد علف‌کش تیوبنکارب بر کربن بیوماس میکروبی در اراضی شالیزاری

سعیده شریفی راینی[۱]، مجتبی محمودی[۲]، سروش سالک گیلانی[۳]، محمد علی بهمنیار[۴]
۱- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ۲- عضو هیات علمی بخش تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی مازندران، ۳- مربی گروه علوم خاک، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری،۴- استاد گروه علوم خاک، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

مقدمه

علف‌های هرز با رشد خود امکان استفاده از مکان، فضا و زمان را از گیاه زرا عی می‌گیرند. نیاز به کنترل علف‌های هرز زمانی بیشتر احساس می‌شود که در رقابت با گیاهان زراعی باعث کاهش عملکرد گیاه می‌گردند. یکی از مهمترین روش‌های کنترل این گیاهان، کنترل شیمیایی آنها به وسیله علف‌کش‌هاست (فتحی، ۱۳۷۸). در حال حاضر در کشاورزی مدرن به کارگیری علف‌کش‌ها امری رایج است. علف‌کش در خاک برای کنترل علف هرز تا حدودی مناسب است، اما باقیمانده آنها ممکن است خطر زیست محیطی داشته باشد (محمودی و همکاران ،۱۳۹۰). شرایط و نحوه استفاده از سموم را باید به صورتی تنظیم کرد تا حداقل آسیب به محیط زیست وارد شود یا اصولا آسیبی وارد نگردد تا خصوصیات جامعه زیستی خاک در معرض خطر و تهدید قرار نگیرد (پدرسون، ۱۹۸۸). کربن بیوماس میکروبی شاخص بسیار مهم و حساس کیفیت خاک به خصوص در خاک‌هایی که کربن آلی آنها کمتر از ۲/۵در صد است، می‌باشد (سومان و همکاران، ۲۰۰۶)، نگرانی‌هایی در مورد اثرات علف‌کش‌ها بر روی بیوماس میکروبی و فعالیت آنها وجود دارد (پریوسی، ۱۹۹۰). برای مثال هارت (۱۹۹۶) دریافت که باکاربرد طولانی مدت (۱۹ سال) گلیفوزیت، کربن توده زنده در مقایسه با خاکی که علف‌کش ندارد کاهش می‌یابد. علف‌کش تیوبنکارب از گروه کارباموتیوات‌ها با نام تجاری ساترن (Saturn)، به صورت پیش رویشی (pre- emergence) برای مبارزه با علف‌های هرز پهن برگ و جگن‌ها بکار می‌رود، و از جمله علف‌کش‌های رایج در اراضی شالیزاری است. اثرات مصرف علف‌کش‌های رایج برنج بر فعالیت میکروبی خاک تا اندازه‌ای ناشناخته است لذا هدف از این مطالعه بررسی تاثیر علف‌کش تیوبنکارب بر کربن بیوماس میکروبی در اراضی شالیزاری است.

مواد و روشها

این پژوهش در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با مصرف علف‌کش تیوبنکارب در سه سطح و سه تکرار در مزرعه شالیزار ایستگاه تحقیقات کشاورزی دشت‌ناز ساری در استان مازندران صورت پذیرفت. تیمارهای این آزمایش شامل: شاهد (بدون مصرف علف‌کش)، مصرف علف‌کش معادل ۵۰ ، ۱۰۰ و ۱۵۰ درصد مقدار توصیه شده بود. دوز توصیه شده برای تیوبنکارب ۶/۶ لیتر در هکتار است. پس از مصرف علف‌کش نمونه برداری خاک در شش مرحله: صفر (یک ساعت)، ۱۰، ۳۰، ۴۵ ، ۶۰ و ۱۲۰ روز و پس از مصرف علف‌کش در عمق توسع ریشه برنج انجام گرفت. بافت خاک رسی سیلتی، EC= ۱/۸ ds/m ، pH= ۷/۵۳ و درصد کربن آلی خاک ۱/۶۴ بود. جهت انجام آزمایش کربن توده زنده میکروبی خاک از روش تدخین–عصاره گیری (Fumigation-

Extraction) استفاده شد (ونس و همکاران ۱۹۸۷). در پایان داده های حاصل با استفاده از نرم افزارآماری MSTATC تجزیه و تحلیل شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که علف‌کش تیوبنکارب در مرحله اول و سوم، (به ترتیب یک ساعت و ۳۰ روز پس از کاربرد علف‌کش) در سطح ۵٪ و در مرحله ۵ (۶۰ روز پس از کاربرد علف‌کش) در سطح ۱٪ تاثیر معنی دار برکربن بیوماس میکروبی دارد. ولی در مرحله ۲، ۴ و ۶ (به ترتیب ۱۰ ، ۴۵ و ۱۲۰روز پس از کاربرد علف‌کش) تاثیر معنی دار ($p\geq$۰/۰۵) بر این شاخص ندارد .

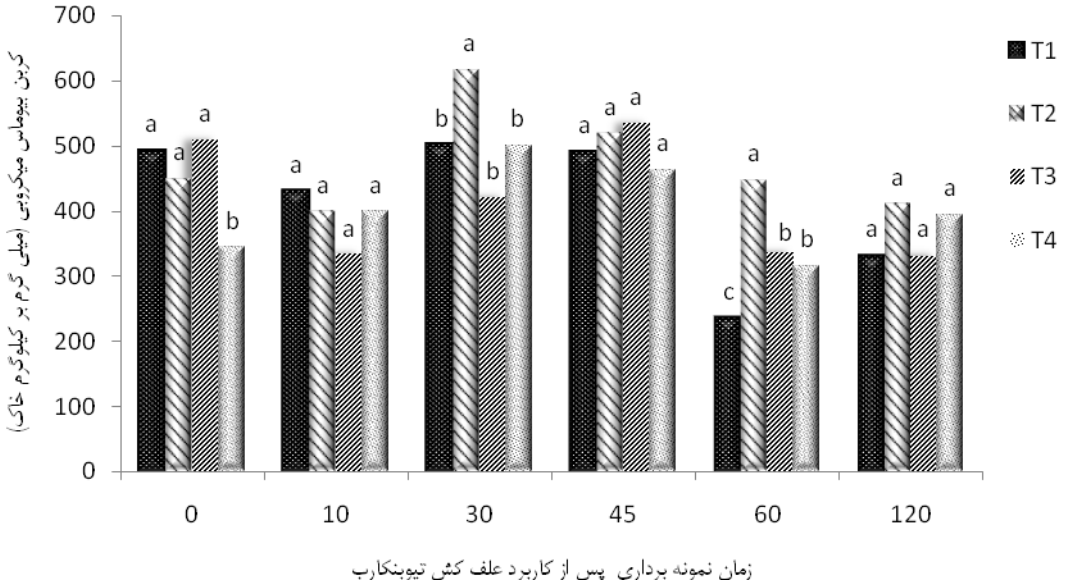
جدول ۱ _ میانگین مربعات اثر مصرف علف‌کش تیوبنکارب بر کربن بیوماس میکروبی

منابع تغییرات	درجه آزادی	زمان نمونه برداری پس از شروع آزمایش					
		یک ساعت	۱۰ روز	۳۰روز	۴۵روز	۶۰روز	۱۲۰روز
تکرار	۲	۸۹۰۰/۷۱۶	۷۳/۱۳۵	۳۴۳۵/۵۴۷	۲۳۹۹/۳۱۵	۵۳۳/۷۰۴	۱۱۵۱/۰۱۳
غلظت علف‌کش	۳	۱۶۶۴۱/۳*	۴۸۷۹/۹ns	۱۹۲۷۷/۵*	۲۹۸۱/۴ns	۲۲۷۸۶**	۵۱۶۹/۹ns
خطا	۶	۲۳۱۸/۴۵۴	۱۶۸۲/۱۷۶	۲۵۸۲/۹۰۸	۴۷۲۶/۸۵۳	۷۷۸/۹۵۴	۳۲۶۴/۴۸۱
ضریب تغییرات٪	–	۱۰/۷۵	۱۰/۵۱	۹/۹۸	۱۳/۷۱	۸/۳۷	۱۵/۵۹

**، * و ns به ترتیب بیانگر اثر معنی‌دار در سطح احتمال ۱درصد، ۵ درصد و عدم اختلاف معنی‌دار است

شکل ۱ اثر سطوح مختلف علف‌کش تیوبنکارب را بر کربن بیوماس میکروبی نشان می‌دهد. در مرحله اول (یک ساعت پس از مصرف)، تیمار ۶/۶ لیتر در هکتار بیشترین میزان کربن بیوماس میکروبی را نسبت به تیمارهای دیگر داردکه تفاوت معنی دار با تیمار شاهد ندارد. و تیمار ۹/۹ لیتر در هکتار کمترین میزان کربن بیوماس میکروبی را دارد که ۳۰/۰۷ درصد نسبت به شاهد کاهش داشته است. در این مرحله بالاترین سطح تیوبنکارب کمترین میزان کربن بیوماس را داشته است که این کاهش شاید ناشی از فعالیت کمتر میکروب‌های تجزیه کننده تیوبنکارب در خاک است و تیوبنکارب بر میکروب‌های بومی خاک تاثیر سو داشته است. گومز و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که با افزایش دوز علف‌کش گلیفوزیت کربن بیوماس میکروبی کاهش می‌یابد که اشاره به اثرات مهارکنندگی علف‌کش دارد. همچنین نتایج تحقیق آنها نشان داد که این اثرات مهارکننده اولیه که سلول‌های میکروبی را تحت تاثیر قرار می‌دهد موقتی است. در مرحله سوم و پنجم بیشترین میزان بیوماس میکروبی مربوط به تیمار ۳/۳ لیتر در هکتار می‌باشد،که به ترتیب ۲۲/۸۵ و ۸۹/۷۵ درصد نسبت به شاهد افزایش نشان دادند در مرحله سوم باتوجه اینکه جذب سطحی تیوبنکارب بالااست (اهرنس و همکاران،۱۹۹۴ ؛ محمودی

و همکاران،۲۰۱۳) بنابراین غلظت این علف‌کش با گذشت زمان در خاک کاهش می‌یابد و کمتر در اختیار میکروارگانیسم قرار می‌گیرد. و کربن بیوماس میکروبی در این مرحله افزایش می یابد



شکل ۱- تاثیر سطوح مختلف علف‌کش تیوبنکارب بر کربن بیوماس میکروبی

*ستون های که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح احتمال ۵٪ با آزمون دانکن تفاوت معنی دار ندارند. T_1: شاهد(بدون مصرف علف‌کش)، T_2 : مصرف علف‌کش معادل ۵۰٪ مقدار توصیه شده (۳/۳L/ha)، T_3: مصرف علف‌کش معادل ۱۰۰٪ مقدار توصیه شده (۶/۶L/ha)، T_4: مصرف علف‌کش معادل ۱۵۰٪ مقدار توصیه شده (۹/۹ L/ha)

در مرحله ۵ پس از گذشت ۶۰ روز از کاربرد این علف‌کش (با توجه به نیمه عمر آن) قسمت اعظم آن تجزیه شده است که باعث افزایش کربن بیوماس میکروبی می‌شود در پژوهش لوپ وایز و همکاران (۲۰۱۰) مشاهده شدکه کربن بیوماس میکروبی در هفته اول پس از کاربرد کاهش می‌یابد و پس از آن افزایش می‌یابد. در مرحله دوم، چهارم و ششم علف‌کش تاثیر معنی داری بر این شاخص نداشته است. مطالعات تو (۱۹۹۶) نشان داد که مصرف علف‌کش ارادیکان تاثیری برکربن بیوماس میکروبی نداشت که علت آن را تحمل مواد شیمیایی توسط ریز جانداران بومی خاک دانست. به طور خلاصه می‌توان نتیجه گرفت سطوح مختلف علف‌کش تاثیرات مختلف برکربن بیوماس میکروبی داشته است. کاربرد علف‌کش در دوز نرمال مزرعه (به غیر از ۶۰ روز پس از کاربرد علف‌کش) تاثیری بر کربن بیوماس میکروبی نداشته و با افزایش سطح علف‌کش کربن بیوماس میکروبی کاهش و در پایین ترین سطح علف‌کش کربن بیوماس میکروبی افزایش پیداکرده است.

منابع

قاسم ف، ۱۳۷۸. علف کش ها و فیزیولوژی گیاهی (ترجمه). انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد.

محمودی، م. راهنمایی ر. اسحاقی ع . ملکوتی م. ج. و جلالی م.، ۱۳۹۰. کینیتیک تجزیه و ایزوترم های جذب سطحی و رهاسازی تیوبنکارب در خاک های شالیزار. نشریه آب و خاک(علوم و صنایع کشاورزی)، جلد ۲۵، شماره ۳. صفحه‌های ۴۸۵ تا۴۹۷ .

Ahrens WH, Anderson CD, Campbell JM, Clay S, Ditomaso JM, Dyer WE, Edwards MT, Ehr RJ, Frank JR, Hickman MV, Hill ER, Isensee AR, oskinen WC, McAvoy WJ, Mitich LW, Ratliff RL and Sterling TM, 1994. Herbicide and book.Seventh edition. Weed Sci Soc 352.

Gome E, Ferreras L, Lovotti L andFernandez E, 2009. Impact of glyphosate application on microbial biomass and metabolic activity in aVertic Argiudoll from Argentina. Europen journal of soil biology 45:163-167.

Hart MR and Brookes PC, 1996. Soil microbial biomass and mineralization of soil organic matter after 19 years of cumulative field applications of pesticides. Soil Biol Biochem 28: 1641-1647.

Lupwayi NZ, Brandt SA, Harker KN, O'Donovan JT, Clayton GW and Turkington TK, 2010. Contrasting soil microbial responses to fertilizers and herbicides in a canolabarley rotation. Soil Biology and Biochemistry 42: 1997-2004.

Mahmoudi MR, Rahnemaie R, Eshaghi A and Malakouti MJ, (2013). Kinetics of degradation and adsoroption- desoroption isotherms of thiobencarb and oxadiargylin calcareous paddy fields. Chemospher 91:1009-1117

Pedersen TL, 1988. Elements of toxicology and chemical risk assessment, a handbook for nonscientists, attorneys and decision makers(2rd ed.). Environmental Corporation,Washington DC, USA.

Perucci P and Scarponi L, 1990. Atrazine, alachlor and metalachlor: persistence and phosphatase activity ina clay loam soil. Agrochimica 34: 214-222.

Suman A, Lal M, Singh AK and Gaur A, 2006. Microbial biomass turnover in Indian subtropical soils under different sugarcane intercropping systems. Agron 98:698-704.

Tu CM, 1996. Effect of selected herbicides on activities of microorganisms in soils. Environmental Science and Health 31: 1201-1214

.

Vance ED, Brookes PC and Jenkinson DS, 1987. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. Soil Biology Biochemistry 19:703-707.

.

ارزیابی اثر علف‌کش بوتاکلر بر معدنی شدن کربن خاک تحت شرایط شالیزار

سعیده شریفی راینی۱*، مجتبی محمودی۲، سروش سالک گیلانی۳، محمد علی بهمنیار

۱-دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ۲--عضو هیات علمی بخش تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی مازندران، ۳- مربی گروه علوم علوم خاک، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ۴- استاد گروه علوم خاک، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

مقدمه

در سه دهه گذشته، علی رغم آن که استفاده از کودهای شیمیایی و سموم دفع آفات موفقیت‌های چشمگیری را در افزایش محصول برنج داشته، اما تولیدآن نیز به دلیل عدم توجه به مسایل زیست محیطی، اثرات تخریبی بسیاری بر جای گذاشته است (جمشیدی، ۱۳۸۷). کاربرد مکرر علف‌کش‌ها باعث آلودگی وسیع خاک‌های کشاورزی می‌شود و معمولا زمانی به‌کار می‌روندکه محصولات وجود ندارد یا در اوایل مراحل رشد هستند، این مواد شیمیایی ممکن است موجودات غیر هدف از جمله میکروارگانیسم‌ها را تحت تاثیر قرار دهند، در حالی‌که برخی نتایج نشان داد که اثرات معنی داری بر روی فعالیت میکروارگانیسم‌ها ندارد (لوپ وایز، ۲۰۱۰). برخی ترکیبات آلی سمی ممکن است در منابعی که میکروارگانیسم‌ها از آن به‌عنوان غذا و انرژی استفاده می‌کنند تغییر ایجاد کنند (الکساندر، ۱۹۹۴). تنفس میکروبی یکی از مهم ترین شاخص‌ها برای ارزیابی امنیت زیست محیطی است (یائو، ۲۰۰۶). علف‌کش بوتاکلر [N-(butoxymethyl)-2-chloro-2',6-diethyl-acetanilide] با نام تجاری ماچتی، علف‌کش نوع کلراستانیلید است، که برای کنترل علف هرز مزارع برنج استفاده می شود (هانگ، ۲۰۰۲). سینگ و پیلسی (۱۹۹۳) به اثرات بالای بوتاکلر در از بین بردن علف هرز و افزایش عملکرد در دانه برنج اشاره کردند. در حالی که مطالعات فانگ (۲۰۰۹) نشان داد که بوتاکلر اثرات منفی بر روی رشد و فعالیت میکروارگانیسم های مفید خاک دارد. بهکی و خان (۱۹۹۷) در مطالعه خود نشان دادند که علف‌کش آترازین تاثیر منفی بر میزان تنفس خاک در سال اول پس از کاربرد داشت. در کشورمان اغلب مطالعات در زمینه ارزیابی تاثیر علف‌کش‌ها بر کنترل علف‌های هرز برنج و نیز خسارت گیاه سوزی متمرکز شده است و اثر علف‌کش‌ها بر ویژگی‌های شیمیایی و بیولوژیکی خاک کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است، از این رو آزمایشی با هدف ارزیابی اثر علف‌کش بوتاکلر که یکی از رایج‌ترین و پرمصرف‌ترین علف‌کش‌های مزارع برنج در مازندران می‌باشد بر فعالیت‌های خاک به اجرا در آمد.

مواد و روشها

این تحقیق در قالب طرح بلوک کاملاً تصادفی با ۴ تیمار شامل مصرف سطوح ۲/۱ ، ۴/۲ و ۶/۳ لیتر در هکتار علف‌کش بوتاکلر در سه تکرار تحت شرایط مزرعه ای (در ایستگاه تحقیقات کشاورزی دشت‌ناز ساری) اجرا شد. کرت‌های آزمایشی با ابعاد ۳×۴ متر و یک متر فاصله بین آنها در نظر گرفته شد. بین بلوک‌ها دو متر فاصله قرار داده شد. مرز بین کرتها توسط پوشش پلاستیکی پوشیده شده و ورودی آب و خروجی زه‌آب کاملاً جدا از یکدیگر در نظر گرفته شد. بافت خاک رسی سیلتی، میزان شوری خاک ۱/۸ دسی‌زیمنس بر متر ، pH =۷/۵۳ و درصد کربن آلی خاک ۱/۶۴ بود. نمونه برداری بصورت مرکب از عمق توسع ریشه (۱۰ تا ۲۰)

سانتیمتر طی پنج مرحله صفر (یک ساعت)، ۱۰، ۳۰، ۴۵ و۶۰ روز پس از مصرف علف‌کش انجام گرفت. سپس نمونه‌ها جهت آزمایش‌های مربوطه هواخشک گردیده و از الک ۲ میلی متری عبور داده شدند و به آزمایشگاه منتقل شد. تنفس خاک از روش اندازه گیری میزان دی اکسید کربن حاصل از تنفس میکروبی، از طریق تیتراسیون برگشتی با سود باقی مانده (آلف، ۱۹۹۵)، مورد سنجش قرار گرفت. داده های بدست آمده از آزمایش با استفاده از نرم افزارهای Excel و MSTATC مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

نتایج و بحث

جدول ۱ نتایج تجزیه واریانس اثر علف‌کش بوتاکلر بر معدنی شدن کربن خاک را نشان می‌دهد. چنانچه مشاهده می شود سطوح مختلف سم در مرحله اول و سوم (یک ساعت و ۳۰ روز پس از کاربرد علف‌کش) تاثیر معنی دار ($p\geq0.05$) بر این شاخص نداشته است.

جدول ۱- میانگین مربعات اثر علف‌کش بوتاکلر بر معدنی شدن کربن خاک

منابع تغییرات	درجه آزادی	زمان نمونه برداری پس از شروع آزمایش				
		یک ساعت	۱۰ روز	۳۰ روز	۴۵ روز	۶۰ روز
تکرار	۲	۴۲۷۷/۵۶۶	۱۱۲۵۱/۵۰۳	۴۴۲۱۳/۳۰۳	۶۵۵۹/۶۴۶	۲۲۸۴۷/۱۲۷
غلظت علف‌کش	۳	۶۶۵۵۶/۷۰۲^{ns}	۱۰۱۹۴۷/۶۴۱ *	۱۵۴۱۷/۵۵۲^{ns}	۱۳۵۹۷۷/۶۴۵**	۳۷۱۵۰/۸۴۶*
خطا	۶	۳۴۱۲۷/۰۵۰	۱۱۳۰۶/۹۶۵	۲۵۰۱۰/۹۰۷	۹۴۲۷/۰۸۴	۶۴۷۷/۶۹۷
ضریب تغییرات ٪	–	۱۵/۵۶	۱۱/۱۳	۱۳/۶۲	۶/۷۱	۹/۸۶

**، *و ns به ترتیب بیانگر اثر معنی‌دار در سطح احتمال ۱درصد، ۵ درصد و عدم اختلاف معنی‌دار است

این نتایج حاکی از آن است که فعالیت میکروارگانیسم ها تحت تاثیر علف‌کش و بقایای آن قرار نگرفته است. مطالعات یائو (۲۰۰۶) نشان داد که پس از ۷ و ۱۴ روز از کاربرد آفت‌کش استامیپرید[1] هیچ تفاوت معنی داری در تنفس خاک بین تیمارها دارای استامیپرید و شاهد دیده نشد .در مرحله دوم (۱۰روز پس از کاربرد علف کش) تفاوت معنی دار($p\geq$۵) بین سطح ۶/۳ لیتر در هکتار و شاهد ایجاد شد (جدول ۲). در این مرحله بالاترین سطح سم سبب کاهش تنفس به میزان ۲۵/۱۴ درصد در مقایسه با شاهد گردید، که احتمالا به دلیل اینکه بوتاکلر، کلر دارد برای میکروارگانیسم ها سمی تر است و با بالارفتن غلظت، اثرات سوء بر ریزجانداران گذاشته است. همچنین در این مرحله تیمار ۴/۲ لیتر در هکتار بیشترین مقدار تنفس را نشان داد که تفاوت معنی دار با شاهد نداشت (جدول ۲). یائو (۲۰۰۶) در ادامه مطالعات خود به این نتیجه رسید که با گذشت زمان پس از کاربرد علف‌کش با افزایش غلظت سم تنفس به شدت مهار می شود. بررسی جدول ۱ نشان می دهد که در مرحله ۴ و ۵ (به ترتیب ۴۵ و ۶۰ روز پس از کاربرد علف کش) این سم بر تنفس میکروبی تاثیر معنی دار داشته است . که در مرحله ۴ تیمار ۲/۱ لیتر در هکتار و در مرحله ۵ تیمار۴/۲ لیتر در هکتار، به ترتیب ۲۹/۰۹ و۲۴/۳۲ درصد

[1] - acetamiprid

این شاخص را نسبت به شاهد کاهش داده است (جدول ۲). باوجود نیمه عمر کوتاه بوتاکلر (رائو، ۱۹۹۹) در این مراحل اثرات منفی بر روی تنفس میکروبی مشاهده شد. تجزیه بوتاکلر به وسیله میکروب ها انجام می گیرد که میزان تجزیه به غلظت علف‌کش و نوع خاک بستگی دارد (پال ،۲۰۰۶) .

جدول۲ - مقایسه میانگین معدنی شدن کربن (میلی‌گرم کربن بر کیلوگرم خاک) در سطوح مختلف علف‌کش بوتاکلر

سطح بوتاکلر (L/ha)	ز مان نمونه برداری پس از کاربرد علف کش				
	یک ساعت	۱۰روز	۳۰ روز	۴۵ روز	۶۰ روز
شاهد	۱۳۸۱^{a}	۹۸۶/۳^{ab}	۱۱۴۵^{a}	۱۵۹۸^{a}	۹۰۳/۹^{a}
۲/۱	۱۱۸۰^{a}	۹۱۱/۹^{bc}	۱۲۱۲^{a}	۱۱۳۳^{b}	۷۶۴^{ab}
۴/۲	۱۰۱۷^{a}	۱۱۸۳^{a}	۱۰۶۷^{a}	۱۵۵۶^{a}	۶۸۴^{b}
۶/۳	۱۱۷۱^{a}	۷۳۸/۳^{c}	۱۲۲۲^{a}	۱۴۹۹^{a}	۹۱۲/۳^{a}

در هر ستون اعداد دارای حروف مشابه تفاوت معنی دار در سطح ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن ندارند.

احتمالا این کاهش به دلیل این است که تولیدات حاصل از تجزیه علف‌کش سمی تر از خود علف‌کش است (استراتون، ۱۹۸۴)، در نتیجه بر فعالیت میکرو ارگانیسم ها تاثیر سو دارد. نتایج تحقیقات کوچارسکی (۲۰۰۸) نشان داد که علف‌کش‌ها باعث تغییر در خصوصیات بیولوژیکی خاک حتی وقتی که در دوز توصیه شده به کار می‌روند می شوند. سیکون وهمکاران (۲۰۱۳) درتحقیقات خود به اثرات منفی کاربرد علف‌کش ناپروپامید[۲] در دوز نرمال مزرعه بر تنفس برانگیخته با سوبسترا اشاره کردند. به طور کلی و بر اساس نتایج تحقیقات انجام شده در چند دهه‌ی گذشته، اثر سموم بر فعالیت میکروبی بسیار متناقض است و روند یکسانی را نشان نمی‌دهد. به نظر می‌رسد که اثر سموم بر فعالیت میکروبی به نوع سم، غلظت سم، مدت زمان سپری شده پس از مصرف سم، شکل مصرف سم، شرایط فیزیکی محیط و خصوصیات خاک (مقدار نوع رس، و مقدار و نوع ماده آلی) بستگی دارد .

[2] - napropamide

منابع

جمشیدی م.، (۱۳۸۷). خیمه سرطان در شمال ایران، روزنامه اعتماد ملی، شماره پیاپی ۸۱۵، ص ۹

Alexander M, 1994. Biodegradation and Bioremediation. pp. 302. Academic Press, San Diego, USA

Alef K,1995. Estimating of soil respiration. In: K. Alef and P. Nannipieri (Eds). pp. 464-470 Methods in Soil Microbiology and Biochemistry. Academic Press, New York.

Behki R, and Khan SU, 1997. Impact of repeated long-term application of atrazine on soil properties and bound residues formation. Final coordination meeting organized by the joint FAO/IAEA division of nuclear techniques in food and agriculture. Hangzhou, Zhejiang, People's Republic of China 37-42.

Cycon M, Wojcik M, Borymski S and Piotrowska-Seget Z, 2013. Short-term effects of the herbicide napropamide on the activity and structure of the soil microbial community assessed by the multi- approach analy. Applied soil Ecology 66: 8-18

Fang H, Yu Y, Wang XG, Chu X and Yang X, 2009. Persistence of the herbicide butachlor in soil after repeated applications and its effects on soil microbial functional diversity. Journal of Environmental Science and Health Part B 44:123-129.

Hang M, Yang- Fang Y, Zhong- yun CH, Wei- xiang W and Yu-feng D, 2002. Effects of butachlor on microbial enzyme activities in paddy soil. Journal of Environmental Sciences 14:413-417.

Lupwayi NZ, Brandt SA, Harker KN, O'Donovan JT, Clayton GW and Turkington TK, 2010. Contrasting soil microbial responses to fertilizers and herbicides in a canolabarley rotation. Soil Biology and Biochemistry 42: 1997-2004.

Pal R, Das P, Chakrabarti K, Chakraborty A and Chowdhury A, 2006. Butachlor degradation in tropical soils:effect of application rate, biotic- abiotic interaction and soil conditions. Environ Sci Health 41:1103- 1113.

Rao VS, 1999. Principles of weed science. Published by science publishers, Inc., NH.USA. ISBN 57:808-069

.

Stratton GW, 1984. Effects of the herbicide atrazine and its degradation products, alone and in comination, on phototrophic microorganisms. Arch Environ Contam. Toxicol 13:35-42.

Singh SP and Pillsi KG, 1993. Weed control in direct seeded rice under puddle conditions. Plant Protect 21: 224–227.

Kucharski J, Wyszkowska J and Bacmaga M, 2006. Wtasciwosci mikrobilogiczne gleby zanie czyszczonej herbicydem Fawoeyt 300 SL. Acta Agr Silv 49:305-312.

بررسی تاثیر کود های شیمیایی فسفاته بر همزیستی میکوریزایی در مزارع سیب زمینی شمال غرب شاهرود

عباسعلی ملک[1]. حمیدرضا اصغری[2].
۱- دانشجوی کارشناسی ارشد اگرواکولوژی دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهرود، ۲- دانشیار دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهرود

مقدمه

امروزه استفاده بی رویه از کودهای شیمیایی محور اساسی برای افزایش راندمان محصول قرار گرفته است. پس از پتاسیم و نیتروژن، بیشترین نیاز گیاهان به عنصر فسفر می باشد. سالانه ۸۰۰ هزار تن کود فسفره در ایران مصرف می شود (ملکوتی، ۱۳۸۴)، که حداکثر ۳۰ درصد از این مقدار توسط گیاهان جذب شده و مابقی در اراضی تجمع پیدا میکند که علاوه بر تحمیل هزینه های اقتصادی بر کشاورزان، مشکلات زیست محیطی را نیز به همراه داشته است. برهم خوردن تعادل جذب عناصر غذایی و تجمع آلاینده ها در خاک، گیاه و آب های سطحی و زیر زمینی از مهمترین اثرات زیانبار مصرف بی رویه این نوع کودها هستند. یکی از راه های دستیابی به اهداف کشاورزی پایدار استفاده از میکرو ارگانیسم ها است، قارچ های میکوریزای آربوسکولار (AM) فراوانترین و معمولترین قارچ های همزیست در خاک هستند (Vestbery، ۱۹۹۵). این قارچ ها می توانند فسفر را از خاک جذب نموده و به گیاه منتقل نمایند و در عوض گیاه مقداری کربوهیدرات در اختیار این قارچ ها قرار می دهد. این همزیستی تحت تاثیر مقادیر فسفر خاک قرار دارد، این قارچ ها در خاک هایی که غلظت عناصر غذائی آنها (به ویژه فسفر) کم تا متوسط باشد، قادرند نیاز فسفری گیاه میزبان را تامین کنند بطوریکه نیازی به مصرف کودهای شیمیایی فسفره نباشد (Sharma، ۲۰۰۲). میزان همزیستی میکوریزایی به شدت به میزان فسفر قابل دسترس خاک وابسته است و در شرایط فراهمی فسفر میزان این همزیستی کاهش مییابد (صالحی، ۱۳۷۹ و Covacevich، ۲۰۰۷). از آنجایی که در ایران مطالعه چندانی بر روی رابطه همزیستی میکوریزایی در گیاه سیب زمینی نشده، بر آن شدیم تا این رابطه را در یکی از قطب های تولید سیب زمینی در شمال ایران در منقطه مجن (شمال غرب شاهرود) بررسی کنیم. در این تحقیق ما به مطالعه وجود رابطه همزیستی و تاثیر استفاده از کودهای فسفاته بر رابطه همزیستی میکوریزایی در گیاه سیب زمینی پرداختیم.

مواد و روش ها

در این مطالعه در نیمه دوم مرداد ماه ۱۳۹۰ (در مرحله گلدهی سیب زمینی) از ۱۰ مزرعه و از هر مزرعه ۱۰ نمونه به طور تصادفی انتخاب شد. مزارع مزبور از بین مزارعی انتخاب شدند که دارای ارقام یکسان بوده و سابقه کشت طولانی سیب زمینی داشته (بیش از ۲۰ سال) و هر ساله مقادیر زیادی کودهای شیمیایی فسفاته در آنها استفاده می شود. به منظور مقایسه نمونه های برداشت شده از ۱۰ مزرعه مورد بررسی، تعداد ۱۰ مزرعه نیز از مزارع کشت و صنعت جانبازان که از سال ۱۳۸۵ شروع به کار کرده و در فاصله ۵ کیلومتری منطقه مجن قرار دارد و برای سومین سال در آن سیب زمینی کشت می شد (مزارع شاهد) انتخاب شد و از هر مزرعه تعداد ۱۰ نمونه برداشت شد. نمونه ها شامل خاک و ریشه گیاه بودند و از عمق ۲۵ الی ۳۰ سانتیمتری پشته ها برداشته شد. پس از انتقال نمونه ها به آزمایشگاه، ریشه های موئینه هر نمونه را جدا کرده و پس از شستشو با آب، به

منظور رنگ آمیزی ریشه ها از روش تغییر یافته فیلیپس و هایمن (۱۹۷۰) استفاده گردید. پس از رنگ آمیزی ریشه ها، برای تعیین درصد همزیستی قارچ میکوریز از روش جیوانی و موس (۱۹۸۰) استفاده شد. در آزمایشگاه تمام ۲۰۰ نمونه خاک را با استفاده از الک ۲ میلیمتری الک و با استفاده از روش اولسن (۱۹۵۲) میزان فسفر قابل دسترس نمونه های خاک اندازه گیری شد.

نتایج و بحث

اندازه گیری متوسط میزان فسفر قابل دسترس در ۱۰ مزرعه (۱۰۰ نمونه خاک) مزارع سیب زمینی مورد بررسی در جدول شماره ۱ نشان می دهد که حداقل میزان فسفر در این خاک ها معادل ۲۸/۹۱ و حداکثر آن معادل ۲۱۲/۷۶ میلی گرم در کیلو گرم خاک می باشد.

جدول شماره ۱. میزان متوسط فسفر قابل جذب (میلی گرم درکیلو گرم خاک) در مزارع مورد بررسی

شماره مزرعه	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰
میزان فسفر قابل جذب	۶۰/۶۶	۲۸/۹۱	۹۶/۰۵	۹۲/۱۰	۷۶/۷۸	۴۵/۲۰	۶۰/۳۱	۱۳۳/۰۳	۹۹/۴۸	۲۱۲/۷۶
درصد همزیستی	۷	۸	۵	۶	۷	۵	۴	۴	۵	۴

بررسی ریشه های برداشت شده از مزارع منطقه مورد بررسی نشان داد که همزیستی میکوریزایی در کلیه مزراع فوق کمتر از ۱۰ درصد می باشد (جدول شماره ۱). این در حالی بود که میزان متوسط همزیستی میکوریزایی در ۱۰ مزرعه شاهد همجوار بیش از ۱۰ درصد و میزان فسفر خاک نیز حداکثر ۳۱/۷۲ اندازه گیری شد (جدول شماره ۲). نتایج فوق می تواند نشان دهنده ی تاثیر منفی کودهای شیمیایی در بهم زدن تعادل بیولوژیک خاک باشد. در تحقیقات اخیر نیز این موضوع به اثبات رسیده است (Asghari and Cavagnaro، ۲۰۱۱). همچنین میزان همزیستی میکوریزایی به شدت به میزان فسفر قابل دسترس خاک وابسته است و در شرایط فراهمی فسفر میزان این همزیستی کاهش می یابد (صالحی، ۱۳۷۹ و Covacevich، ۲۰۰۷). اسمیت و همکاران (۲۰۰۳) نیز نشان دادند که فراهمی فسفر قابل دسترس سبب افزایش جذب مستقیم فسفر از طریق مسیر ریشه های گیاه و حذف سیستم بسیار مفید و کار آمد جذب فسفر از طریق همزیستی میکوریزی خواهد شد. کاهش همزیستی را نمیتوان تنها به افزایش کودهای فسفاته معطوف کرد، طبق مطالعات حاجیان شهری و همکاران (۱۳۸۳) و تحقیقات دیگر (Hayman، ۱۹۷۰)، مشخص شده تغییرات قابل ملاحظه ای در مقدار کلونیزاسیون ریشه ها در ماه های مختلف وجود دارد، آنها نشان دادند که در ماه های فصل تابستان کمترین و در ماه های فصل پائیز بیشترین مقدار کلونیزاسیون ریشه ها وجود دارد. به نظر می رسد استفاده بیش از حد کودهای شیمیایی فسفاته و عدم رعایت تناوب زراعی در دراز مدت در منطقه مورد بررسی، ضمن بر هم زدن تعادل

بیولوژیک خاک های تحت کشت سیب زمینی، سیستم جذب فسفر را از سیستم وابسته به عناصر بیولوژیک (ریشه و میکوریزا) به سمت سیستم ریشه ای سوق داده است.

جدول شماره ۲- میزان متوسط فسفر قابل جذب (میلی گرم در کیلو گرم خاک) در مزارع شاهد

شماره مزرعه	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰
میزان فسفر قابل جذب	۶/۹۱	۱۴/۰۹	۷/۲۳	۱۰/۰۱	۱۱/۳۱	۱۱/۴۸	۲۳/۲۳	۱۶/۰۵	۳۱/۷۲	۱۳/۹۳
درصد همزیستی	۳۸	۲۶	۴۰	۴۲	۵۴	۴۶	۵۲	۳۲	۲۰	۳۲

منابع

حاجیان شهری م و عباسی م، ۱۳۸۳ . تغییرات جمعیت اسپورهای قارچی میکوریز وزیکولار - آربوسکولار در خاک جنگلهای طبیعی پسته در استان خراسان. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، سال هشتم، ش چهارم، صفحه ۸۵-۷۷.

صالحی ف و ابوسعیدی د و مرادی قهدریجانی م و علی اصغر زاد ن، ۱۳۷۹ . بررسی وجود قارچ میکوریزا در مناطق پسته کاری استان کرمان و اثر آن روی جذب فسفر و رشد گیاه پسته. گزارش نهایی، شماره ثبت:۷۹/۸۳۲، موسسه تحقیقات پسته کشور. صفحه ۶۳-۱.

ملکوتی م ج، ۱۳۸۴ . کشاورزی پایدار و افزایش عملکرد با بهینه سازی مصرف کود در ایران. چاپ سوم با بازنگری کامل، انتشارات سنا. تهران، ایران.

Asghari HR, Cavagnaro TR, 2011. Arbuscular mycorrhizas enhance plant interception of leached nutrients. Funct Plant Biol 38:1-8 (in press).

Covacevich, F., H.E. Echeverrria & L.A.N. Aquirrezabal, 2007. Soil available phosphorus status determines indigenous mycorrhizal colonization of field and glasshouse-grown spring wheat from Argentina. Appl. Soil Ecol, 35:1-9.

Giovannetti, M., & B. Mosse, 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. New Phytol, 84: 489-500.

Hayman, D. S. 1970. Endogone spore numbers in soil and vesicular – arbuscular mycorrhiza in wheat as influenced by season and soil treatment. Trans. Br. Mycol. Soc. 54 (1): 53-63.

Marshner, H. and B. Dell. 1996. Nutrient uptake in Mycorrhizal symbiosis. Plant Soil, 159: 89-102.

Olsen, S. R. 1952. Measurment of surface Phosphate on Hydroxyapatite and Phosphate rock

with radiophosphorus. J. Phys. Chem. 56:630-632.

Phillips, J. M., & Hayman, D. S, 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans. Br.Mycol. Soc, 55: 158-161.

Sharma, A.K. & B.N.Johri, 2002. Arbuscular Mycorrhizae, Interaction in plants, Rhizosphere and Soils. Science Publisher. INC,ENFILD, NH, USA.

Smith, E.S., F.A. Smith & I. Jakobsen, 2003. Mycorrhizal fungi can dominate phosphate supply to plants irrespective of growth responses. Plant physiol.,33: 16-20.

Vestbery, M. 1995. Occurrence of some *Glomales* in Finland. Mycorrhiza 5: 329 – 336.

تأثیر قارچ میکوریزی گلوموس اینترارادیسز بر شاخص‌های کارایی فسفر دو رقم گندم نان در کشت هیدروپونیک

داود رحمانی ایرانشاهی[۱]، مژگان سپهری[۲]، امیرحسین خوشگفتارمنش[۳]، مهدی زارعی[۴]، وحیداله جهاندیده مهجن آبادی

۱-دانشجوی کارشناسی ارشد بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، دانشگاه صنعتی اصفهان، ۲- استادیار گروه خاکشناسی دانشگاه صنعتی اصفهان،۳- استاد گروه خاکشناسی دانشگاه صنعتی اصفهان، ۴- استادیار گروه خاکشناسی دانشگاه شیراز

مقدمه

فسفر پس از نیتروژن مهم‌ترین عنصر غذایی در تغذیه گیاهان است اما جذب آن توسط گیاه دشوار می‌باشد، از اینرو کمبود آن باعث افت شدید عملکرد می‌شود (ایرانشهر و همکاران، ۱۳۹۰). لذا دستیابی به عملکرد بهینه گیاهان، مستلزم مصرف زیاد کودهای فسفاته است، در حالیکه طبق برآوردهای صورت گرفته، منابع سهل الوصول کودهای فسفاته رو به اتمام می‌باشند. از سوی دیگر، توانایی ژنوتیپ‌های مختلف گیاهی در جذب و مصرف عناصر غذایی متفاوت می‌باشد و تفاوت کارایی آن‌ها در استفاده از عناصر غذایی به دلیل جذب توسط ریشه‌ها، یا مصرف توسط گیاه و یا هر دو متأثر می‌شود (سپهر و همکاران، ۱۳۸۸). تحقیقات نشان داده که، اختلاف بین فسفر کارایی در گیاهان مختلف تحت تأثیر فاکتورهای ژنتیکی و محیطی است (Gahoonia and Nilsen, 1996). استفاده از ریز جانداران مفید خاکزی به خصوص همزیستی میکوریزی یکی از مهم‌ترین راه‌کارهای افزایش جذب عناصر غذایی به ویژه فسفر توسط گیاه می‌باشد. مطالعات نشان می‌دهد که گونه‌های مختلف قارچ میکوریزی آربوسکولار از نظر رشد و توسعه هیف و نیز توان جذب و انتقال فسفر به گیاه از توانایی متفاوتی برخوردارند لذا توانایی آن‌ها در استفاده از منابع غذایی خاک و بهبود شرایط رشد گیاه متفاوت است (Smith *et al*., 2004). رجالی و همکاران (۱۳۹۰) نشان دادند که از بین گونه‌های مختلف قارچ میکوریز آربوسکولار، گونه *Glomus intraradices* دارای کارایی بیشتری در شرایط کمبود فسفر می‌باشد. ماهیت پیچیده شیمی خاک، ضرورت استفاده از محیط‌های کنترل شده جهت حذف اثر فاکتورهای محیطی را به منظور انتخاب گیاهان کارا نسبت به عناصر غذایی آشکار می‌نماید. این نگرش برای انجام مطالعات مربوط به تعیین کارایی مصرف و انتقال فسفر در گیاهان بسیار مفید است (ایرانشهر و همکاران، ۱۳۹۰). هر چند جهت تکمیل نتایج آزمایش‌های انجام شده در محیط‌های هیدروپونیک انجام مطالعات مزرعه‌ای لازم می‌باشد و همیشه پاسخ گیاه و برهمکنش‌های مشاهده شده در محیط هیدروپونیک با محیط‌های کشت طبیعی یکسان نمی‌باشد. (خوشگفتارمنش، ۱۳۸۹). Gill و همکاران (۲۰۰۴) پس از بررسی کارایی جذب فسفر در ارقام مختلف گندم نشان دادند که بین فسفر کارایی گیاهان کشت شده در شرایط گلخانه و مزرعه هیچ گونه همبستگی معنی‌داری وجود ندارد. ایرانشهر و همکاران (۱۳۹۰) گزارش کردند که شاخص کارایی جذب فسفر در رقم گندم آزادی بیشتر از رقم نیک‌نژاد می‌باشد. لذا این تحقیق با هدف بررسی اثر تلقیح قارچ میکوریزی *Glomus intraradices* بر افزایش فسفر کارایی دو رقم گندم در شرایط کشت هیدروپونیک انجام گرفت.

مواد و روشها

این آزمایش به صورت کشت هیدروپونیک در قالب طرح کاملاً تصادفی و آزمون فاکتوریل در بستر مخلوط شن و پرلیت با سه فاکتور شامل، دو سطح قارچ میکوریزا (عدم تلقیح (G-)، گونه گلوموس اینترارادیسز (G+))، دو سطح محلول غذایی (محلول غذایی جانسون کامل (P) و محلول غذایی جانسون دارای کمبود فسفر ($P_{1/2}$)) با دو ژنوتیپ گندم (آزادی و نیک‌نژاد) در سه تکرار در گلخانه مرکز پژوهشی کشت بدون خاک دانشگاه صنعتی اصفهان اجرا شد. بذور گندم پس از استریل شدن در پتری حاوی دستمال کاغذی مرطوب استریل جوانه‌دار شدند. سپس بذرهای جوانه‌دار شده درون گلدان‌های ۳ کیلوگرمی حاوی مخلوطی از شن و پرلیت استریل شده با نسبت حجمی ۲:۱ کشت شدند. در هر گلدان ۵ عدد بذر گندم کاشت گردید و بعد از چند روز تعداد به ۴ عدد کاهش داده شد. گلدان‌ها در طی رشد با محلول غذایی جانسون تغذیه و به صورت روزانه با آب مقطر آبیاری شدند به نحوی که رطوبت بستر در طی آزمایش حدود ۸۰ درصد ظرفیت زراعی بود. مقدار مصرف محلول غذایی و آب مقطر بر اساس نیاز گیاهان در طول دوره رشد تنظیم گردید به طوری که در تیمارهای دارای تنش، علائم کمبود فسفر در گیاهان ظاهر گشت. پس از ۶۰ روز از کاشت گیاه اندام هوایی برداشت شد. سپس، وزن خشک شاخساره با استفاده از ترازوی دیجیتال و غلظت فسفر شاخساره به روش رنگ‌سنجی اندازه‌گیری و شاخص‌های کارایی فسفر محاسبه گردید. تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین بر اساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد انجام گرفت.

نتیجه و بحث

رقم نیک‌نژاد و آزادی به ترتیب با دارا بودن ۶/۱۹ و ۶/۱۱ گرم در گلدان بالاترین ماده خشک را در شرایط P و G+ داشتند و کم‌ترین تولید ماده خشک مربوط به تیمار $P_{1/2}$ و G+ در رقم نیک‌نژاد بود (جدول ۱). با کاهش فسفر، ماده خشک تمامی تیمارها در هر دو رقم به طور معنی‌داری کاهش یافت و به طور متوسط از ۵/۴۹ به ۴/۲۴ g/Pot برای G– و از ۶/۱۵ به ۴/۰۵ g/Pot برای G+ رسید و بیشترین پاسخ مربوط به کمبود فسفر متعلق به رقم نیک‌نژاد بود که از ۶/۱۹ به ۳/۶۶ رسید، این نتیجه با نتایج تحقیقات سپهر و همکاران (۱۳۸۸) مطابقت دارد. قارچ گلوموس اینترارادیسز در رقم آزادی باعث افزایش و در رقم نیک‌نژاد در $P_{1/2}$ باعث کاهش تولید ماده خشک شد و به طور متوسط از ۵/۴۹ به ۶/۱۵ g/Pot برای P و از ۴/۲۴ به ۴/۰۵ g/Pot برای $P_{1/2}$ رسید ولی این تفاوت‌ها معنی‌دار نبودند. بین دو رقم از لحاظ تولید ماده خشک در هر دو حالت کفایت (P) و کمبود فسفر ($P_{1/2}$) تفاوت میانگین معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۱). غلظت فسفر در رقم آزادی ۰/۲۸ و در نیک‌نژاد ۰/۲۷ بود (جدول ۱). غلظت فسفر در شرایط کمبود آن و بدون حضور قارچ از ۰/۲۷ به ۰/۰۸ کاهش یافت و در حضور قارچ نیز مقدار آن از ۰/۲۴ به ۰/۰۸ کاهش یافت. حضور قارچ باعث کاهش معنی‌داری در غلظت فسفر شد. بین دو رقم از لحاظ غلظت فسفر تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۱). کل فسفر جذب شده از حاصلضرب غلظت فسفر در ماده خشک محاسبه می‌شود و بدین ترتیب در حالت P و بدون قارچ رقم آزادی با ۱۵/۴۲ g/Pot بیشترین مقدار جذب را داشت و حضور قارچ باعث افزایش مقدار فسفر کل در حالت $P_{1/2}$ برای رقم آزادی و در حالت P برای رقم نیک‌نژاد شد اما این تفاوت‌ها معنی‌دار نبودند. بین دو رقم نیز از لحاظ فسفر کل تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۱).

جدول۱- اثر قارچ گلوموس اینترارادیسز بر وزن خشک، غلظت فسفر و فسفر کل شاخساره گیاه

ژنوتیپ	وزن خشک شاخساره g/Pot				غلظت فسفر شاخساره (%)				فسفر کل شاخساره Mg/Pot			
	+G		-G		+G		-G		+G		-G	
	$P_{1/2}$	P	$P_{1/2}$	P	$P_{1/2}$	P	$P_{1/2}$	P	$P_{1/2}$	P	$P_{1/2}$	P
آزادی	۴/۴۵	۶/۱۱	۴/۱۴	۵/۴۴	۰/۰۷۷	۰/۲۳۷	۰/۰۸۲	۰/۲۸۵	۳/۴۵	۱۴/۵۵	۳/۳۹	۱۵/۴۲
نیک‌نژاد	۳/۶۶	۶/۱۹	۴/۳۵	۵/۵۵	۰/۰۹۰	۰/۲۴۶	۰/۰۸۴	۰/۲۷۴	۳/۲۶	۱۵/۲۷	۳/۶۷	۱۵/۲۱
میانگین	۴/۰۵	۶/۱۵	۴/۲۴	۵/۴۹	۰/۰۸	۰/۲۴۱	۰/۰۸۳	۰/۲۷۹	۳/۳۵	۱۴/۹۱	۳/۵۳	۱۵/۳۱
LSD	۰/۷۶۱				۰/۰۳۴				۱/۶۷			
CV(%)	۸/۷۱				۱۱/۵۳				۱۰/۲۹			

جهت محاسبه شاخص کارایی در جذب از مقدار نسبی کل فسفر جذب شده در حالت کمبود به کفایت استفاده گردید. این شاخص به طور متوسط برای دو رقم ۰/۲۳ بدست آمد که از این لحاظ رقم نیک‌نژاد بالاتر از میانگین بود و تفاوت معنی‌داری با رقم آزادی داشت (جدول۲). با توجه به نتایج بدست آمده در آزمایش ایرانشهر و همکاران (۱۳۹۰) مشخص می‌شود که رقم نیک‌نژاد در شرایط کشت هیدروپونیک بر خلاف کشت در خاک از کارایی جذب فسفر بیشتری نسبت به رقم آزادی برخوردار است. حضور قارچ گلوموس اینترارادیسز باعث افزایش کارایی جذب فسفر در رقم آزادی و کاهش آن در رقم نیک‌نژاد گردید. در حالت G+ رقم آزادی کاراتر از رقم نیک‌نژاد بود و تفاوت آن‌ها معنی‌دار شد (جدول۲). از نسبت مقدار ماده خشک به کل فسفر جذب شده به عنوان کارایی مصرف فسفر در گیاه استفاده می‌گردد (جدول۲). این شاخص بین دو رقم دارای تفاوت معنی‌داری نبود اما هر دو رقم در حالت $P_{1/2}$ دارای کارایی بیشتری نسبت به حالت P بودند و از این لحاظ بین دو حالت تفاوت معنی‌داری وجود داشت. بر اساس این شاخص رقمی که بتواند ماده خشک بیشتری نسبت به واحد فسفر جذب شده تولید نماید رقم کارا در مصرف فسفر شناخته می‌شود، بنابراین رقم نیک‌نژاد در محیط هیدروپونیک نسبت به رقم آزادی کاراتر است (جدول۲). شاخص مذکور در هر دو رقم با کاهش مصرف فسفر به طور چشمگیری افزایش می‌یابد که نشان دهنده انتخاب مسیر سازگاری توسط گیاه در حالت محدودیت است و این یافته با نتیجه تحقیقات سپهر و همکاران (۱۳۸۸) مطابقت می‌نماید. قارچ گلوموس اینترارادیسز باعث تفاوت معنی‌داری در کارایی مصرف فسفر در گیاه نشد. بیشترین کارایی مصرف در حالت G+ و $P_{1/2}$ در رقم آزادی مشاهده شد و کمترین مقدار کارایی مصرف فسفر نیز در رقم آزادی در حالت G– و P بدست آمد (جدول۲). از مقدار نسبی ماده خشک شاخساره به عنوان شاخص فسفر کارایی استفاده گردید که از این لحاظ اختلاف معنی‌داری بین دو رقم مشاهده نشد (جدول۲). قارچ گلوموس اینترارادیسز نیز تأثیر معنی‌داری در فسفر کارایی رقم آزادی نداشت اما در رقم نیک‌نژاد باعث کاهش معنی‌داری در فسفر کارایی شد (جدول۲).

جدول۲- اثر قارچ گلوموس اینترارادیسز برشاخص‌های کارایی فسفر در ارقام گندم

ژنوتیپ	شاخص کارایی جذب		شاخص کارایی مصرف				فسفر کارایی	
	+G	-G	+G		-G		+G	-G
			$P_{1/2}$	P	$P_{1/2}$	P		
آزادی	۰/۲۳	۰/۲۲	۱/۲۸	۰/۴۲	۱/۲۲	۰/۳۵	۰/۷۳	۰/۷۶
نیک نژاد	۰/۲۱	۰/۲۴	۱/۱۱	۰/۴۰	۱/۱۸	۰/۳۶	۰/۵۹	۰/۷۸
میانگین	۰/۲۲	۰/۲۳	۱/۱۹۵	۰/۴۱	۱/۲	۰/۳۵۵	۰/۶۶	۰/۷۷
LSD	۰/۰۷۴		۰/۰۷۹				۰/۱۸۲	
CV(%)	۱۶/۲۶		۵/۷۱				۱۲/۷۵	

نتیجه‌گیری

همانطور که انتظار میرفت بین دو رقم از لحاظ شاخص‌های کارایی فسفر در کشت هیدروپونیک با مطالعات قبلی کشت در خاک تفاوت وجود داشت و کارایی رقم نیک‌نژاد در کشت هیدروپونیک افزایش یافته بود و در بیشتر موارد با کارایی رقم آزادی تفاوت معنی‌داری نداشت حال آنکه در مطالعات کشت در خاک کارایی بیشتر رقم آزادی نسبت به نیک‌نژاد به اثبات رسیده بود. قارچ گلوموس اینترارادیسز باعث افزایش کارایی در جذب فسفر رقم آزادی و کاهش کارایی در جذب و کاهش فسفر کارایی در رقم نیک‌نژاد شد. البته نتیجه قطعی در مورد این مسئله نیازمند بررسی بیشتر می‌باشد. امید است در تحقیقات آینده مکانیسم‌های کارایی و میکروارگانیسم‌های مناسب جهت همزیستی مورد بررسی قرار گیرند تا بتوان با کاهش مصرف کودهای فسفاته، علاوه بر صرفه جویی اقتصادی گامی مثبت در جهت کشاورزی پایدار برداشت.

منابع

ایرانشهر، ا. سپهر، ا. رسولی صدقیانی، م. ح و عبدالهی ب.، ۱۳۹۰. مقایسه کارایی ارقام مختلف گندم در جذب فسفر از خاک فسفات. دوازدهمین کنگره علوم خاک ایران، دانشگاه تبریز، تبریز.

خوشگفتارمنش ا. ح، ۱۳۸۹. مباحث پیشرفته در تغذیه گیاه. مرکز نشر دانشگاه صنعتی اصفهان.

رجالی، ف. اسمعیلی زاد، ا. اسدی رحمانی، ه. همتی و و شمشیری پور م.، ۱۳۹۰. بررسی تاثیر گونه‌های مختلف قارچهای میکوریز آربسکولار در جذب عناصر معدنی گیاه گندم در شرایط تنش خشکی. دوازدهمین کنگره علوم خاک ایران، دانشگاه تبریز، تبریز.

سپهر، ا.، م.ج. ملکوتی، ب، خلدبرین، ن، کریمیان و ع. صمدی. ۱۳۸۸. بررسی کارایی ارقام مختاف غلات از لحاظ جذب فسفر. مجله پژوهش‌های خاک (علوم آب و خاک)، جلد ۲۳، شماره ۲، صفحه ۱۳۴-۱۲۵.

Gahoonia TS and Nielsen NE, 1996. Variation in acquisition of soil phosphorus among wheat and barley genotypes. Plant and soil 178: 223-230.

Gill HS, Singh A, Sethi SK and Behl RK, 2004. Phosphorus uptake and use efficiency in different varieties of bread wheat *(Triticum Aestivum L).* Arch. of Agr. Soil Sci 56: 563-572.

Smith SE, Smith FA and jakobsen I, 2004. Functional diversity in arbuscular mycorrhizal (AM) symbioses: the contribution of the mycorrhizal P uptake pathway is not correlated with mycorrhizal responses in growth or total P uptake. New Phytologist 162: 511-524.

جداسازی باکتری‌های مقاوم جاذب سرب از پساب و خاک‌های آلوده به سرب در استان زنجان

محمد علی حسنلوئی[1] و فروزان قاسمیان رودسری[2]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم محیط زیست دانشگاه زنجان، ۲- استادیار گروه زیست شناسی دانشکده علوم دانشگاه زنجان

مقدمه

امروزه در نتیجه فعالیت‌های انسان نظیر حفاری، استخراج معادن، ذوب فلزات، صنایع خودرو، صنایع باطری‌سازی، تولید انرژی، سوخت، کودها، فاضلاب، کاربرد علف‌کش‌ها و سموم کشاورزی مشکلات بسیار زیاد زیست‌محیطی ایجاد شده است (متشرع‌زاده و همکاران، ۱۳۸۷). آلودگی به فلزات سنگین یک مشکل عمده زیست‌محیطی محسوب شده و تجمع آن‌ها در زنجیره غذایی موجودات زنده و انسان‌ها منجر به بروز مشکلات جدی برای اکولوژی و سلامت آن‌ها می‌شود این فلزات از نظر بیولوژیکی سمّی هستند و به‌صورت پایدار در محیط باقی می‌مانند (هوگس و پل، ۱۹۸۹). فلزات سنگین جذب خاک و رسوبات شده و به‌تدریج میکروارگانیسم‌هایی که در معرض این فلزات قرار دارند، نسبت به آن‌ها مقاوم می‌شوند (کرمانشاهی و همکاران، ۱۳۷۷). فلز سرب از نظر انتشار، گسترده‌ترین عنصر سنگین و سمی در محیط‌زیست است که به‌ویژه از زمان مصرف آن در بنزین، از پراکنش وسیعی در سطح جهان برخوردار است (نیّری و همکاران، ۱۳۹۰). سرب از طریق صنایعی همانند باطری‌سازی، کارخانه‌های ذوب فلزات سرب و روی، رنگ‌سازی، ساخت تسلیحات، صنعت چاپ، شیشه‌سازی و غیره وارد محیط می‌شود (آدر و وُهورا، ۲۰۰۷). مسمومیت با سرب بسیار خطرناک بوده و شامل آسیب به سیستم عصبی، کلیه و خون است که باعث کاهش بهره‌هوشی و سطح یادگیری در کودکان می‌شود (نیّری و همکاران،۱۳۹۰). از علائم بالینی مسمومیت با سرب می‌توان به کم‌خونی اشاره نمود که در اثر واکنشی رقابتی بین سرب و آهن در زنجیره هموگلوبین خون ایجاد می‌گردد (کاتزونگ، ۲۰۰۴).

مطالعه حذف فلزات سنگین از محیط بسیار ضروری است. بررسی‌ها نشان داده است که روش‌های شیمیایی و فیزیکی حذف این آلاینده‌ها مانند اکسیداسیون، احیاء، رسوب‌دادن شیمیایی، فیلتراسیون، تیمار الکتروشیمیایی، تبخیر، تبادل یونی و فرآیندهای اسمز معکوس محدودیت‌هایی متعددی دارند و از نظر اقتصادی نیز مقرون به صرفه نیستند. از طرف دیگر این روش‌ها برای تصفیه پساب‌های حاوی مواد آلی پیچیده مناسب نبوده، و زمانی که غلظت فلزات سنگین در حد خیلی کم باشد، این روش‌ها کارایی چندانی ندارند (کریم‌سلطانی و همکاران،۱۳۸۷). بررسی‌های اخیر نشان داده که باکتری‌های جداشده از مکان‌های آلوده به فلزات سنگین، آستانه تحمّل بالایی به این فلزات داشته و قادر به جذب آن‌ها از پساب‌ها و فاضلاب‌ها هستند (چوداهاری و همکاران،۲۰۰۱، فرانک و همکاران،۲۰۰۳، هینن، ۲۰۱۰).

مواد و روش‌ها

برای نیل به اهداف این تحقیق نمونه‌های پساب و خاک‌های آلوده از ۲۰ ایستگاه مختلف در استان زنجان شامل کارخانه‌های تولید، ذوب، فرآوری و تغلیظ سرب و خاک‌های این مناطق در ظرف‌های پلاستیکی درب‌دار استریل جمع‌آوری و بلافاصله با حفظ شرایط دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه منتقل و رقت ۰/۰۱ از نمونه‌ها تهیه گردید. از نمک نیترات سرب محلول مادر با غلظت ۴۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر تهیه و سپس از محلول مادر

غلظت‌های ۳۵۰۰،۳۲۵۰، ۳۰۰۰، ۲۷۵۰، ۲۵۰۰، ۲۲۵۰، ۲۰۰۰، ۱۵۰۰، ۱۰۰۰، ۸۰۰، ۴۰۰، ۲۰۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر برای شناسایی باکتری‌های مقاوم به سرب تهیه و به‌مدت یک هفته در یخچال نگهداری و با صافی ۰/۴۵ میکرومتر سترون گردید. کشت سطحی با اضافه نمودن ۸۰۰ میکرومول از رقت ۰/۰۱ نمونه در محیط کشت LBA شامل ۰/۵ درصد عصاره مخمر، ۱ درصد تریپتون و ۱/۵ درصد آگار با واکنش۷، با سطح آلودگی صفر به نمک‌های نیترات سرب (II) انجام شد. واکنش محیط کشت با محلول سود و اسید کلریدریک ۱۰درصد تنظیم شد. سطح داخلی کلیه ظروف شیشه‌ای در ابتدا با اسید کلریدریک ۱۰ درصد تمیز و پاکسازی گردید. پلیت‌ها به‌مدت ۲۴ تا ۷۲ ساعت در انکوباتور در دمای ۳۱ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. کلنی‌های به‌دست آمده در مرحله بعد به‌صورت کشت خطی در محیط LBA با سطح آلودگی ۱۰۰ تا ۲۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیترات سرب به‌صورتی که کلنی‌های رشد یافته در هر مرحله به مرحله بعد با سطح آلودگی بالاتر انتقال و کشت داده می‌شد. پس از رشد باکتری‌ها، بر اساس رشد در یک غلظت و عدم رشد در غلظت دیگر، غلظت مابین نیز تهیه و در آن سطح آلودگی نیز کشت انجام شد. در نهایت حداقل غلظت مهار کننده رشد (MIC) و حداقل غلظت نابود کننده باکتری[1](MBC) تعیین شد. برای محاسبه میزان کمّی جذب فلز توسط هر یک از سویه‌های مقاوم غربال شده و در نهایت انتخاب بهترین باکتری‌های جاذب فلز سرب به‌روش زیر عمل شد. هر یک از ایزوله‌های باکتریایی به‌دست آمده در محیط کشت Nutrient broth حاوی ۰/۳ درصد عصاره مخمر کشت داده شد. پس از ۲۴ تا ۴۸ ساعت گرماگذاری در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و ۱۵۰ دور در دقیقه، سوسپانسیون‌های باکتریایی به‌دست آمده در۱۰۰۰۰ دور در دقیقه، دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردید، و سپس دو بار با آب مقطر شستشو داده شد و با شرایط قبلی سانتریفوژ گردید. قبل از کشت ایزوله‌های باکتریایی وزن خالی لوله‌های آزمایش پس از یک گرماگذاری در ۳۰ درجه سانتی‌گراد تعیین شد. وزن‌تر بیومس‌های باکتری‌ها نیز پس از سانتریفوژ محاسبه شد. ۱۰ میلی‌لیتر محلول نیترات سرب (II) با غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر با واکنش معادل ۵ به‌مدت ۳ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و ۱۵۰ دور در دقیقه با سوسپانسیون‌ها مجاور سازی گردیدند. سوسپانسیون‌ها به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و با ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید، و در نهایت میزان غلظت فلز محلول رویی توسط دستگاه (AAS) Atomic Absorption Spectroscopy با دو بار تکرار قرائت و میانگین آن‌ها به‌صورت عدد نهایی جذب گزارش گردید. برای ارزیابی داده‌ها از معادله ۱ استفاده شد.

$$Q = V(Ci – Cf) / M \qquad [1]$$

در این معادله Q معرف میزان جذب فلز توسط بیومس است که بر حسب میلی‌گرم فلز جذب شده در هر گرم وزن خشک باکتری (mg /g dw) گزارش می‌گردد، V معرف حجم محلول مجاورسازی برحسب لیتر، Ci غلظت اولیه محلول فلزی برحسب میلی‌گرم بر لیتر، پارامتر Cf، غلظت فلز پس از مجاورسازی بر حسب میلی‌گرم بر لیتر و M وزن خشک بیومس بر حسب گرم است(هوگس و پل، ۱۹۸۹، Bergey و همکاران، ۲۰۰۵). شناسایی ایزوله‌های باکتریایی که بالاترین جذب فلز سرب را داشتند بر اساس مشخصات مورفولوژیک کلنی و رنگ آمیزی گرم انتخاب گردید (Bergey و همکاران، ۲۰۰۵).

[1]. Minimum Bactericidal Concentration (MBC)

بحث و نتایج

از کشت رقت‌های ۰/۰۱، ۲۰ نمونه پساب و خاک بر روی محیط کشت LBA بدون نیترات سرب(II) کلنی‌های مختلف قارچ‌ها، باکتری‌ها و مخمرها به‌دست آمد، با توجه به این‌که نمونه‌ها حاوی سرب بودند این وضعیت نشان می‌دهد که تعداد زیاد و انواع مختلفی از میکروارگانیسم‌ها نسبت به فلز مذکور مقاوم و قادر به رشد هستند. جهت خالص سازی کلنی‌ها از محیط کشت Nutrient Agar استفاده شد. ۱۸ سویه باکتریایی پس از کشت بر روی محیط LBA با سطح آلودگی ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیترات سرب(II) و با واکنش معادل ۷ پس از ۲۴ تا ۷۲ ساعت گرماگذاری در ۳۰ درجه سانتی‌گراد مقاوم و قادر به رشد بودند. با بالابردن سطح آلودگی ۵ سویه باکتریایی که باP1، P6، P8، P10 و P12 نام‌گذاری شده بودند تا ۲۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر مقاوم و قادر به رشد بودند. سویه باکتریایی P11 تا ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر پس از ۱۲۰ ساعت گرماگذاری رشد و مقاومت خود را نشان داد. در بررسی هینن (۲۰۱۰) جدایه‌های گزارش شد که قادر به تحمل ۲۴۰۰ و ۳۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بودند. در مرحله بعد توان جذب سرب ۶ سویه‌ای که مقاومت بالاتری را نشان داده بودند مورد سنجش و بررسی قرار گرفت. سویه‌های مقاوم در محیط کشت Nutrient broth حاوی ۰/۳ درصد عصاره مخمر کشت داده شد پس از ۲۴ تا ۴۸ ساعت گرماگذاری در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد و دور ۱۵۰ دور در دقیقه و به‌دست آمدن سوسپانسیون باکتریایی و مجاورت بیومس باکتریایی با غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم نیترات سرب(II) سویه‌های P10 و P6 توانستند به‌ترتیب با میزان جذب ۳۵۵/۲ و ۲۵۵ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک باکتری بیشترین میزان جذب سرب را داشته باشند (جدول ۱). در بررسی نیّری و همکاران(۱۳۹۰) سویه‌ای جدا شد که ظرفیت جذبی معادل۱۶۲/۸ میلی‌گرم بر وزن خشک باکتری را دارا بود.

جدول ۱ - میزان جذب سویه‌های باکتریایی به نیترات سرب (II)

نمونه (باکتری)	مورفولوژی	جذب قرائت شده (میلی‌گرم بر لیتر)	غلظت محلول اولیه (میلی‌گرم بر لیتر)	حجم محلول مجاورسازی (لیتر)	وزن خشک بیومس (گرم)	میزان جذب (میلی‌گرم فلز جذب شده در هر گرم وزن خشک باکتری)
P1	باسیل گرم منفی	۱۰۸/۶	۲۵۰	۰/۰۱	۰/۱۲	۱۱/۷۸۳
P6	باسیل گرم منفی	۱۴۸	۲۵۰	۰/۰۱	۰/۰۰۴	۲۵۵
P8	باسیل گرم منفی	۱۲۱/۳	۲۵۰	۰/۰۱	۰/۰۲۷	۴۷/۶۶
P10	باسیل گرم مثبت	۸۲/۴	۲۵۰	۰/۰۱	۰/۰۰۵	۳۵۵/۲
P11	باسیل گرم مثبت	۱۱۶/۱	۲۵۰	۰/۰۱	۰/۱۲۳	۱۰/۸۸۶
P12	کوکسی گرم مثبت	۱۵۳/۱	۲۵۰	۰/۰۱	ناچیز	ناچیز

نتیجه‌گیری

با توجه به اینکه هدف از این مطالعه به‌دست آوردن ایزوله‌های مقاوم جاذب به سرب بود، سویه‌های P6، P10 و P11 به‌دلیل مقاومت بالا و میزان جذب بیشتر انتخاب شدند. نتایج حاصله از میزا ن MIC نشان داد که سویه

P11 به‌دلیل تولید بیومس بیشتر و افزایش غلظت زیست توده، گرانول‌های زیست توده به هم اتصال یافته و به‌صورت متراکم در می‌آیند، در نتیجه سایت‌های اتصال در روی سلول باکتری پوشانیده شده و افت میزان جذب سرب حاصل می‌شود. همچنین به‌دلیل جذب بالای جدایه‌های P6 و P10 به‌ترتیب با میزان جذب ۳۵۵/۲ و ۲۵۵ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک باکتری که بالاتر از موارد گزارش شده قبلی هستند می‌توانند در جهت تولید بیوجاذب‌ها در تصفیه پساب‌های آلوده به فلزات سنگین در مناطق مورد مطالعه مورد استفاده قرار گیرند.

منابع

کریم‌سلطانی، ب، آموزگار، م. و حامدی ج.، ۱۳۸۷. جذب زیستی سرب توسط باکتری‌های جدا شده از پساب‌های صنایع پتروشیمی. مجله علوم و تکنولوژی محیط زیست، جلد سوم، شماره دوم، صفحه‌های ۴۱ تا ۵۱.

کسری‌کرمانشاهی، ر، قاضی‌فرد، ا. و توکلی آ.، ۱۳۷۷. جداسازی و شناسایی باکتری‌های مقاوم به فلزات سنگین در رسوبات حاشیه زاینده‌رود، مجله آب و فاضلاب، شماره ۲۷، صفحه‌های ۱ تا ۱۲.

متشرع‌زاده، ب، ثواقبی فیروزآبادی، غ، علیخانی، ح. و میر سید حسینی ح.، ۱۳۸۷. شناسایی گیاهان بومی و باکتری‌های مقاوم به فلزات سنگین در اراضی اطراف معدن سرب و روی عمارت شازند اراک. مجله تحقیقات آب و خاک ایران، جلد ۳۹، شماره اول، صفحه‌های ۱۶۳ تا ۱۷۴.

نیّری، ر، قائمی، ن. و نوحی ا.، ۱۳۹۰. ارزیابی باکتری‌های جدا شده از پساب‌های صنعتی در حذف آلاینده سرب. مجله دانشگاه علوم پزشکی قم، جلد پنجم، شماره اول، صفحه‌های ۷۸ تا ۸۲.

Athar M and Vohora SB, 2007. Heavy metals & environment. Sanandaj, Islamic Azad University of sanandaj Pp. 10-11.

Bergey DH, Staleey TJ, King RN, Brenner J and Bergey D, 2005. Manual of Systematic Bacteriology. 6th ed., Springer, New York.

Choudhury R and Srivastava S, 2001. Zinc resistance mechanisms in bacteria. Current Science 81: 768-775.

Franke S, Grass G, Rensing C and Nies DH, 2003. Molecular analysis of the copper-transporting efflux system CusCFBA of Escherichia coli. Journa of Bacteriol 185: 3804-3812.

Grass G, Fan, B, Rosen BP, Lemke K, Schlegel HG and Rensing C, 2001. NreB from Achromobacter xylosoxidans 31A is a nickel-induced transporter conferring nickel resistance. Journal of Bacteriol 183: 2803-2807.

Hughes MN and Poole RK, 1989. Metals and microorganisms. Chapman and Hall, London, United Kingdom.

Hynnienen A, 2010. Zinc, cadmium and lead resistance mechanisms in bacteria and their contribution to biosensing. MSc thesis, University of Helsinki.

Katzung BG, 2004. Basic and Clinical Pharmacology. Ninth ed. Naslefara, Tehran.

Nucifora G, Chu L, Misra TK and Silver S, 1989. Cadmium resistance from Staphylococcus aurous plasmid pI258 cadA gene results from a cadmium efflux ATPase. Proceedings of the National Academy of Sciences 86: 3544–3548.

تأثیر قارچ میکوریز Glumos mosseae و باکتری *Pseudomonas fluorescens* بر روی کارایی خاک فسفات آسفوردی یزد در گیاه ذرت سینگل گراس 704 از خاک فسفات اضافه شده به خاک

حسینعلی علیخانی [1]، فرشاد علیشاهی [2]، احمد حیدری[1]، لیلا محمدی [3]

1- دانشیار دانشگاه تهران،2- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه تهران،3- کارشناس آزمایشگاه بیولوژی خاک دانشگاه تهران

مقدمه

فسفر یکی از عناصر محدود کننده رشد گیاهان بعد از نیتروژن است و کمبود آن رشد گیاه را به شدت محدود می سازد (Gyaneshwar, 2002). متداولترین روش برای تأمین نیاز فسفری گیاهان زارعی در کشور مصرف کودهای شیمیایی فسفری می باشد (حسن زاده و همکاران، 1386 و راثی‌پور، 1386). معایب کودهای شیمیایی و هزینه بالای تولید آنها، همچنین صدمات زیست محیطی ناشی از مصرف آنها باعث شده که تولید کودهای زیستی و استفاده از منابع جایگزین در مقایسه با مصرف کودهای شیمیایی از منابع اقتصادی و زیست محیطی فراوان برخوردار باشد (حیاتی و همکاران 1390). یکی از راهکارهای موثر برای افزایش حلالیت و قابلیت جذب فسفر در خاک، استفاده میکروارگانیسم‌های خاکزی که توانایی انحلال فسفات‌های نا محلول آلی و معدنی و تبدیل آن به فسفر محلول را دارند، است(حاجی بلند و همکاران، 1386). وجود و فراوانی منابع سنگ فسفات در حدود 1298000 تن در جهان و گرانی تولید کودهای فسفره شیمیایی و آلودگی‌های جبران ناپذیر آنها بر محیط زیست محققین را بر آن داشت تا استفاده از سنگ فسفات به عنوان منبع جایگزین کودهای فسفره شیمیایی را در اراضی کشاورزی را مورد توجه قرار دهند (حیاتی و همکاران 1390). باکتری‌های حل کننده فسفات‌های نا محلول علاوه بر انحلال فسفات‌های نا محلول می توانند با سنتز هورمون‌های گیاهی باعث افزایش رشد گیاهی شده و به این ترتیب سطح جذب را افزایش دهند (Azcon, 1976). یکی از مهمترین باکتری‌های حل کننده فسفات جنس *Pseudomonas fluorescens* می باشد (Abdul, 2007). از طرفی برخی از باکتری‌های گونه *Pseudomonas fluorescens* توانایی توسعه همزیستی میکوریزی را داشته و به این دلیل به آن‌ها باکتری‌های کمک کننده میکوریز نیز گفته میشود (Garbaye, 1994). یکی از مهم ترین روابط همزیستی در عالم حیات که طی دوره تکامل به وجود آمده است، همزیستی میکوریزائی می باشد که در آن، ریشهٔ گیاه با قارچ به صورت یک واحد زنده فعالیت می کنند و از یکدیگر سود می برند (به نقل از اصغرزاده و صالح راستین، 1380). قارچ AM رابطه هم افزایی با سایر میکروارگانیسم ها از قبیل باکتری‌های حل کننده فسفات و میکروارگانیسم‌های تحریک کننده رشد گیاه، بر افزایش رشد و بقای آن دارد (Azcon, 1989). آنتون (2002) در تحقیقی روی میکروارگانیسم های حل کننده فسفات‌های نامحلول بیان کرد که این میکروارگانیسم‌ها با تولید اسید، قابلیت حل فسفر را از منابع فسفات غیر قابل انحلال نظیر سنگ فسفات افزایش میدهند. طلب و بدر (2007) افزایش میزان جذب فسفر را در حضور باکتری‌های حل کننده فسفات از سنگ فسفات در شرایط خاک اسیدی در گیاه سورگوم گزارش نمودند. در آزمایشی که قورچیانی و همکاران (1391) در مورد تاثیر باکتری‌های حل کننده فسفات و قارچ میکوریزایی بر روی ذرت در شرایط کم آبی انجام دادند، مشاهده شد که کاربرد باکتری‌های حل کننده فسفات و قارچ میکوریز

باعث افزایش جذب فسفر و عملکرد زیستی در ذرت می گردد. ثمربخش در تحقیقی بر روی قارچ میکوریز در سال 1385 بیان داشت که کاربرد قارچ میکوریز آربوسکلار روی صفات وزن هزار دانه، تعداد دانه، عملکرد دانه و عملکرد زیستی تأثیر معنی داری دارد.

یکی از مهمترین گیاهان زراعی، ذرت می باشد که در ایران در ترکیب جیره غذایی طیور و علوفه سیلویی برای تغذیه دام دارای سهم 65-70 درصدی می باشد (حمیدی و همکاران 1386). همچنین ذرت پر محصول ترین گیاه از خانواده غلات به شمار می آید، که از قابلیت تولید ماده خشک بالایی برخوردار است، از این رو تولید بالای این گیاه با مصرف زیاد نهاده‌ها همراه است (قورچیانی و همکاران 1391). لذا با توجه به اهمیت ذرت در جهان و کشور، به کارگیری شیوه های مناسب کود دهی و تغذیه ای برای گسترش کشت و عملکرد آن در کشور با تأکید به جلوگیری از آلودگی‌های زیست محیطی و استفاده از منابع جایگزین کودهای شیمیایی نظیر سنگ فسفات و کودهای بیولوژیک بایستی انجام گیرد. در این راستا برای بررسی کارایی سنگ فسفات توفوردی یزد و تأثیر باکتری بومی *Pseudomonas fluorescens* و قارچ میکوریز *mosseae* بر جذب فسفر توسط ذرت این تحقیق انجام گرفت.

مواد و روشها

این تحقیق گلخانه‌ای در سال 1391 در دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران انجام گردید. آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با 4 تکرار در نظر گرفته شد. فاکتورهای آزمایش شامل فاکتور A با دو سطح (عدم استفاده از قارچ میکوریز و استفاده از قارچ میکوریز) و فاکتور B نیز با دو سطح (عدم استفاده از باکتری و استفاده از باکتری) بود. تعداد 16 عدد گلدان آماده و به میزان 4 کیلوگرم خاک با فسفر محلول پایین (4/2 mg/kg) که از عمق 0 تا 30 سانتی متری منطقه کردان (استان البرز) تهیه، هوا خشک و از الک 2 میلی متر عبور داده شده بود، پر شد. شمارش اسپور برای مایه تلقیح قارچ میکوریز انجام و میزان مایه تلقیح قارچ میکوریز *mosseae* 120 گرم (حدود 46000 وزیکول در هر گلدان) به هر گلدان اضافه شد. در این آزمایش از خاک فسفات آسفوردی یزد استفاده شد. توده معدنی آسفوردی شامل کانسار آهن و فسفات از نوع آذرین بوده و میزان ذخیره برآورد شده قریب 17 میلیون تن با عیار 13/9 درصد P_2O_5 می باشد. میزان خاک فسفات اضافه شده به گلدان‌ها 1 گرم فسفر بر کیلوگرم خاک خشک بود به گلدان‌ها اضافه گردید. باکتری *Pseudomonas fluorescens* از خاک مورد آزمایش بر اساس توانایی انحلال فسفات‌های نامحلول معدنی (منابع مختلف فسفر) جداسازی و مورد استفاده قرار گرفت. برای انجام آزمون گلخانه‌ای مایه تلقیح‌کشت تازه باکتری در محیط کشت NB تهیه گردید. سپس جمعیت باکتری در سوسپانسیون باکتری *Pseudomonas fluorescens* در حد (10^8 cell/ml) تنظیم شد و به میزان 2 میلی لیتر سوسپانسیون در موقع کاشت به اطراف هر بذر تلقیح شد. بذر ذرت رقم سینگل گراس 704 بعد از ضدعفونی با الکل و هیپوکلرید سدیم 10 % به ترتیب به مدت 10 ثانیه و 90 ثانیه و سپس 8 مرتبه با آب مقطر استریل شسته شده و بر روی پتری‌های حاوی آب–آگار جوانه دار شده و در عمق حدود 3 سانتی متری خاک به تعداد 4 عدد در هر گلدان کاشته شدند که بعد از استقرار گیاهچه به 2 عدد در هر گلدان کاهش داده شد. به تمام گلدان‌ها نیتروژن از منبع اوره و پتاسیم از منبع سولفات پتاسیم (بر اساس آزمون خاک) اضافه گردید. عناصر کم مصرف شامل مس (2 میلی گرم مس از منبع

$CuCl_2$)، منگنز (2 میلی گرم منگنز از منبع $MnCl_2$)، روی (1 میلی گرم روی از منبع $ZnCl_2$) و آهن از منبع سکوستیرین آهن به میزان 5 میلی گرم بر کیلوگرم به تمامی گلدان‌ها اضافه گردید. رطوبت در تمامی فصل کشت در حد 70-75 درصد رطوبت ظرفیت زراعی (FC) نگه داشته شد. تمامی گلدان‌ها در شرایط گلخانه‌ای با دمای 28-25 درجه سلسیوس نگهداری شدند. بعد از اتمام طول دوره آزمایش (4 ماه) ارتفاع گیاه با متر و قطر ساقه در محل طوقه با کولیس اندازه گیری شد. بخش هوایی گیاهان از محل طوقه برداشت شدند. برای تعیین وزن خشک بخش هوایی و ریشه، نمونه‌ها در داخل دستگاه انکوباتور با دمای 70 درجه سلسیوس قرار داده و 72 ساعت نگهداری شدند. سپس وزن خشک آنها با ترازو (دقت 0/001± گرم) تعیین گردید. نمونه‌ها سپس در آزمایشگاه آسیاب و غلظت فسفر آنها به روش خشک سوزانی اندازه‌گیری شد.

برای تمام داده‌ها تجزیه واریانس انجام و مقایسه میانگین داده‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح 5٪ انجام شد. بدین منظور از نرم افزار SPSS V21 و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده گردید.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های آزمایش نشان داد که قارچ میکوریز آربوسکلار *G.mosseae* و باکتری *Pseudomonas Fluorescens* بر تمامی شاخص‌های اندازه‌گیری شده اثر مثبت و معنی دار داشته (جدول 1) و باعث افزایش میزان صفات مورد بررسی شده‌اند ولی اثر متقابل دو تیمار در صفات ارتفاع گیاه و قطر ساقه از نظر آماری معنی دار نبود.

جدول1- تجزیه واریانس صفات مورد بررسی

تغییرات	df	ارتفاع گیاه	قطر ساقه	وزن خشک اندام هوایی	وزن خشک ریشه	کلروفیل برگ	درصد فسفر اندام هوایی
باکتری	1	77/66*	27/17**	5/756*	12/24**	59/29**	0/003**
قارچ	1	84/41*	10/865**	48/098**	33/96**	96/531**	0/006**
باکتری*قارچ	1	8/629ns	0/284ns	23/36**	6/25**	31/923**	0/002**
خطای آزمایشی	12	11/217	0/918	1/496	0/38	0/148	0/0001

ns: عدم اختلاف معنی دار ، *و ** به ترتیب معنی دار در سطح احتمال 5 و 1 درصد

همچنین طبق جدول 2 بیشترین میزان قطر ساقه مربوط به تلقیح همزمان باکتری-قارچ و بعد از آن به ترتیب تیمار تلقیح قارچ و تلقیح باکتری بوده که بین این دو از نظر آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

جدول 2: مقایسه میانگین شاخص های اندازه گیری در تیمارهای آزمایشی

تیمار	ارتفاع گیاه	قطر ساقه	وزن خشک اندام هوایی	وزن خشک ریشه	کلروفیل برگ	درصد فسفر اندام هوایی
قارچ	94/375b	11/988b	22/94a	7/04a	42/437b	0/133ab
باکتری	94/187b	12/946b	20/672b	5/876b	41/375c	0/119b
باکتری*قارچ	100/25a	14/328a	21/723ab	7/539a	43/462a	0/139a

شاهد	91/25^{b}	10/074^{c}	17/05^{c}	2/875^{c}	34/7^{d}	0/723^{c}

در صفت ارتفاع گیاه بین تیمار باکتری، تیمار قارچ با تیمار شاهد از نظر آماری اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد اما تیمار تلقیح همزمان باکتری و قارچ با شاهد از نظر آماری اختلاف معنی‌داری نشان داد. همچنین بیشترین میزان وزن خشک اندام هوایی مربوط به تیمار قارچ بود که با تیمار باکتری–قارچ اختلاف معنی‌داری نداشت. در مورد وزن خشک ریشه نیز بیشترین وزن خشک ریشه مربوط به تیمارهای قارچ–باکتری با میانگین وزن 7/5 و تیمار قارچ با میانگین وزن 7 گرم بود که بین این دو نیز از نظر آماری اختلاف معنی‌دار نبود. درصد فسفر اندام هوایی گیاه نیز همانند وزن خشک ریشه نتایج مشابهی را از خود نشان داد. Boomsma و همکاران سال 2008 و Song در سال 2005 بیان داشت که قارچ‌های میکوریز آربوسکلار و باکتری‌های حل‌کننده فسفر با انحلال فسفات‌های نامحلول آلی و معدنی خاک و همچنین از طریق تولید برخی هورمون‌ها می توانند طول و عمق نفوذ ریشه را گسترش دهند، علاوه بر این قارچ‌های میکوریز همچنین می توانند توسط هیف‌های قارچی منطقه تخلیه ریشه را برای جذب عناصر غذایی و آب را گسترش دهند. میزان کلروفیل برگ در تیمار باکتری–قارچ و بعد از آن به ترتیب در تیمار قارچ، باکتری بیشترین میزان را داشت. هنری و همکاران در سال 2008 بیان داشتند که اغلب جنس‌های *Pseudomonas* علاوه بر افزایش جذب فسفات‌های نامحلول، از طریق ترشح مواد محرک رشد گیاه و هورمون‌ها بر روی رشد و نمو گیاهان تاثیر می گذارند. ساروز و همکاران نیز در سال 2008 اظهار داشتند که در شرایط گلخانه‌ای زمانی که عناصر غذایی محدود هستند معمولا گیاهان زراعی میکوریزی شده نسبت به گیاهان میکوریزی نشده عملکرد بهتری دارند.

منابع

حسن زاده ا، مظاهری د، چاییچی م ر و خاوازی ک، 1386. کارایی مصرف باکتریهای تسهیل کننده جذب فسفر و کود شیمیایی فسفر بر عملکرد و اجزاء عملکرد جو . مجله پژوهش و سازندگی در زراعت و باغبانی .شماره 77. صفحات 111 تا 118.

Sawers, R.J.H., C. Yang, S.Y. Gutjahr and U. Paszkowski 2008. The Molecular Components of Nutrient Exchange in Arbuscular Mycorrhizal Interactions. P. 37–59. In: Z.A. Siddiqui et al., (Eds) Mycorrhizae: Sustainable agriculture and forestry. Springer Science+ Business Media B.V.

تأثیر باکتری‌های حل کننده فسفات در توزیع اشکال معدنی و آلی فسفر در خاک آهکی

ندا مرادی، میرحسن رسولی صدقیانی، مجید مشایخی[1]

۱-به ترتیب دانشجوی دکتری علوم خاک گرایش شیمی و حاصلخیزی خاک، دانشیار گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه و دانشجوی سابق کارشناسی ارشد دانشگاه علوم و تحقیقات تهران

مقدمه

شناخت توزیع اشکال مختلف فسفر تحت تاثیر فعالیت میکروارگانیزم‌ها در خاک، جهت درک بهتر از ظرفیت آنها در حفظ و تامین فسفر برای گیاهان، ضروری است. با توجه به خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاکهای مناطق مختلف، فسفر می‌تواند به صورت ترکیب شیمیایی متنوعی در خاک مشاهده شود، گیاهان تنها قادر به استفاده از بخش محدودی از فسفر کل خاک می‌باشند. تعیین مقادیر و توزیع اجزای فسفر در خاک می‌توان روش مدیریتی مناسب جهت افزایش قابلیت استفاده فسفر توسط گیاهان را پیشنهاد نمود. استفاده از باکتری های حل کننده فسفات به طور همزمان جوانه زنی، جذب فسفر توسط گیاه و عملکرد گیاه زراعی را افزایش می‌دهد. باکتری‌های جنس سودوموناس، باسیلوس و ریزوبیوم از جمله قوی‌ترین حل کننده‌های فسفات‌ها هستند. استفاده از باکتری باسیلوس در حدود ۲۰٪ کمتر فسفر قابل دسترس را به شکل غیر قابل دسترس تبدیل کرده است (Turan و همکاران، ۲۰۰۷). امروزه برای افزایش قابلیت استفاده فسفر خاک از کودهای شیمیایی فسفر استفاده می‌شود که استعمال بلند مدت از این کودها منجر به تجمع فسفر و آلودگی آب‌های سطحی می‌شود. و با توجه به این موضوع که باکتری‌های حل کننده فسفات می‌توانند بر قابلیت دسترسی فسفر توسط گیاه موثر باشند. لذا این تحقیق با هدف بررسی تاثیر باکتری‌های حل کننده فسفات‌ها بر مقادیر قابل دسترس فسفر و شکل‌های شیمیایی مختلف آن در خاکهای آهکی استان آذربایجان غربی انجام گردید.

مواد و روشها

برای انجام این آزمایش یک نمونه خاک سطحی (۳۰- ۰ سانتیمتری) از بین ۱۵ نمونه خاک از خاک های استان آذربایجان غربی انتخاب گردید. نمونه‌های خاک پس از هوا خشک شدن، از الک ۲ میلی متری عبور داده شدند و برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی نمونه‌های خاک بوسیله روشهای معمول آزمایشگاهی تعیین شدند (جدول ۱).

جدول ۱- برخی ویژگیهای فیزیکی و شیمیایی نمونه خاکهای مطالعه شده

محل نمونه برداری	pH	CCE	OC	CEC	فسفر اولسن	رس	سیلت	بافت
		٪		(cmole kg^{-1})	(mg kg^{-1})	٪		
راهدانه	۷/۷	۴/۲	۰/۶	۲۶	۱۲	۱۷	۲۰	لوم

CEC، ظرفیت تبادل کاتیونی؛ CCE، کربنات کلسیم معادل؛ OC، کربن آلی

آزمایش بصورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با ۲ تیمار شامل شاهد (بدون تلقیح)، سویه‌های باکتری (سودوموناس و باسیلوس) و چهار زمان نمونه برداری صفر، ۷، ۲۱ و ۴۵ روز در ۱۲ تکرار اجرا گردید. برای اجرای آزمایش

انکوباسیون ابتدا ۱۵۰ گرم از نمونه خاک‌ها را درون ظروف پلی‌اتیلن ریخته شدند و دهانه ظروف بوسیله درپوش پلاستیک بسته شدند تا از تبخیر بیشتر رطوبت از نمونه‌ها در طول انکوباسیون و آلودگی میکروبی جلوگیری شود. در روی درپوش‌های پلاستیکی، منفذهای ریز یکنواخت جهت تسهیل تبادلات گازی تعبیه شد، سپس ظروف به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه و فشار bar ۱/۵ داخل اتوکلاو قرارگرفته شدند. سویه‌های باکتری کشت داده‌شدند و سویه‌هایی با میزان حل‌کنندگی بالا انتخاب شدند. میزان ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت نوترینت آگار آلوده به سویه‌های باکتری برای تیمار باکتری به خاک استریل افزوده و خوب مخلوط شدند و درون ظرف‌های دارای خاک استریل به آرامی ریخته‌شد و خوب مخلوط شدند و رطوبت نمونه‌ها ظرفیت زراعی تنظیم شدند. ظروف به‌مدت ۴۵ روز در انکوباتور در دمای ۲۸ درجه سلیسیوس قرار داده-شدند. در زمان‌های صفر، ۷، ۲۱ و ۴۵ روز بعد از شروع انکوبسیون، ۲۰ گرم از نمونه‌ها جهت انجام آزمایش‌ها برداشته و هواخشک شدند و شکلهای مختلف فسفر در نمونه‌ها با روشهای معمول در آزمایشگاه اندازه گیری شدند. سویه‌های باکتری (سودوموناس و باسیلیوس) مورد نظر از بانک میکروبی گروه علوم خاک، زراعت و دامپزشکی دانشگاه ارومیه تهیه‌شد. تجزیه و تحلیل‌های آماری شامل آزمون نرمال بودن داده‌ها و اشتباهات، تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از نرم افزارهای MINITAB نسخه ۱۴، MSTATC و Costate انجام گرفت. ترسیم نمودارها با استفاده از نرم افزار Excle صورت گرفت.

نتایج وبحث

تجزیه واریانس اطلاعات بدست آمده نشان داد (جدول نشان داده نشده است)، که اکثر تیمارهای باکتری در سطح احتمال ۱ درصد بر شکل‌های فسفر غیر از شکل معدنی P–Fe معنی‌دار بود و تأثیر زمان انکوباسیون نیز در سطح احتمال ۱ درصد برشکل‌های فسفر، به غیر از شکل‌های Fe-P و Al-P معنی‌دار بود. همچنین اثر متقابل بین تیمار و زمان انکوباسیون در سطح احتمال ۱ درصد به غیر از شکل (P–Fe) معنی‌دار بود.

مقادیر مقایسه میانگین اثرات متقابل فسفر قابل جذب (Olsen)، فسفر آلی و اشکال فسفر معدنی خاک تحت تاثیر تیمارهای شاهد (بدون تلقیح)، سویه‌های باکتری (سودوموناس و باسیلیوس) در زمانهای انکوباسیون در جدول ۲ نشان داده شد.

جدول ۲- مقایسه میانگین تاثیر متقابل تیمار و زمان بر شکلهای فسفر (آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵)

تیمارها	Olsen-P	P-O	Ca_2-P	Ca_8-P	Al-P	Ca_{10}-P
	mg kg^{-1}					
C_{t1}	۱۲ d	۴۴۴ cd	۸ e	۶۱ bc	۹ b	۶۰۰ c
B_{t1}	۱۲ d	۴۴۴ cd	۸ e	۶۱ bc	۹ b	۶۰۰ c
C_{t2}	۱۲/۰۵ d	۴۴۳ cd	۱۱/۷ d	۵۳ bc	۸/۷ b	۶۰۱ c
B_{t2}	۱۸/۰۹ b	۴۰۵ d	۱۱ d	۳۹ d	۹/۶ ab	۳۸۷ d
C_{t3}	۱۱/۱ d	۴۷۱ c	۱۴/۲ c	۶۱ bc	۹/۶ ab	۶۸۷ b
B_{t3}	۴۹/۴ a	۵۶۲ b	۲۰/۳ b	۵۰/۸ c	۹/۸ ab	۶۰۶ c

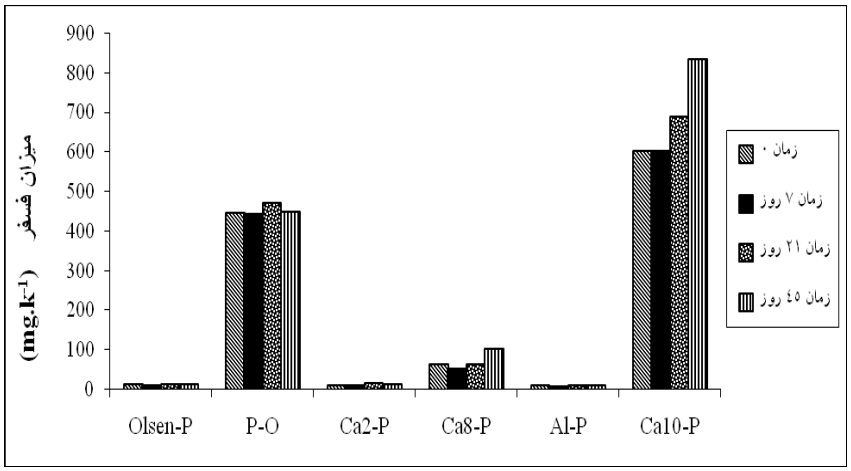
C_{t4}	۱۳/۱ c	۴۴۸ cd	۱۱/۸ d	۱۰۰ a	۸/۴ b	۸۳۲ a
B_{t4}	۱۶/۷ bc	۶۲۴ a	۴۸/۲ a	۸۰/۸ b	۱۰/۶ a	۸۰۶ a

C = تیمار شاهد، B = تیمار باکتری، t= زمان

میانگین‌های با حروف غیر مشابه در هر ستون از نظر آماری در سطح احتمال ۰/۰۵ اختلاف معنی‌دار دارند.

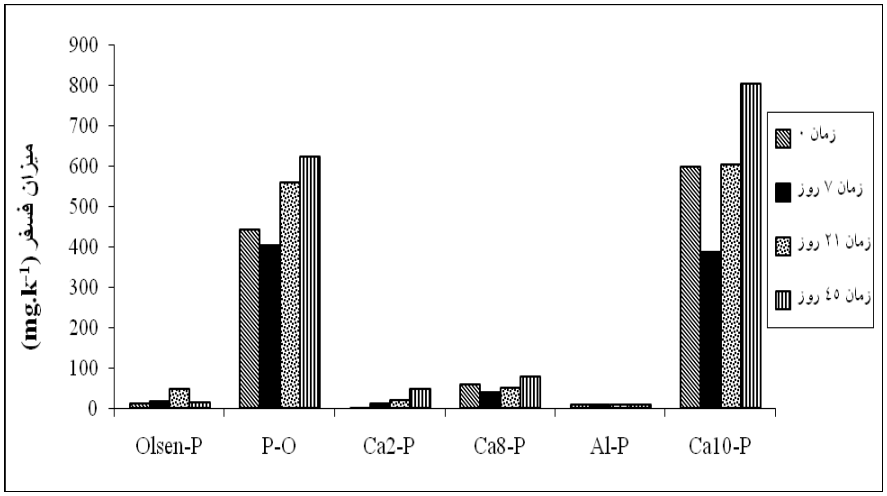
بیشترین میزان فسفر قابل جذب (Olsen-P) در زمان سوم (۲۱ روز) انکوباسیون در تیمار باکتری مشاهده شد و بیشترین مقدار فسفر آلی، شکل Ca_2-P در زمان چهارم (۴۵ روز) انکوباسیون در تیمار باکتری مشاهده شد.

مقدار توزیع شکل‌های مختلف فسفر در خاک به سن خاک، مواد مادری، زمان کوددهی، درجه هوادیدگی و فاکتورهای اقلیمی دیگر بستگی دارد (Samadi، ۲۰۰۳). توزیع شکل‌های معدنی فسفر در تیمارهای شاهد و باکتری در زمان‌های (صفر،۷، ۲۱و۴۵) روز در شکل‌های ۱ و ۲ نشان داده شده است.



شکل ۱- تغییرات اشکال فسفر در تیمار شاهد در زمان های مختلف

با توجه به شکل ۱، در تیمار شاهد در زمان‌های مختلف اشکال (Ca2-P), (Ca8-P) و (Ca_{10}-P) با تغییر میزان روبرو بودند. در اشکال دیگر فسفر تغییر محسوسی مشاهده نشد.



شکل ۲- تغییرات اشکال فسفر در تیمار باکتری در زمان های مختلف

شکل ۲ بیانگر تغییرات اشکال فسفر طی زمان‌های مختلف تحت اثر تیمار باکتری است.درزمان اول میزان توزیع اشکال فسفر به این ترتیب Ca_{10}-P > O-P > Ca_8-P >Olsen-P> Al-P > Ca_2-P بود. درزمان دوم توزیع اشکال بصورت O-P > Ca_{10}-P > Ca_8-P >Olsen-P> Ca_2-P > Al-P بود و همچنین در این زمان میزان آپاتیت کاهش چشم‌گیری داشت. میزان فسفر قابل جذب (Olsen-P) و (Ca_2-P) تا ۲۵ درصد افزایش نشان داد. در زمان سوم توزیع اشکال فسفر به صورت Ca_{10}-P > O-P > Ca_8-P >Olsen-P> Ca_2-P > Al-P بود. در این زمان میزان فسفر آلی ۱۹ درصد، میزان فسفر قابل جذب (Olsen-P) ۳/۵ برابر و میزان (Ca_2-P) ۲/۵ برابر شد. میزان آپاتیت (Ca_{10}-P) به سطح اولیه برگشت. در زمان چهارم توزیع شکل‌های مختلف فسفر Ca_{10}-P > O-P > Ca_8-P >Ca_2-P> Olsen-P > Al-P بود. باکتری‌ها با تولید اسیدهای آلی که توسط سویه‌های حل‌کننده فسفات ساخته می‌شود، اشکال کم محلول را بصورت اشکال محلول فسفات تغییر می‌دهد. کاهش pH ، تولید اسید آلی و فسفاتاز از مکانیسم‌های اصلی باکتری‌های حل‌کننده فسفات است (Ahmad Ali Khan و همکاران، ۲۰۰۹). بطور کلی نتایج نشان داد، تلقیح باکتری‌ها سبب افزایش قابلیت دسترسی شکل‌های فسفر برای گیاه می-گردند.

منابع

Ahmad AK, Ghulam J, Mohammad SA, Syed MS, Mohammad R, 2009. Phosphorus Solubilizing Bacteria: Occurrence, Mechanisms and their Role in Crop Production. J. Agric. Biol. Sci. ۱; ,۵۸-٤٨

Samadi A, 2003. A study on distribution of forms of phosphorus in calcareous soils of Western Australia. J. Agric. Sci. Technol 5: 39- 49.

Turan M, Ataoğlu N and Şahin F, 2007. Effects of *Bacillus* FS-3 on growth of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) plants and availability of phosphorus in soil, Plant soil environ. 53: 58-64.

تاثیر قارچ‌های حل کننده فسفات بر اشکال فسفر در یک خاک آهکی

ندا مرادی، میرحسن رسولی صدقیانی، مجید مشایخی[1]

۱-به ترتیب دانشجوی دکتری علوم خاک گرایش شیمی و حاصلخیزی خاک، دانشیار گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه و دانشجوی سابق کارشناسی ارشد دانشگاه علوم و تحقیقات تهران

مقدمه

شناخت شکل‌های فسفر در خاک و تعیین مقدار هر یک از آنها می‌تواند ضمن کمک به شناخت فرآیند تکامل خاک و درک فرآیند ژنتیکی آن، در ارزیابی حاصلخیزی خاک نیز به کار رود. تاثیر باکتری‌ها و قارچ‌ها در افزایش حلالیت فسفات‌های کم محلول یا کاهش سرعت تبدیل فسفر قابل دسترس به شکل غیر قابل دسترس موضوعی است که اخیرا نظر محققان را به خود جلب کرده است. مهمترین باکتریهای حل کننده فسفات از جنس سودوموناس و باسیلوس و از قارچها، جنسهای آسپرژیلوس و پنی سیلیوم می باشند .این میکروارگانیسم ها با اکسیداسیون ناقص قندها و مواد پلی ساکاریدی که توسط ریشه گیاه ترشح می شوند، اسیدهای آلی مانند اسید گلوکونیک، اسید اگزالیک و اسید سیتریک تولید می نمایند (Han و همکاران، ۲۰۰۶). Pradhan و Sukla (۲۰۰۵)، دریافتند که استفاده از میکروارگانیسم‌های حل کننده فسفات (قارچ آسپرژیلوس و پنی سیلیوم) باعث تبدیل فرم‌های نامحلول فسفر به اشکال محلول و قابل جذب برای گیاه شده‌اند.

در دهه‌های گذشته در خاکهای ایران مقادیر زیادی کود فسفاتی مصرف شده است که این امر می‌تواند به تجمع فسفر منجر شده و سبب آلودگی محیط زیست و همچنین عدم تعادل عناصر غذایی در خاک گردد. استفاده از میکروارگانیزم‌های حل کننده فسفات برای استفاده از شکلهای غیر قابل جذب فسفر و تبدیل آن به اشکال قابل جذب برای گیاه و رفع آلودگی محیط زیست می‌تواند مفید باشد. لذا اطلاع از وضعیت فسفر و شکل‌های آن در خاکهای آهکی ایران از اهمیت ویژه‌ای برخوردار بوده و میکروارگانیزم‌های حل کننده فسفات، می‌تواند در این امر مؤثر باشد. این تحقیق با هدف بررسی تاثیر قارچ‌های حل کننده فسفات‌ها بر مقادیر قابل دسترس فسفر و شکل‌های شیمیایی مختلف آن در خاکهای آهکی استان آذربایجان غربی انجام گردید.

مواد و روشها

برای انجام این آزمایش تعداد یک نمونه خاک سطحی (۳۰- ۰ سانتیمتری) از بین ۱۵ خاک از خاک های استان آذربایجان غربی جمع آوری شد. نمونه‌های خاک پس از هوا خشک شدن، از الک ۲ میلی متری عبور داده شدند و برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی نمونه‌های خاک بوسیله روشهای معمول آزمایشگاهی تعیین شدند (جدول ۱).

جدول ۱- برخی ویژگیهای فیزیکی و شیمیایی نمونه خاکهای مطالعه شده

محل نمونه برداری	pH	CCE	OC	CEC	فسفر اولسن	رس	سیلت	بافت
		٪		(cmole kg^{-1})	(mg kg^{-1})	٪		
راهدانه	۷/۷	۴/۲	۰/۶	۲۶	۱۲	۱۷	۲۰	لوم

CEC، ظرفیت تبادل کاتیونی؛ CCE، کربنات کلسیم معادل؛ OC، کربن آلی

آزمایش بصورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با ۲ تیمار شامل شاهد (بدون تلقیح)، سویه‌های قارچ (پنی‌سیلیوم و آسپرژیلوس) و چهار زمان نمونه برداری صفر، ۷، ۲۱ و ۴۵ روز در ۱۲ تکرار اجرا گردید. برای اجرای آزمایش انکوباسیون ابتدا ۱۵۰ گرم از نمونه خاک‌ها را درون ظروف پلی‌اتیلن ریخته شدند و دهانه ظروف بوسیله درپوش پلاستیک بسته شدند تا از تبخیر بیشتر رطوبت از نمونه‌ها در طول انکوباسیون و آلودگی میکروبی جلوگیری شود. در روی درپوش‌های پلاستیکی، منفذهای ریز یکنواخت جهت تسهیل تبادلات گازی تعبیه شد، سپس ظروف به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه و فشار ۱/۵ bar داخل اتوکلاو قرارگرفته شدند. سویه‌های قارچ کشت داده‌شدند و سویه‌هایی با میزان حل‌کنندگی بالا انتخاب شدند. ۰/۲ گرم از اسپور سویه‌های قارچ در ۱۰ میلی لیتر آب مقطر استریل حل‌شد و درون ظرف‌های دارای خاک استریل به آرامی ریخته‌شد و خوب مخلوط شدند و رطوبت نمونه‌ها ظرفیت زراعی تنظیم شدند. ظروف به‌مدت ۴۵ روز در انکوباتور در دمای ۲۸ درجه سلیسیوس قرار داده‌شدند. در زمان‌های صفر، ۷، ۲۱ و ۴۵ روز بعد از شروع انکوبسیون، ۲۰ گرم از نمونه-ها جهت انجام آزمایش‌ها برداشته و هواخشک شدند و شکلهای مختلف فسفر در نمونه‌ها با روشهای معمول در آزمایشگاه اندازه گیری شدند. تجزیه و تحلیل آماری شامل تجزیه واریانس با استفاده از نرم افزارهای MSTATC و Costate انجام و برای مقایسه میانگین از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد.

نتایج وبحث

تجزیه واریانس اطلاعات بدست آمده نشان داد (جدول نشان داده نشده است)، که اکثر تیمارهای قارچ در سطح احتمال ۱ درصد بر شکل‌های فسفر غیر از شکل معدنی P–Fe معنی‌دار بود و تأثیر زمان انکوباسیون نیز در سطح احتمال ۱ درصد برشکل‌های فسفر، به غیر از شکل‌های Fe-P و Al-P معنی‌دار بود. همچنین اثر متقابل بین تیمار و زمان انکوباسیون در سطح احتمال ۱ درصد به غیر از شکل (P–Fe) معنی‌دار بود.

مقادیر مقایسه میانگین اثرات متقابل فسفر قابل جذب (Olsen)، فسفر آلی و اشکال فسفر معدنی خاک تحت تاثیر تیمارهای شاهد (بدون تلقیح)، سویه‌های قارچ (پنی‌سیلیوم و آسپرژیلوس) در زمانهای انکوباسیون در جدول ۲ نشان داده شد.

جدول ۲- مقایسه میانگین تاثیر متقابل تیمار و زمان بر شکلهای فسفر (آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵)

تیمارها	Olsen-P	P-O	Ca_2-P	Ca_8-P	Al-P	Ca_{10}-P
	mg kg^{-1}					
C_{t1}	۱۲ d	۴۴۴ cd	۸ f	۶۱ b	۹ ab	۶۰۰ c
F_{t1}	۱۲ d	۴۴۴ cd	۸ f	۶۱ b	۹ ab	۶۰۰ c
C_{t2}	۱۲/۰۵ d	۴۴۳ cd	۱۱/۷ e	۵۳ bc	۸/۷ ab	۶۰۱ c
F_{t2}	۲۰/۲ b	۴۵۵ c	۲۱/۹ b	۴۹ c	۶/۱ c	۳۴۰ e
C_{t3}	۱۱/۱ d	۴۷۱ c	۱۴/۲ d	۶۱ b	۹/۶ a	۶۸۷ b
F_{t3}	۴۲/۳ a	۴۹۷ b	۱۹/۳ c	۵۰/۶ c	۶/۳ c	۴۱۰ d
C_{t4}	۱۳/۱ cd	۴۴۸ cd	۱۱/۸ e	۱۰۰ a	۸/۴ b	۸۳۲ a
F_{t4}	۲۰/۲ b	۶۵۱ a	۳۸/۱ a	۶۳/۹ b	۶/۱ c	۸۳۸ a

C = تیمار شاهد، F = تیمار قارچ، t= زمان

میانگین‌های با حروف غیر مشابه در هر ستون از نظر آماری در سطح احتمال ۰/۰۵ اختلاف معنی‌دار دارند.

بیشترین میزان فسفر قابل جذب (Olsen-P) در زمان سوم (۲۱ روز) انکوباسیون در تیمار قارچی مشاهده شد. و بیشترین مقدار فسفر آلی، شکل Ca_2-P در زمان چهارم (۴۵ روز) انکوباسیون در تیمار قارچی مشاهده شد. مقدار آپاتیت در زمان ۲۱ روز در تیمار شاهد (بدون تلقیح) به میزان ۱۵ درصد افزایش داشت. تیمار قارچ در زمان ۲۱ روز، ۴۰ درصد مقدار آپاتیت را نسبت به تیمار شاهد کاهش دادند. اما تیمار قارچ تفاوت چندانی با تیمار شاهد در زمان چهارم نداشت. افزایش میزان آپاتیت در زمان آخر بیانگر آن است که بخش زیادی از فسفر که به صورت کود به خاکها اضافه می‌شود، در دراز مدت به آپاتیت تبدیل می‌شود (Adhami و همکاران ۲۰۰۶).

ضریب همبستگی ساده (r) بین اشکال مختلف فسفر در تیمارهای میکروبی و تیمار شاهد (بدون تلقیح) در جدول ۳ نشان داده شده است که نشان دهنده‌ی وجود همبستگی بین اشکال فسفر و فعالیت میکروارگانیزم‌ها است. در تیمار قارچ، همبستگی منفی معنی‌داری ($r = ۰/۸۱^{**}$) بین فسفر(Olsen-P) و (Ca_{10}-P, O-P) و همبستگی مثبت و معنی داری با (Ca_2-P و Fe-P) مشاهده‌شد. که نشان‌دهنده آزاد شدن فسفر از این شکل‌ها در مدت عصاره‌گیری فسفر قابل جذب است. Samadi (۲۰۰۳)، نشان داد که در خاکهای آهکی مورد مطالعه بین فسفر(Olsen-P) با دی‌کلسیم فسفات، فسفات آلومینیم، فسفات آهن و آپاتیت همبستگی معنی‌داری وجود دارد.

در تیمار قارچ همبستگی مثبت و معنی داری بین دی‌کلسیم فسفات با فسفات آهن($r = ۰/۹۵^{***}$) و فسفر قابل جذب($r = ۰/۷۱^{*}$) وجود داشت. مقدار (Ca_2-P) در مقایسه با سایر شکل‌ها بسیار پایین بوده علت این امر ، آن است که دی کلسیم فسفات در خاک بسیار ناپایدار است و به سایر ترکیبات فسفر معدنی تبدیل می شود. در تیمار قارچ نیز همبستگی ساده و معنی داری بین اکتاکلسیم فسفات با فسفر آلی و همبستگی منفی و معنی‌داری بین اکتا کلسیم فسفات با دی کلسیم فسفات و فسفات های آهن و آلومینیم وجود داشت.

جدول ۳- ضریب همبستگی ساده(r) بین اشکال مختلف فسفر در تیمار شاهد و قارچ

شکل‌های فسفر	P-0	Ca_2-P	Ca_8-P	Al-P	Fe-P	Ca_{10}-P
Olsen-P	$-۰/۸۱^{**}$	$۰/۷۱^{*}$	$-۰/۶۴$	$-۰/۷۷^{*}$	$۰/۸۳^{**}$	$-۰/۷۷^{*}$
Ca_{10}-P	$۰/۸۱^{**}$	$-۰/۷۰^{*}$	$۰/۹۶^{***}$	$۰/۸۲^{**}$	$-۰/۷۴^{*}$	
Fe-P	$-۰/۹۵^{***}$	$۰/۹۵^{***}$	$-۰/۸۶^{*}$	-۹۶^{***}		
Al-P	$۰/۹۹^{***}$	$-۰/۹۰^{**}$	$-۰/۸۸^{**}$			
Ca_8-P	$۰/۸۷^{**}$	$-۰/۸۴^{**}$				
Ca_2-P	$-۰/۸۸^{**}$					

Po ، فسفر آلی، *، **، ***، به‌ترتیب معنی دار در سطح ۵ درصد، معنی دار در سطح ۱ درصد و معنی دار در سطح ۰/۱ درصد

نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از میکروارگانیزم‌ها باعث تغییر در میزان فسفر و تبدیل و استفاده از شکل‌های معدنی و آلی فسفر شده است. این تحقیق نشان داده، سویه های قارچ(آسپرژیلوس و پنی‌سیلیوم) بیشترین همبستگی را بین فسفر قابل جذب (Olsen-P)، فسفر آلی و اشکال معدنی فسفر را داشت. تیمار قارچ باعث افزایش ۶۶ درصد مقدار فسفر قابل جذب (Olsen-P) شد. تیمار قارچ باعث افزایش میزان دی‌کلسیم (Ca_2-P) شد و همچنین باعث کاهش میزان آپاتیت (Ca_{10}-P) شد. استفاده میکروارگانیزم‌ها از اشکال کم محلول بخصوص آپاتیت (Ca_{10}-P) که بیشترین میزان فسفر خاک را تشکیل داده و تبدیل آن به اشکال محلول تر و فسفر آلی و فسفر قابل جذب (Olsen-P) مانند سویه آسپرژیلوس با تولید اسید سیتریک و کاهش pH نقش تاثیر گزاری در انحلال اشکال فسفات نا محلول دارد. حل کنندها با استفاده از کاهش pH محیط توسط اسیدهای آلی، فرایند کلات و فرایند واکنش‌های تبادلی به افزایش حلالیت فسفات‌های نامحلول کمک می‌کند (Sharma و همکاران، ۲۰۱۱). نتایج نشان داد تلقیح میکروارگانیزم‌ها، بویژه قارچ‌ها سبب افزایش شکل‌های قابل دسترس فسفر برای گیاه میگردد و همچنین میکروارگانیزم‌ها باعث افزایش راندمان کودهای فسفر، کاهش پدیده آلودگی محیط زیست و حفظ و توسعه کشاورزی پایدار می‌شود.

منابع

Adhami E, Maftoun A, Ronaghy N, Karimian J and Assad T, 2006. Inorganic phosphorus fractionation of highly calcareous soils of Iran. Commun. Soil Sci. Plant Anal 37: 1877- 1888.

Han HS, Supanjan and Lee KD, 2006. Effect of co- inoculation with phosphate and potassium solubilizing bacteria on mineral uptake and growth of pepper and cucumber. Plant Soil Environ 52:130-136.

Pradhan N and Sukla LB, 2005. Solubilization of inorganic phosphates by fungi isolated from agriculture soil, African Journal of Biotechnology 10: 850-854.

Samadi A, 2003. A study on distribution of forms of phosphorus in calcareous soils of Western Australia. J. Agric. Sci. Technol 5: 39- 49.

Sharma S, Kumar V and Tripathi RB, 2011. Isolation of Phosphate Solubilizing Microorganism (PSMs) From Soil. Journal of Microbiology and Biotechnology Research 1(2): 90-95.

تاثیر سویه‌های *Bacillus cereus* بر آزادسازی پتاسیم و آهن از کانی‌های میکایی

محسن سلیمان‌زاده[1]، حسین خادمی[2] و مژگان سپهری[3]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم خاک، دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان

۲- استاد گروه خاکشناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان

۳- استادیار گروه خاکشناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان

مقدمه

پتاسیم و آهن از عناصر غذایی ضروری برای رشد گیاهان هستند. مصرف متعادل این عناصر سبب افزایش محصول و بهبود کیفی محصولات زراعی می‌گردد. چنانچه این عناصر در حد کمبود باشد موجب کاهش عملکرد خواهند شد (شمالی و همکاران، ۱۳۸۶).

پتاسیم سومین عنصر ضروری برای تولید محصول بعد از فسفر و نیتروژن می‌باشد و نقش مهمی در فعال‌کردن آنزیم‌ها، سنتز پروتئین، فتوسنتز و افزایش کیفیت محصول دارد (Basak & Biswas, 2009; Singh et al, 2010). توزیع پتاسیم از خاکی به خاک دیگر متفاوت است و به نوع کانی‌های غالب خاک بستگی دارد. پتاسیم در خاک به چهار شکل محلول، تبادلی، غیر تبادلی وساختمانی تقسیم بندی می‌شود (Memon et al 1988).

آهن اولین عنصر کم مصرف و ضروری شناخته شده برای گیاه است. میزان آهن کل خاک در بیشتر مواقع بسیار بیشتر از نیاز گیاه بوده، اما به دلیل حلالیت کم ترکیبات آهن‌دار در بسیاری از خاک‌ها جذب آن به خوبی صورت نمی‌گیرد و منجر به بروز علائم کمبود آهن در گیاه می‌شود (Lindsay et al 1984).

میکروارگانیسم‌ها در هوادیدگی کانی‌ها نقش مهمی ایفا می‌کنند. بسیاری از سنگ‌ها و مواد معدنی حاوی عناصر ضروری بویژه پتاسیم و آهن برای رشد میکروارگانیسم‌ها می‌باشند. فعالیت میکروارگانیسم‌ها باعث آزادشدن عناصر غذایی از کانی‌ها می‌شود (Uroz et al, 2009).

توجه به نقش میکروارگانیسم‌ها بر حلالیت و آزادسازی عناصر غذایی برای مصرف گیاه و نقش مفید آنها در تکامل خاک از یک طرف و استفاده بیش از حد و قیمت بالای کودهای شیمیایی و نیز مسائل زیست محیطی از طرف دیگر اهمیت استفاده از میکروارگانیسم‌ها در کشاورزی را دوچندان نموده است. علیرغم اینکه تحقیقات گسترده‌ای توسط محققان در این زمینه در شرایط مزرعه و آزمایشگاه انجام شده است، نقش باکتری *Bacillus cereus* در آزادسازی پتاسیم و آهن در کانی‌های میکایی به خوبی بررسی نشده است. لذا این تحقیق به منظور مقایسه دو کانی موسکویت و فلوگوپیت در مقدار پتاسیم و آهن آزادشده تحت تیمار سویه‌های باکتری در شرایط آزمایشگاهی انجام شد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تأثیر دو سویه باکتری *Bacillus cereus* بر رهاسازی پتاسیم و آهن از میکاها، پژوهشی در شرایط آزمایشگاهی به مدت ۶۴ روز انجام شد. در این پژوهش از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار استفاده شد. تیمارهای آزمایش شامل دو نوع کانی میکایی (فلوگوپیت و موسکویت)، دو سویه باکتری (PTCC 1247 و *PTCC* 1665) و شاهد (فاقد باکتری) بود.

از کانی‌های میکائی که از معادن همدان قبلاً تهیه و تست شده بود (Norouzi & Khademi, 2010) در این پژوهش استفاده شد (جدول ۱). کانی‌ها را از الک ۱۴۰ مش عبور داده و برای حذف پتاسیم تبادلی و آلودگی‌های لبه کانی، سطوح تبادلی کانی‌ها با کلسیم اشباع شد.

به لوله‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری مقدار ۱/۲۵ گرم از کانی‌ها منتقل شد. سپس ۲۵ میلی‌لیتر از محیط کشت (۰/۵ گرم بر لیتر سدیم دی‌هیدروژن فسفات، ۱ گرم بر لیتر آمونیوم سولفات، ۰/۲ گرم بر لیتر سدیم کلراید و ۲۰ گرم بر لیتر گلوکز) به لوله‌های حاوی کانی‌ها اضافه شد (Styriakova et al, 2004). سپس از مایه تلقیح به مقدار ۱/۲۵ میلی‌لیتر به تیمارهای مورد نظر اضافه شد. سپس هر پنج روز یکبار pH نمونه‌ها به وسیله سود بر روی ۷ تنظیم شد. میزان پتاسیم و آهن عصاره‌ها به ترتیب با دستگاه‌های شعله‌سنج و جذب‌اتمی اندازه‌گیری شد.

جدول ۱- جدول تجزیه عنصری کانی‌های میکایی مورد استفاده در آزمایش بر حسب درصد با استفاده از فلورسانس پرتو ایکس (Norouzi & Khademi, 2010)

نوع کانی	Na_2O	MgO	Al_2O_3	SiO_2	K_2O	CaO	Fe_2O_3	MnO	P_2O_5	TiO_2	LOI*	Total
موسکویت	۰/۶۴	۰/۰۸	۳۳/۹۹	۴۸/۳۴	۹/۹۸	۰/۱۷	۱/۷۷	۰/۰۶	۰/۰۳	۰/۰۶	۴/۵	۹۹/۵۴
فلوگوپیت	۰/۴۵	۲۲/۵۴	۱۴/۶	۴۲/۲۴	۹/۲۹	۴/۱۲	۴/۲۱	۰/۱۱	۰/۰۳۷	۰/۵۶	۰/۹	۹۹/۶۳

LOI: کاهش وزن در دمای بالا

نتایج و بحث

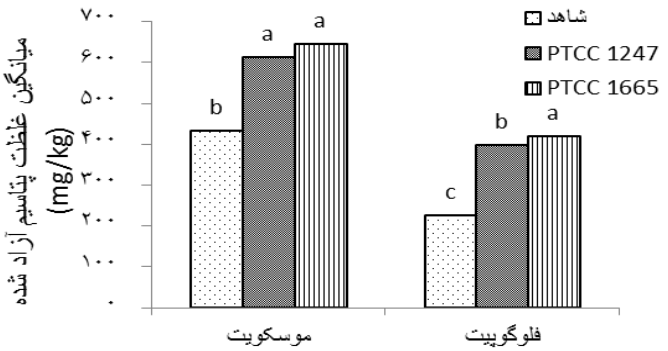
تغییرات pH

دامنه تغییرات pH در نمونه‌های شاهد بین ۶ تا ۷ و در نمونه‌های تلقیح شده با سویه‌های باکتری بین ۵ تا ۷ متغیر بود. *Bacillus cereus* در شرایط هوازی با تولید پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی سبب کاهش تدریجی pH می‌شود و در شرایط میکروآئروفیلیک[1] و بی‌هوازی اسیدهای آلی تولید و pH را به شدت کاهش می‌دهد (Styriakova et al, 2004). کاهش pH نمونه‌های تلقیح شده ناشی از مواد تولید شده توسط سویه‌های باکتری و گلوکز موجود در محلول و در نمونه‌های شاهد ناشی از گلوکز بوده است.

تاثیر نوع کانی میکایی در میزان پتاسیم آزادشده توسط سویه‌های باکتری

مقدار پتاسیم آزادشده از کانی‌های میکایی، تحت تاثیر سویه‌های باکتری در (شکل ۱) نشان داده شده است. بین دو سویه باکتری، بیشترین مقدار پتاسیم آزاد شده از کانی‌های موسکویت و فلوگوپیت به ترتیب متعلق به سویه-های PTCC1665 و PTCC 1247 می‌باشد. هر دو سویه باکتری، بیشترین مقدار پتاسیم را از کانی موسکویت آزاد کردند و در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با تیمارهای شاهد نشان دادند. این مطالعه آزادسازی بیشتر پتاسیم از موسکویت را نسبت به فلوگوپیت نشان داد که احتمالا نواقص ساختمانی و یا نوع موسکویت استفاده شده در این تحقیق باعث شده پتاسیم بیشتری آزاد نماید. مرتلند و همکاران گزارش دادند که وجود برخی نواقص ساختمانی در میکاها نیز از عوامل تاثیرگذار بر آزادسازی پتاسم از آنها می‌باشد. بعضی موسکویت‌ها گاهی دارای ناپیوستگی در طول قاعده‌ای می‌باشند این صفحات ناپیوسته در ابتدا سرعت آزادسازی عناصر را افزایش می‌دهند، و با گذشت زمان با کاهش فشار حاصل از خم‌شدگی، آزادشدن پتاسیم کاهش می‌یابد (Mortland et al, 1961).

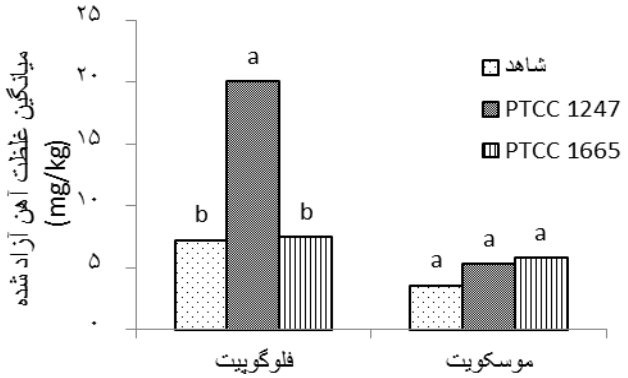
1- Microaerophilic



شکل ۱- میانگین غلظت پتاسیم آزادشده از موسکویت و فلوگوپیت تحت تاثیر سویه‌های باکتری. میانگین‌های دارای حرف مشترک در مورد هر یک از کانی‌ها در سطح ۵ درصد از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌دار نمی‌باشند.

تاثیر نوع کانی میکایی در میزان آهن آزادشده توسط سویه‌های باکتری

مقدار آهن آزادشده از کانی‌های میکایی، تحت تاثیر سویه‌های باکتری در شکل (۲) نشان داده شده است. بین دو سویه باکتری بیشترین مقدار آهن آزاد شده از کانی فلوگوپیت تحت تاثیر سویه PTCC 1247 مشاهده شد. برای کانی فلوگوپیت بین تیمار شاهد و سویه PTCC 1665 در مقدار آهن آزاد شده تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. برای کانی موسکویت بیشترین مقدار آهن تحت تاثیر سویه PTCC 1665 آزاد شد. با توجه به اینکه مقدار آهن موجود در کانی فلوگوپیت بیشتر از موسکویت می‌باشد (جدول ۱) و فلوگوپیت به عنوان یک میکای تری-اکتاهدرال ساختمان ضعیف تری دارد، آزادسازی آهن آن نسبت به کانی موسکویت بیشتر می‌باشد.



شکل ۲- میانگین غلظت آهن آزادشده از مسکویت و فلوگوپیت تحت تاثیر سویه‌های باکتری. میانگین‌های دارای حرف مشترک در مورد هر یک از کانی‌ها در سطح ۵ درصد از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌دار نمی‌باشند.

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که باکتری Bacillus cereus نقش بسزای در آزادکردن پتاسیم و آهن از کانی-های میکایی دارد. با بررسی اثر این باکتری در شرایط مزرعه میتوان از این باکتری به عنوان باکتری ارتقا دهنده رشد گیاه استفاده کرد.

منابع

شمالی، ر. عبدل‌زاده، ا. حدادچی، غ. و صادقی‌پور، ح.ر.، ۱۳۸۶. تاثیر مقادیر پتاسیم و آهن بر رشد، میزان تجمع یون‌ها و برخی صفات بیوشیمیایی گیاه برنج. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، جلد چهارم، شماره ۵ صفحه‌های ۶۴ تا ۷۷.

- Basak BB and Biswas DR, 2009. Influence of potassium solubilizing microorganism *(Bacillus mucilaginosus)* and waste mica on potassium uptake dynamics by Sudan grass *(Sorghum vulgare Pers)* grown under two Alfisols. Plant and Soil 317(1): 235-255.

Lindsay WL, 1984. Soil and plant relationships associated with iron deficiency with emphasis on nutrient interactions. Journal of Plant Nutrition 7: 489–500.

Memon YM, Fergus IF, Hughes JD and Page DW, 1988. Utilization of non-exchangeable soil potassium in relation to soil types, plant species and stage of growth. Australian Journal of Soil Research 26: 489–496

Mortland MM and Lawton K, 1961. Relationships between particle size and potassium release from biotite and its analogues. Soil Science Society of America Proceedings 25: 473-476.

Norouzi S and Khademi H, 2010. Ability of alfalfa (*Medicago sativa L.*) to take up potassium from different micaceous minerals and consequent vermiculitization. Plant and Soil 328: 83-93.

Singh G, Biswas DR and Marwaha TS, 2010. Mobilization of potassium from waste mica by plant growth promoting rhizobacteria and its assimilation by maize (*Zea mays*) and wheat (*Triticum aestivum L*): a hydroponics study under phytotron growth chamber. Journal of Plant Nutrition 33:1236–1251.

Styriakova I, Bhatti TM, Bigham JM, Styriak I, Vuorinen A and Tuovinen OH, 2004. Weathering of phlogopite by *Bacillus cereus* and *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Canadian Journal of Microbiology 50:213- 219.

Uroz S, Calvaruso C, M. P. Turpault and Frey-Klett P .2009. Mineral weathering by bacteria: ecology, actors and mechanisms. Trends Microbiol 17 (8)*:* 378–387

بررسی اثر کودهای زیستی فسفاته بر ویژگی های رشد گیاه ذرت (Zea mays L.) تحت شرایط تنش کم آبی

سیده سامیه پورالحسینی[1]، حسن حقیقت نیا[2]و فرهاد خورسندی[3]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد خاکشناسی دانشگاه علوم و تحقیقات فارس

۲- عضو هییت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی فارس (داراب)

۳- استادیار گروه خاکشناسی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد داراب، شیراز

مقدمه

فسفر یکی از مهمترین عناصر ضروری در تغذیه گیاهی است که بعد از نیتروژن بیشترین مصرف را در دنیا دارد (Sepehr et al. 2009). چنانچه میزان این عنصر در خاک کمتر از آستانه بحرانی باشد، رشد گیاه محدود شده وعملکرد نیز کاهش می یابد(Sawyer and Creswell 2000).امروزه درراستای کشاورزی پایدار بکارگیری کودهای زیستی به عنوان یک جایگزین برای کودهای شیمیایی، با هدف افزایش باروری خاک وتولید محصولات در کشاورزی مطرح می باشند. افزایش جمعیت این میکروارگانیسم ها می تواند علاوه بر رشد، مقاومت گیاه به تنش های مختلف محیطی مانند کمبودآب وعناصرغذایی رانیز افزایش دهد (Wu et al. 2005).لذا با توجه به سطح زیر کشت ذرت در استان فارس، خشکسالی چند سال، آهکی بودن خاکها ، پایین بودن فسفر قابل استفاده گیاه در این خاکها ونیز جهت کاهش مصرف کودهای شیمیایی فسفره، مطالعه کودهای زیستی فسفاته جهت برطرف نمودن بخشی از نیاز فسفر گیاه و متحمل کردن گیاه به تنش خشکی ضروری است، که این امر می تواند از طریق تحقیق و مطالعه در این زمینه بدست آید.

مواد و روشها

این پژوهش در تابستان سال۱۳۹۱ در فضای آزاد شهرستان شیراز به شکل گلدانی و بصورت فاکتوریل در قالب طرح آماری بلوک های کامل تصادفی در چهار تکرار اجرا شد. به منظور مشخص کردن وضعیت عناصر غذایی خاک، سایر پارامترهای لازم و توصیه کودی، برخی ویژگی های فیزیکی وشیمیایی این خاک تعیین شد. خاک مورد استفاده از نوع لوم شنی است که از لحاظ شوری محدودیتی برای کاشت گیاه ندارد، خاک مورد استفاده دچار کمبود نیتروژن و فسفر می باشد. تیمارها شامل شش سطح کودفسفاته[شاهد(بدون مصرف کود، کود زیستی فسفاته بارور۲ (۱۰۰gr/ha)، کودزیستی فسفاته بارور M5 (۱۰۰gr/ha)، کودشیمیایی سوپر فسفات تریپل (۲۰۰kg/ha)، کودزیستیفسفاته بارور۲ (۱۰۰gr/ha)+کودشیمیایی سوپرفسفات تریپل(۱۰۰kg/ha) و کود زیستی فسفاته بارور M5(۱۰۰gr/ha)+کودشیمیایی سوپر فسفات تریپل(۱۰۰kg/ha) وسه سطح تنش خشکی [بدون تنش (۵۰%MAD)،تنش ملایم(۶۵%MAD)وتنش شدید (۷۵%MAD)] بوده است. کود سوپر فسفات تریپل با خاک گلدانها مخلوط شد و کود زیستی فسفاته طبق تعریف تیمارها قبل از کاشت به صورت بذر مال استفاده شد. در هر گلدان بذر ذرت علوفه ای رقم ZP 677 در عمق ۲ سانتی متری سطح خاک کاشته شد. پس از اینکه گیاه به مرحله ٤ برگی رسید، گیاهان را به ۲ گیاه در هر گلدان تنک کرده از این پس برای هر با آبیاری گلدانها با ترازو وزن می شدند و طبق میزان آبیاری قبلی و تخلیه مجاز رطوبتی تنش خشکی اعمال شد.

برداشت گیاه ۸ هفته پس از جوانه زدن گیاه صورت گرفت. قبل از برداشت میزان کلروفیل برگ با استفاده از دستگاهSpad ،ارتفاع گیاهان ، تعداد برگ گیاهان اندازه گیری شد. در هنگام برداشت، قسمت هوایی گیاه ذرت علوفه ای از سطح خاک کف بر شده و به آزمایشگاه منتقل شد. با توزین آن وزن تر گیاه بدست آمدو سطح برگ با دستگاه Leaf Area meter و قطر ساقه اندازه گیری شد. سپس از خشک شدن اندام هوایی در دمای ٦٨ درجه سلسیوس به مدت ۷۲ ساعت در آون وزن خشک اندازه گیری شد. با استفاده از آزمون آماری F اثر تیمارهای آزمایش بر عملکرد و فاکتورهای اندازه گیری شده بررسی شد. با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ٥ درصد اختلاف بین تیمارها بررسی گردید. ضمنا از نرم افزار آماری SAS برای انجام آزمون های فوق استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثرات کود و سطوح تنش کم آبی بر وزن خشک، وزن تر، ارتفاع، تعداد برگ، سطح برگ، قطر و کلروفیل گیاه ذرت در سطح احتمال ۱% معنی دار بوده است. همچنین برهمکنش کود و تنش کم آبی بر وزن خشک ،وزن تر، ارتفاع، تعداد برگ وسطح برگ گیاه ذرت در سطح احتمال ۱% معنی دار بود ولی بر قطر ساقه و کلروفیل غیرمعنی دار بوده است. کاربرد کودهای زیستی و شیمیایی فسفاته تحت تنش های کم آبی موجب افزایش وزن خشک، وزن تر، ارتفاع، تعداد برگ، سطح برگ، قطر و کلروفیل گیاه ذرت علوفه ای به طور معنی داری شد(جدول ۱). اما کودهای زیستی اثرات بیشتری در این افزایش داشتند و وزن خشک، وزن تر، ارتفاع، تعداد برگ، سطح برگ، قطر و کلروفیل گیاه ذرت را به شکل قابل ملاحظه ای افزایش دادند. کاربرد کودهای زیستی B2 و B5 به تنهایی، موجب افزایش پارامترها به طور معنی داری نسبت به شاهد شدند اما این افزایش در تیمار B5 بیشتر مشاهده شد. بیشترین افزایش در تیمارهای مخلوط کود زیستی+ شیمیایی B2T و B5T اتفاق افتاد و کمترین افزایش در سه سطح تنش متعلق به تیمار شیمیایی (T) بود. تلفیق کودهای زیستی و شیمیایی فسفاته در هر سه سطح تنش موجب افزایش وزن خشک، وزن تر، ارتفاع، تعداد برگ، سطح برگ، قطر و کلروفیل گیاه ذرت نسبت به سایر تیمارها شد و روند این افزایش در تیمار تلفیقی B5T نسبت به سایرین قابل ملاحظه بود. مطابق جدول-۱ در سه شرایط آب قابل دسترس ٥٠،٦٥و٧٥ درصد تغییرات وزن خشک، وزن تر، ارتفاع، تعداد برگ، سطح برگ، قطر و کلروفیل گیاه با مصرف کود زیستی، شیمیایی و زیستی شیمیایی بدین شرح است :

B5T < B2T < B5 < B2 < T

Mollaa و همکاران (2001) ، مختاری و یحیی آبادی (۱۳۹۰) و علیجانی و همکاران (۱۳۹۰) در تحقیقشان به نتایج مشابه پی بردند.

نتایج این آزمایش نشان می دهد که مصرف کودهای زیستی همراه کودهای شیمیایی فسفاته تحمل به خشکی گیاه ذرت علوفه ای را افزایش داده و موجب افزایش رشد گیاه می شوند. با توجه به شرایط این آزمایش و نتایج بدست آمده، انجام آن به صورت مزرعه ای پیشنهاد می شود تا بتوان با اطمینان بیشتری توصیه کودی زیستی فسفاته را در شرایط تنش کم آبی برای ذرت علوفه ای به کشاورزان ارائه داد. همچنین، تحت شرایط این آزمایش، در صورت تمایل به مصرف کود زیستی فسفاته، مقدار ٥٠% نیاز گیاه کود زیستی به همراه ٥٠% نیاز کود شیمیایی فسفاته توصیه می شود. همچنین با توجه به خشکسالی های پیاپی، استفاده از کودهای زیستی

توصیه می شود. علاوه بر افزایش تحمل گیاه به تنش، موجب کاهش آلودگی محیط زیست ناشی از کاربرد کودهای شیمیایی، کاهش هزینه های گزاف خرید کودهای شیمیایی و.. می گردد.

جدول ۱- تأثیر کودهای زیستی فسفاته یر وزن خشک،وزن تر،ارتفاع، تعداد برگ، سطح برگ، قطر ساقه و میزان کلروفیل گیاه ذرت علوفه ای تحت تنش کم آبی

تیمارهای آبیاری	تیمارهای کودی						
	C	B2	B5	T	B2T	B5T	میانگین
وزن خشک گیاه (گرم)							
بدون تنش	۱٫۶۵^{l}	۱۲٫۶۹^{f}	۱۳٫۸۸^{e}	۵٫۹۸^{i}	۲۳٫۰۳^{a}	۲۲٫۸۶^{ab}	۱۳٫۳^{A}
تنش ملایم	۱٫۳۴^{l}	۱۱٫۴۲^{g}	۱۲٫۵۸^{f}	۴٫۶۹^{j}	۲۱٫۸۱^{b}	۲۲٫۱۵^{ab}	۱۲٫۳۳^{B}
تنش شدید	۱٫۲۲^{l}	۹٫۶^{h}	۱۱٫۴۸^{g}	۳٫۰۸^{k}	۱۹٫۰۷^{d}	۲۰٫۴۶^{c}	۱۰٫۸۲^{C}
میانگین	1.4^{E}	۱۱٫۲^{C}	۶۵.۱۲^{B}	۴٫۵۸^{D}	۲۱٫۳^{A}	۲۱٫۸۲^{A}	
وزن تر گیاه (گرم)							
بدون تنش	۹٫۷^{l}	۳۲٫۶۲^{g}	۳۴٫۸۷^{f}	۱۵٫۹۵^{j}	۵۴٫۵۳^{c}	۶۲٫۴۴^{a}	۳۵٫۰۲^{A}
تنش ملایم	۶٫۶^{m}	۳۲٫۶^{g}	۳۱٫۲۷^{g}	۱۲٫۰۸^{k}	۴۵٫۶۴^{e}	۵۶٫۷۸^{b}	۳۰٫۸۳^{B}
تنش شدید	۴٫۹^{m}	۲۲٫۸۲^{i}	۲۵٫۷۲^{h}	۹٫۰۸^{l}	۳۱٫۸۸^{g}	۴۹٫۶۲^{d}	۲۴٫۰۲^{C}
میانگین	۷٫۱^{F}	۲۹٫۳۵^{D}	۳۰٫۶۲^{C}	۱۲٫۳۷^{E}	۴۴٫۰۲^{B}	۵۶٫۲۸^{A}	
ارتفاع گیاه (سانتی متر)							
بدون تنش	۴۰٫۱^{n}	۸۷٫۳^{i}	۹۰٫۸^{c}	۶۲٫۳^{k}	۱۰۱٫۷^{b}	۱۱۱٫۷^{a}	۷۹^{A}
تنش ملایم	۳۶٫۴^{o}	۶۴٫۸^{j}	۷۸٫۱^{g}	۵۷٫۵^{l}	۸۱٫۵^{f}	۸۸٫۱^{d}	۶۷٫۷^{B}
تنش شدید	۳۱ ^{p}	۵۱٫۶^{m}	۶۸٫۲^{i}	۵۱٫۳^{m}	۷۰٫۹^{h}	۸۵٫۴^{e}	۵۹٫۷^{C}
میانگین	۳۵٫۸۳^{F}	۶۱٫۲^{D}	۷۹٫۰۳^{C}	۵۷٫۰۲^{E}	۸۴٫۷^{B}	۹۵٫۰۳^{A}	
تعداد برگ (در گلدان)							
بدون تنش	۳^{gf}	۴^{e}	۳٫۷۵^{e}	۳^{gf}	۶^{c}	۸^{a}	۴٫۶^{A}
تنش ملایم	۲٫۷۵^{g}	۴^{e}	۳٫۵^{ef}	۳^{gf}	۵٫۷۵^{c}	۷٫۷۵^{a}	۴٫۵^{A}
تنش شدید	۲٫۷۵^{g}	۳٫۵^{ef}	۴^{e}	۳^{gf}	۵^{d}	۶٫۷۵^{b}	۴٫۲^{B}
میانگین	۲٫۸^{D}	۳٫۸^{C}	۳٫۷۵^{C}	۳^{D}	۵٫۶^{B}	۷٫۵^{A}	
سطح برگ (سانتی متر)							
بدون تنش	25.7^{n}	۴۰٫۵^{h}	۴۳٫۳۲^{f}	۳۷٫۶۴^{j}	۵۰٫۶^{c}	۵۴٫۲^{a}	۴۲ ^{A}
تنش ملایم	۲۴٫۶ ^{n}	۳۹^{i}	۴۲٫۱^{g}	۳۵٫۵^{k}	۴۹٫۱^{d}	۵۲^{b}	۴۰٫۴^{B}
تنش شدید	۲۰٫۹^{o}	۳۴^{l}	۴۰٫۱۲^{h}	۲۷٫۶^{m}	۴۶٫۱۳^{e}	۵۰٫۴ ^{c}	36.5^{C}
میانگین	۲۳٫۷^{F}	۳۷٫۸^{D}	۴۱٫۸^{C}	۳۳٫۶^{E}	۴۸٫۶^{B}	۵۲٫۲^{A}	
قطر ساقه (سانتی متر)							
بدون تنش	۰٫۵۲ ^{jhi}	۰٫۷^{fg}	۰٫۷۷^{fe}	۰٫۶ ^{hg}	۱٫۲۳^{ab}	۱٫۳۳^{a}	۰٫۸۶^{A}
تنش ملایم	۰٫۴۶^{ji}	۰٫۶^{hg}	۰٫۷۱^{fg}	۰٫۵۱^{jhi}	۰٫۹^{d}	۱٫۲^{cb}	۰٫۷۴^{B}
تنش شدید	۰٫۴^{j}	۰٫۴۸^{jhi}	۰٫۵۷^{hi}	۰٫۴۸^{jhi}	۰٫۸۸^{de}	۱٫۰۸ ^{c}	۰٫۶۵^{C}
میانگین	۰٫۴۶^{E}	۰٫۶^{D}	۰٫۶۸^{C}	۰٫۵۳^{D}	۱٫۰۲^{B}	۱٫۲^{A}	

کلروفیل برگ

بدون تنش	۱۱,۱۷^{g}	۱۳,۳^{c}	۱۴,۱۲^{b}	۱۱,۹۷^{f}	۱۴,۶۲^{a}	۱۴,۶۷^{a}	۱۳,۳۱^{A}
تنش ملایم	۱۰,۳۳^{h}	۱۲,۵۴^{de}	۱۲,۸۵^{d}	۱۱,۰۳^{g}	۱۳,۳۲^{c}	۱۳,۶۵^{c}	۱۲,۲۹^{B}
تنش شدید	۹,۱۳^{i}	۱۱,۴۵^{g}	۱۱,۹۵^{f}	۱۰,۳۵^{h}	۱۲,۱^{fe}	۱۲,۵۲^{de}	۱۱,۲۵^{C}
میانگین	۱۰,۲^{F}	۱۲,۴۳^{D}	۱۲,۹۷^{C}	۱۱,۱۲^{E}	۱۳,۳۵^{B}	۱۳,۶۱^{A}	

در هر ستون و ردیف میانگین های دارای حروف مشترک لاتین بزرگ و کوچک در سطح احتمال ۵% آزمون دانکن اختلاف معنی دار ندارند.

در جدول فوق تیمارها بصورت اختصاری آورده شده است. در زیر شرح داده می شوند:

MAD: تخلیه مجاز رطوبتی، C :شاهد(کوداستفاده نشده است)، B2 :کودزیستی بارور-۲، B: کودزیستی بارور-M5، T: کود شیمیایی سوپرفسفات تریپل، B2T: کوزیستی بارور-۲+کود شیمیایی سوپر فسفات تریپل و B5T :کودزیستی بارور-M5+ کود شیمیایی سوپر فسفات تریپل.

منابع

علیجانی، م.، امینی دهقی، م.، ملبوبی، م ع.، زاهدی، م.، و مدرس ثانوی س ع م.، ۱۳۹۰. تأثیر سطوح مختلف کود فسفره در تلفیق با کود زیستی فسفاته بارور -۲ بر عملکرد،مقدار اسانس و درصد کامازولن گیاه دارویی بابونه آلمانی (Matricaria recutita L.). فصلنامه علمی پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، جلد بیست و هفت ، شماره ۳.صفحه های ٤٥٠ تا ٤٥٩.

مختاری، م.، و یحیی آبادی، م.، ۱۳۹۰. بررسی میزان عناصر میکرو و ماکرو در اندام هوایی گیاه ذرت دانه ای (رقم ۷۰٤) تلقیح شده با باکتری (PGPR). دوازدهمین کنگره علوم خاک ایران، تبریز، ایران.

Mollaa AH, Shamsuddinb ZH, Halimib MS, Morziahc M and Puteh AB, 2001. Potential for enhancement of root growth and nodulation of soybean co-inoculation with Azospirillum and Bradyrhizobium in laboratory systems. Soil Biology and Biochemistry, 33: 457-463.

Sawyer J and Creswell J, 2000. Integrated crop management. Pp. 182-183. In phosphorous basics. Iowa State University, Ames, Iowa.

Sepehr E, Malakouti MJ, Kholdebarin B, Samadi A and Karimian N, 2009. Genotypic variation in P efficiency of selected Iranian cereals in greenhouse experiment. International Journal of Plant Production 3: 17-28.

Wu SC, Caob ZH, Lib ZG, Cheunga KC and Wong MH, 2005. Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. Geoderma 125:155–166.

بررسی تاثیر کودهای زیستی فسفاته بر جذب فسفر و عناصر میکرو در ذرت علوفه ای (*Zea mays L.*) تحت شرایط تنش کم آبی

سیده سامیه پورالحسینی[1]، حسن حقیقت نیا[2]و فرهاد خورسندی[3]
۱- دانشجوی کارشناسی ارشد خاکشناسی دانشگاه علوم و تحقیقات فارس
۲- عضو هییت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی فارس (داراب)
۳- استادیار گروه خاکشناسی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد داراب، شیراز

مقدمه

روشهای سنتی کشاورزی و استفاده از کودهای شیمیایی برای رسیدن به حداکثر ممکن تولید کارساز نبوده و بعلاوه متضمن دستیابی به کشاورزی پایدار و اقتصادی نخواهد بود(فلاح وهمکاران ۱۳۸۵) .امروزه با توجه به آلودگی های زیست محیطی وبهداشتی که از مصرف کود های شیمیایی حاصل میگردد ، تولید و مصرف کودهای بیولوژیک به عنوان مهمترین رویکرد در زمینه بیوتکنولوژی خاک به شمار رفته است.کودهای بیولوژیک به عنوان طبیعی ترین و مطلوب ترین راه حل برای زنده و فعال نگه داشتن سیستم حیاتی خاک مطرح شده است. میکرواورگانیسم های خاک مخصوصا باکتریها با توان انجام فرایندهای مختلف بیولوژیک در تمام مراحل تغییر و تحول مربوط به چرخه عناصر غذایی در خاک دخالت دارند و مقاومت گیاه به تنش های مختلف محیطی مانند کمبود آب و عناصر غذایی را نیز افزایش دهد به این ترتیب رشد گیاه را کاملا تحت تاثیر قرار میدهند (صالح راستین و علیخانی ۱۳۸۰).لذا با توجه به سطح زیر کشت ذرت در استان فارس، خشکسالی چند سال، آهکی بودن خاکها ، پایین بودن فسفر قابل استفاده گیاه در این خاکها ونیز جهت کاهش مصرف کودهای شیمیایی فسفره، مطالعه کودهای زیستی فسفاته جهت برطرف نمودن بخشی از نیاز فسفر و عناصر میکروی مورد نیاز گیاه و متحمل کردن گیاه به تنش خشکی ضروری است، که این امر می تواند از طریق تحقیق و مطالعه در این زمینه بدست آید.

مواد و روشها

این پژوهش در تابستان سال ۱۳۹۱ در فضای آزاد شهرستان شیراز به شکل گلدانی و بصورت فاکتوریل در قالب طرح آماری بلوک های کامل تصادفی در چهار تکرار اجرا شد. به منظور مشخص کردن وضعیت عناصر غذایی خاک، سایر پارامترهای لازم و توصیه کودی، برخی ویژگی های فیزیکی و شیمیایی این خاک تعیین شد. خاک مورد استفاده از نوع لوم شنی است که از لحاظ شوری محدودیتی برای کاشت گیاه ندارد، خاک مورد استفاده دچار کمبود نیتروژن و فسفر می باشد. تیمارها شامل شش سطح کود فسفاته [شاهد(بدون مصرف کود) ، کود زیستی فسفاته بارور۲(100gr/ha) ، کود زیستی فسفاته بارورM5 (100gr/ha)، کود شیمیایی سوپر فسفات تریپل(200kg/ha)، کود زیستی فسفاته بارور۲ (100gr/ha) + کود شیمیایی سوپر فسفات تریپل(۱۰۰ kg/ha) و کود زیستی فسفاته بارور M5 (100gr/ha) + کود شیمیایی سوپر فسفات تریپل(100kg/ha) وسه سطح تنش خشکی [بدون تنش (۵۰%MAD)، تنش ملایم (۶۵%MAD) و تنش شدید (۷۵٪MAD)] بوده است. کود سوپر فسفات تریپل با خاک گلدانها مخلوط شد و کود زیستی فسفاته طبق تعریف تیمارها قبل از کاشت به

صورت بذر مال استفاده شد. در هر گلدان بذر ذرت علوفه ای رقم ZP 677 در عمق ۲ سانتی متری سطح خاک کاشته شد. پس از اینکه گیاه به مرحله ۴ برگی رسید، گیاهان را به ۲ گیاه در هر گلدان تنک کرده از این پس برای هر با آبیاری گلدانها با ترازو وزن می شدند و طبق میزان آبیاری قبلی و تخلیه مجاز رطوبتی تنش خشکی اعمال شد. برداشت گیاه ۸ هفته پس از جوانه زدن گیاه صورت گرفت. در هنگام برداشت، قسمت هوایی گیاه ذرت علوفه ای از سطح خاک کف بر شده و به آزمایشگاه منتقل شد. سپس نمونه های گیاهی با آب مقطر شستشو، بخش هوایی گیاهان تیمارهای مختلف به صورت جداگانه در پاکت های کاغذی قرار داده و در دمای ۶۸ درجه سلسیوس به مدت ۷۲ ساعت در آون تهویه دار خشک شدند. نمونه های خشک گیاه ابتدا آسیاب شده و پس از سوختن کامل در کوره با دمای ۵۵۰ درجه سانتی گراد، استخراج یونها با استفاده از کلریدریک اسید ۲ نرمال با روش خاکستر خشک (Dry ashing) و تهیه محلول های حاوی یونها انجام گرفت. سپس با دستگاه جذب اتمی عناصر روی، آهن، منگنز و مس و نیز با دستگاه نورسنجی مدل UV-2100 و با استفاده از رنگ سنجی روش زرد (Subramanian and Charest 1997) غلظت فسفر گیاه تعیین خواهد شد.

با استفاده از آزمون آماری F اثر تیمارهای آزمایش بر عملکرد و فاکتورهای اندازه گیری شده بررسی شد. با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف بین تیمارها بررسی گردید. ضمنا از نرم افزار آماری SAS برای انجام آزمون های فوق استفاده شد.

نتایج و بحث

با توجه به جدول-۱ با مصرف کودهای زیستی و شیمیایی فسفاته غلظت عناصر فسفر، آهن، روی، مس و منگنز در شاخساره گیاه ذرت افزایش یافته است. نتایج حاکی از این است که کاربرد کودهای زیستی به صورت تنهایی و هم به صورت تلفیقی بیشتر از مصرف کودهای شیمیایی به تنهایی موجب افزایش غلظت این عناصر شده است. با توجه به جدول هر دو نوع کود زیستی فسفاته کاربردی غلظت این عناصر را بیشتر از کود شیمیایی افزایش داده اند و این افزایش نسبت به شاهد معنی دار است. و بین دو نوع کود زیستی، کود زیستی M5 تاثیر بیشتری در افزایش غلظت عناصر نسبت به کود زیستی بارور-۲ داشته است. تلفیق کودهای زیستی و شیمیایی فسفاته بیش از سایر تیمارها موجب افزایش غلظت این عناصر شده است(جدول ۱). تلفیق هر دو نوع کود زیستی با کود شیمیایی (M5T و B2T) غلظت عناصر را به طور معنی داری نسبت به شاهد و سایر تیمارها افزایش داده است ولی تلفیق کود زیستی M5 و کود شیمیایی فسفاته (M5T) بیش از تلفیق کود زیستی بارور-۲ و کود شیمیایی فسفاته (B2T) موجب افزایش غلظت عناصر فسفر، آهن، مس، روی و منگنز شده است. دلیل این افزایش غلظت این است که تلفیق این دو نوع کود نسبت به سایر تیمارها، محیط پیرامون ریشه را بیشتر اسیدی کرده (با ترشح آنزیمهای بیشتری) و با کاهش pH، پیوندهای بیشتری از ساختارهای مواد شکسته شده و عناصر غذایی به شکل قابل جذب گیاه در آمده اند. Sharma و همکاران (1983)،Gunes و همکاران (2009)، مختاری و یحیی آبادی (۱۳۹۰) در آزمایشات خود به نتایج مشابه رسیدند.

همچنین جدول-۱ حاکی از این است که با افزایش تنش رطوبتی در تیمارهای کود زیستی غلظت عناصر افزایش پیدا کرده است. کاربرد کودهای زیستی به تنهایی در هر سه سطح تنش موجب افزایش غلظت این عناصر شده است ولی افزایش غلظت در تنش های شدید در تیمارهای تلفیقی بیشتر است. ولی با کاربرد کود شیمیایی تحت تنش غلظت کاهش پیدا کرده است. بیشترین جذب در تیمارهای تلفیقی کود زیستی M5 و کود

شیمیایی فسفاته (M5T) اتفاق افتاده که نشان میدهد که کودهای زیستی با افزایش جذب در سطوح مختلف تنش کم آبی تحمل گیاه را نسبت به تنش های متفاوت رطوبتی افزایش می دهند.

نتایج این آزمایش نشان می دهد که مصرف کودهای زیستی همراه کودهای شیمیایی فسفاته تحمل به خشکی گیاه ذرت علوفه ای را افزایش داده و موجب افزایش جذب عناصر توسط گیاه می شوند. با توجه به شرایط این آزمایش و نتایج بدست آمده، انجام آن به صورت مزرعه ای پیشنهاد می شود تا بتوان با اطمینان بیشتری توصیه کودی زیستی فسفاته را در شرایط تنش کم آبی برای ذرت علوفه ای به کشاورزان ارائه داد. همچنین، تحت شرایط این آزمایش، در صورت تمایل به مصرف کود زیستی فسفاته، مقدار ۵۰% نیاز گیاه کود زیستی به همراه ۵۰% نیاز کود شیمیایی فسفاته توصیه می شود. همچنین با توجه به خشکسالی های پیاپی، استفاده از کودهای زیستی توصیه می شود. علاوه بر افزایش تحمل گیاه به تنش، موجب کاهش آلودگی محیط زیست ناشی از کاربرد کودهای شیمیایی، کاهش هزینه های گزاف خرید کودهای شیمیایی و.. می گردد.

جدول ۱- تأثیر کودهای زیستی فسفاته بر غلظت عناصر فسفر، آهن، روی، مس و منگنز در شاخساره گیاه ذرت علوفه ای تحت تنش کم آبی

تیمارهای آبیاری	تیمارهای کودی						
	C	B2	B5	T	B2T	B5T	میانگین
غلظت فسفر (میلی گرم بر گیلوگرم ماده خشک)							
بدون تنش	۱/۴^{l}	۲/۶۷^{h}	۳/۱۸^{g}	۲/۱۱^{i}	۵/۳۵^{c}	۶/۵^{a}	۳/۵۲^{A}
تنش ملایم	۰/۶۴^{m}	۲/۱۷^{i}	۲/۵۷^{h}	۱/۷^{k}	۴/۲^{e}	۶/۹^{b}	۲/۸۸^{B}
تنش شدید	۰/۴۶^{m}	۱/۸۳^{j}	۲/۰۹^{i}	۱/۲^{l}	۳/۵^{f}	۵/۱^{d}	۲/۳۵^{C}
میانگین	۰/۸۳^{F}	۲/۲۲^{D}	۲/۶۱^{C}	۱/۶۷^{E}	۴/۳۵^{A}	۶/۱۶^{B}	
غلظت آهن (میلی گرم بر کیلو گرم ماده خشک)							
بدون تنش	۷۲/۲^{n}	۱۸۶/۶۳^{f}	۱۴۰/۹^{i}	۸۵/۸۳^{l}	۲۷۴/۵^{a}	۲۴۵/۵۴^{b}	۱۶۷/۶^{A}
تنش ملایم	۶۶/۸۱^{o}	۱۸۱/۷۸^{g}	۱۳۶/۰۶^{j}	۷۷/۴۵^{m}	۲۴۱/۴^{c}	۲۳۶/۷۴^{d}	۱۵۶/۷^{B}
تنش شدید	۴۷/۲۴^{p}	۱۷۷/۹^{h}	۱۰۷ /۳۳^{k}	۶۵/۲۲^{o}	۲۳۷/۴۷^{d}	۲۱۹/۹۳^{e}	۱۴۷/۵۳^{C}
میانگین	۶۲/۱^{F}	۱۸۲/۱۳^{C}	۱۲۸/۱^{D}	۷۶/۱۶^{E}	۲۵۱/۱۲^{A}	۲۳۴/۰۷^{B}	
غلظت روی (میلی گرم بر کیلوگرم ماده خشک)							
بدون تنش	۲۶^{kij}	۳۶/۱۳^{f}	۴۵/۳۱^{e}	۲۸/۳۶^{hij}	۵۶/۶۳^{d}	۱۰۶/۲۹^{a}	۴۹/۸^{A}
تنش ملایم	۲۳/۸^{kj}	۳۲/۹^{hfg}	۳۳/۷۷^{fg}	۲۸^{ij}	۵۲/۳^{d}	۱۰۱/۴۱^{b}	۴۵/۳۷^{B}
تنش شدید	۲۲/۸۶^{k}	۳۰/۱۶^{hig}	۲۹/۹۲^{hij}	۲۷/۵۲^{kij}	۴۴^{e}	۷۰/۵۱^{c}	۳۷/۵^{C}
میانگین	۲۴/۲۲^{F}	۳۳/۰۷^{D}	۳۶/۳۳^{C}	۲۸^{E}	۵۱^{B}	۹۲/۷۵^{A}	
غلظت مس (میلی گرم بر کیلوگرم ماده خشک)							
بدون تنش	۶/۱۷^{ijk}	۱۰/۴^{g}	۱۶/۳۶^{fe}	۷/۰۷^{igh}	۴۲/۴^{a}	۲۰/۷^{d}	۱۷/۱۸^{A}
تنش ملایم	۵/۴^{jk}	۹/۴^{gh}	۱۴/۶^{f}	۶/۶^{ijk}	۳۲/۱^{b}	۱۸/۵^{de}	۱۴/۳۳^{B}
تنش شدید	۳/۵^{k}	۸/۷ ^{igh}	۱۰/۸^{g}	۵/۴^{jk}	۲۷/۸^{c}	۱۷/۶^{e}	۱۲/۳^{C}

میانگین	۵/۰۱^{E}	۹/۵^{D}	۱۳/۹^{C}	۶/۲^{E}	۳۴/۱^{A}	۱۸/۹^{B}	
غلظت منگنز (میلی گرم بر کیلو گرم ماده خشک)							
بدون تنش	۹/۴^{ml}	۲۲/۷^{i}	۳۰/۷^{fg}	۱۸/۸^{j}	۴۳/۸^{d}	۸۷/۴^{a}	۳۵/۴۸^{A}
تنش ملایم	۷/۹^{m}	۱۹/۸^{ij}	۲۷/۹^{hg}	۱۴/۵^{k}	۳۸/۴^{e}	۸۱/۸^{b}	۳۱/۷^{B}
تنش شدید	۶/۳^{m}	۱۹/۲^{j}	۲۶/۷^{h}	۱۱/۶^{kl}	۳۱/۳^{f}	۷۰/۳۳^{c}	۲۷/۶^{C}
میانگین	۷/۹^{F}	۲۰/۵۴^{D}	۲۸/۵^{C}	۱۵^{E}	۳۷/۸ ^{B}	۷۹/۹^{A}	

در هر ستون و ردیف میانگین های دارای حروف مشترک لاتین بزرگ و کوچک در سطح احتمال ۵٪ آزمون دانکن اختلاف معنی دار ندارند.

در جدول فوق تیمارها بصورت اختصاری آورده شده است. در زیر شرح داده می شوند:

MAD : تخلیه مجاز رطوبتی، C : شاهد (کود استفاده نشده است) ، B2 : کود زیستی بارور-۲ ، B5 : کود زیستی بارور-M5، T : کود شیمیایی سوپر فسفات تریپل، B2T : کود زیستی بارور-۲ + کود شیمیایی سوپر فسفات تریپل و B5T : کود زیستی بارور-M5 + کود شیمیایی سوپر فسفات تریپل

منابع

صالح راستین، ن.، و علیخانی،ح.، 1380 .کود های بیولوژیک محرک رشد گیاه. نشر آموزش کشاورزی.

فلاح، ع.، بشارتی،ح.، و خسروی، ه.، 1385 .میکروبیولوژی خاک (ترجمه). انتشارات آییژ.

مختاری، م.، و یحیی آبادی، م.، ۱۳۹۰. بررسی میزان عناصر میکرو و ماکرو در اندام هوایی گیاه ذرت دانه ای (رقم ۷۰٤) تلقیح شده با باکتری (PGPR). دوازدهمین کنگره علوم خاک ایران، تبریز، ایران.

Gunes A, Atalu NZ, Turan M, Estiken A, and Ketterings M, 2009. Effects of phosphate –solubilizing microorganisns on strawberry yield and nutrient concentrations. Plant Nutr. Soil Sci, 172: 385-392.

Sharma SN, . Ray SB, . Pandy SL, and Prasad R, 1983. Effect of irrigation pyrites and phosphorus bacteria on efficiency of rock phosphate applied to lentils Lens- Culinary. Journal of Agricultural Science, 101 (2): 467-472.

Subramanian KS, Charest C, 1997. Nutritional , growth , and reproductive responses of maize (Zea mays L.) to arbuscular maycorrhizal inoculation during and after drought stress at tasselling. Mycorrhiza 7: 25-32.

تاثیر باکتری تیوباسیلوس و ورمی واش بر شاخص سبزینگی و برخی خصوصیات مورفولوژیک گیاه اسفناج تحت تنش شوری

بهجت جبالبارزی[۱]، مهدی زارعی[۲]

[۱]دانشجوی کارشناسی ارشد علوم خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز، [۲]استادیار بخش علوم خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز

مقدمه

شوری خاک یک مشکل روز افزون خاک های کشاورزی است که باعث کاهش سرعت رشد گیاهان و تولید محصول مخصوصاً در مناطق خشک و نیمه خشک می‌شود. دو ویژگی اصلی محیط های شور، پتانسیل اسمزی پایین و غلظت زیاد املاحی است که بالقوه برای گیاهان سمی می باشند. املاح موجود در خاک سبب کاهش پتانسیل آب در محیط ریشه شده و جذب آب توسط ریشه را محدود می سازند و گیاه دچار نوعی خشکی فیزیولوژیک می گردد. از طرفی غلظت زیاد نمک ها در خاک و به دنبال آن جذب یون هایی مثل سدیم و کلر در گیاه مسمومیت ایجاد می کند (ادوارد و بیسون، ۱۹۹۶). بیجه کشاورزی و موسوی نیک (۱۳۸۹) در بررسی اثر شوری بر جوانه زنی و رشد اسفناج دریافتند که شوری بالا موجب کاهش سرعت رشد و جوانه زنی، ارتفاع ساقه و وزن تر و خشک گیاه می شود. مصرف کودهای زیستی نظیر میکروارگانیسم های حل کننده فسفات، ورمی کمپوست و ورمی واش دریک سیستم مبتنی برکشاورزی پایدار، ضمن حفظ سلامت محیط زیست، موجب افزایش کیفیت و پایداری عملکرد به ویژه در تولید گیاهان می شود (کاپور و همکاران، ۲۰۰۰). اکسایش گوگرد یک فرایند شیمیایی و بیوشیمیایی بوده که نوع بیوشیمیایی آن به نظر می رسد در خاک های کشاورزی از اهمیت بیشتری برخوردار باشد. اعتقاد بر آن است که در بین ریز جانداران اکسید کننده گوگرد، شیمواتوتروف ها، به خصوص جنس *تیوباسیلوس* عمده ترین اکسیدکننده بیولوژیکی گوگرد در خاک باشند (ویتولینس و اسوابی، ۱۹۶۹). انصاری و سوخراج (۲۰۱۰) در بررسی اثر ورمی واش و ورمی کمپوست بر روی خصوصیات خاک در گیاه بامیه مشاهده کردند ورمی واش موجب کاهش پی اچ و افزایش ماده آلی خاک و جذب بیشتر عناصر غذایی و در نتیجه افزایش رشد گیاه شد. در تحقیقی دیگر محمودی قادی و همکاران (۱۳۹۰) در بررسی اثر باکتری *تیوباسیلوس* بر گوجه فرنگی تحت تنش شوری دریافتند حضور *تیوباسیلوس* و گوگرد تأثیر معنی‌داری بر عملکرد، وزن متوسط میوه، درصد ماده خشک میوه، وزن تر و خشک ریشه و طول بوته نسبت به شاهد دارد. هدف از این تحقیق مطالعه تأثیرکاربرد گوگرد تلقیح شده با باکتری *تیوباسیلوس* و ورمی واش بر شاخص سبزینگی و برخی خصوصیات مورفولوژیک گیاه اسفناج تحت تنش شوری است.

مواد و روش ها

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی باسه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیرازانجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل شوری خاک، با سه سطح (۰، ۵ و۱۰ دسی زیمنس بر متر از منبع کلرید سدیم)، دوسطح (باکتری تیوباسیلوس همراه با گوگرد (معادل یک کیلوگرم در هکتار) و بدون باکتری) و دو سطح ورمی واش و بدون ورمی واش بود. نمونه خاک مورد نظر از سری کوی اساتید از عمق زراعی تهیه شد. پس از تلقیح نمودن تیوباسیلوس و گوگرد با خاک، تعداد ۶ بذر در هر گلدان کاشته شد که به دو بوته در گلدان تنک شد. پس از استقرار کامل گیاه (۲ هفته) شوری در دو نوبت بصورت محلول از منبع کلرید سدیم اعمال شد. ورمی واش نیز هر دو هفته یک بار به میزان ۳۰۰ میلی لیتر به هر گلدان اضافه شد. پس از گذشت ۶۰ روز ابتدا شاخص سبزینگی توسط کلروفیل متر، تعداد برگ، طول و عرض برگ با خط کش اندازه گیری شد و بعد از جدا کردن گیاه از طوقه، وزن تر گیاه اندازه گیری شد. پس از شست و شوی نمونه ها با آب مقطر و قرار گرفتن در آون با دمای ۶۰ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت و خشک شدن نمونه ها وزن خشک آن ها اندازه گیری شد. داده های حاصل از آزمایش به وسیله نرم افزار آماری SAS پردازش گردید.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) مشخص شد، اثر ورمی واش بر تمام صفات اندازه گیری شده معنی دار شد. تنش شوری و کاربرد *تیوباسیلوس* نیز بر روی تمام صفات اندازه گیری شده به جز طول و عرض برگ معنی دار شدند. در شاخص سبزینگی اثرات متقابل تمام تیمار ها معنی دار گردید. اثرات متقابل شوری،ورمی واش و *تیوباسیلوس* در تعداد برگ اندازه گیری شده گیاه معنی دار شد در سایر صفات اندازه گیری شده اثرات متقابل تیمار ها تفاوت معنی داری از لحاظ آماری نداشتند. نتایج مقایسه میانگین ها نشان داد که بیشترین میزان وزن خشک گیاه، تعداد برگ و بیشترین شاخص سبزینگی مربوط به تیمار ها ی بدون تنش شوری و دارای ورمی واش و تلقیح شده با باکتری تیوباسیلوس و گوگرد بود. همچنین بیشترین طول و عرض برگ در تیمارهای دارای تنش شوری بالا و دارای ورمی واش و تلقیح شده با باکتری تیوباسیلوس و گوگرد می باشد. به طور کلی می توان بیان کرد که با افزایش شوری اکثر صفات اندازه گیری شده به طور معنی داری کاهش یافت و تیمار های دارای ورمی واش موجب افزایش معنی داری در تمام صفات اندازه گیر ی شده نسبت به تیمار های فاقد ورمی واش شدند. همچنین تیمارهای تلقیح شده با باکتری تیوباسیلوس شاخص سبزینگی، تعداد برگ و وزن خشک بیشتری نسبت به تیمار های بدون باکتری تیوباسیلوس بودند. رادها کریشنا و ماهندران (۲۰۱۰) در بررسی اثر ورمی واش و ورمی کمپوست برروی رشد و توسعه گیاه دریافتند که ورمی واش تاثیر معنی داری بر ارتفاع بوته، ضخامت ساقه، طول ریشه، تعداد برگ ها و شاخه ها داشته و موجب افزایش قابل توجهی در آن ها شده است. همچنین افزایش قابل توجهی در وزن تازه و خشک ساقه و ریشه در گیاه مورد مطالعه مشاهده شد. این مطالعه به طور قطع ثابت کرد که ورمی واش موجب تسریع در رشد گیاه و در نتیجه کاهش دوره نگهداری از ۱۲ ماه به ۹ ماه شده است. هورمون هایی مانند

سیتوکینین، اکسین و ...، آمینواسیدها، ویتامین ها، آنزیم ها و برخی ترشحات دیگر و میکروب های مفیدی مانند باکتری های هتروتروفیک، قارچ ها، اکتینومیست ها شامل تثبیت کنندگان نیتروژن، حل کننده های فسفات در ورمی واش وجود دارند. ورمی واش غنی از عناصر غذایی حل شده اند که به آسانی در دسترس گیاه می باشند و موجب افزایش رشد گیاه می شوند (منون و همکاران، ۲۰۰۸).

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر تیوباسیلوس و ورمی واش بر وزن خشک، تعداد برگ، طول برگ، عرض برگ و شاخص سبزینگی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		وزن خشک	تعداد برگ	طول برگ	عرض برگ	شاخص سبزینگی
شوری	۲	۲/۷۵***	۸/۰۸*	۱/۴۹^{ns}	۰/۴۷^{ns}	۶۰/۳***
تیوباسیلوس	۱	۲/۱۷***	۲۶۱***	۱/۵۳^{ns}	۱/۲۰^{ns}	۳۲/۹***
ورمی واش	۱	۱۳/۲***	۱۷۳***	۳۱/۷***	۵/۹۶**	۳۳***
شوری× تیوباسیلوس	۲	۰/۱۳^{ns}	۳/۶۹^{ns}	۰/۳۶^{ns}	۰/۰۲^{ns}	۱۰۱***
شوری× ورمی واش	۲	۰/۵۵^{ns}	۲/۱۹^{ns}	۰/۳۱^{ns}	۰/۳۵^{ns}	۱۷/۷***
تیوباسیلوس× ورمی واش	۱	۰/۷۳^{ns}	۲/۲۵^{ns}	۰/۴۶^{ns}	۰/۱۷^{ns}	۴/۷*
شوری× تیوباسیلوس× ورمی واش	۲	۰/۱۷^{ns}	۷/۲۹**	۰/۶۲^{ns}	۰/۰۹^{ns}	۱۷/۷***
خطا	۲۴	۵/۷۶^{ns}	۳/۷۲	۴/۹۹	۱۱/۸۴	۱/۲۹
ضریب تغییرات	–	۰/۱۷	۱/۵۹	۰/۵	۰/۴۷	۰/۷۷

*****، ** و * به ترتیب در سطح ۰/۱، ۱ و ۵ درصد معنی دار است. ns از لحاظ آماری معنی دار نیست.**

منابع

بیجه کشاورزی، م. ح .، موسوی نیک، س. م .، ۱۳۹۰. مطالعه اثر پتانسیل های مختلف اسمزی شوری بر جوانه زنی و رشد اولیه گیاهچه های اسفناج (***Spinacia oleracea***). همایش منطقه ایاکوفیزیولوژی گیاهان زراعی.

محمودی قادی، پ.، علیپور،ز ت و کاشی، ع ا.، ۱۳۹۰. تأثیرباکتری تیوباسیلوس بر رشد و غلظت ویتامین ث میوه گوجه فرنگی تحت شرایط شوری. اولین کنگره ملی علوم و فناوری های نوین کشاورزی.

Ansari A A and Sukhraj K, 2010. Effect of vermiwash and vermicompost on soil parameters and productivity of okra (*Abelmoschus esculentus*) in Guyana. African Journal of Agricultural Research Vol. 5(14): 1794-1798.

Apse Mp, Dharon GS, Snedden and Bumerokde WA, 1999. Salt tolerance Conferred by Overexpression of a Vacuolar Na^+/H^+ antiport in *Arabidopsis*. Science 285: 1256-1258.

Edward A K and M A Bison, 1996. Plasma membrane Na^+ transport in salt tolerant charophyte. Journal of Plant Physiology 111: 1191-1197.

Radhakrisnan B, Mahendran P, 2010. Studies on the effect of vermicompost and vermiwash on growth and development of tea(*Camellia sinensis*). Journal of Plantation Crops 38:27-31.

Vitolins M.I and Swaby R.I, 1969. "Activity of sulfur oxidizing microorganisms in some Australian soils." *Aust. J.of Soil Res*7: 171-183.

تاثیر قارچ میکوریزای آربوسکولار بر میزان فسفاتاز، پرولین و برخی ضداکسنده های آنزیمی روی پایه لیمو (Citrus aurantifolia) تحت شرایط تنش خشکی

حسن حقیقت نیا [1] و امیر رضا توکلی[1]
[1]اعضای هیات علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی فارس (داراب)
hasanhaghighatnia@yahoo.com

مقدمه

محدودیت منابع آب و استخراج بی رویه آب های زیرزمینی در طی چند دهه گذشته، لزوم توجه بیشتر به کاهش مصرف با روش های نوین را جدی تر ساخته است. با توجه به بالا بودن سطح زیر کشت مرکبات در داراب (حدود ۱۵۰۰۰ هکتار) که عمدتاً نیز روی پایه لیمو و نارنج است و نیز وابستگی اقتصاد باغداران منطقه به مرکبات، ایده استفاده از قارچ های میکوریزی در جهت کمک به کاهش مصرف آب و نیز بهبود تغذیه گیاه بواسطه تغییرات بیوشیمیایی در گیاه ایده ای نو و کارساز خواهد بود. زیرا اغلب گیاهان آوندی و بخصوص مرکبات ارتباط همزیستی مناسب و مفیدی با این قارچ ها برقرار نموده که فواید زیادی را برای گیاه بهمراه خواهد داشت. خشکی یکی از مهم ترین تنش های محیطی است که منجر به تولید فراورده‌های زیان آوری شده که سبب به هم خوردن تعادل در تشکیل گونه های واکنش پذیر اکسیژن نظیر رادیکال سوپراکسید ($O_2^{\circ -}$) و پروکسید هیدروژن (H_2O_2) می‌گردد (آرورا و همکاران، ۲۰۰۲). پورسل و رویز- لوزانو (۲۰۰۴) گزارش کردند که تحت شرایط تنش خشکی تلقیح گیاه سویا با قارچ میکوریزا سبب تجمع بیشتر پرولین نسبت به گیاهان تلقیح نشده گردید. در حالیکه وو و ضیا (۲۰۰۶a) اعلام کردند که تحت شرایط تنش خشکی مقدار پرولین در نهال های میکوریزایی مرکبات (*Citrus tanjerin*) نسبت به نهال های غیر میکوریزایی پایین تر بود. وو و همکاران (۲۰۰۷) اعلام نمودند نهال های مرکبات، تحت شرایط وجود آب کافی و نیز تحت شرایط تنش خشکی بواسطه همزیستی میکوریزایی، سطوح قند های قابل حل و کربوهیدرات های غیر ساختمانی را در برگ-های این گیاهان افزایش دادند. از طرفی سونگ (۲۰۰۵) اظهار نمود که تجمع کمتر قندهای قابل حل در گیاهان میکوریزایی نشان می دهد که این گیاهان بطور موفق تری از خشکی اجتناب کرده و نیاز کمتری به تنظیم اسمزی در سیمپلاسم ها و یا آنزیم های محافظ اسمزی داشته و در کل خسارت کمتری نشان می دهند. طی تحقیقی پیشنهاد کردید که همزیستی میکوریزایی می تواند در تنظیم اسمزی، افزایش سیستم دفاعی و تخفیف خسارت اکسیداتیو حیات سلول موثر بوده و لذا سبب افزایش مقاومت به تنش خشکی در گیاه گردد (خلف اله و ابوقالیا، ۲۰۰۸). لذا با توجه به نقش قارچ های میکوریزی این پژوهش با هدف بررسی تاثیر این قارچ ها بر کاهش تنش خشکی از طریق تاثیر بر برخی فعالیت های بیوشیمیایی مرکبات طراحی و اجراء گردید.

مواد و روش ها

به منظور بررسی تاثیر قارچ های میکوریزی بر برخی فعالیت های بیوشیمیایی مرکبات تحت شرایط تنش خشکی یک آزمایش گلخانه‌ای به مدت ۱۷۰ روز و در قالب طرح کاملا تصادفی بصورت فاکتوریل و با چهار تکرار، در ایستگاه تحقیقاتی بختاجرد داراب در سال ۸۹-۱۳۸۸ انجام گردید. مشاهدات آزمایش عبارت از ارزیابی

اثرات تلقیح ریشه‌های پایه مرکبات لیمو (*Citrus aurantifolia*) با دو گونه قارچ میکوریز آربسکولار(M_m=*Glomus mosseae* و M_i=*Glomus intraradices*) همراه با یک تیمار شاهد (M_0)، تحت سه سطح مختلف تنش خشکی (بدون تنش D_0= ، تنش ملایم D_1= و تنش شدید D_2=)، بر مقدار پرولین، فعالیت برخی آنزیم ها (فسفاتاز، کاتالاز، پروکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز) و قندهای قابل حل در برگ گیاه بود. تیمارهای تنش بصورت درصدهایی از رطوبت قابل استفاده گیاه بر اساس ضریب مدیریت تخلیه مجاز (۰/۴۰، ۰/۵۵ و ۰/۷۰) بود که بترتیب بعنوان تیمارهای بدون تنش، تنش ملایم و تنش شدید در نظر گرفته شدند. .به منظور اجرای آزمایش ابتدا مقداری از خاک مورد نظر، جهت استریل کامل، به مدت دو ساعت درون اتوکلاو تحت دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد قرار داده شد. سپس بذور تهیه شده از باغ مادری واقع در ایستگاه تحقیقات حسن آباد داراب در لیوان‌های پلاستیکی پر شده با ۳۰۰ گرم خاک استریل به تعداد سه عدد کاشته شد. پس از جوانه‌زنی یک دانهال سالم نگه داشته و بقیه حذف گردیدند. مراقبت های لازم بصورت یکسان برای همگی به مدت ۹۰ روز صورت گرفت. سپس دانهال هایی که از لحاظ ظاهری کاملا یکسان بودند را انتخاب و به گلدان های حاوی ۴/۵ کیلوگرم خاک انتقال و بطور همزمان عمل تلقیح با دو گونه قارچ، مطابق با تیمارها صورت گرفت. نحوه اعمال تیمارهای تنش با روش وزنی و بر اساس ضرایب مدیریتی فوق صورت گرفت. در پایان پس از برداشت گیاه در آزمایشگاه موارد فوق الذکر اندازه گیری و پس از انجام تجزیه های آماری، مقایسه میانگین ها با آزمون دانکن انجام گردید.

نتایج و بحث

نتایج نشان داد که اعمال تنش خشکی غلظت قندهای محلول و فعالیت آنزیم فسفاتاز در برگ را بطور معنی داری کاهش و میزان پرولین، فعالیت ضد اکساینده های آنزیمی شامل کاتالاز، پروکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در برگ گیاه را بطور معنی داری افزایش داد (جدول ۱). تلقیح ریشه گیاه با هر دو گونه قارچ میکوریزا نسبت به عدم تلقیح بر همه ویژگی های اندازه‌گیری شده در برگ تاثیر معنی داری داشت ($P<0.01$) بطوری که سبب افزایش میزان آنزیم فسفاتاز و قندهای قابل حل مانند گلوکز و فروکتوز در برگ گیاه شد و بطور معکوسی فعالیت آنزیم های کاتالاز، پروکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز و نیز میزان پرولین در برگ را تحت تاثیر قرار داد. البته تاثیر تیمار M_m بر میزان پروکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز معنی دار نبود. بیشترین میزان گلوکز، فروکتوز و فسفاتاز مربوط به تیمار $M_i \times D_0$ بود. در تیمار تنش خشکی شدید، بیشترین میزان گلوکز، فروکتوز و فسفاتاز مربوط به تیماری بود که با قارچ *Glomus intraradices* تلقیح گردیده بود. از سوی دیگر تحت هر دو تنش ملایم و شدید، قارچ های استفاده شده در این آزمایش تاثیر معنی داری بر کاهش میزان پرولین، کاتالاز، پروکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز داشتند. تحت تنش خشکی ملایم بیشترین میزان گلوکز و فسفاتاز مربوط به تیمار تلقیح با *Glomus intraradices* بود (جدول ۱).

جدول ۱- مقایسه میانگین اثرات اصلی تیمارهای آزمایشی و برهمکنش‌های آنها بر برخی صفات زیست شیمیایی در برگ لیمو

تیمار	گلوکز	فروکتوز	فسفاتاز	پرولین	کاتالاز	پروکسیداز	سوپراکسید دیسموتاز
	میکرو مول بر گرم وزن خشک		میکروواحد بر میلی گرم پروتئین		واحد بر میلی گرم پروتئین		
تلقیح با قارچ میکوریزا							
M_0	۱۸/۱۶ c	۶/۹۱ b	۲۲/۵۵ c	۷۳/۹۸ a	۱۱۶/۳ a	۴۱/۴ a	۱۷۸۹ a
M_m	۲۰/۲۱ b	۸/۴۳ a	۲۷/۳۸ b	۶۹/۳۱ b	۱۰۷/۷ b	۴۰/۹ a	۱۷۳۴ a
M_i	۳۰/۱۲ a	۸/۷۲ a	۳۶/۷۵ a	۵۲/۹۷c	۷۹/۴c	۲۷/۴b	۱۲۱۶b
سطوح تنش خشکی							
D_0	۲۹/۲۸ a	۹/۸۶ a	۳۸/۰۵ a	۵۵/۰۱ c	۷۲/۸۸ c	۲۸/۳۱ c	۱۱۸۲ c
D_1	۲۴/۸۷ b	۸/۷۳ b	۳۲/۷۲ b	۶۱/۱۰ b	۸۶/۵۱ b	۳۱/۶۵ b	۱۴۲۳ b
D_2	۱۴/۳۵c	۵/۴۸c	۱۵/۹۰c	۸۰/۱۶ a	۱۴۴/۰۰ a	۴۹/۷۶ a	۲۱۳۴ a
برهمکنش تنش خشکی در تلقیح با قارچ میکوریزا							
$M_0 \times D_0$	۲۵/۶۱ c	۹/۳۴ a	۳۳/۶۵ bc	۶۱/۲۷ b	۷۶/۹ c	۳۱/۱ c	۱۳۱۲ e
$M_0 \times D_1$	۱۷/۰۵ e	۶/۵۳ b	۲۰/۷۵d	۷۸/۳۸ a	۱۱۲/۵ b	۳۸/۱ b	۱۸۲۳ c
$M_0 \times D_2$	۱۱/۸۴ f	۴/۸۷ c	۱۳/۲۵ e	۸۲/۳۰ a	۱۵۹/۶ a	۵۵/۱ a	۲۲۳۳ b
$M_m \times D_0$	۲۴/۲۷ cd	۱۰/۱۶ a	۳۵/۵۵ b	۶۳/۸۲ b	۸۰/۵ c	۳۲/۱ c	۱۳۱۰ e
$M_m \times D_1$	۲۳/۷۱ d	۹/۹۳ a	۳۲/۹۲ c	۶۴/۷۲ b	۸۳/۶ c	۳۴/۶ bc	۱۴۹۸ d
$M_m \times D_2$	۱۲/۶۴ f	۵/۲۱ c	۱۳/۶۵ e	۷۹/۳۸ a	۱۵۹/۱ a	۵۶/۰ a	۲۳۹۳ a
$M_i \times D_0$	۳۷/۹۲ a	۱۰/۰۹ a	۴۴/۹۵ a	۳۹/۹۲ c	۶۱/۳ d	۲۱/۷ d	۹۲۴ f
$M_i \times D_1$	۳۳/۸۵ b	۹/۷۲ a	۴۴/۵۰ a	۴۰/۲۰ c	۶۳/۴ d	۲۲/۳ d	۹۴۸ f
$M_i \times D_2$	۱۸/۵۸ e	۶/۳۶ b	۲۰/۸۰ d	۷۸/۸۰ a	۱۱۳/۴ b	۳۸/۲ b	۱۷۷۶ c

در هر ستون تیمارهایی که حد اقل در یک حرف مشترکند از لحاظ آماری اختلاف معنی داری با یکدیگر ندارند

همانطور که از نتایج بر می آید بطور کلی تحت شرایط تنش خشکی استفاده از قارچ های میکوریزی دو گونه فوق الذکر سبب کاهش میزان پرولین و ضد اکساینده های آنزیمی در برگ پایه لیمو گردیده است. از آنجایی که این قارچ ها سبب افزایش رشد گیاه گردیده اند (داده ها آورده نشده) لذا می توان نتیجه گیری نمود که تحت شرایط تنش خشکی استفاده از قارچ های میکوریزی نیاز گیاه به تولید پرولین و ضد اکساینده های آنزیمی را کاهش داده و بدین سبب، رشد افزایش یافته است. لذا کاهش خسارت اکسیداتیو در سلول های گیاهی سبب افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش خشکی شده است.

منابع

Arora DK, Rai B, Mukerji KG and Knudsen GR (eds.). 1991. Handbook of applied mycology. Volum 1: Soil and Plant. Marcel Dekker, INC. New York. p. 256.

Khalafallah AA, and Abo-Ghalia HH. 2008. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on the metabolic products and activity of antioxidant system in wheat subjected to short-term water stress, followed by recovery at different growth stages. J. Applied Sci. Res., 4(5):559-569.

Porcel R, and Ruiz-Lozano JM. 2004. Arbuscular mycorrhizal influence on leaf water potential, solute accumulation and oxidative stress in soybean plant subjected to drought stress. J. Ex. Botany, 55: 1743-1750.

Song H. 2005. Effects of VAM on host plant in the condition of drought stress and its mechanisms. Electronic J. Biol., 1(3):44-48.

Wu QS, and Xia RX. 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of citrus under well-watered and water stress conditions. J. Plant Physiol., 163(4):417-425.

Wu QS, Zou YN, Xia RX, and Wang MY. 2007. Five Glomus species affect water relations of citrus tanjerine during drought stress. Botanical Studies, 48:147-154.

بررسی واکنش جمعیت کرم های خاکی به تغییرات کشت و ناپایداری خاک

مجتبی یحیی آبادی[۱]-الهام کریمی راد[۲]-احمد موسوی[۳]
۱ و ۳- دانشجو و عضو هیات علمی و محقق مرکز تحقیقات کشاورزی اصفهان ۲- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی

مقدمه

تقریباً تمام فعالیتهای انجام شده در خاکهای کشاورزی، تأثیر مثبت یا منفی خود را بر جامعه‌ی کرم های خاکی خواهند گذاشت. این تأثیرات در درجه‌ی اول ناشی از تغییر در دمای خاک، رطوبت خاک، کیفیت و کمیت مواد آلی موجود در خاک می‌باشد. مدیریتهایی مانند شخم خاک، سیستمهای تک کشت، کودهای شیمیایی و کاهش بقایای آلی خاک، از عوامل کاهش دهنده فراوانی و تنوع کرم های خاکی محسوب میشوند؛ در حالیکه مدیریتهای بدون شخم، افزودن بقایا و کودهای آلی، تناوب زراعی و سیستمهای چند کشت، از عوامل افزایش فراوانی و تنوع جامعه‌ی کرم های خاکی محسوب میشوند (Hendrix و همکاران ۲۰۰۴). تعیین پارامترهای اندازه و فعالیت موجودات خاک مثل فراوانی و تنوع ترکیب اکولوژیکی کرم های خاکی، دارای پتانسیل قابل توجهی به عنوان شاخص اولیه از تخریب یا بهبود خاک میباشد (یحیی‌آبادی ۱۳۸۹). معمولاً جمعیت کرم های خاکی در زمینهای زراعی کمتر از خاکهای دست‌نخورده است و این به دلیل بهم خوردگی خاک و آسیب دیدن کرم ها و یا کاهش منبع غذایی آنها میباشد(Fraser ۱۹۹۶). میزان کاهش جمعیت بستگی به نوع و تناوب زراعت مورد نظر دارد. کاهش جمعیت کرم ها تا ۵۰ درصد نیز در تعدادی از مطالعات مربوط به شخم و کاشت رایج در زراعت غلات(Curry و همکاران ۱۹۹۵) و سیب‌زمینی (Buckerfield ۱۹۹۷) گزارش شده است. با این حال در بسیاری موارد، اثر زراعت بر جمعیت کرم های خاکی، زودگذر و ناپایدار بوده و پس از ۶ تا ۱۲ ماه با تأمین غذای کافی، اندازه جمعیت ترمیم میشود. تولید انبوه سیب‌زمینی نیز مستلزم چند مرحله عملیات خاک‌ورزی شدید است که آثار خود را بر موجودات خاک خواهد گذاشت. در این مقاله اثر کشت‌های متوالی با مدیریتهای مختلف بر جمعیت کرم های خاکی، مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روشها

محل انجام آزمایش مزارع کشاورزی شهرستان دهاقان واقع در ۹۶ کیلومتری جنوب غربی اصفهان با موقعیت ۵۱ درجه و ۳۹ دقیقه طول جغرافیایی و ۳۱ درجه و ۵۶ دقیقه عرض جغرافیایی بوده است. خاک منطقه سیلتی لوم و با pH معادل ۷/۸ و کربن آلی ۱/۱ درصد میباشد. مزرعه مورد نظر به مدت ۳ سال به زیر کشت شبدر رفته بود. پس از برداشت در سال ۱۳۸۸، زمین برای کاشت سیب زمینی در بهار ۱۳۸۹ شخم زده شد. کود مرکب NPK به زمین داده شد و از قارچ‌کش نیز برای کاشت غده های سیب زمینی استفاده گردید و عملیات معمول داشت نیز به انجام رسید و در پاییز ۱۳۸۹ محصول سیب‌زمینی برداشت شد. پس از آن، زمین از بقایای محصول پاک شد و عملیات شخم و آماده سازی زمین برای کاشت جو به انجام رسید. در پاییز ۱۳۹۰ اقدام به کشت جو شد و در بهار ۱۳۹۱ اقدام به برداشت محصول گردید. مجدداً در اواخر بهار سال۱۳۹۱ عملیات شخم و کلوخ

شکنی و تسطیح انجام و جو بهاره کاشته شد. نمونه‌برداری از جمعیت کرم های خاکی بالغ (دارای کمربند جنسی) در ماه‌های فروردین، اردیبهشت، خرداد، مهر و آبان در سالهای فوق انجام شد. از هر مزرعه نمونه‌هایی با ابعاد ۲۵×۲۵×۲۵ سانتیمتری از خاک گرفته و کرم ها به روش دستی جدا سازی، شمارش و وزن شدند؛ و برای شناسایی نمونه‌های بالغ در فرمالین ۴ درصد نگهداری شدند. شناسایی کرم های خاکی مورد استفاده در این آزمایش با استفاده از خصوصیات مورفولوژیک و بیولوژیک آنها و همچنین بکارگیری کلید طبقه‌بندی (Edwards and Bohlen ۱۹۹۶) انجام پذیرفت.

نتایج و بحث

جدول ۱، فراوانی گونه‌های مختلف کرم های خاکی را در کشت‌های مختلف نشان میدهد. نتایج حاکی از کاهش جمعیت کل کرم ها پس از کاشت سیب‌زمینی (از ۲۲۵ به ۱۶۵) و بعد از آن در مزرعه‌ی جو (۶۵) می‌باشند؛ همچنین کاهش تنوع گونه‌ای از شش گونه در شبدر به پنج گونه در سیب‌زمینی و چهار گونه در جو سال ۱۳۹۰ و دو گونه در جو سال ۱۳۹۱، به چشم می‌خورد. گونه‌ی *Aporrectodea longa* از کرم های گروه آنسیک، و همچنین گونه *A. rosea* کمترین مقاومت را در برابر تغییرات شدید خاک نشان دادند؛ اما گونه‌ی *Allolobophora chlorotica* از کرم های گروه اندوجییک، مقاومت بیشتری از خود نشان داده‌اند. فراوانی جمعیت کرم ها در مزرعه شبدر را میتوان به فراهمی غذا و ثابت بودن شرایط خاک به عنوان محل زندگی و تکثیر کرم ها برای حداقل سه سال متوالی ارتباط داد (Edwards ,Lofty۱۹۸۲).

جدول۱-میانگین جمعیت کرم های خاکی بالغ و تنوع گونه‌ای آنها در نمونه‌های خاک (متر مربع)

	شبدر-۱۳۸۸	سیب زمینی- ۱۳۸۹	جو-۱۳۹۰	جو-۱۳۹۱
Allolobophora chlorotica	۴۸/۴	۳۵/۳	-	-
Aporrectodea caliginosa	۴۷/۵	۲۷/۹	۲۰/۷	-
A. longa	۲۰/۳	۶/۱	۲/۵	-
A. rosea	۱۸/۲	-	-	-
Lumbricus terrestris	۳۲/۸	۱۵/۴	۹/۸	۳/۶
L. castaneus	۱۴/۲	۶/۶	۵/۳	-
سایر گونه‌ها	۴۷/۶	۳۳/۴	۲۷/۰	۳/۴
جمعیت کل در متر مربع	۲۲۵	۱۶۵	۶۵	۷
تعداد گونه‌ها	۶	۵	۴	۲

عملیات شخم و بهم خوردگی شدید خاک برای آماده کردن زمین جهت کاشت سیب‌زمینی و مصرف کودهای شیمیایی و سموم قارچ‌کش، باعث کاهش جمعیت کرم ها شده‌اند. منابع علمی نشان میدهند که برخی قارچ‌کشها مانند بنومیل به عنوان ماده سمی برای کرم های خاکی شناخته شده‌اند (Stringer ۱۹۷۶). در نهایت، کاهش

شدید جمعیت کرم ها در مزرعه جو، در مدت دو سال متوالی و عدم توانایی آنها در بازیابی جمعیت، به عنوان زنگ هشدار برای کاهش توانایی خاک در بازیابی شرایط و تأمین منبع غذایی برای موجودات خاک و در نهایت کاهش پایداری، محسوب میشود همچنین حساسیتهای متفاوت گونه‌های مختلف کرم های خاکی در مقابل عملیات کشاورزی، می‌تواند اساس کار نشانگرهای زیستی محسوب شوند.

منابع

یحیی آبادی، مجتبی. ۱۳۸۹. ارزیابی کیفیت خاک برای محیط زیست. چهارمین همایش مهندسی محیط زیست، دانشگاه تهران.

Buckerfield J.C. 1997. Earthworm populations recover after potato cropping, Soil Biol. Biochem. 29, 609-612.

Curry J.P. Byrne D and Boyle K.E. 1995. The Earthworm population of a winter cereal field and its effects on soil and nitrogen turnover, Biol. Fertil. Soils. 19, 166-172.

Edwards C.A. and J. P. Bohlen. 1996. Biology and Ecology of earthworms 3th ed. Chapman and Hall, London.

Edwards C.A. and Lofty J.R. 1982. The effect of direct drilling and minimal cultivation on earthworm populations. J. Appl. Ecol. 19, 723-734.

Fraser P.M. 1996. Earthworms species, population size and biomass under different cropping systems across the Canterbury plains, New Zealand, Appl.Soil. Ecol.3, 49-57

Hendrix P.F. and Edwards C.A. 2004. Earthworms in Agroecosystems: Research approach, in Earthworms ecology, New York. 287-295.

Stringer A. and Wright M.A. 1976. The toxicity of benomyl and some related 2-substituted benzimidazoles to the earthworm *Lumbricus terrestris*, Pestic Sci. 7, 459-464.

تاثیر ۳ و۴ دی متیل پیرازول فسفات بر کاهش فرآیند نیترات‌زایی در دو خاک شنی و رسی

مهدیه مدرسی سریزدی[۱]، امیر لکزیان[۲]، امیر فتوت[۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۲- استاد، عضو هیئت علمی گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۳- دانشیار، عضو هیئت علمی گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

مقدمه

رشد سریع جمعیت و نیاز روز افزون به مواد غذایی منجر به استفاده اجباری از کودهای شیمیایی برای افزایش محصولات کشاورزی شده است. کودهای شیمیایی حاوی نیتروژن تاثیر معنی‌داری در تولید غذا در جهان داشته و یکی از اجزاء مهم در کشاورزی نوین محسوب می‌شوند. اضافه کردن کودهای حاوی نیتروژن افزایش عملکرد اغلب گیاهان را در پی دارد (سکستون و همکاران، ۱۹۹۶). روشهای کشاورزی متداول در جهان امروز، با اتکا بیش از حد به نهاده‌هایی نظیر کودها و سموم شیمیایی باعث ایجاد سیستم‌های زراعی ناپایدار شده‌اند (روبرتز و همکاران، ۲۰۰۸). اما به دلایل متعدد از جمله عدم ترویج صحیح تغذیه گیاه، نحوه نامناسب مصرف کودهای نیتروژنه سبب شده است تا بازده مصرف این کودها بسیار پایین باشد (فرهمند و همکاران، ۲۰۰۶). نیترات‌زایی یکی از فرآیندهای مهم در چرخه نیتروژن است، در این فرآیند تبدیل آمونیوم به نیترات طی دو مرحله انجام می‌شود، در مرحله‌ی اول آمونیوم به نیتریت و در مرحله دوم نیتریت به نیترات تبدیل می‌شود (بشارتی و همکاران، ۱۳۸۵). فرآیند نیترات‌زایی منبع اصلی مشکلات زیست محیطی مربوط به نیترات است. گزارش شده است تا دو سوم نیتروژن معدنی مصرف شده در سیستم های کشاورزی از طریق آبشویی، تصعید، روانآب و فرسایش از بین می‌رود (بیسواس و همکاران، ۲۰۰۸).جلوگیری از اکسید شدن آمونیوم به نیترات می‌تواند اثرات سوء وجود نیترات و مواد حد واسطی را که طی تغییر و تبدیل آمونیوم به نیترات در خاک به وجود می‌آیند را کاهش داده و راندمان استفاده از کودهای حاوی نیتروژن را به طور چشم‌گیری افزایش دهد (سوری و همکاران، ۱۳۸۹). راهکارهای مختلفی برای افزایش کارآیی مصرف کودهای حاوی نیتروژن در بخش کشاورزی پیشنهاد شده است. استفاده از بازدارنده‌های نیترات‌زایی یکی از راه‌های افزایش کارآیی مصرف این کودها است (لدها و همکاران، ۲۰۰۵؛ فانگریو و همکاران، ۲۰۰۹). بازدارنده‌های متفاوتی برای کاهش فرآیند نیترات‌زایی و افزایش کارایی مصرف کودهای شیمیایی حاوی نیتروژن در خاک وجود دارد. یکی از مهمترین بازدارنده‌ها، ۳ و۴ دی متیل پیرازول فسفات (DMPP) با فرمول شیمیایی ($C_5H_8N_2H_3O_4$) است. این بازدارنده ازجمله کارآمدترین بازدارنده‌های نیترات‌زایی در خاک است (ایروگن و همکاران، ۲۰۰۳). ماندگاری بالای بازدارنده DMPP از جمله مزایای کاربرد آن در مقایسه با سایر بازدارنده‌ها است.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی تاثیر ۳ و۴ دی متیل پیرازول فسفات بر فرآیند نیترات‌زایی، آزمایشی در قالب طرح کاملا تصادفی با آرایش فاکتوریل انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل: سه سطح DMPP، صفر (D.)، ۰/۴ درصد (D./۴) و ۰/۸

درصد ($D_{.۱۸}$)،۰فاکتور دوم، بافت خاک شامل: (شنی و رسی) و فاکتور سوم، زمان شامل: صفر ($T_{.}$)، ۱۵ ($T_{۱۵}$)، ۳۰ ($T_{۳۰}$)، ۴۵ ($T_{۴۵}$)، ۶۰ ($T_{۶۰}$) و ۷۵ ($T_{۷۵}$) روز بودند. نمونه‌های خاک از عمق شخم تهیه و بعد از هوا خشک از الک ۲ میلیمتری عبور داده شدند، سپس خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک اندازه‌گیری شد (جدول شماره ۱).

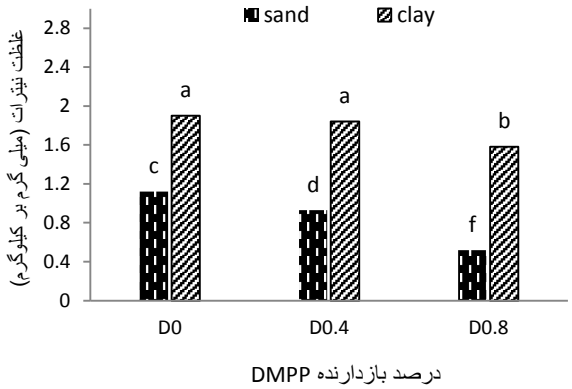
جدول شماره۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاکهای مورد استفاده در آزمایش

	pH	EC ($dS.m^{-1}$)	NH_4^+	NO_3^-	P	%OC	٪ بافت خاک		
			mg Kg^{-1}				Clay	Silt	Sand
خاک شنی	۷/۶۲	۱/۳۷	۳/۶۵	۰/۰۶	۷/۴	۰/۱۴۶	۱۶	۳۲	۵۲
خاک رسی	۷/۶	۱/۸	۳/۱۸	۰/۸۱	۳/۶	۰/۷۵	۲۲	۴۶	۳۲

در این آزمایش، نمونه‌های خاک مورد بررسی به مدت ۷۵ روز در ظروف درب سوراخ‌دار، در رطوبت ظرفیت ازراعی و دمای ۲۵ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. هر ۱۵ روز از خاک نمونه‌برداری انجام شد و میزان نیترات و آمونیوم پس از عصاره‌گیری با محلول ۰/۰۱ نرمال پتاسیم سولفات (K_2SO_4) و ۲ نرمال پتاسیم کلراید (KCL) اندازه‌گیری شد. غلظت نیترات و آمونیوم به روش رنگ‌سنجی به ترتیب در طول موج ۴۱۰ و ۶۳۶ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. در نهایت نتایج حاصل از آزمایش با استفاده از نرم افزار MSTAT-C آنالیز و میانگین دادها با استفاده از آزمون چند دامنه ایی دانکن در سطح ($P<0.05$) مقایسه شدند.

نتایج و بحث

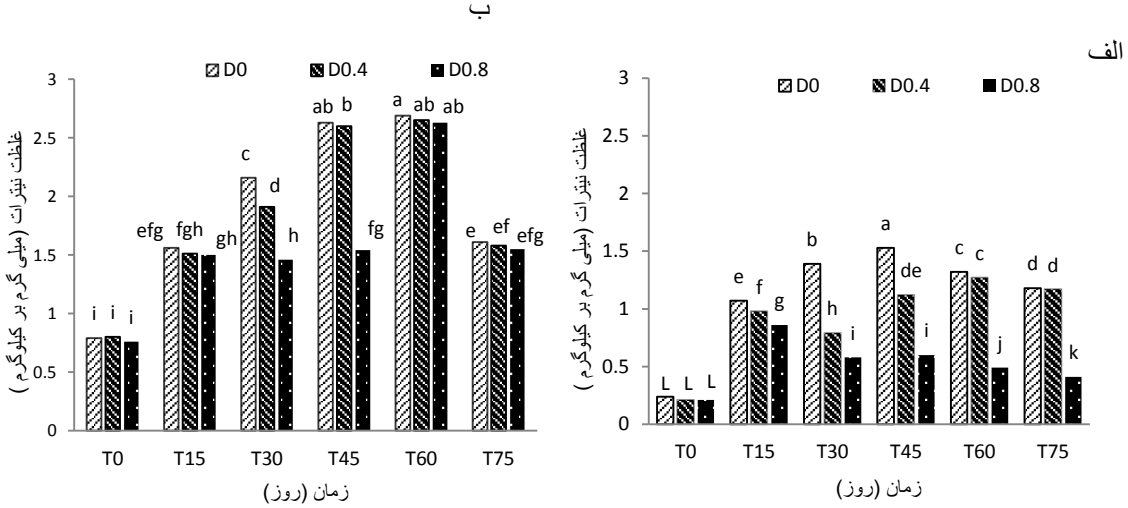
نتایج پژوهش نشان داد، کاربرد بازدارنده DMPP به همراه کودهای شیمیایی حاوی نیتروژن، منجر به کاهش غلظت نیترات و افزایش آمونیوم در هر دو خاک شنی و رسی شد. کاهش میزان نیترات خاک در تیمارهای حاوی DMPP در تحقیقات انجام شده توسط زرولا و همکاران، ۲۰۰۱ و کوئی نونس و همکاران، ۲۰۰۹ مشاهده شده است. تاثیرکاربرد مقادیر مختلف بازدارنده DMPP، به همراه کودهای شیمیایی حاوی نیتروژن در کاهش فرآیند نیترات‌زایی بسته به بافت خاک متفاوت است. به گونه‌ایی که افزودن ۰/۴ درصد بازدارنده DMPP در خاک شنی منجر به کاهش معنی‌دار غلظت نیترات شد ولی این غلظت در خاک رسی کاهش معنی‌داری در غلظت نیترات خاک ایجاد نکرد. البته با افزایش درصد بازدارنده در غلظت ۰/۸ درصد DMPP کاهش فرآیند نیترات‌زایی بیشتر شده و در خاک‌های رسی نیز کاهش معنی‌دار غلظت نیترات مشاهده شد (نمودار شماره ۱). نتایج بدست آمده با نتایج کاپومبلوگ و کیلورن، (۱۹۹۶) مبنی بر تاثیر خصوصیات خاک، دمای خاک و رطوبت خاک در مدت زمان و میزان فعالیت بازدارنده‌های نیترات‌زایی و همچنین در آزمایشات چن و همکاران، (۲۰۰۸) در افزایش کارایی بازدارنده نیترات‌زایی در خاک‌های شنی، مطابقت دارد.



نمودار شماره ۱- مقایسه تاثیر غلظت DMPP بر مقدار نیترات دو خاک شنی و رسی

مدت زمان تاثیر DMPP بر فرآیند نیترات‌زایی در خاک‌های رسی و شنی متفاوت بود. در این آزمایش، کاربرد ۰/۸ درصد DMPP (۱/۴۵ کیلوگرم در هکتار) در خاک شنی در فاصله زمانی ۱۵ تا ۷۵ روز (نمودار شماره ۲- الف) و در خاک رسی در فاصله زمانی ۳۰ تا ۴۵ روز (نمودار شماره ۲- ب) سبب کاهش نیترات شد. زمانیکه مقدار ۰/۴ درصد DMPP (۰/۷ کیلوگرم در هکتار) استفاده شد، مدت زمان تاثیر بازدارنده در هر دو خاک شنی و رسی کاهش یافت. نتایج بدست آمده با نتایج پاسدا و همکاران، (۲۰۰۱) مبنی بر کاهش فرآیند نیترات‌زایی در تیمارهای حاوی ۱/۵-۰/۵ کیلوگرم در هکتار DMPP مطابقت داشت.

نیترات به علت دارا بودن بار منفی جذب کلوئیدهای خاک نمی‌شود، در صورت وجود مقادیر بیشتر از نیاز گیاه می‌تواند به زیر منطقه ریشه منتقل و در نهایت به آب‌های زیرزمینی وارد شود (استریبل و همکاران، ۱۹۹۵). در این آزمایش مشاهده شد، با کاربرد ۰/۸ درصد DMPP می‌توان مانع از انجام سریع فرآیند نیترات‌زایی شد و به دنبال آن از آبشویی نیترات و بروز آلودگی‌های زیست محیطی ناشی از آبشویی نیترات در خاک‌های شنی جلوگیری کرد، که از لحاظ اقتصادی و زیست محیطی بسیار حائز اهمیت است.



نمودار شماره ۲- تاثیر بازدارنده **DMPP** بر غلظت نیترات خاک شنی (الف) و خاک رسی (ب): سولفات آمونیوم بدون **DMPP** (D_0)- سولفات آمونیوم به همراه ۰/۴ درصد **DMPP** ($D_{0.4}$) - سولفات آمونیوم به همراه ۰/۸ درصد **DMPP**، ($D_{0.8}$)

منابع

بشارتی، ح. فلاح، ع. خسروی، ه. (۱۳۸۵) میکروبیولوژی خاک (چاپ اول) ، نشرآییژ.

سوری، م.ک؛ عرب، م؛ نیومن، گ. (۱۳۸۹). بررسی ممانعت از نیتریفیکاسیون توسط ترشحات ریشه‌ای و مواد گیاهی گراس (Brachiaria humidicola) دانشگاه تربیت مدرس تهران.

Biswas, B., Singh, R., and Mukhopadhyay, A.S.N. 2008. Use of nitrogen-fixing bacteria as biofertilizer for non-legumes: prospects and challenges. Appl. Microb. Biotechnol.

Chen D., Suter H.C., Islam A., Edis R., and Freney J.R. 2008. Prospects of improving efficiency of fertilizer nitrogen in Australian agriculture; a review of enhanced efficiency fertilizers. Australian Journal of Soil Research, 46:289-301.

Farahmand, A.R., Fardad, H., Liaghat, A., and Khashi, A. 2006. The effect of water and nitrogen amounts on quantity and quality of tomato under deficit irrigation. Iranian J. Agri. Sci. 37:273-279.

Fangueieo, D., A. Fernandes, J. Coutinho, N. Moreia, and H. Trindade. 2009. Influence of two nitrification inhibitors (DCD and DMPP) on annual yield and soil mineral N dynamics after incorporation with cattle slurry. Communications in soil science and Plant Analysis 40:3387-3398.

Irigoyen I, Muro J, Azpilikueta M, Aparicio-Tejo P, Lamsfus C, 2003. Ammonium oxidations kinetics in the presence of nitrification inhibitors DCD and DMPP at various temperatures. Aust J Soil Res, 41(6): 1177–1183.

Kpomblekou-A, K. and Killorn, R. 1996. Nitrification of ammonium nitrogen in soils treated with XDE-474. Soil Sci. Soc. Am. J. 60: 1 482–1 489.

Ladha J.K., H.Pathak, T.J. Krupnik, J. Six, and C.V. Kessel. 2005. Efficiency of fertilizer nitrogen in cereal production:retrospects and prospects . Advance in Agronomy 87:85-156.

Pasda, G., R. Hahndel, and W. Zerulla. 2001. Effect of ferrtilizers with the new nitrification inhibitor DMPP (3,4-dimethylpyrazole phosphate) on yield and quality of agricultural and horticultural crops. Biology and fertility of soils 34:85-97.

Quinones A., Martinez-Alcantara B., Chi-Bacab U., and Legaz F. 2009. Improvement of N fertilization by using the nitrification inhibitor DMPP in drip-irrigated citrus trees. Spanish Journal of Agricultural Research, 7:190-199.

Roberts, T. L. 2008. Improving nutrient use efficiency. Turkish Journal of Agriculture. 32: 177-182.

Sexton, B.T., Moncrief, J.,F. Rosen, V.J., Gupta, S.C., and Cheng, H.H 1996. Optimizing nitrogen and irrigation inputs for corn based on nitrat leaching and yeild on a coarse-textured soil. J. Environ. Qual. 25:982-992.

Strebel, O. Duynisveld, W.H.M. and Bottcher, J. 1989. Nitrate pollution of ground water In Western Europe. Agriculture, Ecosystems and Environment. 26, P. 189–214.

Zerulla,W., T. Barth, J. Dressel, K. Erhardt, K. Horchler Von Locquenghien, G. Pasda,M. Radle,and A.H. Wissemeier. 2001.3,4-dimethylpyrazole phosphate (DMPP) a new nitrification inhibitor for agriculture and horticulture: an introduction. Biology and Fertility of soils 34:79-84.

بررسی اثر تلقیح گیاه لوبیا با قارچ *Piriformosporaindica* و باکتری ریزوبیوم بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (کاتالاز و پراکسیداز) در شرایط تنش خشکی

آرمان پوررئیسی[1]، مژگان سپهری[2] و علی صادقی[1]
۱- دانشجویان کارشناسی ارشد گروه علوم خاک دانشگاه صنعتی اصفهان
۲- استادیار گروه علوم خاک دانشگاه صنعتی اصفهان

مقدمه

رشد فزاینده جمعیت و کمبود غذا در جهان باعث شده است که در سال‌های اخیر به پتانسیل زراعی اراضی موجود در نواحی خشک و نیمه خشک توجه بیشتری مبذول گردد. تولید گیاهان تراریخته مقاوم به تنش‌های محیطی از طریق مهندسی ژنتیک و با استفاده از DNA نوترکیب، یکی از راهکارهای صورت گرفته جهت افزایش توان تحمل گیاهان و نیز سازگاری آنها به محیطی نامطلوب است که مستلزم صرف وقت و هزینه زیاد می‌باشد. لذا کاربرد روش‌های بیولوژیک مانند استفاده از میکروارگانیسم‌های مفید و دارای توان برقراری همزیستی با گیاهان مانند باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه و قارچ‌های اندوفایت جهت افزایش تحمل گیاهان به تنش‌های محیطی، محققان را در نیل به کشاورزی پایدار امیدوارتر نموده است. قارچ *P.indica* از قارچ‌های اندوفایت است که در سال ۱۹۹۸ توسط وارما و همکاران (Varma et al., 1998) از صحرای تار ایالت راجستان کشور هندوستان جداسازی شد. اهمیت برقراری ارتباط همزیستی قارچ *P.indica* با گیاهان مختلف در تحریک رشد و در نتیجه افزایش عملکرد آن و نیز افزایش توان تحمل گیاه به تنش شوری، خشکی و عوامل بیماریزای ریشه و برگ توسط محققین مختلف گزارش شده است(سپهری و همکاران،۱۳۹۰). خشکیشایع‌ترین تنش محیطی است که تولیدات کشاورزی را با محدودیت روبرو ساخته است. پاسخ گیاهان به تنش خشکی بسیار پیچیده است و شامل تغییرات کشنده و سازگارشونده می‌باشد. در راستای سازگاری گیاهان به شرایط آب و هوایی خشک، تجمع متابولیتها، تولید آنتی‌اکسیدان‌های‌آنزیمی و غیرآنزیمیهمزمان با تغییرات مورفولوژیک و فیزیولوژیک، موجب افزایش کارایی و عملکرد گیاه تحت شرایط تنش‌زا می‌گردد. آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی شامل آنزیم‌های سوپراکسیددسموتاز(SOD)، کاتالاز (CAT)، پراکسیداز(POD)، آسکوربات‌پراکسیداز (APX)، گلوتاتیون‌ریدوکتاز(GR) وگلوتاتیون-پراکسیداز(GPX) با کاهش اثر اکسیدکنندگی گونه‌های فعال اکسیژن(ROS) تولید شده در اثر تنش خشکی، گیاه را در برابر اثرات تخریبی نظیر آسیب به لیپیدهای غشای سلولی، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک حفاظت می-نمایند(Marrs,1996). توانایی حذف گونه‌های فعال اکسیژن و کاهش اثرات تخریبی آنها به عنوان یک صفت مهم در مقاومت گیاهان به تنش محسوب می‌شود(Panahi, 2009). کاتالاز و پراکسیداز از آنتی‌اکسیدان‌های مهم آنزیمی می‌باشند که با تبدیل H_2O_2 به عنوان یکی از گونه‌های فعال اکسیژن به ملکول‌های آب و اکسیژن سبب حذف اثرات سمی آن می‌شود. همزیستی ریزوبیوم‌ها با گیاهان خانواده لگومینوز، بزرگترین و مهم‌ترین سیستم تثبیت کننده‌ی نیتروژن در زمین‌های زراعی است. تحقیقات نشان داده‌اند که فرایند تثبیت زیستی نیتروژن به دلیل نقش مهمی که رطوبت در تشکیل رشد و تکامل گره‌های ریشه‌ای دارد، شدیداً به کمبود رطوبت حساس می‌باشد. یافته‌های ژانگ و همکاران (۱۹۹۵) نشان داد که گیاهان لگوم میکوریزی تثبیت نیتروژن بیشتری نسبت به گیاهان

غیر میکوریزی انجام می‌دهند و غلظت نیتروژن در آنها بالاتر است. این محققان دلیل این امر را به جذب بیشتر آب و عناصر غذایی توسط میسلیوم‌های قارچ میکوریزی آربسکولار و فراهم نمودن شرایط مساعد جهت تثبیت نیتروژن نسبت دادند. رای و والاسالاکومار در سال ۲۰۱۰ به بررسی تأثیر تلقیح سه گونه قارچ آربسکولار و قارچ اندوفایت *P.indica* به طور جداگانه و در ترکیب با باکتری ریزوبیوم با گیاه نخودسبز پرداختند. نتایج آنها حاکی از مشاهده حداکثر بیومس گیاه در تیمار تلقیح توأم قارچAMF با ریزوبیوم بود. همچنین نتایج آنها نشان داد که *P.indica* به تنهایی در رشد گیاه نخود سبز مؤثر نمی‌باشد. در حال حاضر به غیر از پژوهش‌های رای و والاسالاکومار پژوهش دیگری در زمینه بررسی اثر تلقیح همزمان قارچ *Piriformosporaindica* با باکتری‌های ریزوبیومی همزیست با لگوم‌ها صورت نگرفته است . لذا این پژوهش با هدف بررسی اثر تلقیح همزمان گیاه لوبیا با باکتری ریزوبیوم و قارچ *P.indica* در شرایط تنش خشکی و با تأکید ویژه بر تغییر آنزیم‌های آنتی اکسیدان در چنین شرایطی صورت گرفته است.

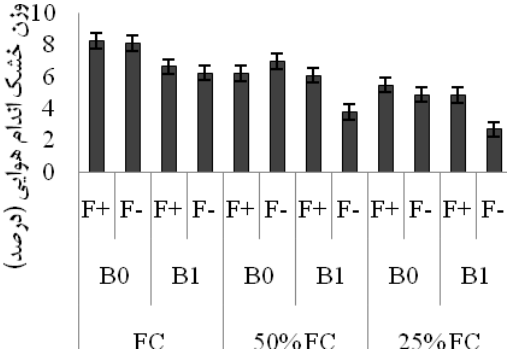
مواد و روش‌ها

آزمایش گلخانه‌ای در قالب فاکتوریل کاملا تصادفی با تیمارهایی شامل دو سطح قارچ (تلقیح و عدم تلقیح)، دو سطح باکتری ریزوبیوم(Rb 141 و فاقد ریزوبیوم)، سه سطح خشکی (FC، ۵۰٪FC و ۲۵٪FC)، در سه تکرار در گلدان‌های حاوی شن و پرلیت (نسبت ۲:۱) در مرکز پژوهش کشت بدون خاک واقع در دانشگاه صنعتی اصفهان انجام شد.برای کشت قارچ*Piriformosporaindica* از محیط کشت کمپلکس استفاده شد (Varma et al., 1998). ، محلول آب – توئین ۲٪ حاوی ۵×۱۰^{۶} اسپور قارچ ریشه‌چه بذور به لوبیای قرمز رقم اختر (*Phaseolus vulgaris*) ضدعفونی شده و جوانه دار شده اضافه گردید.دو روز پس از انتقال جوانه‌های لوبیا به گلدان به ریشه‌چه هر گیاه، ۲ میلی‌لیتر مایه تلقیح سویه مورد نظر اضافه شد. برای اعمال تنش خشکی ابتدا میزان آب مورد نیاز گلدان برای رسیدن به FC را محاسبه کرده و با توجه به سطوح خشکی گفته شده و میزان تبخیر و تعرق گلدان‌ها، مقدار آب مورد نیاز به گلدان‌ها اضافه گردید. پنج هفته پس از اعمال تنش و پس از پایان مرحله رویشی گیاه، گیاهان برداشت شدند. وزن خشک اندام‌های هوایی اندازه‌گیری شد. قبل از برداشت گیاهان، ازهر برگ چند برگ سالم و شاداب به طور تصادفی نمونه‌برداری انجام شد و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز به روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد.

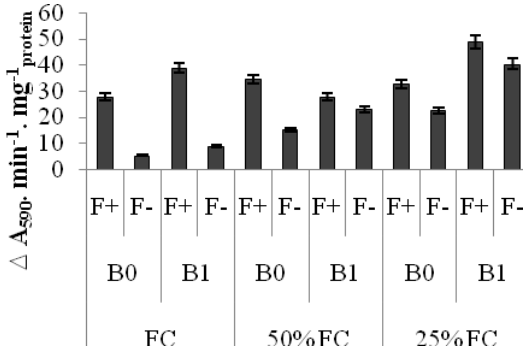
نتایج و بحث

نتایج نشان داد در همه تیمارهای آزمایشی با افزایش سطح خشکی وزن خشک اندام‌های هوایی کاهش یافت، وزن خشک اندام هوایی گیاهانی که تنها با ریزوبیوم B_1(*Rb* 141) تلقیح شده بودند نسبت به گیاهان شاهد در هر سه سطح تنش خشکی (FC، ۵۰٪FC و ۲۵٪FC) به ترتیب ۲۳، ۴۵ و ۴۴ درصد کاهش یافت، این شاخص در گیاهان آلوده به قارچ*P.indica* (F^{+}) نسبت به گیاهان شاهد در سطح اول و سوم تنش (FC و ۲۵٪FC) افزایش ولی در سطح دوم خشکی(۵۰٪FC) کاهش یافت. وزن خشک اندام‌های هوایی گیاهانی که تنها با قارچ تلقیح شده نسبت با گیاهانی که تلقیح شده انفرادی با باکتری و توأم قارچ و باکتری در هر سه سطح خشکی افزایش یافت(شکل ۱). فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاهانی که به صورت انفرادی با ریزوبیوم Rb 141 و قارچ آغشته شده بودند نسبت به گیاهان شاهد، در هر سه سطح خشکی افزایش یافت، فعالیت این آنزیم درگیاهانی که تنها باقارچ

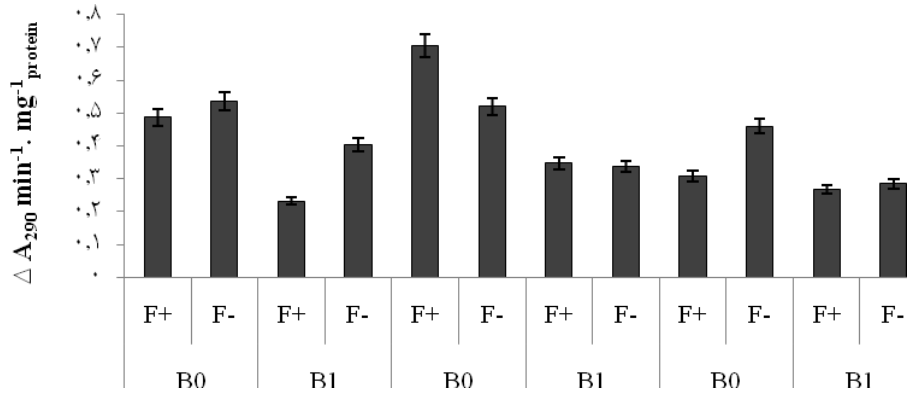
تلقیح شدند نسبت به گیاهان تلقیح شده انفرادی با باکتری، در سطوح اول و دوم خشکی افزایش ولی در سطح سوم خشکی کاهش یافت. شاخص مدنظردر گیاهان تلقیح شدهتوأم قارچ و باکتری نسبت به گیاهان تلقیح شده انفرادی با باکتری و قارچ در هر سه سطح خشکی افزایش یافت(شکل ۲). فعالیت آنزیم کاتالاز گیاهان آلوده به باکتری نسبت به گیاهان شاهد در سطوح سه‌گانه خشکی به ترتیب ۲۵، ۳۵ و ۳۸ درصد کاهش یافته است در نتیجه وزن خشک اندام هوایی هم کاهش یافت در حالی که در تیمار تلقیح شده انفرادی با قارچ نسبت به گیاهان شاهد در سطوح اول و سوم خشکی کاهش اما در سطح دوم خشکی (۵۰٪FC) افزایش یافت اما همانگونه که اشاره شد برای وزن خشک اندام هوایی عکس این حالت رخ داد. فعالیت این آنزیم در تیمار تلقیح شده انفرادی قارچ نسبت به تیمار تلقیح شده انفرادی باکتری و تیمار تلقیح توأم قارچ و باکتری در هر سه سطح خشکی بیشتر شده و در نتیجه وزن خشک اندام‌های هوایی افزایش یافت. (شکل ۳). در شرایط تنش خشکی عدم وجود تعادل بین جذب و مصرف انرژی توسط اندام‌های فتوسنتزی باعث تولید گونه‌های فعال اکسیژن و عدم توانایی گیاهان در کنترل آنها می‌شود که در نهایت منجر به ایجاد تنش در غشاء سلولی می‌شود و علائم تنش‌های اکسیداتیو در گیاهان ظاهر می‌شود. آنتی‌اکسیدان‌ها به عنوان سریع‌ترین و مناسب‌ترین واحدهایی که با گونه‌های فعال اکسیژن مقابله می‌کنند شناخته می‌شوند. از جمله این آنتی‌اکسیدان‌ها کاتالاز و پراکسیداز می‌باشد (Panahi, 2009). پژوهش‌های بسیاری به منظور بررسی تغییرات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تحت شرایط تنش خشکی بر روی گیاهان مختلف صورت گرفته است که اکثر آنها نشان‌دهنده افزایش این آنزیم‌ها در اثر تنش خشکی بوده است (Sivritep et al., 2008). ضمن اینکه کاهش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نیز تحت شرایط خشکی گزارش شده است. جیان و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند اگرچه فعالیت پراکسیداز در طی مراحل خشکی افزایش یافته اما با طولانی شدن مدت زمان تنش، از فعالیت آن کاسته می‌شود. گزارش شده قارچ *P.indica* ازطریق تظاهر و افزایش بیان پروتئین‌هایی از قبیلvacuolar proton-ATPas proton، sulfoxide methionineو چندین پروتئین ناشناخته دیگر و همچنین از طریق تأثیر بر افزایش بیان آنزیم‌های موثر در نابودسازی گونه‌های فعال اکسیژن حاصل از اعمال خشکی، گیاه را در مقابله با تنش اکسیداتیو یاری می‌نماید(سپهری و همکاران،۱۳۹۰).سپهری و همکاران (۱۳۹۰) همچنین نشان دادند در اثر تلقیح ریشه گیاه جو به قارچ *P.indica* در شرایط تنش خشکی، وزن خشک اندام هوایی ۳۹ درصد افزایش یافت.



شکل ۱ – اثر متقابل قارچ *P. indica*،ریزوبیوم و خشکی بر وزن خشک اندام هوایی



شکل ۲- اثر متقابل قارچ *P. indica*، ریزوبیوم و خشکی بر فعالیت آنزیم پراکسیداز



شکل ۳- اثر متقابل قارچ *P. indica*، ریزوبیوم و خشکی بر فعالیت آنزیم کاتالاز

منابع

سپهری م.، ۱۳۸۸. شناسایی مکانیسم‌های ملکولی القا شده توسط قارچ *Piriformosporaindica* به گیاه جو در شرایط تنش شوری و خشکی. پایان نامه دکتری خاکشناسی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران.

Halliwell B, 1999. Antioxidant defense mechanism from the beginning to the end. Free Radical Reserch. 31: 235- 257.

Jiang Y and Huang B, 2001. Drought and heat stress injury to two cool-season turfgrass in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation. Crop. Sci. 41: 436- 442.

Marrs KA,1996. The functions and regulation ofglutathione S-transferases in plants. Plant Physiology and Plant Molecular Biology 47: 127-158.

Panahi B, 2009. Effect of osmotic and salt stresses on water relation parameters of pistachio seedlings. Plant. Ecophysiol. 1: 1-8.

Ray JG and Valasalakumar N, 2010. arbuscularmycorrhizal fungi and *piriformosporaindica* individually and in combination with rhizobium on green gram .Journal of plant nutrition 33: 258-298.

Sivrtep N, Erturk U, Yarlicaya C, Turkan I, Bor M, and Ozdemir F, 2008. Response of the cherry rootstock to water stress induced in vitro. Biol. Plantarum. 52: 573-576.

Varma A, Singh A, SudhaSahay N, Sharma J, Roy A, Kumari M, Rana D, Thakran S, Deka D,1998. Piriformosporaindica : a cultivable mycorrhiza-like endosymbiotic fungus. In: Mycota IX. Springer Series, Germany, 56. 123-150.

Zhang F, Hamel KianmehrCh and Smith D L, 1995. Root zone temperature and soybean (*Glycin max L.*) vesicular arbuscularmycorrhizae: Development andinteractions with the nitrogen fixing symbiosis. Environmental and Experimental Botany 35: 287-298.

ارزیابی خصوصیات رشد و میزان جذب پتاسیم گیاه دارویی بارشبی (*Dracocephalum moldavica* L.) در همزیستی با قارچ میکوریزا تحت تنش فلزات سنگین

سیاوش محمدی[1]، لیلا تبریزی[1] و اصغر بهاگیر[1]

۱- گروه مهندسی علوم باغبانی و فضای سبز، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی - دانشگاه تهران، کرج، ایران.

مقدمه

امروزه آلودگی فلزات سنگین به یکی از مهمترین مشکلات محیط زیست تبدیل شده است و در بین فلزات سنگین برخی از آنها مانند سرب و کادمیوم، برای انسان و اکوسیستم‌ها خطرناک بوده و از طریق آب، هوا و غذا وارد بدن انسان می‌شوند و روی سیستم عصبی و ساخت هموگلوبین اثر نامطلوب می‌گذارند (کمالپور، ۱۳۹۱). یکی از ارکان کشاورزی پایدار استفاده از کودهای زیستی در اکوسیستم‌های زراعی با هدف حذف یا کاهش قابل ملاحظه‌ای در مصرف نهاده‌های شیمیایی می باشد (شارما، ۲۰۰۲) که در نهایت باعث کاهش ورود عناصر سنگین به زمین‌های زراعی خواهد شد. قارچ‌های میکوریزا آربوسکولار (AMF) به‌عنوان یکی از انواع کودهای زیستی و یکی از میکروارگانیسم‌های مفید موجود در خاک، دارای رابطه همزیستی با ریشه‌ی اغلب گیاهان می‌باشند و از طریق جذب عناصر غذایی، افزایش جذب آب و افزایش تحمل گیاهان در برابر تنش‌های زنده (عوامل بیماری‌زا) و غیر زنده (خشکی، شوری و فلزات سنگین) سبب بهبود رشد و عملکرد گیاهان میزبان در سیستم‌های کشاورزی پایدار می‌شوند (سیلویا و همکاران، ۱۹۸۸). گیاه دارویی بادرشبی (*Dracocephalum moldavica* L.) گیاهی علفی و یکساله و از تیره‌ی Lamiaceae می‌باشد. مواد موثره‌ی اندام هوایی این گیاه آرامبخش و اشتهاآور بوده و دارای خاصیت ضد باکتریایی می‌باشد. همچنین در صنایع آرایشی و بهداشتی مورد استفاده قرار می‌گیرد (امید بیگی، ۱۳۸۶). هدف از این تحقیق بررسی تاثیر میکوریزا و فلزات سنگین بر رشد، عملکرد و میزان جذب پتاسیم در گیاه دارویی بادرشبی می‌باشد.

مواد و روشها

این آزمایش در بهار و تابستان سال ۱۳۹۱ در گلخانه‌ی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دو فاکتور و چهار تکرار اجرا گردید. فاکتور اول قارچ میکوریزا در دو سطح تلقیح و عدم تلقیح میکوریزا و فاکتور دوم فلزات سنگین در پنج سطح بدون فلز، سرب ۱۵۰ ، سرب ۳۰۰ ،کادمیوم ۴۰ و کادمیوم ۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک بودند. نمک‌های مورد استفاده فلزات سنگین سرب و کادمیوم به ترتیب نیترات‌سرب و نیترات‌کادمیوم (Merc) بودند. دوره‌ی گرماگذاری[1] به منظور به تعادل رسیدن و قابل جذب شدن فلزات سنگین، به مدت ۱۰۰ روز در نظر گرفته شد. قارچ میکوریزا شامل دو گونه *Glomus mosseae* و *G. intraradices* با نسبت‌های مساوی بودند که به میزان ۳۰ گرم برای هر گلدان ۱/۵ کیلوگرمی (قطر دهانه و ارتفاع ۱۷ سانتیمتر) در چاله کاشت نشا مورد استفاده قرار گرفت. گیاهان با آب دیونیزه شده آبیاری و در مرحله گلدهی برداشت شدند و صفات رشدی ازقبیل ارتفاع بوته، وزن تر و وزن خشک اندام‌هوایی اندازه‌گیری شدند. همچنین میزان جذب پتاسیم اندام‌هوایی و ریشه با استفاده از دستگاه

1- Incubation

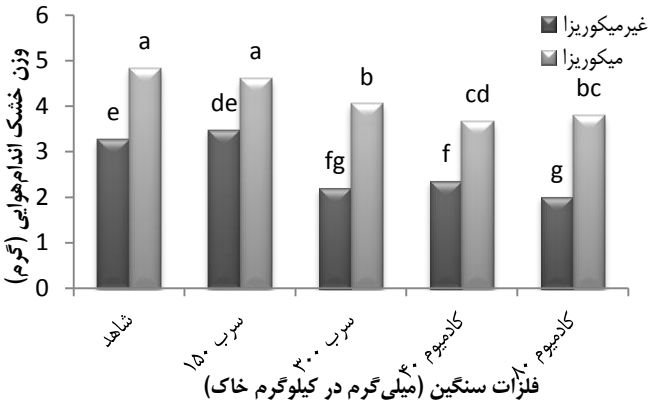
فلیم‌فتومتر تعیین گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SAS و EXCEL و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ صورت گرفت.

نتایج و بحث

تاثیر میکوریزا و فلزات سنگین بر ارتفاع، وزن تر و وزن خشک اندام‌هوایی بادرشبی معنی‌دار شد ($P\leq$۰/۰۱) اما اثرات متقابل بین آنها فقط بر وزن خشک اندام‌هوایی معنی‌دار بود ($P\leq$۰/۰۱) (داده ها نشان داده نشده است). ارتفاع بوته در گیاهان میکوریزی به طور معنی‌داری بیشتر از گیاهان غیرمیکوریزی بود و به میزان ۱۹/۵۳ درصد نسبت به گیاهان غیرمیکوریزی افزایش یافت. گیاهان رشد یافته در سرب۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک، دارای بیشترین ارتفاع بوته بودند که به طوری معنی‌داری بیشتر ازسایر تیمارها بود. کمترین ارتفاع بوته نیز در گیاهان رشد یافته در خاک آلوده به سرب ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک مشاهده گردید که نسبت به گیاهان آلوده به سرب ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک (بیشترین ارتفاع بوته)، ۲۰/۲۱ درصد کاهش یافت. همچنین ارتفاع بوته بین گیاهان آلوده به کادمیوم ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک اختلاف معنی‌داری نداشتند (جدول ۱). گیاهان میکوریزی به طور معنی‌داری وزن تر اندام‌هوایی بیشتری نسبت به گیاهان غیرمیکوریزی داشتند به‌طوری که وزن تر اندام هوایی به میزان ۶۰/۰۲ درصد در گیاهان میکوریزی نسبت به غیرمیکوریزی افزایش یافت. با افزایش غلظت سرب و کادمیوم در خاک وزن تر اندام‌هوایی کاهش یافت به‌طوری که بیشترین میزان آن در گیاهان غیرآلوده به فلز سنگین و کمترین میزان آن در گیاهان آلوده به کادمیوم ۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک مشاهده گردید. همچنین وزن تر اندام‌هوایی بین سرب ۳۰۰ و کادمیوم ۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۱). همان‌گونه که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، بیشترین وزن خشک اندام‌هوایی در گیاهانی میکوریزی همراه با عدم کاربرد فلز سنگین مشاهده شد هرچند که با گیاهان میکوریزی آلوده به سرب ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک اختلاف معنی‌داری نداشت. گیاهان میکوریزی در تمام سطوح فلز سنگین به طور معنی‌داری دارای وزن خشک اندام‌هوایی بیشتری نسبت به گیاهان غیرمیکوریزی بودند. کمترین میزان وزن خشک اندام‌هوایی در گیاهان غیرمیکوریزی آلوده به کادمیوم ۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک مشاهده شدکه نسبت به گیاهان میکوریزی غیر آلوده به فلز سنگین ۵۸/۴۷ درصد کاهش نشان داد.

جدول ۱- نتایج مقایسه میانگین اثرات ساده میکوریزا و فلزات سنگین بر ارتفاع و وزن تر بوته بادرشبی

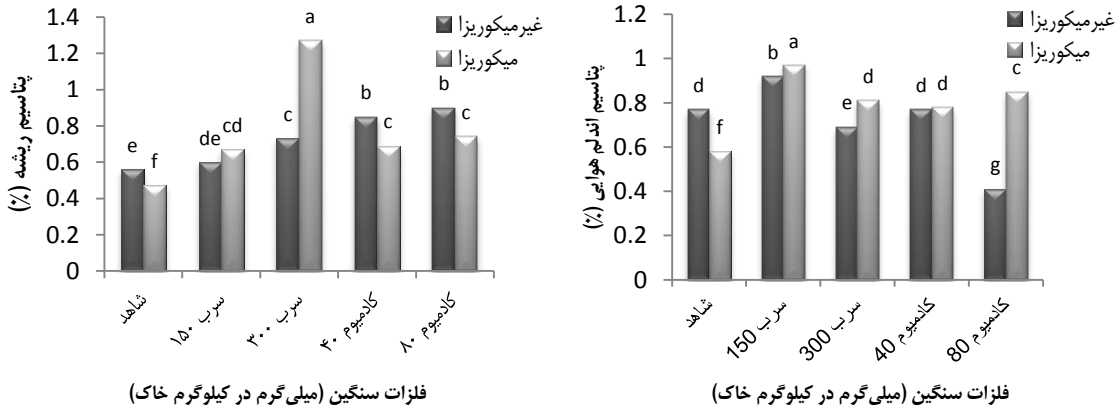
	قارچ میکوریزا		فلزات سنگین (میلی گرم در کیلوگرم خاک)				
	میکوریزا	عدم میکوریزا	شاهد (بدون فلز)	سرب ۱۵۰	سرب ۳۰۰	کادمیوم ۴۰	کادمیوم ۸۰
ارتفاع بوته (سانتیمتر)	۴۹/۸۲^{a}	۴۱/۶۸^{b}	۴۷/۴۸^{b}	۵۱/۶۴^{a}	۴۱/۲۰^{d}	۴۳/۶۷^{c}	۴۴/۸۰^{c}
وزن تر اندام هوایی (گرم)	۱۸/۵۳^{a}	۱۱/۵۸^{b}	۱۹/۸۷^{a}	۱۸/۱۶^{b}	۱۲/۸۳^{c}	۱۲/۹۰^{c}	۱۱/۵۱^{d}



شکل ۱- میانگین وزن خشک اندام‌هوایی بادرشبی تحت تاثیر میکوریزا و فلزات سنگین

تاثیر میکوریزا، فلزات سنگین و اثرات متقابل بین آنها بر غلظت پتاسیم اندام‌هوایی بادرشبی معنی‌دار شد ($P\leq$۰/۰۱). بیشترین پتاسیم اندام‌هوایی در گیاهان میکوریزی آلوده به سرب ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک مشاهده گردید. پتاسیم اندام‌هوایی در گیاهان میکوریزی آلوده به سرب ۳۰۰ وکادمیوم ۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک و گیاهان غیرمیکوریزی عدم آلوده به فلزسنگین و کادمیوم ۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک، اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند. کمترین غلظت پتاسیم اندام‌هوایی در گیاهان غیرمیکوریزی آلوده به کادمیوم ۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک مشاهده شد که نسبت به گیاهان میکوریزی آلوده به سرب ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک (بیشترین پتاسیم اندام‌هوایی) ۵۷/۷۳ درصد کاهش نشان دادند. در نهایت گیاهان میکوریزی و غیرمیکوریزی آلوده به سرب ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک بیشترین غلظت پتاسیم اندام‌هوایی را داشتند.

تاثیر فلزات سنگین و اثرات متقابل بین میکوریزا و فلزات سنگین بر غلظت پتاسیم ریشه بادرشبی معنی‌دار شد ($P\leq$۰/۰۱) اما اثرات ساده میکوریزا بر پتاسیم ریشه تاثیر معنی‌داری نداشت. بیشترین پتاسیم ریشه بادرشبی در گیاهان میکوریزی آلوده به سرب ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک حاصل شد که به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود. غلظت پتاسیم ریشه در گیاهان غیرمیکوریزی آلوده به کامیوم ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند ولی به طور معنی‌داری بیشتر از غلظت پتاسیم ریشه، در گیاهان میکوریزی و غیرمیکوریزی غیرآلوده به فلز سنگین بودند. کمترین غلظت پتاسیم ریشه در گیاهان میکوریزی غیرآلوده به فلز سنگین مشاهده شد که به میزان ۶۲/۹۹ درصد نسبت به گیاهان میکوریزی آلوده به سرب ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک (بیشترین پتاسیم ریشه) کاهش پیدا کرد.



شکل ۴- غلظت پتاسیم اندام‌هوایی و ریشه بادرشبی تحت تاثیر میکوریزا و فلزات سنگین

نتایج نشان داد که با افزایش غلظت فلزات سنگین در خاک، صفات رشدی در گیاه بادرشبی کاهش یافت و افزایش غلظت سرب و کادمیوم در خاک تاثیر منفی روی این صفات داشتند. همچنین اثرات منفی فلز کادمیوم بر رشد گیاه بسیار بیشتر از فلز سرب بود. در تحقیقی گیدا و همکاران (۲۰۱۳) خصوصیات رشدی و مورفولوژیکی گیاه دارویی رزماری را تحت تاثیر فلزات سرب، کادمیوم و روی بررسی کردند و عنوان کردند با افزایش غلظت این فلزات صفات رشدی رزماری کاهش پیدا کرد. کاهش زیست توده در نتیجه تنش کادمیوم و سرب ممکن است به دلیل اختلال در جذب و انتقال عناصر غذایی و آب در بخش‌های هوایی گیاه باشد. کاهش جذب عناصر غذایی و کاهش رشد گیاه ممکن است به دلیل ممانعت از فعالیت آنزیم‌هایی مانند سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در نتیجه تنش فلزات سنگین که ممکن است که سیستم فعالیتی آنتی اکسیدانی را تضعیف نموده و در نهایت رشد گیاه را کاهش دهد (دی و همکاران، ۲۰۰۷). همچنین تاثیر مستقیم فلزات در متابولیسم سلولی اندام‌هوایی، ممکن است منجر به کاهش ارتفاع بوته و سایر صفات رشدی در گیاهان تحت تاثیر تنش فلزات سنگین گردد. غلظت پتاسیم اندام‌هوایی و ریشه بادرشبی، با افزایش غلظت فلزات سنگین به‌ویژه سرب، به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش یافت. غلامی و راحمی (۲۰۱۰) نشان دادند که با افزایش شدت تنش، میزان پتاسیم در اندام‌هوایی افزایش می‌یابد که این امر می‌تواند به دلیل نقش این کاتیون در تنظیم فشار اسمزی و کنترل روزنه‌ای باشد. علاوه براین پتاسیم در افزایش مقاومت گیاه به بیماری‌های و تنش‌های محیطی مانند خشکی، فعال کردن آنزیم‌ها و بر رشد و تقسیم سلولی، از طریق انتقال نشاسته و قندهای بین بخش‌های مختلف گیاهی نقش ایفا می‌کند (کمالپور، ۱۳۹۱). همچنین در این تحقیق میکوریزا میزان پتاسیم را در گیاه افزایش داد که می‌تواند به‌عنوان یک نهاده زیستی، در کاهش اثرات منفی ناشی از تنش فلزات سنگین و در راستای رسیدن به کشاورزی پایدار، مورد توجه قرار گیرد.

منابع

امیدبیگی ر.، ۱۳۸۶. تولید و فرآوری گیاهان دارویی. جلد دوم، آستان قدس رضوی، مشهد، ۳۷۹ صفحه.

کمالپور، س. ۱۳۹۱. بررسی تاثیر عوامل زیستی بر کارایی گیاه‌پالایی اکالیپتوس در خاک آلوده به سرب و کادمیوم. پایان نامه کارشناسی ارشد مهندسی علوم خاک، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران.

Sharma, A.K., 2002. Biofertilizers for Sustainable Agriculture. Agro-bios, India, 300p.

Sylvia, D.M. and Williams, S.E., 1992. Vesicular Arbuscular Mycorrhiza and Environmental Stress: 101-124. In: Bethlenfalvay, G.J. and Linderman, R.G., (Eds.). Mycorrhiza in Sustainable Agriculture. Amer Society of Agronomy, Medison Wisconsin, 124p.

Gaida, M., Landoulsi, N. R., Rejeb, M. N. and Smiti, S., 2013. Growth and photosynthesis responses of *Rosmarinus officinalis* L. to heavy metals at Bougrine mine. African Journal of Biotechnology, 12(2): 150-161.

Dai, J., Xu, M., Chen, J., Yang, X. and Ke, Z., 2007. PCDD/F, PAH and heavy metals in the sewage sludge from six wastewater treatment plants in Beijing, China. Chemosphere, 66(2): 353-361.

Gholami, M. and Rahemi, M., 2010. Effect of water stress and recovery on the water status and osmotic adjustment of miniature rose meshkinjan. Research Journal of Environmental Science, 4: 288-293.

بررسی تاثیر گوگرد و مایه تلقیح تیوباسیلوس، فسفات و کاشت گیاه بر جمعیت میکروارگانیسم‌های حل کننده فسفات

الناز رحمانی[۱]- علیرضا فلاح[۲]- بهاره رحیمیان[۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، رشته میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات کردستان،۲- استادیار مرکز تحقیقات خاک و آب کرج، استاد راهنما،۳-- استایار دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات کردستان، استاد مشاور

مقدمه

افزایش جمعیت جهان و نیاز به تامین غذای بیشتر، با در نظر داشتن محدودیت در منابع طبیعی باعث ایجاد نگرانی بشر شده است. در دهه‌های گذشته اقداماتی که برای بالا بردن عملکرد محصولات کشاورزی صورت گرفته است استفاده از کودهای شیمیایی بوده که باعث افزایش ۶۰٪ محصولات کشاورزی در جهان شد (خاوازی، ۱۳۸۴). مصرف بی‌رویه کودهای شیمیایی گذشته از هزینه ارزی گزاف خرید کود خارج از کشور، باعث برهم خوردن تعادل عناصر گیاهی، کاهش عملکرد محصول، کاهش جذب سایر عناصر و آلودگی آبها و خاک شد (افتخاری، ۱۳۸۸). فسفر مهمترین عامل کنترل رشد، بذردهی و تولید میوه در گیاهان زراعی است (ملکوتی، ۱۳۸۷). با توجه به این که در اکثر نقاط زیر کشت ذرت در ایران، pH خاک بالاست و فسفر قابلیت جذب وابسته به pH دارد در خاک تثبیت می‌شود. مصرف گوگرد متداولترین و اقتصادی‌ترین راهکار جهت کاهش pH خاک مزارع است (کریمیان، ۱۳۷۷). باکتری‌های خانواده تیوباسیلوس از مهمترین اکسید کننده‌های گوگرد در خاک محسوب می‌شوند (Kaplan & Orman, 1998) که با کاهش pH خاک علاوه بر تامین سولفات مورد نیاز و افزایش جذب فسفر گیاه باعث افزایش جذب عناصر کم مصرف مانند آهن، مس، روی و... نیز می‌شوند (بشارتی، ۱۳۸۶). با توجه به اهمیت فسفر در گیاه و افزایش مصرف کودهای شیمیایی فسفاته در کشاورزی، کارآمد بودن کودبیولوژیکی نسبت به کود شیمیایی و در نظر داشتن انباشتگی فسفر در خاک‌های قلیایی زراعی (بای‌بوردی، ۱۳۸۸)، این تحقیق در جهت بررسی رابطه گوگرد به همراه مایه تلقیح تیوباسیلوس، کود تری کلسیم فسفات و کاشت گیاه ذرت بر جمعیت میکروارگانیسم‌های حل کننده فسفات صورت گرفته است. نتایج بررسی جهت تولید کود بیولوژیکی فسفاتی کارآمدتر و شرایط اعمال مساعدتر می‌باشد.

مواد و روشها

در سال ۱۳۹۱، یک قطعه زمین زراعی در مزرعه تحقیقاتی خاک و آب کرج انتخاب شد و پس از آماده‌سازی مزرعه و اعمال تیمارهای مورد نظر در تیرماه، کار نمونه برداری در شهریورماه آغاز شد. طرح تحقیقاتی در مزرعه به صورت فاکتوریل در قالب بلوک‌های کامل تصادفی و در سه تکرار اجرا شد. فاکتورها عبارت بودند از: فاکتور اول شامل مقادیر مختلف گوگرد گرانوله به همراه مایه تلقیح تیوباسیلوس در چهار سطح که به ترتیب برابر (۰و۰، ۵۰۰و۱۰، ۱۰۰۰و۲۰، ۲۰۰۰و۴۰ Kg/ha)، فاکتور دوم شامل مقادیر مختلف کود سوپر فسفات تریپل در سه سطح به ترتیب (شاهد، بر اساس آزمون خاک و ۶۵٪ بیشتر از آزمون خاک Kg/ha) و فاکتور سوم کاشت بذر ۷۰۴ ذرت علوفه‌ای بود که دو هفته بعد از اعمال تیمارها صورت گرفت. از هر خط کشت نمونه تقریبی ۲ کیلوگرمی تهیه و به آزمایشگاه ارسال شد. از نمونه‌های خاک رقت‌های مختلف ($۱۰^{-۱}$ – $۱۰^{-۷}$) تهیه و از هر رقت ۰/۱ سی‌سی

روی محیط کشت پیکووسکایا ریخته و به مدت ۲ هفته در انکوباتور ۲۹°C نگهداری شد. با استفاده از خاصیت شفاف سازی محیط جمعیت میکروارگانیسم‌های حل کننده فسفات شمارش و ضریب انحلال فسفات در آنها اندازه‌گیری شد. داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم افزار آماری SAS تجزیه و تحلیل و مقایسه میانگین‌ها به روش چند دامنه‌ای دانکن انجام گرفت.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول۱) اثر گوگرد به همراه مایه تلقیح تیوباسیلوس، فسفات، کاشت بذر و اثر متقابل آنها بر جمعیت میکروارگانیسم‌های حل کننده فسفات تفاوت معنی‌داری داشت. بین تیمارها از نظر جمعیت باکتری‌های حل کننده فسفات تفاوت معنی‌دار در سطح ۱٪ وجود داشت بجز تیمار متقابل فسفر × کاشت که در سطح ۵٪ دارای تفاوت معنی‌دار بود. لگاریتم میانگین جمعیت باکتری‌های حل کننده فسفات در تیمارهای گوگرد و تیوباسیلوس، فسفر، اثر متقابل گوگرد و تیوباسیلوس و فسفر،کاشت گیاه به ترتیب در حالت نکاشت و کاشت بذر گیاه برابر با ۰/۷۲۹، ۱/۳۹۳، ۱/۲۰۵، ۲/۱۴۴، ۰/۹۴۱، ۰/۰۵۳، ۰/۴۹۹ افزایش یافت که این جمعیت در حالت شاهد برابر با ۰/۰۱۲ بود.

بین تیمارها از نظر جمعیت قارچ‌های حل کننده فسفات تنها در دو تیمار متقابل کاشت × فسفر و کاشت × گوگرد و تیوباسیلوس × فسفر دارای تفاوت معنی‌دار به ترتیب در سطح ۱٪ و ۵٪ بود. لگاریتم میانگین جمعیت قارچ‌های حل کننده فسفات به ترتیب در تیمار کاشت × فسفر و کاشت × گوگرد و تیوباسیلوس × فسفر برابر ۰/۲۰۲ و ۰/۰۴۶ بود.

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف بر جمعیت میکروارگانیسم‌های حل کننده فسفات

	میانگین مربعات M.S		
منبع تغییرات	درجه‌آزادی	باکتری‌های حل کننده فسفات	قارچ‌های حل کننده فسفات
شاهد	۲	۰/۰۱۲	۰/۰۱۸
گوگرد و تیوباسیلوس	۳	۰/۷۲۹**	۰/۰۱۱ n.s
فسفر	۲	۱/۳۹۳**	۰/۰۲۳ n.s
گوگرد و تیوباسیلوس × فسفر	۶	۱/۲۰۵**	۰/۰۰۴ n.s
خطای آزمایش	۲۲	۰/۰۱۷	۰/۰۱۲
کاشت	۱	۲/۱۴۴**	۰/۰۰۰۴ n.s
کاشت × گوگرد و تیوباسیلوس	۳	۰/۹۴۱**	۰/۰۴۲ n.s
کاشت × فسفر	۲	۰/۰۵۳*	۰ /۲۰۲**
کاشت × گوگرد و تیوباسیلوس ×فسفر	۶	۰/۴۴۹**	۰/۰۴۶*
خطای کل	۲۴	۰/۰۱۲	۰/۰۱۷

**و* در سطح ۱٪ و ۵٪ معنی‌دار است و n.s معنی دار نیست.

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل گوگرد، تیوباسیلوس و فسفات برجمعیت میکروارگانیسم‌های حل کننده فسفات

سطوح متقابل تیمارها	باکتری‌های حل کننده فسفات (PSB)		قارچ‌های حل کننده فسفات(PSF)	
	کاشت	نکاشت	کاشت	نکاشت
ST_0P_0	۳/۲۴^{kt}	۳/۲۴^{kt}	۴/۲۶^{abcdef}	۴/۰۳^{gf}
ST_0P_1	۳/۹۱^{g}	۳/۹۴^{g}	۴/۱۴^{bcdefg}	۴/۲۹^{abcde}
ST_0P_2	۴/۸۶^{b}	۴/۱۷^{de}	۴/۱۷^{abcdefg}	۴/۲۹^{abcdef}
ST_1P_0	۴/۴۲^{c}	۳/۴۰^{kj}	۴/۳۰^{abcde}	۴/۰۴^{efg}
ST_1P_1	۵/۱۷^{a}	۳/۶۹^{h}	۴/۳۳^{abc}	۴/۲۲^{abcdefg}
ST_1P_2	۴/۵۳^{c}	۴/۱۷^{def}	۴/۲۴^{abcdefg}	۴/۲۱^{abcdefg}
ST_2P_0	۴/۱۱^{gef}	۳/۹۷^{gf}	۴/۲۱^{abcdefg}	۴/۱۴^{bcdefg}
ST_2P_1	۴/۳۵^{dc}	۳/۶۰^{ih}	۴/۲۱^{abcdefg}	۴/۲۳^{abcdef}
ST_2P_2	۳/۲۵^{kj}	۳/۲۱^{k}	۳/۹۹^{g}	۴/۳۷^{ab}
ST_3P_0	۳/۶۶^{h}	۳/۴۳^{ij}	۴/۳۸^{ab}	۴/۰۸^{cdefg}
ST_3P_1	۴/۱۱^{gef}	۴/۷۶^{b}	۴/۰۶^{defg}	۴/۴۲^{a}
ST_3P_2	۳/۹۲^{g}	۳/۹۸^{gef}	۴/۳۰^{abcd}	۴/۲۳^{abcdefg}

تیمارهایی که با حروف مشابه هستند دارای اختلاف معنی دار نیستند.

تاثیر مصرف گوگرد به همراه مایه تلقیح تیوباسیلوس، بر جمعیت میکروارگانیسم‌های حل کننده فسفات منوط به اکسایش گوگرد بوسیله باکتری‌های تیوباسیلوس در خاک می‌باشد. اسید تولید شده در خاک باعث افزایش جذب فسفر در میکروارگانیسم‌های حل کننده فسفات شده که این اختلاف بین جمعیت باکتری‌های حل کننده فسفات و قارچ‌های حل کننده فسفات قابل توجه می باشد. از آنجایی‌که میکروارگانیسم‌های حل کننده فسفات غالبا هتروتروف بوده و قادرند از ترکیبات گوگردی و مواد مغذی ترشح شده از ریشه گیاه به عنوان منبع انرژی استفاده کنند افزایش مصرف گوگرد به همراه تیوباسیلوس باعث افزایش جمعیت آنها شده است. نتایج مشابه در بسیاری تحقیقات دیگر نیز بدست آمده است(Vikram, 2007). با توجه به تفاوت در شرایط زیستی قابل تحمل برای باکتری‌ها و قارچ‌ها که می‌توان به pH خاک اشاره داشت می‌توان نتیجه گرفت مناسب‌ترین تیمار متقابل برای این دو خانواده متفاوت است. با توجه به نتایج فوق، در تولیدکودهای بیولوژیکی فسفاته، در صورت استفاده از باکتری‌های حل کننده فسفات مورد مطالعه نیاز به مصرف گوگرد و تیوباسیلوس در سطح کمتری می باشد که علاوه بر مزیت اقتصادی، حفظ تعادل سیستم حیاتی خاک نیز در نظر گرفته می‌شود.

منابع

افتخاری، ق. فلاح، ع. اکبری، غ ع. محدثی، ع و دادی، ا. (۱۳۸۸). اثر باکتری های حل کننده فسفات و کودهای فسفاته بر چگونگی رشد گیاه برنج. پژوهش‌های آب و خاک (علوم آب و خاک). جلد ۲۳، شماره ۲. از صفحه ۲۲۹ تا ۲۳۸.

بای بوردی، ص. (۱۳۸۸). بررسی افزایش راندمان سوپرفسفات تریپل از طریق کاربرد ریزجانداران بومی خاک در کشت ذرت. پایان نامه‌ی کارشناسی ارشد خاکشناسی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران. تهران.

بشارتی، ح. و صالح راستین، ن.، ۱۳۸۰. بررسی تاثیر کاربرد مایه تلقیح باکتری‌های بیوباسیلوس همراه با گوگرد در افزایش قابلیت جذب فسفر، مجموعه مقالات ضرورت تولید صنعتی کودهای بیولوژیکی در کشور. موسسه تحقیقات خاک و آب، صفحه ۲۹۳ تا ۳۱۷.

خاوازی، ک.، ملکوتی، م. ج. و اسدی رحمانی.، ۱۳۸۴. ضرورت تولید صنعتی کودهای بیولوژیک در کشور (مجموعه مقلات). چاپ دوم، انتشارات سنا، تهران، صفحه ۱۲ الی ۱۳. تهران، ایران.

کریمیان، ن. ۱۳۷۷. پیامدهای زیادەروی در مصرف کودهای شیمیایی فسفری. مجله خاک و آب، ۱۲(۴): ۱تا ۱۴.

ملکوتی، م ج.، کشاورز پ. و کریمیان، ن ع. ۱۳۸۷. روش جامع تشخیص و توصیه بهینه کود برای کشاورزی پایدار، چاپ هفتم، انتشارات دانشگاه تربیت مدرس. از صفحه ۷۸ تا ۸۴. تهران، ایران.

Kaplan M. and Orman S. 1998. Effect of elemental sulfur an sulfur containing waste in a calcareous soil in turkey. J. Plant Nutrition. 21 (8): 1655-1665.

Vikram A, Alagawadi AR, Hamzehzarghani H and Krishnaraj PU. 2007. Factors relative to the occurrence of phosphate solubilizing bacteria and their isolation in vertisols. J. Agricultural Research 2(7): 571-580.

اثر کاربری و خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک بر فعالیت آنزیمی فسفاتاز اسیدی و قلیایی

نسترن چلبیانلو، محمدرضا ساریخانی، سیامک علوی کیا
۱-دانشجوی کارشناسی ارشد گرایش بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، ۲-استادیاران گروه خاکشناسی و گروه بهنژادی و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

مقدمه

فسفر یکی از عناصر ضروری پرمصرف برای گیاه محسوب می‌شود و بعد از نیتروژن دومین عنصر محدودکننده رشد گیاه به شمار می‌رود. برخلاف سایر عناصر غذایی پرمصرف، این عنصر در بیشتر خاک‌ها تحرک و قابلیت جذب کمی دارد و به‌عبارتی کم‌تحرک‌ترین عنصر در خاک می‌باشد. تولید اسیدهای آلی و آنزیم‌های فسفاتاز از جانب موجودات زنده خاک از مکانیسم‌های اصلی درگیر در انحلال و رهاسازی فسفر خاک می‌باشند (Khan et al., 2009). آنزیم فسفاتاز که پیوندهای استری فسفات آلی را هیدرولیز می‌کند و منجر به آزادسازی فسفات می‌شود، خود به دو گروه اسیدی و قلیایی قابل تقسیم‌بندی است. فسفاتاز اسیدی، برخلاف فسفاتاز قلیایی، فعالیت کاتالیتیک بهینه‌ی خود را در مقادیر pH اسیدی تا خنثی نشان می‌دهد. تولید اسید فسفاتازها و فسفاتازهای قلیایی به منظور افزایش انحلال و دسترسی فسفر و غلبه بر مشکل کمبود فسفر، راهکار زیستی میکروفلور خاک و گیاهان می‌باشد. فسفاتاز اسیدی نقش اصلی را در معدنی‌سازی فسفر آلی در خاک بازی می‌کند. از آنجایی که گیاهان عالی فاقد فعالیت فسفاتاز قلیایی هستند، عمده فسفاتاز قلیایی خاک به میکروارگانیسم ها مربوط می‌شود (Tabatabai et al., 1994). فسفاتازهای میکروبی ممکن است معدنی‌سازی بیشتر ترکیبات فسفر آلی را انجام دهد. تولید، فعالیت و انحلال آنزیمی فسفر آلی و معدنی شدن آن تحت تأثیر پارامترهای مختلفی از جمله شرایط اقلیمی (رطوبت و دما)، شرایط خاک (شامل pH، ماده آلی، بافت خاک، کربنات کلسیم، شوری و رطوبت) و نوع کاربری اراضی (کشت و عدم‌کشت و حتی نوع محصول) است. به منظور بررسی اثر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک، کاربری و شرایط اقلیمی بر فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی و قلیایی آزمایشی به صورت زیر اجرا گردید.

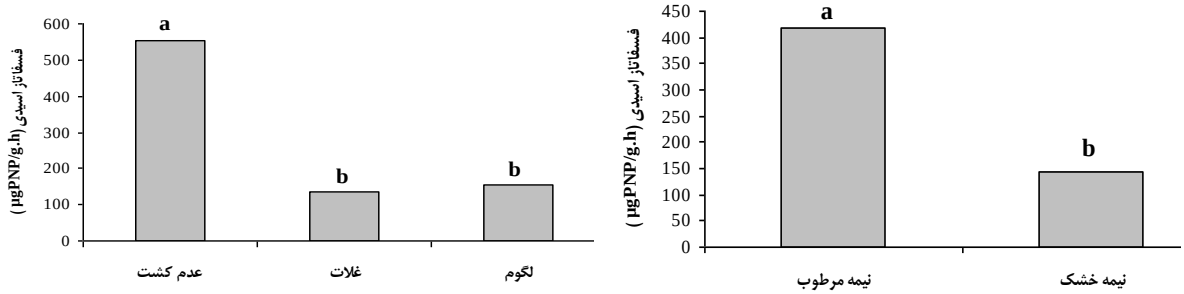
مواد و روش‌ها

بدین منظور، از دو اقلیم نیمه مرطوب (منطقه فندقلو- استان اردبیل) و نیمه خشک (اردبیل- نمین) در اراضی تحت کشت گیاهان لگوم، غلات و زمین عاری از کشت، نمونه برداری از اعماق ۲۵-۰ سانتیمتر انجام گرفت و از هر کاربری تعداد ۴ نمونه خاک به صورت نمونه مرکب تهیه شد. نمونه‌ها در سریعترین زمان ممکن به آزمایشگاه انتقال یافت و در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شد. برای سنجش فعالیت فسفاتازی (اسیدی و قلیایی) خاک از روش-های مرسوم در اندازه‌گیری فعالیت این آنزیم استفاده شده است (Tabatabai et al, 1994). به این ترتیب که بعد از تهیه بافر و سوبسترای مناسب برای اندازه‌گیری فعالیت فسفاتازی خاک، برای هر نمونه خاک ۸ تکرار سنجش که نیمی از آن برای فعالیت فسفاتازی اسیدی و نیم دیگر برای فسفاتاز قلیایی است، لحاظ گردید. همچنین یک نمونه شاهد نیز در هر سنجش به منظور کسر اثرات زمینه‌ای در نظر گرفته شد. قابل ذکر است که سوبسترای مورد استفاده در آزمایش، pNPP بود. مراحل کار به شرح زیر می باشد. بعد از الک نمودن خاک از غربال ۲ میلی‌متری و توزین ۱ گرم از نمونه خاک (مرطوب)، آن را به درون لوله‌های آزمایش حاوی ۴ میلی‌لیتر معرف MUB (اسیدی یا بازی) و ۱ میلی‌لیتر سوبسترای pNPP (در بافر اسیدی یا بازی) ریخته و بعد از بهم زدن نمونه، برای فراهم ساختن دمای بهینه فعالیت آنزیم، لوله را در دمای ۳۷ درجه سلسیوس در حمام آب قرار داده و به مدت ۱ ساعت در این

شرایط نگهداری شد. سپس با افزودن محلول‌های متوقف کننده (یعنی ۱ میلی‌لیتر CaCl2 ۰/۵ مولار و ۴ میلی‌لیتر NaOH ۰/۵ مولار) واکنش را متوقف ساخته و قبل از قرائت جذب، نمونه‌ها را با استفاده از کاغذ صافی، صاف کردیم. این سوبسترا در اثر فعالیت فسفاتاز به فسفر و پارانیتروفنل (pNP) هیدرولیز می‌شود. برای اندازه‌گیری میزان pNP آزاد شده، جذب آن در طول موج ۴۱۰ نانومتر با کمک دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. برای اینکه بتوان فعالیت آنزیمی خاک را به صورت µg pNP/g.h عنوان کرد، لازم است تا منحنی استاندارد این ماده (pNP) را با تهیه استانداردهای ۰، ۱۰، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم رسم کرد. در مورد نمونه شاهد مراحل کاری یکسان می‌باشد با این تفاوت که محلول متوقف کننده ابتدا به نمونه اضافه و سوبسترا در مرحله قبل از صاف کردن، افزوده می‌شود. برای کسر اثر رطوبت از فعالیت آنزیمی خاک، درصد رطوبت هر نمونه خاک محاسبه و تصحیحات مربوط به رطوبت و نمونه شاهد در اعداد نهایی لحاظ شد. همچنین ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی مهم خاک، از قبیل pH، EC، درصد ماده آلی، درصد کربنات کلسیم، فسفر قابل استفاده و بافت خاک بر اساس روش‌های مرسوم در"روش‌های آنالیز خاک" در مورد نمونه‌های خاک با در نظر گرفتن دو تکرار برای هرنمونه، مورد اندازه‌گیری قرار گرفت Gee et al., (1986) .

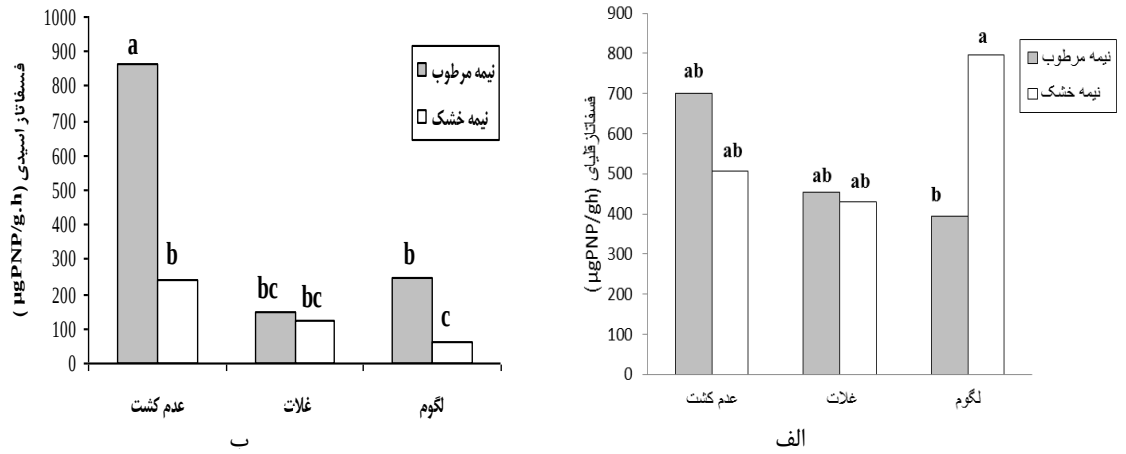
نتایج و بحث

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که میزان فسفاتاز اسیدی در اقلیم نیمه‌مرطوب نسبت به نیمه‌خشک به طور معنی داری (در سطح ۱٪) افزایش داشته است، مقایسه میانگین‌ها نشان داد که این افزایش نزدیک به سه برابر بوده است. بالا بودن فعالیت این آنزیم در اقلیم نیمه‌مرطوب حاکی از تبعیت این آنزیم از رطوبت خاک و به تبع آن پوشش گیاهی بهتر و میزان مواد آلی بیشتر در اقلیم نیمه‌مرطوب می‌باشد که خود باعث تحریک و افزایش فعالیت میکروارگانیسم‌ها در خاک و افزایش محتوای آنزیمی خاک می‌شود (شکل ۱–الف). از لحاظ کاربری نیز کشت و کار باعث کاهش میزان فسفاتاز اسیدی گردیده و بالاترین میزان فسفاتاز اسیدی در شرایط عدم‌کشت مشاهده شده است که این میزان به طوری معنی‌داری (در سطح ۱٪) از میزان فسفاتاز اسیدی تحت کاربری لگوم و غلات بیشتر می‌باشد (افزایش نزدیک به ۲۷۰ درصد). این در حالی است که بین دو کاربری لگوم و غلات از لحاظ میزان اسید فسفاتاز اختلاف معنی‌داری وجود ندارد(شکل۱–ب). پایین بودن میزان آنزیم فسفاتاز تحت دو کاربری لگوم و غلات نسبت به شرایط عدم‌کشت در اقلیم نیمه‌مرطوب نشان از تاثیر منفی دخالت انسانی در اکوسیستم طبیعی و شرایط مطلوب خاک و به وجود آمدن تغییرات بیولوژیکی نامناسب می باشد. همچنین کشت و کار و عملیات خاک ورزی (بطورمثال عملیات شخم) باعث تسریع تجزیه‌ی مواد آلی و کاهش میزان مواد آلی در خاک می‌گردد که باعث کاهش جمعیت میکروبی در خاک و کاهش محتوی آنزیمی فسفاتاز می‌گردد(چاوشی وهمکاران، ۱۳۸۳).



شکل ۱ تغییرات فسفاتاز اسیدی در دو اقلیم متفاوت (الف) و تحت سه کاربری مختلف (ب).

در مجموع بالاترین میزان آنزیم فسفاتاز اسیدی در اقلیم نیمه‌مرطوب و شرایط عدم کشت و پایین ترین میزان آنزیم در اقلیم نیمه خشک و تحت کاربری لگوم مشاهده شده است (شکل۲-الف).



شکل۲: اثر متقابل اقلیم و کاربری بر فعالیت الف-فسفاتاز قلیایی، ب-فسفاتاز اسیدی خاک

در بررسی اثرخصوصیات فیزیکوشیمیایی بر میزان آنزیم فسفاتاز اسیدی، روابط همبستگی که به دست آمد، را می‌توان در رابطه زیر خلاصه نمود :

$$\text{Acid phosphatase} = 0.64^{**}\ \text{Organic C} - 0.21^{*}\ CaCO_3 + 0.18^{*}\ \text{Clay} + 0.35^{*}\ \text{Silt} + 0.16^{ns}\ \text{pH}$$

(**، * و ^{ns} به ترتیب معنی‌داری در سطح ۱ و ۵ درصد و غیرمعنی‌دار می‌باشد)

بین میزان آنزیم فسفاتازاسیدی و میزان کربن آلی خاک در سطح ۱٪ همبستگی مثبت معنی‌داری مشاهده شد. این همبستگی نشان می‌دهد که فعالیت آنزیم فسفاتاز تابع میزان کربن آلی خاک است. بنابراین در اقلیم نیمه‌مرطوب میزان آنزیم فسفاتازاسیدی نسبت به اقلیم نیمه خشک بیشتر بود. همچنین میزان آنزیم فسفاتاز اسیدی با میزان سیلت و رس همبستگی مثبت و با میزان کربنات‌کلسیم خاک همبستگی منفی معنی‌داری در سطح ۵٪ نشان داد. محققین بر این عقیده‌اند که بیشتر آنزیم‌های آزاد شده در ریزوسفر و خاک فقط برای مدت کوتاهی باقی می‌مانند و بلافاصله تجزیه می‌شوند مگر آنکه روی سطوح رسها و کلوئیدها جذب شده و یا به صورت کمپلکس با کلوئیدهای هومیک باشند. بنابراین میزان رس و سیلت خاک از طریق پایداری مولکول آنزیم فسفاتاز در خاک باعث افزایش فعالیت این آنزیم می‌شود(چاوشی و همکاران، ۱۳۸۳). اگرچه کربنات کلسیم موجود در خاک بر فراهمی فسفر آزاد شده از سوبستراهای آلی متاثر از فسفاتازهای اسیدی تاثیرگذار است و باعث تثبیت و کاهش فراهمی آن می‌شود اما

به نظر با اثراتی که حضور آهک در میزان pH خاک دارد، شرایط بهینه از نظر pH را برای فعالیت این آنزیم فـراهم نساخته و شاهد رابطه همبستگی منفی این دو نسبت به هم هستیم.

از طرف دیگر، نتایج این تحقیق در بررسی میزان تغییرات آنزیم فسفاتاز قلیایی، تحت اثرمتقابل دو اقلیم مذکورو سه کاربری مختلف نشان داد که بالاترین میزان آنزیم فسفاتاز قلیایی تحت کاربری لگوم و اقلیم نیمه خشـک مشـاهده است که شاید بتوان PH بالاتر خـاک در اقلـیم نیمـه خشـک را دلیـل ایـن امـر دانسـت (شـکل۲-ب). در بررسـی اثرخصوصیات فیزیکوشیمیایی بر میزان آنزیم فسفاتاز قلیایی خاک روابط همبستگی را می‌توان به صورت زیر خلاصه نمود :

$$\text{Alkaline phosphatase} = 0.76^{**}\ pH + 0.94^{**}\ Silt + 0.42^{*}\ Clay$$

در بررسی اثرخصوصیات فیزیکوشیمیایی بر میزان آنزیم فسفاتاز قلیایی، بین میزان آنـزیم فسـفاتاز قلیـایی و میـزان سیلت، pH خاک (در سطح ۱٪) و رس (در سطح ۵٪) همبستگی مثبت معنی‌داری مشاهده شد. همبستگی مثبت بین میزان آنزیم فسفاتاز قلیایی و pH خاک نشان می‌دهد که با افـزایش pH خـاک شـرایط بـرای فعالیـت ایـن آنـزیم مساعدتر شده است چرا که pH بهینه بر خلاف فسفاتازهای اسیدی (۶-۵) در محـدوده ۸ مـی‌باشـد. هماننـد آنـزیم فسفاتازاسیدی، ذرات رس و سیلت خاک از طریق پایداری مولکول آنزیم فسفاتاز درخاک باعث افزایش فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی شده است.

منابع

چاوشی ا، خادمی ح و نوربخش ف، ۱۳۸۳. اثر نوع کاربری اراضی و موقعیت زمـین‌نمـا بـر فعالیـت آنـزیم فسفاتاز قلیایی در خاک. مجله علوم کشاورزی. جلد۳۵، شماره ۳، ۷۵۱-۷۴۱.

Alikhan A, Jilani G, Akhtar MS, Saqlan Naqvi SM, Rasheed M, 2009. Phosphorus solubilizing bacteria: Occurrence, Mechanisms and their role in crop production. Agricultural biology Science 1(11): 48-58.

Amador JA, Glucksman AM, Lyons JB and Gorres J H, 1997. Spatial distribution of soil phosphatase activity within a riparian forest. Soil Science 162 (11): 808-823.

Tabatabai MA, Weave RW, Angle S, Bottomley P, Bezdicek D, Smith S, Tabatabai A, and Wollum A, 1994. Soil enzyme, Methods in soil Analysis, part 2: Microbiological and Biochemical properties.

Gee GW and Bauder JW, 1986. Particle size analysis. Methods of Soil Analysis. Part1, Physical and mineralogical methods. American Society Agronomy Publication. 383-411.

جداسازی و شناسایی باکتری‌های حل‌کننده فسفات از ریزوسفر کلم از روستای عقیلی واقع در شهرستان شوشتر

شعله عالی‌وند[1]، حسین معتمدی[2]، حسین نجف زاده[3]

۱-دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه شهید چمران اهواز، ۲-دانشیار گروه میکروبیولوژی، دانشگاه شهید چمران اهواز، ۳-دانشیار گروه علوم پایه، دانشگاه شهید چمران اهواز

مقدمه:

کمبود فسفر بعد از نیتروژن معمولاً به عنوان دومین عامل محدودکننده‌ی رشد گیاهان شناخته می‌شود که به دو فرم آلی و معدنی در خاک انباشته می‌شود(S.woo et al. 2010).فسفر در تکامل ریشه‌ها، استحکام، دوام ساقه، تشکیل گل-ها و دانه‌ها، بلوغ و تولید محصولات، تثبیت نیتروژن در لگوم، کیفیت محصولات و مقاومت نسبت به بیماری‌های گیاهان دخالت می‌کند (A.khan et al. 2009). فسفر یکی ازغیرمحرک‌ترین و غیرقابل دسترس‌ترین عناصر بوده، لذا در اکثر خاک‌ها باعث کاهش تولیدات کشاورزی می‌گردد. مقدار فسفر خاک از ۲ تا ۵ درصد نوسان داشته به همین دلیل، غلظت فسفر در یاخته‌های گیاهی بسیار اندک (حدود ۲ درصد) است (م.ملکوتی.۱۳۷۸). برای بهبود محصولات گیاهی روش مرسوم به کار بردن مقادیر زیادی کودهای فسفره در خاک است. ۹۰–۷۵ درصد کودهای فسفره مصرف شده در خاک در حضور Al وFe و Ca رسوب می‌کنند(P.Mahantesh. 2011). مصرف بی رویه‌ی کودهای فسفاته، گذشته از هزینه های ارزی گزاف جهت خرید کود از خارج از کشور، اثرات زیانباری نیز دارد. از جمله این اثرات می توان به مسمومیت فسفری ناشی از جذب بیش از حد فسفر معدنی و بالا رفتن غلظت آن در بافت‌های گیاهی و به هم خوردن تعادل عناصر غذایی، کاهش عملکرد محصول، کاهش جذب مس، غیر متحرک شدن آهن در خاک ، ممانعت از جذب آهن توسط ریشه، مختل کردن متابولیسم روی درون گیاه، آلودگی خاک به کادمیوم، تنزل کیفیت محصولات و آلودگی آب ها به فسفر را نام برد (M.Alam,2009). یکی از راه‌های تأمین فسفر مورد نیاز گیاهان بهره گیری از توان زیستی خاک و استفاده از میکروارگانیسم‌های حل کننده‌ی فسفات می‌باشد (Gyaneshwar). مدارکی مبنی بر نقش میکروارگانیسم‌های ریزوسفری در انحلال فسفات معدنی به سال ۱۹۰۳ برمی‌گردد (ساریخانی و همکاران.۱۳۹۰). میکروارگانیسم‌ها از طریق معدنی کردن فسفر آلی و انحلال فسفات‌های رسوب یافته فراهم سازی فسفر برای گیاهان را افزایش می‌دهند. باکتری‌ها، قارچ‌ها و اکتینومیست‌ها توانایی حل‌کنندگی را دارند اما باکتریها در مقایسه با قارچ‌ها و اکتینومیست‌ها در انحلال فسفر بسیار موثرترند و جمعیت بالایی را به خود اختصاص می‌دهند. مهم‌ترین باکتری‌های حل کننده‌ی فسفات از جنس سودوموناس و باسیلوس می باشند. این میکروارگانیسم‌ها با اکسیداسیون ناقص قندها و مواد پلی ساکاریدی که توسط ریشه گیاه ترشح می‌شوند، اسیدهای آلی مانند گلوکونیک اسید، اسید اگزالیک و اسید سیتریک تولید می‌نمایند (H.Han.2006). هدف از این پژوهش جداسازی و شناسایی باکتری‌های حل‌کننده فسفات از ریزوسفر کلم از روستای عقیلی واقع در شهرستان شوشتر و معرفی سویه برتر می‌باشد.

مواد و روشها

نمونه‌های خاک ریزوسفر کلم دربهمن ماه ۱۳۹۲ از ۳ ناحیه‌ی زمین کشاورزی واقع در روستای عقیلی شهرستان شوشتر جمع‌آوری شد و به آزمایشگاه تحقیقاتی میکروبیولوژی دانشکده علوم دانشگاه شهید چمران اهواز منتقل شد. برای غنی‌سازی و غربالگری باکتری‌های حل‌کننده فسفات از محیط کشت Pikovskayas broth و pikovskayasagar

استفاده شد. این محیط کشت به صورت سنتتیک می‌باشد که شامل گلوکز۱۰g، تری کلسیم فسفات ۵ g، آمونیوم سولفات ۰/۵g ، کلراید سدیم ۰/۲ g ، کلراید پتاسیم ۰/۲ g منیزیم سولفات ۰/۱g ، عصاره مخمر ۰/۵g، منگنز سولفات g ۰/۰۰۲، سولفات آهن۰/۰۰۲g و آگار ۱۵ g می‌باشد (C. Shekhar.1999). ۱۰ گرم از هر نمونه وزن شد و به ۹۰ میلی لیتر آب مقطر استریل اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دور۱۸۰ rpm شیک شد (L. Hui et al. 2011).۱میلی لیتر از مایع رویی برداشته شد و درون ارلن‌های حاوی محیط کشت غنی‌سازی ریخته شد، ارلن‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۰ درجه و دور۱۸۰ rpm انکوبه شدند. ۱۰۰ میکرولیتر از مایع رویی موجود در محیط براث برداشته شد و روی Pikovskayas agar کشت ۴ منطقه‌ای داده شد. پلیت‌ها در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت انکوبه شدند. نواحی شفاف اطراف کلنی نشاندهنده‌ی حضور باکتری‌های حل‌کننده فسفات می‌باشند. کلنی‌ها با هاله شفاف از محیط کشت جدا شدند و برای خالص‌سازی ۳ تا ۴ بار در محیط تازه کشت شدند. (v.Ramani. 2011).

تعیین شاخص (SI) و راندمان (PSE) حل‌کنندگی فسفات در جدایه‌ها: سویه‌های جدا شده را به صورت نقطه‌ای در مرکز محیط کشت Modified Pikovskayas کشت دادیم، پلیت‌ها در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ روز انکوبه شدند (v.Ramani. 2011). سپس قطر کلنی و قطر هاله شفاف اندازه گیری شد و با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (M.A.Qureshi et al. 2012).

[1] $SI= C+Z/C$ [2] $PES(\%) =[Z-C/C] \times 100$

Z: قطر هاله شفاف، C: قطر کلونی

شناسایی فنوتیپی جدایه‌های منتخب: در این مرحله از تست‌های بیوشیمیایی برای شناسایی جدایه‌های منتخب استفاده شد. از جمله تست‌های به کار رفته شامل رنگ آمیزی‌گرم، اسنات، لاکتوز، احیا نیترات، اکسیداز، کاتالاز، سیترات، تخمیر گلوکز، لایزین دکربوکسیلاز و۰۰۰بوده است.

قابلیت تثبیت‌کنندگی نیتروژن در جدایه‌های منتخب: به منظور بررسی این توانمندی در جدایه‌های منتخب از محیط کشت باکتریایی فاقد نیتروژن Dobereiner استفاده گردید. وجود ماده رنگزای برم تیمول‌بلو در این محیط باعث می‌شود تا در صورت داشتن فعالیت اسیدی رنگ محیط کشت از رنگ سبز به رنگ زرد تغییر یابد. جدایه‌های منتخب به صورت ۴ منطقه‌ای کشت داده شدند و پلیت‌ها به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند (J.Dobereiner et al. 1972).

نتایج:

غربالگری و جداسازی باکتری‌های حل‌کننده فسفات به واسطه ایجاد هاله شفاف در اطراف کلنی‌ها صورت گرفت. بعد از خالص سازی در حدود ۱۰ کلنی که از نظر مورفولوژی، سایز کلنی و رنگ کلنی متفاوت بودند جدا شدند.کلنی‌ها از نظر قابلیت حل‌کنندگی با یکدیگر مقایسه شدند. قطر کلنی و قطر کل (قطرهاله شفاف و قطر کلنی) بر حسب میلی متر اندازه گیری شد، شاخص حل‌کنندگی و تاثیر حل‌کنندگی فسفات برای معرفی جدایه‌های برتر محاسبه شد که در جدول ۱ نتایج آن نشان داده شده است.

جدول ۱:نتایج تأثیر حل‌کنندگی و شاخص حل‌کنندگی جدایه‌های ریزوسفر کلم

نام سویه	قطر کلنی	قطر هاله	شاخص حل‌کنندگی	تأثیر حل‌کنندگی
RK_{14}	۷	۱۱	۱/۵۷	۵۷
RK_{23}	۴	۹	۲/۲۵	۱۲۵
RK_{32}	۶	۱۱	۱/۸	۸۳/۳
RK_{31}	۹	۱۷	۱/۸	۸۸
RK_{12}	۶	۸	۱/۳	۳۳
RK_{13}	۴	۶	۱/۵	۵۰
RK_{26}	۹	۱۳	۱/۴	۴۴/۴
RK_{11}	۸	۱۱	۱/۵	۵۰
RK_{14}	۷	۱۱	۱/۵۷	۵۷/۱

جدایه‌هایی که قابلیت حل‌کنندگی بالاتری داشتند به عنوان جدایه‌های برتر انتخاب شدند. شناسایی بر اساس ویژگی-های بیوشیمیایی صورت گرفت. نتایج مربوط به بررسی خصوصیات فنوتیپی سویه‌های حل‌کننده‌ی فسفات در جدول ۲ نشان داده شده است. باتوجه به نتایج بدست آمده،۴ جدایه منتخب متعلق به جنس‌های کلبسیلا، ائروموناس و انتروباکتر می‌باشند.۲ جدایه‌ی Rk31 و RK14 *Aeromonas veronii* و ۲ جدایه‌ی RK_{32} و RK_{23} به ترتیب *Enterobacter pneumoniae* و *Klebsiella pneumoniae* نامگذاری شدند.

بحث:

باتوجه به نیاز ضروری سلول‌های زنده به فسفر توجه بیشتر پژوهشگران بر گونه‌های میکروبی فعال در زمینه تولید اسیدهای آلی، تولیدکننده فسفاتازها معطوف بوده است که با دست یابی به یک گونه‌ی مناسب بتوان از آن در حیطه-هایی چون کودهای بیولوژیک برای گیاهان و پروبیوتیک برای دام و طیور استفاده نمود (ساریخانی و همکاران.۱۳۹۰).

جدول۲:نتاج ویژگی‌های بیوشیمیایی برای جدایه‌های منتخب جدا شده از ریزوسفر کلم

Characteristic	RK_{14}	RK_{23}	RK_{32}	RK_{31}

باسیل	باسیل منظم	باسیل	باسیل نامنظم	مورفولوژی
منفی	منفی	منفی	منفی	تست گرم
مثبت	مثبت	مثبت	مثبت	تست اسنات
مثبت	منفی	منفی	مثبت	اکسیداز
مثبت	مثبت	مثبت	مثبت	کاتالاز
مثبت	مثبت	منفی	مثبت	احیانیترات
منفی	منفی	مثبت	منفی	متیل رد
مثبت	مثبت	منفی	مثبت	وژس پروسکوئر
منفی	منفی	منفی	منفی	اندول
مثبت	مثبت	مثبت	مثبت	سیترات
مثبت	مثبت	مثبت	منفی	لاکتوز
مثبت	–	–	مثبت	تخمیر گلوکز
مثبت	مثبت	منفی	مثبت	حرکت
–	مثبت	مثبت	–	لایزین دکربوکسیلاز
مثبت	مثبت	مثبت	مثبت	تثبیت‌کنندگی‌نیتروژن

تمامی باکتری‌های جدا شده در این پژوهش توانایی حل‌کنندگی تری کلسیم فسفات را به عنوان منبع فسفر نامحلول داشته‌اند، که ۴ باکتری به عنوان باکتری‌هایی با قابلیت حل‌کنندگی بالا معرفی شدند، که *Klebsiella pneumoniae* بیشترین تأثیر حل‌کنندگی را نسبت به ۳ جدایه‌ی دیگر داشته است. پژوهشگران زیادی در زمینه جداسازی و شناسایی باکتری‌های حل‌کننده فسفات تحقیقاتی انجام داده‌اند، از جمله Sung-manwoo و همکاران (۲۰۱۰) باکتری‌های حل-کننده فسفات را از ریزوسفر کلم در چین جداسازی و شناسایی کردند. سویه‌ها را براساس توانایی آن‌ها در حل‌کنندگی تری کلسیم فسفات نامحلول در کشت مایع غربال‌گری کردند، سویه‌هایی با قدرت حل‌کنندگی بالا به عنوان جدایه منتخب انتخاب شدند که به جنس *Pseudomonas* تعلق داشتند. Liu Hui و همکاران(۲۰۱۰) فسفوباکتری‌ها را از ریزوسفر درخت صنوبر از نواحی مختلف کشور چین جداسازی و شناسایی کردند و به این نتایج دست یافتند که بیشترین توان حل‌کنندگی فسفر به سروتیپ‌هایی از *Bacillus cereus*، *Bacillus subtilis*و *Pseudomonas*

fluorescence تعلق داشتند. بنابراین می‌توان با جداسازی و شناسایی باکتری‌های بومی و معرفی سویه‌های برتر، از آن‌هادر جهت تولید کودهای بیولوژیک استفاده کرد. بدون تردید کاربرد کودهای بیولوژیک علاوه بر اثرات مثبتی که بر کلیه خصوصیات خاک دارد از جنبه‌های اقتصادی، زیست محیطی و اجتماعی نیز مثمر ثمر واقع شده و می‌تواند به عنوان جایگزینی مناسب و مطلوب برای کودهای شیمیایی باشند.

منابع:

ملکوتی م ج، ۱۳۷۸. کشاورزی پایدار و افزایش عملکرد با بهینه‌سازی مصرف کود در ایران. نشر آموزش کشاورزی. ص: ۴۸.

ساریخانی، م ر.، ملبوبی، م ع و اصغرزاده، ن ع،۱۳۹۰. باکتری‌های حل‌کننده فسفات: جداسازی باکتری‌ها و ژن‌های رمز کننده حل‌کنندگی فسفات. دوازدهمین کنگره علوم و خاک ایران. دانشگاه تبریز، تبریز.

Alam MM and Ladha JK, 2004. optimizing phosphorus fertilization In an intensive vegetable-rice cropping system. biology fertility of soils 40(4):277-283.

Dobereiner J, Day JM and Dart pj, 1972. Nitrogenase Activity and Oxygen Sensitivity of the *Paspalurnnotatum-Azotobacterpaspa Ii* Association. Journal ofGeneral Microbiology 71(1):103-116.

Gyaneshwar P, Kumar GN, Parekh LJ and Poole PS, 2002. Role of microorganisms in improving P nutrient of plants. Plant Soil 245(1): 83–93.

Han HS and Lee KD, 2006. Effect of co- inoculation withphosphate and potassium solubilizing bacteria on mineral uptake and growth ofpepper and cucumber. Plant Soil Environ 52(3):130-136.

Khan A, Gholam J, Akhtar M, Naqvi Syed M and RasseedM, 2009. Phosphorus SolubilizingBacteria: Occurrence,Mechanisms and their Role in Crop Production. Research journal ofAgriculture and Biological science 1(1):48-58.

Mahantesh P and Patil CS, 2011. Isolation and biochemical characterization ofphosphate solubilizing microbes. International Journal of Microbiology Research 3(1):67-70.

Nautiyal CS, 1999. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. Federation of European Microbiological societies 170(1): 265-270.

Qureshi MA, Ahmad ZA, Akhtar N, Iqbal A and Shakir MA, 2012. Role phosphate solubilizing bacteria (PSB) in enhancing pavail ability and promoting cotton growth. The Journal of Animal & Plant Sciences 22(1):204-210.

Ramani V, 2011. Effect of pesticides on phosphate solubilization by Bacillus sphaericusandPseudomonascepacia. Pesticide Biochemistry and Physiology 99(3): 232–236.

Woo s, Lee M, Hong In-Soo H, Poonguzhali S and Sa To M, 2010. Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria from Chinese cabbage. 2010 19th World Congress of Soil Science, Soil Solutions for aChanging World 1 – 6 August 2010, Brisbane, Australia. Published on DVD361- 763.

پاسخ عملکرد برنج به باکتری های سودوموناس فلورسنت و مقادیر مختلف کود اوره

محمود رضا رمضانپور
عضو هیات علمی بخش تحقیقات خاک و آب مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی مازندران

مقدمه

برنج یکی از منابع مهم کربوهیدرات ارزان برای بسیاری از مردم جهان، در کشور های مختلف است. در ایران بیش از 630 هزار هکتار در سال برنج کشت می شود که تولید آن در سال حدود 2/1 میلیون تن می باشد. مازندران، گلستان و گیلان از مهم ترین مناطق کشت برنج در ایران می باشد (بی نام، 1388).

باکتری های محرک رشد گیاه (Plant growth promoting rhizobacteria:PGPR) به گروه نامتجانسی از باکتری های ریزوسفری اطلاق می شود که با استفاده از یک یا چند مکانیسم خاص موجب بهبود شاخص های رشد و نمو گیاه می گردند (بنی هاشم و همکاران، 1388).

باکتری های جنس سودوموناس به دلیل توزیع گسترده آنها در خاک، توانایی کلونیزاسیون ریزوسفر بسیاری از گیاهان و تولید طیف متنوعی از متابولیت ها از اهمیت ویژه ای برخوردارند. از مهمترین صفات محرک رشد گیاه، توان حل کنندگی فسفات، تولید اکسین ، تولید سیدروفور و تولید آنزیم ACC دی آمیناز توسط آنها است که توسط محققین گزارش شده است (رشید و همکاران، 2004 و رمضانپور، 2009). تاثیر باکتری های مذکور در افزایش عملکرد غلات از جمله برنج مورد تایید قرار گرفته است (یانی و همکاران، 1997 و بیسواس و همکاران، a,b 2000). تلقیح بذر ارقام مختلف برنج با سودوموناس فلورسنت های با توان تولید اکسین، عملکرد دانه، اجزاء عملکرد و جذب عناصر غذایی را در گیاه و دانه برنج افزایش می دهد (رمضانپور و همکاران، 2010). با توجه به اثرات مثبت باکتری های فلورسنت در تولید اکسین و تولید انزیم ACC دی آمیناز، آزمایشی برای بررسی تاثیر این باکتری ها و مقادیر مختلف کود اوره طراحی نمودیم تا ببینیم آیا این باکتری ها در کاهش مصرف کود اوره موثر هستند.

مواد و روشها

آزمایش مزرعه ای به صورت فاکتوریل، براساس طرح پایه بلوکهای کامل تصادفی در سه تکرار در سال 1390 در ایستگاه تحقیقات کشاورزی دشت ناز در ساری انجام پذیرفت. فاکتور تلقیح باکتری شامل:B0، سودوموناس فلورسنس= B1 و سودوموناس پوتیدا= B2 و فاکتور مصرف کود اوره شامل:، N1= بر اساس آزمون خاک (160 کیلو در هکتار)، N2= 25 درصد کمتر از آزمون خاک (125 کیلو). N3= 50 درصد کمتر از آزمون خاک (80 کیلو)بود.

قبل از اجرای آزمایش از خاک مزرعه نمونه برداری و خصوصیات شیمیایی آن اندازه گیری شد. کودهای ازته و پتاسه مورد نیاز را بر اساس تیمارهای آزمایش و آزمون خاک در 3 مصرف شد. 1/3 از اوره و پتاسیم و تمام کود سوپر فسفات مورد نیاز و باقی مانده اوره و پتاسیم را 1/3 در مرحله پایان پنجه زنی و 1/3 در مرحله 50٪ گلدهی مصرف شد. ریشه نشاء برنج رقم طارم پس از تلقیح با سویه‌های مورد نظر در کرتهای مخصوص طراحی شده در آزمایش کاشته شدند. در مرحله برداشت عملکرد دانه، وزن هزار دانه و وزن اندام هوایی اندازه‌گیری شد. داده‌های بدست آمده با نرم افزار MSTATC مورد تجزیه و تحلیل آماری قرارگرفت.

نتایج و بحث

نتایج آزمایش نشان داد که بین تیمارهای مصرف کود اوره در سطح 5 درصد اختلاف معنی داری وجود داشت. تاثیر تلقیح باکتری های سودوموناسه باعث اختلاف معنی داری در سطح پنج درصد نشان داد. اثر متقابل مصرف کود سوپر فسفات تریپل و باکتری ها هم در سطح پنج درصد معنی دار شد. بیشترین عملکرد از اثر متقابل سودوموناس پوتیدا و مصرف 160 کیلو گرم اوره بود که نسبت به عدم تلقیح باکتری و همین مقدار کود 2بیش از 23 ٪ افزایش محصول داشتیم و در شرایط کمترین مقدار کود اوره بش از 2/5 برابر افزایش محصول که این خود نشان از توان باکتری های محرک رشد در افزایش محصول و بالا بردن راندمان کارایی کود ازت دارد.

جدول1- تاثیر باکتری های سودوموناسه و کود اوره بر عملکرد دانه برنج (کیلو گرم در هکتار)

تیمارها	B0	B1	B2	میانگین اثرات اصلی کود اوره
N80	2433G	F3667	3933F	C3344
N120	3733F	E4433	4867D	B4344
N160	5333C	B6000	A6567	A5967
میانگین اثرات اصلی باکتری	C3833	B4700	A5122	

نتایج آزمایش نشان داد که بین تیمارهای مصرف کود اوره در سطح 5 درصد از لحاظ وزن هزار دانه اختلاف معنی داری بود. و با افزایش میزان اوره وزن هزار دانه نیز افزایش یافت. تاثیر تلقیح باکتری های سودوموناسه نسبت به عدم تلقیح باکتری، اختلاف معنی داری در سطح پنج درصد نشان داد. اثر متقابل مصرف کود سوپر فسفات تریپل و باکتری ها هم در سطح پنج درصد معنی دار شد. بیشترین وزن هزار دانه از اثر متقابل سودوموناس پوتیدا و مصرف 160 کیلو گرم کود اوره حاصل شد که نسبت به عدم تلقیح و همین مقدار کود بیش از 12/5 ٪ افزایش نشان داد و نسبت به میزان 50 ٪ کمتر کود اوره 6 گرم افزایش وزن هزار دانه داشتیم. چنانچه میدانیم ازت به عنوان گلو گاه رشد باعث افزایش عملکرد و خصوصیات رشدی گیاه می گردد.

جدول2- تاثیر تاثیر باکتری های سودوموناسه و کود اوره بر وزن هزار دانه برنج (گرم)

تیمارها	B0	B1	B2	میانگین اثرات اصلی کود اوره
N80	22/00E	24/90D	25/71F	24/20C
N120	24/97D	26/61BC	27/17D	26/25B
N160	25/33D	27/67AB	28/50A	27/17A
میانگین اثرات اصلی باکتری	24/10C	26/39B	27/12A	

نتایج آزمایش نشان داد که بین تیمارهای مقادیر مختلف کود اوره در سطح 5 درصد از لحاظ وزن تر اندام هوایی اختلاف معنی داری وجود داشت. با افزایش مقدار کود وزن تر اندام هوایی افزایش یافت. تاثیر تلقیح

باکتری های سودوموناسه نسبت به عدم تلقیح باکتری، اختلاف معنی داری در سطح پنج درصد نشان داد. اثر متقابل مصرف کود اوره و باکتری ها هم در سطح پنج درصد معنی دار شد. بیشترین وزن تر اندام هوایی از اثر متقابل سودوموناس پوتیدا و مصرف 160 کیلو گرم کود اوره حاصل شد که نسبت به عدم تلقیح در همین مقدار کود نزدیک به 29٪ افزایش وزن تر اندام هوایی داشتیم که وقتی باکتری باعث افزایش راندمان تولید می شود در نتیجه اندام هوایی افزایش یافته و کلروفیل سازی در گیاه بهبود یافته که اینها باعث افزایش عملکرد می گردد.

جدول3- تاثیر باکتری های سودوموناس و کود اوره بر وزن تر اندام هوایی (کیلو گرم بر هکتار)

تیمارها	B0	B1	B2	میانگین اثرات اصلی کود اوره
N80	8300G	G8733	9730F	C8921
N120	11800E	DE12430	D12800	B12340
N160	14600C	B15770	A18830	A16400
میانگین اثرات اصلی باکتری	C11570	B12310	A13790	

منابع

بنی هاشم، ف.، 1388. بررسی تاثیر باکتری های سودوموناسه با توانایی تولید اکسین بر خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه برنج رقم ندا (*Oryza sativa* L.). پایان نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی. دانشگاه آزاد اسلامی – واحد گرگان. 141 صفحه .

بی نام.، 1388. آمار نامه کشاورزی، جلد اول: محصولات زراعی و باغی (86- 1385). نشریه شماره 88/09 دفتر آمار و فن آوری اطلاعات معاونت برنامه ریزی و اقتصاد وزارت جهاد کشاورزی، تهران.

Biswas JC, Ladha JK, and Dazzo FB, 2000a. *Rhizobia* inoculation improves nutrient uptake and growth of lowland rice. Soil Sci. Soc. America J., l 64: 1644–50.

Biswas JC, Ladha JK, Dazzo FB, Yanni YG, and Rolfe BG, 2000b. Rhizobial inoculation influences seedling vigor and yield of rice. Agron. J. 92: 880-886.

Ramezanpour MR, 2009. Identification of phosphate solubilizing Pseudomonas sp. of rice rhizosphere based on 16S rDNA genotyping. Middele – East J. Sci. Res., 4 (4): 348-353.

Ramezanpour MR, Popov Y, Khavazi K and Asadi Rahmani H, 2010. Genetic Diversity and Efficiency of Indole Acetic Acid Production by the Isolates of Fluorescent Pseudomonads from Rhizosphere of Rice (Oryza sativa L.). American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci. 7 (1): 103-109.

Rashid M, Khalil S, Ayub N, Alam S, and. Latif F, 2004. Organic acids production and phosphate solubilization by phosphate solubilizing microorganisms (PSM) under in vitro conditions. Pak J Biol Sci. 7:187–196.

Yanni, YG, Rizk, RY, Corich V, Squartini A, Ninke K, Philip-Hollingsworth S, Orgambide G, de Bruijn F, Stoltzfus J, Buckley D, Schmidt TM, Mateos PF, Ladha JK, Dazzo FB, 1997. Natural endophytic association between *Rhizobium leguminosarum* bv. trifolii and rice roots and assessment of its potential to promote rice growth. Plant Soil. 194: 99-114.

اثر بقایای آلی مختلف بافعالیت کرم خاکی *Eisenia foetida* برشاخص بیولوژیکی کیفیت خاک

سارا اجلالی [۱] ، میر حسن رسولی صدقیانی [۲]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه ،۲- دانشیار گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

مقدمه

امروزه استفاده از بیوتکنولوژی خاک با هدف بهره گیری از پتانسیل ارگانیسم های مفید خاکزی به منظور تولید حداکثر محصول، ودرضمن توجه به بهبود کیفیت خاک و رعایت بهداشت و ایمنی محیط زیست مورد توجه قرار گرفته است (صالح راستین، ۱۳۷۷). بی مهرگان خاکزی از قبیل کرم خاکی نقش برجسته و مهم در فرآیندهای فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک در انواع اکوسیستم های طبیعی و کشاورزی ودر نتیجه رشد گیاه ایفا می کنند (Boyer و Micellon، ۱۹۹۱). کرم های خاکی به عنوان شاخص کیفیت خاک در اکوسیستم های کشاورزی می باشند، زیرا همبستگی مثبت بین فراوانی کرم های خاکی و حاصل خیزی گیاهان کشت شده وجود دارد (Boyer وهمکاران، ۱۹۹۱). بنابراین با شناخت عوامل موثر برروشد وپویائی جمعیت کرم های خاکی و بهره گیری صحیح از ظرفیت آنها در بهبود شرایط محیط رشد گیاه می توان در جهت افزایش حاصل خیزی خاک و همچنین کیفیت و سلامت خاک گام های موثری برداشت. یکی از مهمترین محدودیت خاک های مناطق خشک و نیمه خشک پایین بودن میزان مواد آلی است (Raiesi، ۲۰۰۶). فعالیت میکروبی و فرآیندهای بیوشیمیایی خاک در مناطق خشک و نیمه خشک اغلب به دلیل پایین بودن سطح ماده آلی با محدودیت کربن روبروست، زیرا مواد آلی خاک منبع غذا وانرژی برای ریز جانداران وهمچنین کرم های خاکی می باشند(Palm وهمکاران، ۲۰۰۱). ازطرف دیگر کمبود مواد آلی یک فاکتور محدود کننده مهم در تکثیر و فعالیت کرم های خاکی به ویژه در خاکهای مناطق خشک و نیمه خشک به شمارمی آید (آچوتان و همکاران، ۲۰۰۵) بنابراین می توان با مدیریت صحیح بقایای گیاهی باعث افزایش کربن آلی خاک، افزایش پایداری خاکدانه ها، افزایش زیست فراهمی عناصر غذایی و تشدید فعالیت های زیستی خاک شود (Palm، ۲۰۰۱؛ Martens،۲۰۰۰) و همچنین با مصرف مواد آلی حتی در مقادیر پایین در این خاکها باعث حفظ و ازدیاد کرم های خاکی می شود. حضور کرم های خاکی حاصلخیزی خاک، زندگی و فعالیت ریز جانداران فعال و همچنین فعالیت آنزیم های خاک (سرعت واکنش های بیوشیمیایی) را می توا ند تحت تاثیر قرار دهد (Haynes وFraser، ۱۹۹۸؛ Edwards ،۲۰۰۴).ازجمله شاخص بیولوژیکی تنفس خاک است که یکی از قدیمی ترین ومتداول ترین پارامترهای بیولوژیک مورد استفاده در سنجش فعالیت های میکروبی می باشد (kieft وRosacher،۱۹۹۱) ومشخص ترین علامت معدنی شدن ماده آلی و بقایای گیاهی در خاک توسط فعالیت میکروبی می باشد(Kennedy وPapendick،۱۹۹۵). ازاین رو کرم های خاکی یکی از نیروهای محرکه برای ادامه ی فعالیت میکروبی خاک و درنتیجه افزایش کیفیت بیولوژیکی و بالطبع فیزیکوشیمیایی خاک می باشد(Roldan وCaravaca،۲۰۰۳) به عبارت دیگر حضور کرم های خاکی سبب تحریک جمعیت میکروبی و افزایش تنفس

خاک رابه دنبال دارد.ازسوی دیگر تجزیه و تحلیل سیوتار(۲۰۰۸) نشان می دهد که علاوه بر مقدار موادآلی،کیفیت بقایای آلی اضافه شده به خاک جزو متغییرهای مهم برای فراوانی ودرنتیجه فعالیت کرم های خاکی می باشد. ازآنجا که شاخص های بیولوژیکی دربرابرتغییر شرایط محیط عکس العمل نشان می دهندتوسط این شاخصها می توان به تنزل کیفیت خاک پی برده و از طرف دیگراستفاده از پتانسیل موجودات خاکزی از جمله کرم خاکی به عنوان کود بیولوژیک می تواند در جهت افزایش حاصل خیزی و باروری خاک و بالا بردن کیفیت خاک تاثیر بسزایی داشته باشد. هدف از این پژوهش بررسی اثر برخی بقایای آلی همراه کرم خاکی *Eisenia foetida* برمعدنی شدن کربن آلی بود.

مواد و روشها

این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی باپنج تیمار در سه تکرار(۱۵ گلدان)در شرایط گلخانه اجرا گردید.تیمارها شامل چهار نوع بقایای آلی مختلف (کمپوست، بقایای هرس درخت سیب و انگور،کاه وکلش گندم وضایعات عرقیات بادرنجبویه) به همراه یک تیمار بدون ماده آلی به عنوان شاهد بودند. در ابتدا به روش نمونه برداری تصادفی، از عمق ۳۰-۰سانتی متر، نمونه خاک تهیه واز الک ۵ میلی متری عبور داده پس از مخلوط کردن تمام خاک الک شده، ۴ کیلوگرم خاک به همراه بقایای آلی (۱,۵ درصد) به گلدان ها اضافه وبا خاک مخلوط شد. ۳۰ عدد کرم خاکی از نوع *Eisenia foetida* به گلدان ها اضافه شد. در طول مدت آزمایش رطوبت درحدظرفیت زراعی ازطریق آبیاری گلدانها به فاصله هردوروز یک بار تنظیم گردید.پس ازگذشت۱۲۰ روز ازشروع آزمایش خاک درون هر گلدان به طور کامل خارج و معدنی شدن کربن آلی یا همان تنفس میکروبی به عنوان شاخص فعالیت کرم خاکی و تجزیه پذیری موادآلی به روش آندرسون اندازه گیری شد. تجزیه و تحلیل داده ها شامل تجزیه واریانس با نرم افزارspss و مقایسه میانگین به روش LSDدرسطح احتمال ۵درصدانجام گردید.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان می دهد که اضافه کردن بقایای آلی به خاک با حضور فعالیت کرم های خاکی افزایش معنی دار معدنی شدن کربن را به همراه دارد(جدول۱) که نشان دهنده اثر مثبت مواد آلی بر فعالیت کرم خاکی در مقایسه با خاک شاهد بدون افزودن موادآلی می باشددر واقع کرم های خاکی در خاک شاهد که هیچ موادآلی به آن افزوده نشده بود فعالیت کمتری داشته اند.در خاک تیمار شده با کمپوست بیشترین معدنی شدن کربن را نشان میدهد. ازنتایج این آزمایش چنین استنباط می شود که کیفیت بقایای آلی در دلپذیری و مطبوع به ذائقه بودم آنها هنگام بلعیدن ومصرف آنها توسط کرم خاکی موثر است،به عبارت دیگر کرم های خاکی بقایای آلی با کیفیت بهتر (C/N پایین)را برای تغذیه ترجیح می دهند (ادواردس،۲۰۰۴).

جدول۱- نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین اثرات بقایای آلی بر معدنی شدن کربن آلی خاک ($mgCO_2$-C/Kg day)

بقایای آلی	معدنی شدن کربن آلی ($mgCO_2$-C/Kg day)
شاهد	c ۳۲,۲۶
کمپوست	a ۷۳,۳۳
کاه و کلش گندم	a ۵۵,۷۳
بادرنجبویه	b ۵۱,۳۳
هرس	b ۵۰,۶۰

منبع تغییر	SS	df	MS	F
بقایای آلی	۲۴۹۶,۱۴۹	۴	۶۲۴,۰۳۷	۲۳,۰۲۴ ***

*** نشان دهنده ی معنی دار بودن در سطح ۰,۱درصد است.

حروف بالانویس بر روی هر عدد نشان دهنده اختلاف آماری (P≤۰/۰۵) در هر ردیف می‌باشند.

میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری (P≤۰/۰۵) ندارند.

منابع

Anderson T.H. and Domsch K.H. 1990. Application of eco-physiological quotients (*q*CO2 and *q*D) on microbial biomass from soils of different cropping histories. Soil Biology and Biochemistry, 22:251-255

Boyer J., Micellon R., Chabanne A., Reversat G., and Tiber R. 1991. Effect of terfoli cover crop and earthworm inoculation on maize crop and soil organisms in Reunion Island. Biology and Fertility of Soils, 28: 364-370

Caravaca, F. & Roldan A. 2003. Effect of *Eisenia foetida* earthworms on mineralization kinetics,microbial biomass, enzyme activities, respiration and labile C fractions of three soils treated with acomposted organic residue. Biol Fertil Soils 38:45–51.

Edwards, C. A. 2004. Earthworm Ecology. 3rd edition. CRC Press, Boca Raton, FL. 44p.

Haynes,R.J.,& Fraser, P.M.1998.A comparison of aggregater stability and biological activity in earthworm casts and uningested soil as affected by amendment with wheat or Lucerne straw. Soil Sci.49:629-636.

Kennedy A.C., and Papendick R.I. 1995. Microbial characteristics of soil quality. Soil and Water Conservation Journal, 50: 243–248.

Martens D.A. 2000. Plant residue biochemistry regulates soil carbon cycling and carbon sequestration. Soil Biology and Biochemistry, 32:361-369**.**

Palm C.A., Gachengo C.N., Delve R.J., Cadisch G., and Giller K.E. 2001. Organic inputs for soil fertility management in tropical agroecosystems: application of an organic resource database. Agriculture, Ecosystems and Environment, 83:27-42.

Raiesi F. 2006. Carbon and N mineralization as affected by soil cultivation and crop residue in a calcareous wetland ecosystem in Central Iran. Agriculture, Ecosystems and Environment, 112:3-20

Raiesi F., and Asadi E. 2006. Soil microbial activity and litter turnover in native grazed and ungrazed rangelands in a semiarid ecosystem. Biology and Fertility of Soils, 43: 76–82.

Raiesi F. 2007. The conversion of overgrazed pastures to almond orchards and alfalfa cropping systems may favor microbial indicators of soil quality in Central Iran. Agriculture, Ecosystems and Environment, 121: 309–318.

Raiesi F. 2006. Carbon and N mineralization as affected by soil cultivation and crop residue in a calcareous wetland ecosystem in Central Iran. Agriculture, Ecosystems and Environment, 112:3-20.

Suthar.S.2008.Earthworm communities a bioindicator of arable land on management practices:A cast study in semiarid region of India.Ecological Indicators.9:588-594

اثر قارچ *Glomus etunicatum* و باکتری *Azospirillum irakense* بر ویژگی‌های رشد و درصد روغن دانه گلرنگ در سطوح مختلف شوری

رضا احمدپور[1]، ناصر علی‌اصغرزاد[2] و صدیف آزادمرد دمیرچی[3]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

۲- استاد، گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

۳- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

مقدمه

روغن یکی از محصولات راهبردی در کشور است که بخش عمده‌ای از آن از طریق واردات تامین می‌شود. گیاه گلرنگ با نام علمی *Carthamus tinctorius* L. یکی از گیاهان دانه روغنی است که با شرایط آب و هوایی اغلب مناطق کشور سازگاری دارد. تنش شوری یکی از مهمترین تنش‌های محیطی است که تولیدات کشاورزی را در ایران با محدودیت مواجه ساخته است. در سال‌های اخیر با توجه به کاهش آب دریاچه ارومیه بسیاری از خاک‌های زراعی و باغی شهرهای حاشیه این دریاچه در منطقه آذربایجان بیش از پیش با مشکل شوری مواجه گردیده‌اند و از اینرو کشت گیاهان متحمل به تنش‌های محیطی نظیر گلرنگ در این مناطق در حال گسترش است. یکی از عوامل موثر در دست یافتن به عملکرد مطلوب در گیاه گلرنگ تغذیه مناسب می‌باشد و در میان عناصر غذایی نیتروژن و فسفر نقش مهمی را دارا می‌باشند. با توجه به اثرات زیست محیطی مصرف کودهای شیمیایی وآلودگی‌های ناشی از آبشویی این کودها امروزه کاربرد کودهای زیستی و میکروارگانیسم‌ها در کشاورزی رونق بسیاری یافته است. تعداد زیادی میکروارگانیسم مفید در خاک وجود دارد که قادر به اعمال تأثیرات مفید در رشد گیاه هستند (وسی، ۲۰۰۳). میرزاخانی و همکاران(۲۰۰۹) اثر تیمار باکتری *Azotobacter* و قارچ میکوریزی را در سطوح مختلف کود نیتروژن و فسفر بر روی گیاه گلرنگ بررسی و مشاهده کردند که مایه-زنی بذرها در زمان کشت با این دو کود زیستی موجب افزایش ۶/۱۳ درصدی عملکرد نسبت به تیمار شاهد شد. همچنین میرزایی و همکاران(۲۰۱۰) گزارش کردند مایه‌زنی گلرنگ با *Azotobacter* و *Azospirillum* در سطوح مختلف کود نیتروژن موجب افزایش ۳۵ درصدی در عملکرد و ۲۱ درصد در اجزای عملکرد گردیده است. امروزه مدارک و شواهد زیادی موجود است که نشان می‌دهد جمعیّت میکروب‌های مفید می‌توانند بردباری گیاه به تنش‌های محیطی را افزایش دهند (شن، ۱۹۹۷). نقش میکروارگانیسم‌های مفید در تولید گلرنگ در شرایط تنش شوری کمتر مورد توجه محققان قرار گرفته است. بنابراین این تحقیق، با هدف بررسی اثرات میکروارگانیسم‌ها بر عملکرد و درصد روغن دانه گلرنگ صورت گرفت.

مواد و روشها

این آزمایش به صورت فاکتوریل با دو سطح قارچ (F0 :عدم مایه‌زنی با قارچ، F1 :مایه‌زنی با قارچ *Glomus etunicatum*)، دو سطح باکتری (A0: عدم مایه‌زنی با باکتری، A1: مایه‌زنی با باکتری *Azospirillum irakense*) و سه سطح شوری شامل شوری ۱/۵، ۷/۵ و ۱۰ دسی زیمنس بر متر (به ترتیب S0، S1 و S2) در

قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز به صورت گلخانه‌ای اجرا گردید. خاک مورد نیاز برای این آزمایش با بافت لومی شنی از ایستگاه تحقیقاتی خلعت پوشان از عمق ۲۵-۰ cm برداشت شده و پس از عبور از الک ۴ mm در اتوکلاو استریل شد. برای تیمارهای قارچی ۷۰ گرم زادمایه به صورت یک لایه نازک در عمق ۵ سانتی متری از سطح خاک و برای تیمارهای باکتری زادمایه باکتری با حامل پرلیت به صورت یک لایه نازک در هر گلدان زیر بذر قرار گرفته و سپس روی آن خاک اضافه شد. پس از اعمال تیمارهای میکروبی بذور ضدعفونی شده گلرنگ به تعداد ۵ بذر در هر گلدان کشت شد. رطوبت تمامی گلدان‌ها در سطح رطوبت ۰/۹FC تنظیم شد و با توجه به جدول نیازهای کودی و آزمون خاک، K به همه گلدان‌ها بطور یکنواخت اضافه گردید.

برای اعمال تیمارهای شوری محلول هایی از NaCl، با ECهای ۷,۵ و ۱۰ دسی زیمنس بر متر با استفاده از رابطه تجربی [۱] تهیه و برای جلوگیری از ایجاد شوک در گیاه در طی دو مرحله به فواصل ۵ و ۱۰ روز پس از جوانه‌زنی اعمال شد.

$$EC\,(dS/m)\times 640 = TSS\,(mg/L) \qquad [۱]$$

که در این معادله EC هدایت الکتریکی و TSS مقدار کل نمک‌های محلول می‌باشد.

پس از اتمام دوره رشد و رسیدگی دانه، دانه ها جدا شده و عملکرد دانه به ازای هر گلدان اندازه‌گیری شد. مقدار روغن دانه گلرنگ به روش استخراج پیوسته سوکسله و بکارگیری حلال اتر نفت اندازه‌گیری شد (حسینی،۱۳۷۸).

نتایج و بحث

مقایسه میانگین داده‌ها اثر سطوح مختلف شوری، مایه‌زنی با باکتری و قارچ بر عملکرد دانه را در سطح ۱٪ معنی‌دار نشان داد اما هیچ یک از اثرات متقابل آنها اثر معنی‌داری بر عملکرد دانه نداشت (جدول۱).

جدول۱- تجزیه واریانس اثر شوری، باکتری، قارچ و اثرات متقابل آنها بر عملکرد دانه، درصد روغن و غلظت فسفر بخش هوایی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		عملکرد دانه	درصد روغن	غلظت فسفر بخش هوایی
شوری	۲	۰/۵۸۷**	۶۱/۹۲۶**	۰/۰۰۵^{ns}
باکتری	۱	۰/۱۱۳**	۳۲/۵۵۵**	۰/۰۰^{ns}
قارچ	۱	۰/۰۹۸**	۸۶/۱۶۲**	۰/۰۷۶*
شوری*باکتری	۲	۰/۰۰۱^{ns}	۳/۲۹۶^{ns}	۰/۰۱۰^{ns}
شوری*قارچ	۲	۰/۰۰۲^{ns}	۲/۰۴۸^{ns}	۰/۰۰۴^{ns}
باکتری*قارچ	۱	۰/۰۰^{ns}	۱۶/۵۵۶*	۰/۰۰۱^{ns}
شوری*باکتری*قارچ	۲	۰/۰۰^{ns}	۲/۸۳۶^{ns}	۰/۰۰۹^{ns}
اشتباه آزمایشی	۳۳	۰/۰۱۳	۲/۳۴۱	۰/۰۰۷

** معنی دار در سطح احتمال ۱٪، * معنی دار در سطح احتمال ۵٪، ns غیر معنی دار

شوری باعث کاهش و مایه زنی با باکتری و قارچ موجب افزایش عملکرد دانه شد. میرزاخانی و همکاران (۲۰۰۹) افزایش معنی‌دار عملکرد در گیاه گلرنگ در اثر مایه‌زنی همزمان گلرنگ با قارچ میکوریزی و باکتری *Azospirillum* در سطوح مختلف فسفر و نیتروژن را گزارش کردند. افزایش عملکرد دانه در اثر کاربرد تیمارهای میکروبی در اثر افزایش دسترسی عناصر غذایی و افزایش تعداد بذر بود.

اثر سطوح مختلف شوری، مایه‌زنی با باکتری و قارچ بر درصد روغن دانه نیز در سطح ۱٪ معنی‌دار بود اما در بین اثرات متقابل تنها اثر متقابل قارچ*باکتری در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بود (جدول۱).

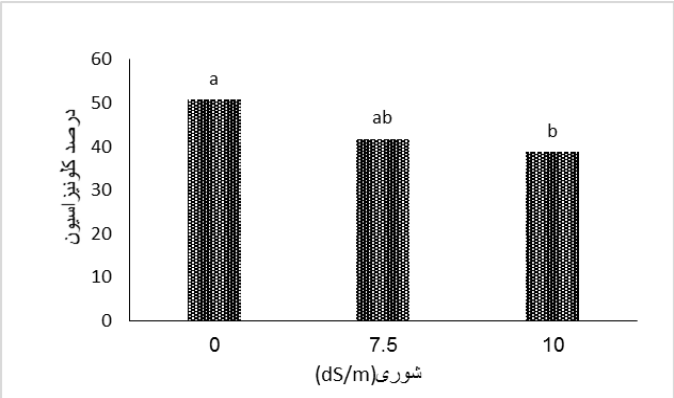
هر دو تیمار قارچ و باکتری موجب افزایش درصد روغن دانه شدند. میرزایی و همکاران (۲۰۱۰) افزایش درصد روغن دانه گلرنگ در اثر کاربرد باکتری *Azospirillum* و *Azotobacter* را گزارش کردند. چاندراشکارا و همکاران(۱۹۹۵) نیز افزایش ۳/۱ درصدی روغن دانه دو رقم آفتابگردان را در اثر مایه‌زنی با قارچ میکوریزی گزارش کردند. همزیستی میکوریزی گسترده‌ترین استراتژی گیاهان برای مقابله با تنشهای غیرزیستی است. هیف قارچی راحتتر از ریشه گیاه توان نفوذ در خاک را داشته و علاوه بر تامین عناصر غذایی در جذب آب نیز کمک فراوانی به گیاه می‌کند (بابائی و همکاران، ۲۰۱۲).

از بین تیمارهای اعمال شده و اثرات متقابل آنها تنها اثر تیمار قارچ بر میزان فسفر اندام‌های هوایی در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بود (جدول۱). قارچهای میکوریزی موجب افزایش رشد بسیاری از گونه‌های گیاهی، عمدتا از طریق افزایش جذب و انتقال فسفر و سایر عناصر می‌شود (ابوت و رابسون ۱۹۸۲).

مقایسه میانگین داده‌ها اثر تلقیح باکتری بر درصد کلونیزاسیون میکوریزی ریشه را معنی‌دار نشان داد (جدول ۲). اگرچه اثر سطوح مختلف شوری بر درصد کلونیزاسیون میکوریزی ریشه از نظر آماری معنی‌دار نشد اما مقایسه میانگین نشان داد که افزایش شوری موجب کاهش درصد کلونیزاسیون ریشه می‌شود (شکل ۱).

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر شوری، باکتری و اثر متقابل آنها بر درصد کلونیزاسیون ریشه

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
		درصد کلونیزاسیون ریشه
شوری	۲	۳۱۰/۶۹۲^{ns}
باکتری	۱	۱۳۸۹/۴۳۴**
شوری*باکتری	۲	۴۰/۹۹۰^{ns}
اشتباه آزمایشی	۱۵	۸۵/۷۹۹



شکل۱- اثر شوری بر درصد کلونیزاسیون میکوریزی ریشه

منابع

حسینی ز، ۱۳۷۸. روش‌های متداول در تجزیه مواد غذایی(چاپ سوم). انتشارات دانشگاه شیراز.

Abbott LK and Robson AD, 1982. The role of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in agriculture and the selection of fungi for inoculation. Aust. J. Agric. Res. 33: 389-408.

Babaei M, Ardakani MR, Rejali F, Shirani Rad AH, Golzardi F, and Mafakheri S, 2012. Response of Agronomical traits of sunflower (*Helianthus annuus* L.) to co-inoculation with *Glomus intraradices* and *Pseudomonas fluorescens* under different phosphorus levels. Annals of Biological Research 3: 4195- 4199.

Chandrashekara CP, Patil VC and Sreenivasa MN, 1995. Response of two sunflower (*Helianthus Annuus* L.) genotypes to VA-mycorrizal inoculation and phosphorus levels. Biotopia 8: 53-59.

Mirzaei A, Vazan S and Naseri R, 2010. Response of yield components of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) to seed inoculation with *Azotobacter* and *Azospirillum* and different nitrogen levels under dry land condition. World Applied Sciences Journal 10: 1287-1291.

Mirzakhani M, Ardakani MR, Aeene Band A, Rejali F, and Shirani Rad AH, 2009. Response of spring safflower to co-inoculation with *Azotobacter chroococum* and *Glomus intraradices* under different levels of nitrogen and phosphorus. American Journal of Agricultural and Biological Sciences 4: 255-261.

Shen D, 1997. Microbial diversity and application of microbial products for agricultural purposes in china. Ecosystem and Environment 62: 237-245.

Vessey K, 2003. Plant growth promoting as biofertilizers. Plant and Soil 255: 571-586.

اثر قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا در بهبود جذب فسفر و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیداتیو دو رقم گندم در شرایط کشت هیدروپونیک و کمبود فسفر

داود رحمانی ایرانشاهی[۱]، مژگان سپهری[۲]، امیرحسین خوشگفتارمنش[۳]، مهدی زارعی[۴]، وحیداله جهاندیده مهجن آبادی

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، دانشگاه صنعتی اصفهان،۲- استادیار گروه خاکشناسی دانشگاه صنعتی اصفهان،۳- استادیار گروه خاکشناسی دانشگاه صنعتی اصفهان،۴- استادیار گروه خاکشناسی دانشگاه شیراز

مقدمه

فسفر یکی از ضروری‌ترین عناصر معدنی برای رشد و توسعه گیاه است و به عنوان یک عنصر محدود کننده برای تولیدات کشاورزی در جهان شناخته شده است (Wang and Zhang, 2009). تنش‌های محیطی (عناصر غذایی، خشکی، آفات و بیماری‌ها) مهم‌ترین عوامل کاهش دهنده عملکرد محصولات کشاورزی در سطح جهان هستند. در صورت عدم وجود تنش‌های محیطی، عملکردهای واقعی با عملکردهای پتانسیل گیاهان برابر می‌شدند (پورقاسمیان، ۱۳۹۱). به طور کلی گیاهان، در طول دوره رشد همواره با تنش‌های محیطی متعددی روبرو هستند، که این تنش‌ها سبب ایجاد اختلالات متابولیسمی و در نهایت ایجاد تنش اکسیداتیو به واسطه تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن، در سلول‌های گیاهی می‌شوند. گونه‌های فعال اکسیژن فرآیندهای اکسیداتیو مخربی از قبیل بی‌رنگ شدن کلروفیل، پراکسیداسیون لیپیدها و آسیب به اسیدهای نوکلئیک را در گیاه باعث می‌شوند (پورقاسمیان، ۱۳۹۱). سلول‌های گیاهی جهت مقابله با اثرات منفی تنش‌های محیطی از مکانیسم‌های دفاعی ویژه‌ای برخوردارند که از همکاری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از قبیل گویاکول پراکسیداز با آنتی‌اکسیدان‌ها به وجود می‌آیند (اسفندیاری و همکاران، ۱۳۸۸). قارچ‌های اندوفایت با برقراری روابط همزیست با طیف وسیعی از گیاهان میزبان و افزایش جذب عناصر غذایی توسط ریشه به عنوان عوامل رشد گیاه محسوب می‌گردند و موجب تحریک و افزایش رشد گیاهان میزبان خود در شرایط طبیعی و دارای تنش می‌گردند (Artursson *et al*.,2006). قارچ اندوفایت *Piriformospora indica* یکی از قارچ‌های همزیست با ریشه گیاهان می‌باشد که به دلیل دارا بودن خصوصیاتی بسیار مشابه با قارچ‌های میکوریزی، به آن قارچ شبه میکوریزی نیز می‌گویند (Oelmüller *et al*., 2009). اهمیت قارچ *P. indica* در بهبود تغذیه گیاهان و افزایش ظرفیت پاسخ آنتی‌اکسیدانی گیاهان میزبان توسط محققین مختلف گزارش شده است (Kumar *et al*, Varma *et al*., 1999; 2009). ارقام مختلف گندم نیز از کارایی متفاوتی در جذب فسفر برخوردار می‌باشند (ایرانشهر و همکاران ۱۳۹۰). لذا این تحقیق با هدف بررسی مطالعه اثر تلقیح قارچ *Piriformospora indica* در بهبود جذب فسفر و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیداتیو دو رقم گندم کشت شده در شرایط هیدروپونیک و کمبود فسفر صورت گرفت.

مواد و روشها

آزمایش به صورت کشت هیدروپونیک در قالب طرح کاملاً تصادفی و آزمون فاکتوریل در بستر مخلوط شن و پرلیت با سه فاکتور شامل، دو سطح قارچ اندوفایت (عدم تلقیح ، قارچ اندوفایت) دو سطح محلول غذایی (محلول غذایی جانسون کامل (سطح کفایت) و محلول غذایی جانسون دارای کمبود فسفر (سطح کمبود)) در دو ژنوتیپ گندم (آزادی و نیک‌نژاد) با سه تکرار در گلخانه مرکز پژوهشی کشت بدون خاک دانشگاه صنعتی اصفهان اجرا شد. بذور گندم رقم‌های آزادی و نیک‌نژاد از مرکز پژوهشی کشت بدون خاک تهیه گردید و پس از ضد عفونی

شدن، جوانه‌دار گشتند. پس از آن بذور جوانه‌دار شده با تعداد ۵×۱۰^{۶} اسپور قارچ *P. indica* تلقیح و به تعداد ۴ عدد درون گلدان‌های ۳ کیلوگرمی حاوی مخلوطی از شن و پرلیت استریل شده با نسبت ۳:۱ کشت شدند. گلدان‌ها در طی رشد با محلول غذایی جانسون تغذیه و به صورت روزانه با آب مقطر آبیاری شدند. مقدار مصرف محلول غذایی و آب مقطر بر اساس نیاز گیاهان در طول دوره رشد تنظیم گردید به طوری که در تیمارهای دارای تنش، علائم کمبود فسفر در گیاهان ظاهر گشت. پس از ۸ هفته ریشه‌ها برداشت و میزان فسفر (به روش رنگ‌سنجی) و آنزیم گویاکول پراکسیداز بر اساس روش رائو و همکاران (۱۹۹۶) محاسبه گردید. تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم افزار SAS و Statistix و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح ۵ درصد انجام گرفت.

نتیجه و بحث

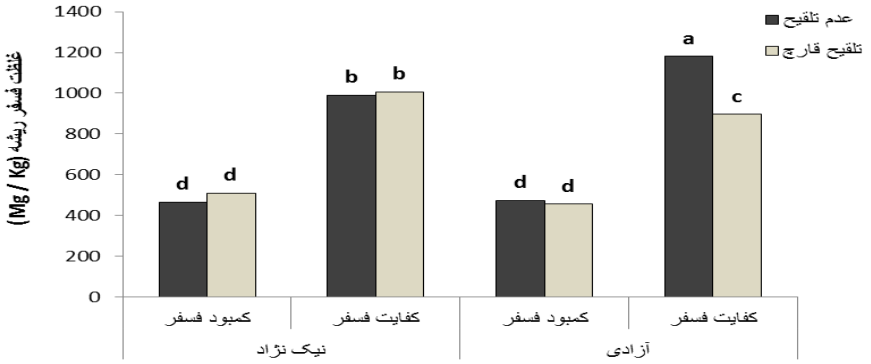
نتایج نشان داد که اثر اصلی سطوح فسفر و قارچ و اثر دوگانه ژنوتیپ، قارچ و سطوح فسفر بر غلظت فسفر ریشه معنی‌دار می‌باشد (جدول ۱).

جدول ۱- جدول تجزیه واریانس صفات مورد بررسی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		غلظت فسفر ریشه	گویاکول پراکسیداز
ژنوتیپ	۱	۴۳۴ $^{n.s}$	۱۱۷۷ **
فسفر	۱	۱۷۶۷۸ **	۶۷۰۷ **
قارچ	۱	۲۲۴۴۲ *	۳۸۱ **
ژنوتیپ×فسفر	۱	۵۹۶۴ $^{n.s}$	۳۷۷ **
ژنوتیپ×قارچ	۱	۴۸۳۶۱ **	۷۳ $^{n.s}$
فسفر×قارچ	۱	۳۲۴۵۵ **	۶۸ $^{n.s}$
ژنوتیپ×فسفر×قارچ	۱	۲۱۵۳۹ *	۲۴۶ *
خطا	۱۴	۲۶۵۹	۴۰
ضریب تغییرات		۶/۹۱	۱۷/۲۱

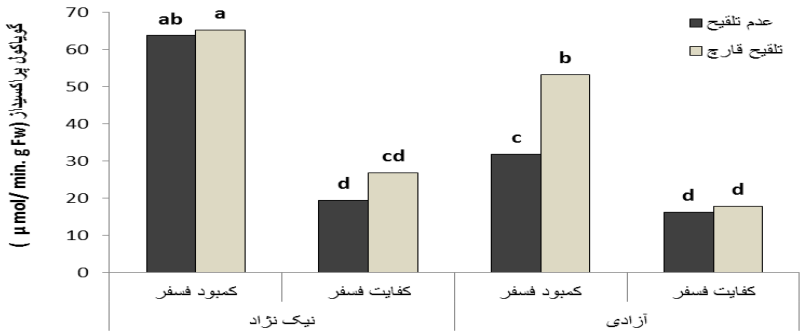
** و * به ترتیب معنی‌دار بودن در سطح ۱ درصد و ۵ درصد و n.s غیر معنی‌دار

نتایج بیانگر آن است که در شرایط عدم حضور قارچ و سطح کفایت فسفر تفاوت بین دو رقم مشاهده، اما در شرایط کمبود فسفر تفاوت‌ها معنی‌دار نبودند و از میزان جذب فسفر مشابهی برخوردار بودند (شکل ۱). حضور قارچ اندوفایت باعث کاهش معنی‌داری در غلظت فسفر ریشه رقم آزادی در سطح کفایت این عنصر گردید، در حالی که در سایر تیمارها فاقد تأثیر معنی‌دار بود (شکل ۱). آچاتز و همکاران (۲۰۱۰)، نیز گزارش کردند که قارچ *P. indica* هیچ اثری بر مقدار فسفر جذب شده در گیاه جو تلقیح شده با قارچ نداشته است، و این با نتایج بارازانی و همکاران (۲۰۰۵) که نشان دادند *P. indica* باعث افزایش مقدار قابل فسفر در گیاهان دو لپه *Nicotiana attenuata* نمی‌شود، همخوانی داشت .



شکل ۱- غلظت فسفر ریشه ارقام گندم شاهد (تلقیح نشده) و تلقیح شده با قارچ *P. indica* در سطوح مختلف فسفر

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر سه‌گانه ژنوتیپ، سطح فسفر و قارچ بر فعالیت آنزیم گویاکول پراکسیداز ریشه دارای تفاوت معنی‌داری است (جدول ۱). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گندم، در مطالعات آگارول و همکاران (۲۰۰۴) تحت شرایط تنش گزارش شده است. کمبود فسفر باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم گویاکول پراکسیداز شد و بیشترین فعالیت این آنزیم در رقم نیک‌نژاد در شرایط کمبود فسفر مشاهده شد (شکل ۲). رقم آزادی با تلقیح قارچ اندوفایت باعث افزایش فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدان گویاکول پراکسیداز در شرایط کمبود فسفر شد ولی در سایر تیمارها بین حضور و عدم حضور قارچ تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. نتایج به دست آمده حاکی از آن است که پاسخ آنتی‌اکسیدانی دو رقم مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری با یکدیگر داشتند بطوریکه رقم نیک‌نژاد در شرایط کمبود فسفر پاسخ آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به رقم آزادی داشت (شکل ۲).



شکل ۲- فعالیت آنزیم گویاکول پراکسیداز ریشه ارقام گندم شاهد (تلقیح نشده) و تلقیح شده با قارچ *P. indica* در سطوح مختلف فسفر

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که تلقیح قارچ *P. indica* موجب کاهش جذب عناصر غذایی از جمله فسفر در محیط کشت بدون خاک (هیدروپونیک) شد. همچنین، قارچ اندوفایت به دلیل تحریک سیستم دفاعی گیاه

(القای مقاومت) در شرایط تنش کمبود فسفر، موجب افزایش ظرفیت پاسخ آنتی‌اکسیدانی گیاه میزبان در این شرایط گردید. چگونگی انجام این عمل مشخص نمی‌باشد و نیازمند مطالعات دقیق مولکولی است.

منابع

اسفندیاری، ع. شکیبا، م.ر. محبوب، س. آلیاری، ه. و برادران م.، ۱۳۸۸. اثر تنش خشکی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و پراکسیداسیون لیپیدی گیاهچه‌های گندم. مجله پژوهش‌های خاک (علوم آب و خاک)، جلد ۱۹، شماره ۲. صفحه‌های ۱۲۹ تا ۱۳۸.

ایرانشهر، ا. سپهر، ا. رسولی صدقیانی، م. ح و عبدالهی ب.، ۱۳۹۰. مقایسه کارایی ارقام مختلف گندم در جذب فسفر از خاک فسفات. صفحه‌های ۱ تا ۴. دوازدهمین کنگره علوم خاک ایران، دانشگاه تبریز، تبریز.

پورقاسمیان، ن.، ۱۳۹۱. بررسی تنش اکسیداتیو ناشی از استرس آلودگی کادمیوم و ارتباط آن با صفات فیزیولوژیک بر روی دو گونه اهلی و وحشی گلرنگ. پایان نامه کارشناسی ارشد خاکشناسی، دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان.

Achatz B, Rüden S, Andrade D, Neumann E, Kogel KH, Franken P and Waller F, (2010). Root colonization by *Piriformospora indica* enhances grain yield in barley under diverse nutrient regimes by accelerating plant development. Plant Soil 333: 59–70.

Agarwal S and Pandey V, 2004. Antioxidant enzyme responses to NaCl stress in Cassia angustifolia. Biol plant 48: 555-560.

Artursson V, Finlay RD and Jansson JK, 2006. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth. Environmental. Microbiology 8: 1-10.

Barazani O, Benderoth M, Groten K, Kuhlemeier C and Baldwin IT, (2005). *Piriformospora indica* and Sebacina vermifera increase growth performance at the expense of herbivore resistance in Nicotiana attenuata. Oecologia 146: 234–243.

Kumar M, Yadav V, Tuteja N and Johri AK, 2009. Antioxidant enzyme activities in maize plants colonized with *Piriformospora indica*. Microbiology 150: 780-90.

Oelmüller R, Sherameti I, Tripathi S and Varma A, 2009. *Piriformospora indica*, a cultivable root endophyte with multiple biotechnological applications. Symbiosis 19: 1-19.

Rao M, Paliyath VG and Ormrod DP, 1996. Ultraviolet-B- and ozone-induced biochemical changes in antioxidant enzymes of Arabidopsis thaliana. Plant Physiol. 110: 125–136.

Varma A, Verma S, Sudah SN and Franken P, 1999. *Piriformospora indica*, a cultivable plant growth-promoting root endophyte. Appl & Environ Microbiol 65: 2741–2744.

Wang Y and Zhang Y, 2009. Soil-phosphorus distribution and availability as affected greenhouse subsurface irrigation. J. Plant Nutr Soil.Sci 000: 1-8.

تأثیر باکتری‌های *Azospirillum irakense*، *Pseudomonas putida* و کود نیتروژن بر تولید اسانس و مقدار تیمول گیاه دارویی مرزه(*Satureja hortensis* L.)

نیّر بشیری فر[1]، ناصر علی اصغرزاد[2]، سعید زهتاب سلماسی[3]
[1]دانشجوی کارشناسی ارشد گرایش بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، [2]استاد گروه علوم خاک
[3]استاد گروه اکوفیزیولوژی گیاهی دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

مقدمه

تولید گیاهان دارویی امروزه به عنوان شاخه مهمّی از کشاورزی مطرح است که برای استخراج و تولید مواد اولیه داروها به‌کار می‌روند (زمان، ۱۳۷۶). از جمله گیاهان دارویی، مرزه با نام علمی *Satureja hortensis* L. متعلق به خانواده نعناعیان بوده و در صنایع غذایی، عطرسازی و داروسازی کاربرد دارد (کیانمهر، ۱۳۸۷). معمولا" برای این گیاهان، مهمترین عناصر غذایی نیتروژن، فسفر و پتاسیم است که از طریق خاک یا با استفاده از کودهای شیمیایی فراهم می‌شود. چون گیاهان دارویی در بسیاری از مواقع به مصرف مستقیم انسان می‌رسند، بنابراین برای جلوگیری از مضرّات این نوع کودها و برای جلوگیری از تجمّع نیترات، امروزه می‌توان از کودهای زیستی و میکروارگانیسم‌ها برای فراهم کردن این عناصر استفاده کرد (وسی، ۲۰۰۳). در نتیجه به نظر می‌رسد با استفاده از میکروارگانیسم‌ها می‌توان محیط کشت گیاهان دارویی را نیز مناسب کرده و در سنتز متابولیت‌های ثانویه از جمله اسانس‌ها تأثیر مثبت گذاشت. در این راستا تعدادی از محققان در مورد تأثیر میکروارگانیسم‌ها در میزان تولید محصولات گیاهان دارویی از جمله اسانس آن‌ها مطالعاتی را انجام داده‌اند. به عنوان مثال امین (۱۹۹۷) گزارش کرد که رشد گیاه گشنیز (*Cariandrum sativum*)، رازیانه (*Feoniculum vulgare*)، زیره سیاه اروپایی در نتیجه تلقیح بذر با *Azospirillum* و *Azotobacter* همراه با نصف مقدار توصیه شده کود شیمیایی، با حالتی که کل مقدار توصیه شده کودهای شیمیایی بدون مصرف این دو باکتری استفاده شوند، برابری می‌کند. کاندیل و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند که بیشترین درصد روغن فرّار در گیاه رازیانه در نتیجه تلقیح گیاه با *Azospirillum* و *Azotobacter* همراه مصرف کل مقدار توصیه شده نیتروژن، فسفر و پتاسیم حاصل می‌شود. در مورد گیاهان دارویی مطالعات زیادی از جنبه‌های مختلف صورت گرفته ولی در این میان اثر باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن و حل کننده فسفات، از جمله *Azospirillum* و *Pseudomonas*، بر روی تغییر میزان اسانس و تیمول در مرزه مطالعه نشده است. به این دلیل که تیمول موجود در اسانس مرزه ماده‌ای مهم بوده و در پزشکی و داروسازی فواید زیادی دارد، افزایش تولید این ماده توسط این باکتری‌ها سودمند خواهد بود.

مواد و روش

این تحقیق در دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز به صورت گلخانه‌ای اجرا گردید. خاک مورد نظر برای این آزمایش دارای بافت لومی شنی بوده و از ایستگاه تحقیقاتی خلعت پوشان از عمق ۲۵-۰ cm برداشت شده و پس از عبور از الک ۴ mm در اتوکلاو استریل شد. برای انتقال باکتری به خاک گلدان، زادمایه جامد باکتری با حامل پرلیت به صورت لایه نازک در هر گلدان زیر بذر قرار گرفته و سپس روی آن خاک اضافه شد که برای تهیه زادمایه باکتری *Azospirillum* از محیط کشت CR و برای باکتری *Pseudomonas* از محیط کشت کینگ ب استفاده شده و سپس با نسبت وزنی مناسب با پرلیت استریل مخلوط گردید. در هنگام کاشت بذور،

رطوبت تمامی گلدان‌ها در سطح رطوبت FC ۰/۹ تنظیم شده و با توجه به جدول نیازهای کودی و با توجه به آزمون خاک، K و P در همه گلدان‌ها بطور یکنواخت اضافه گردید. نیتروژن در سه سطح صفر، نصف توصیه شده و توصیه کامل داده شد. به ازای هر گلدان، نیتروژن از منبع اوره (۳۴۸ mg/kg) فسفر از منبع سوپر فسفات تریپل (۴۲ mg/kg) و پتاسیم از منبع سولفات پتاسیم (۵۷ mg/kg) بود. گیاهان تا آخر مرحله رویشی (قبل از گلدهی) رشد یافته و در انتهای مرحله رویشی برداشت شدند. استخراج اسانس، از روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه اسانس‌گیر که کلونجر نام دارد، صورت گرفت. جهت اندازه‌گیری میزان تیمول از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۵۵ نانومتر استفاده گردید (قاسمی دهکردی، ۱۳۸۸). آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملا" تصادفی انجام شد. فاکتور اول و دوم به ترتیب، به صورت حضور و عدم حضور باکتری *Azospirillum* و *Pseudomonas* و فاکتور سوم نیتروژن در سه سطح عدم مصرف نیتروژن، مصرف نصف نیتروژن و مصرف کامل نیتروژن و با چهار تکرار صورت گرفت. درصد اسانس و تیمول نیز بر اساس فرمول‌های زیر محاسبه گردید:

$$\text{درصد اسانس} = \frac{\text{وزن اسانس (g)}}{\text{وزن خشک نمونه (g)}} * 100 \qquad [۱]$$

$$\text{مقدار تیمول} = (۶/۲۵ \times E) / (E^{1\%}_{1cm} \times b) \qquad [۲]$$

E = میزان جذب محلول نمونه آماده شده

b = وزن نمونه گیاه (g)

$E^{1\%}$ = جذب محلول ۱ درصد تیمول در سل ۱ سانتی متری

نتایج و بحث

کاربرد باکتری *Azospirillum* و *Pseudomonas* و همچنین مصرف نیتروژن، بر درصد اسانس در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بوده و سبب افزایش درصد اسانس شده است (جدول ۱).

جدول۱- تأثر مایه‌زنی باکتری *Azospirillum* و *Pseudomonas* بر درصد اسانس، عملکرد اسانس و مقدار تیمول

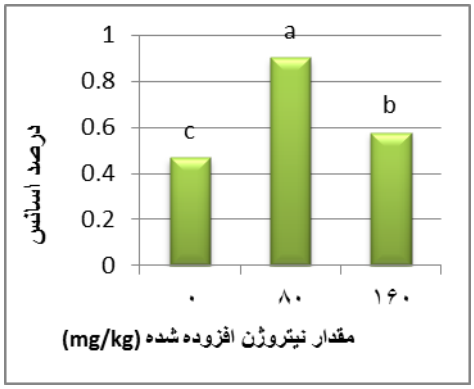
منابع تغییرات	میانگین		
	درصد اسانس	عملکرد اسانس(g/pot)	مقدار تیمول (mg/100g)
^{-}A	۰/۴۶۵ b	۳/۶۱۶ b	۰/۳۲۰ a
^{+}A	/۸۳۳ a	۷/۴۱۲ a	۰/۳۳۳ a
^{-}P	۰/۵۵۲ b	۴/۵۳۵ b	۰/۳۲۲ a
^{+}P	۰/۷۴۷ a	۶/۴۹۳ a	۰/۳۳۰ a

میانگین های دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک فاقد اختلاف معنی دار به روش آزمونLSD در سطح معنی داری ۵٪

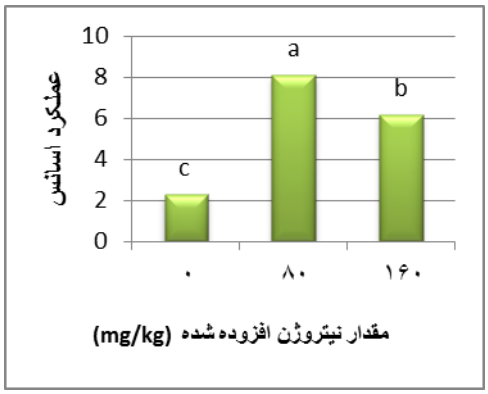
A: *Azospirillum* P: *Pseudomonas*

همچنین مقایسه میانگین نشان داد که اثر متقابل دو باکتری و نیتروژن بر درصد اسانس معنی‌دار بوده و بیشترین درصد با میانگین ۱/۱۳ مربوط به کاربرد دو باکتری به همراه ۸۰ mg/kg نیتروژن بود. مصرف

نیتروژن تأثیر معنی‌داری بر درصد اسانس داشت به گونه‌ای که بیشترین اسانس با میانگین ۰/۹۰۳ درصد مربوط به کاربرد ۸۰ mg/kg نیتروژن و کمترین اسانس مربوط به تیمار عدم مصرف نیتروژن بود. با افزایش میزان نیتروژن به ۱۶۰ mg/kg ، درصد اسانس کاهش یافت به طوری که میانگین اسانس به ۰/۵۷۷درصد رسید (شکل۱). نتایج به دست آمده برای عملکرد اساس نیز به این طریق بود (شکل ۲).



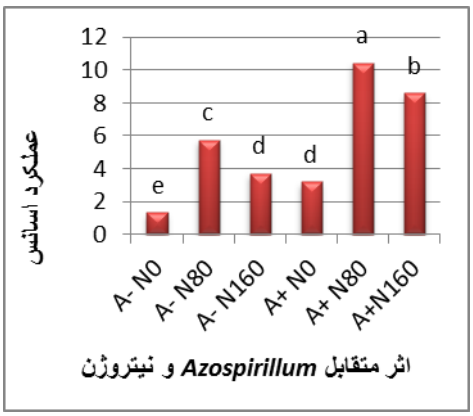
شکل۱-مقایسه میانگین درصد اسانس در سطوح N



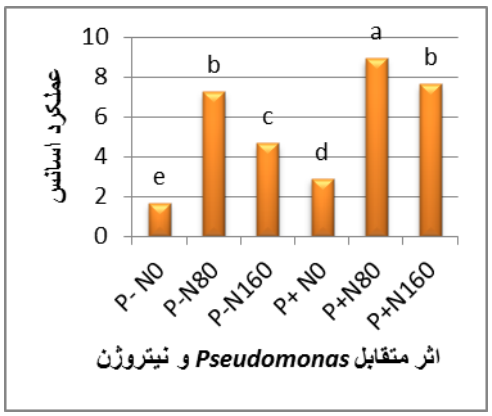
شکل۲- مقایسه میانگین عملکرد اسانس در سطوح N

زارع و همکاران (۱۳۹۱) گزارش کردند که در آزمایشی که انجام دادند، بیشترین درصد اسانس مربوط به مصرف ۶۰kg/ha نیتروژن بوده و با افزایش مقدار نیتروژن به ۹۰kg/ha میزان اسانس مجددا" کاهش یافت. به دلیل اینکه اسانس‌ها ترکیباتی از نوع ترپنوئیدها بوده که واحدهای سازنده آن‌ها ایزوترپنوئید بوده و برای تشکیل نیاز به NADPH و ATP دارند، حضور عناصری مانند نیتروژن و فسفر برای تشکیل این ترکیبات لازم بوده و کودهای زیستی و شیمیایی موجب افزایش درصد اسانس می‌شود (لومیس، ۱۹۷۲). ولی به نظر می‌رسد که افزایش میزان نیتروژن، بر درصد اسانس تأثیر منفی داشته و موجب کاهش درصد آن می‌شود. به نظر می‌رسد با افزایش سطح نیتروژن، اسکلت‌های کربنه موجود در گیاه به مصرف تولید ترکیبات نیتروژنه می‌رسند و در نتیجه اسکلت‌های کربنه مورد نیاز برای سنتز اسانس کاهش می‌یابد.

همچنین کاربرد دو باکتری به تنهایی، نیتروژن و اثرات متقابل هر یک از آن‌ها با نیتروژن، تأثیر معنی‌داری در عملکرد اسانس ایجاد کرد (شکل ۳ و ۴).



شکل۳-اثر متقابل A و نیتروژن در عملکرد اسانس



شکل٤-اثر متقابل P و نیتروژن در عملکرد اسانس

کابرد همزمان دو باکتری باسطوح مختلف نیتروژن نیز معنی‌دار بوده به طوری که بیشترین عملکرد با میانگین ۱۱/۱۵۶g/pot مربوط به کاربرد دو باکتری به همراه ۸۰ mg/kg نیتروژن بود. در آزمایشی که توسط حسین‌پور و همکاران (۱۳۹۰) صورت گرفت مشخص شد که کاربرد تلفیقی کود زیستی و کود شیمیایی، بیشترین عملکرد اسانس را در گیاه دارویی انیسون ایجاد کرد. با توجه به جدول ۱ کاربرد این دو باکتری و نیتروژن موجب افزایش تیمول شد ولی این افزایش معنی‌دار نبود. در عدم حضور و در حضور باکتری *Azospirillum* میانگین مقدار تیمول از ۰/۳۲۰ mg/100g به مقدار ۰/۳۳۳ mg/100g و در حضور باکتری *Pseudomonas* میانگین مقدار تیمول از ۰/۳۲۲ mg/100g به ۰/۳۳۰ mg/100g افزایش یافت ولی این افزایش غیر معنی‌دار بود. همچنین کاربرد نیتروژن، میانگین مقدار تیمول را از ۰/۳۱۹ mg/100g به ۰/۳۳۳ mg/100g افزایش داد که این افزایش معنی‌دار نبود. به عنوان نتیجه کلی می‌توان گفت که در این آزمایش کاربرد تلفیقی کود زیستی و شیمیایی بر برخی صفات مفید بوده و با مصرف مقادیر پایین نیتروژن، کارایی باکتری‌ها نیز بهتر می‌شود.

منابع

حسین‌پور، م. حبیبی، ح. فتوکیان، م ح.، ۱۳۹۱. تأثیر مقادیر مختلف نیتروژن شیمیایی و زیستی برصفات کمی و کیفی گیاه دارویی انیسون. فصلنامه علمی- پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطّر ایران، جلد ۲۸، شماره ۳. صفحه‌های ۵۵۶ تا ۵۵۱.

زارع، س. سیروس مهر، ع. قنبری، ا. طباطبایی، ج.، ۱۳۹۱. تغییرات اسانس و برخی ویژگی‌های کمی گیاه مرزه تحت تأثیر مقادیر مختلف کود نیتروژن و کمپوست زباله شهری. نشریه پژوهش‌های زراعی ایران، جلد ۱۱، شماره ۱. صفحه‌های ۱۹۹-۱۹۱

زمان س، ۱۳۷۶. گیاهان دارویی (ترجمه). انتشارات ققنوس

علیزاده سهرابی، ع. شریفی عاشورآبادی، ا م. شیرانی راد، ب.، ۱۳۶۸.تأثیر مقادیر و روش‌های مختلف مصرف نیتروژن بر تعدادی ویژگی‌های کمی و کیفی گیاه دارویی مرزه (*Satureja hortensis* L) تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۴۳۱-۴۱۶ :۲۳

قاسمی دهکردی، ن. طالب، ا.، ۱۳۸۸. استخراج، شناسایی و تعیین مقدار ترکیبات موجود در گیاهان دارویی شاخص (چاپ اول). انتشارات سبزآرنگ با همکاری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

کیانمهر ه د، ۱۳۸۷. شناخت گیاهان دارویی. نشر آییژ

Amin IS, 1997. Effect of bio and chemical fertilization on growth and production *Coriandrum Sativum*, *Feoniculum vulgare* and *carum carvi* L. Plant Annals of Agricultural Science 35: 2327-2334

Kandeel YR, Nofal ES, Menesi FA, Reda KA, Taher M and Zaki ZT, 2001. Effect of some cultural practices on growth and chemical composition of *Feoniculum vulgare* Mill. Proceeding 5th Arabian Horticultural Conference 20: 61-72

Loomis, W D and Corteau, R. 1972. Essential oil biosynthesis. Recent advances Phytochimistry 6:147-185

Vessey K, 2003. Plant growth promoting az biofertilizers. Plant and Soil 255: 571-586

بررسی تاثیر جدایه‌های مولد سیدروفور بر برخی از شاخص‌های رشدی گیاه‌کلزا

نازنین قوامی [۱]، حسینعلی علیخانی [۲]،احمدعلی پوربابایی [۳]
۱ -دانشجوی کارشناسی ارشد گروه مهندسی علوم خاک پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
۲-دانشیار گروه مهندسی علوم خاک پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
۳ - استادیار گروه مهندسی علوم خاک پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

مقدمه

یکی از دانه‌های روغنی که در این سالها در کشور توجه بسیاری را به خود جلب کرده و در طرح کاهش واردات روغن گیاهی نیز سهم فراوانی برای آن در نظر گرفته شده،کلزا است. این محصول در میان دانه‌های روغنی،در جهان بیشترین میزان تولید را در دهه های اخیر داشته و امروزه مقام سوم را پس از سویا و نخل روغنی در فراورده‌های روغن نباتی احراز کرده است (Berry and Spink.,2006). کمبود آهن در خاک‌های آهکی مناطق خشک و نیمه خشک با pH قلیایی بسیار رایج است.خاکهای آهکی در ایران نیز آهن کل قابل توجهی دارند،اما غلظت یونی آهن سه و دو ظرفیتی این خاک‌ها بسیار اندک است (Khldbryn and Islamzadeh., 1384). از بهترین روش‌ها برای کاهش مصرف کودهای شیمیایی استفاده بالقوه از موجودات خاکزی مفید که توانایی تولید مواد محرک رشد گیاه را داشته باشند می باشد که می تواند ضمن افزایش رشد موجب کاهش مصرف و آلودگی کودهای شیمیایی و بهبود شاخص‌های کیفیت خاک و در نهایت کشاورزی پایدار شود(Khosravi.,2001). به همین دلیل امکان استفاده از پتانسیل گروه‌های میکروبی تولید کننده سیدروفور که افزایش حلالیت و قابلیت جذب آهن در محیط به خوبی تهویه شده با pH غیر اسیدی را امکان پذیر می سازند مورد توجه بیشتری قرار گرفته است (Neiland and Leong SA.,1986). سیدروفورها ترکیبات آلی با وزن مولکولی کم (۵۰۰ تا ۲۰۰۰ دالتون) ولیگاندهای شیمیایی با میل ترکیبی شدید و اختصاصی برای پیوند شدن با آهن III هستند(Milagres *et al*.,1999). این پژوهش با هدف بررسی تاثیر جدایه های مولد سیدروفور بر شاخص‌های رشدی گیاه کلزا در دو مرحله آزمایشگاهی و گلخانه ای به اجرا در آمده است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری و جداسازی باکتری‌ها

تعداد ۱۰۰ جدایه باکتری از ۲۵ نمونه خاک ریزوسفری مزارع تحت کشت گیاه کلزا ،شامل مزرعه دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران و مزارع واقع در نظر آباد کرج جداسازی شدند. جدایه‌ها در محیط کشت NA[۱] جداسازی و مراحل دستیابی به کلنی تک،به صورت باز کشت (subculturing) در دو مرحله و در همان محیط صورت گرفت.

آزمون کیفی و کمی تولید سیدروفور

توانایی تولید سیدروفور توسط جدایه‌ها ، از نظر کیفی و کمی به ترتیب به روش کشت در محیط CAS-Agar و CAS solution (Machuca and Milagres., 2003. Schwyn and Neilands., 1987) بررسی شد. قطر کلنی

[1] Nutrient agar

باکتری رشد یافته در محیط CAS-Agar و قطر هاله نارنجی، اندازه‌گیری و باکتری‌هایی با قطر هاله‌ی بیشتر، جهت انجام آزمون کمی، به روش CAS solution، بررسی شدند.(جدول ۱)

آزمون گلخانه ای

۱۰۰ کیلوگرم خاک با سطح آهن قابل جذب کمتر از ۲۰ میکرومولار ، از اراضی دست نخورده اطراف شهر کرج (محدوده کردان) با مشخصات ذکر شده در جدول۲ و ۳، از عمق ۳۰-۰ سانتی متری تهیه شد. در خاک مورد استفاده ،همه عناصر به جز آهن در حد کفایت برای گیاه تامین شد. آزمون گلخانه ای کلزا با استفاده از رقم ساری گل انجام شده است. در این آزمون ۶ تیمار باکتری به کار رفته است. B0 شاهد فاقد باکتری، B1، B2، B3، B4 و ۴ باکتری منتخب از لحاظ نسبت قطر هاله به کلنی و درصد تولید سیدروفور، Bm مخلوط سوسپانسیون ۴ جدایه منتخب. گلدان ها در قالب یک طرح کاملا تصادفی با ۶ تیمار و ۴ تکرار ، به مدت ۱۲۰ روز در گلخانه نگهداری و روزانه بصورت وزنی در حدود ۸۰٪ F.C آبیاری می شدند. در پایان دوره رشد شاخص های رشد عبارت است از: طول بخش هوایی گیاه(ارتفاع بوته)و وزن تر و خشک بخش هوایی(عملکرد بیولوژیک) و ریشه ،سطح برگ ، تعداد برگ ها ، محتوای کلروفیل (شاخص SPAD) و راندمان فتوشیمیایی فتوسنتز (Fv/Fm)اندازه گیری شده وآنالیز آماری با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین داده‌ها به روش آزمون چند دامنه ای دانکن و در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد انجام گرفت .

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات طول گیاه ، وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی،سطح برگ،نسبت سطح برگ(LAR)،شاخص SPAD و راندمان فتوشیمیایی فتوسنتز (Fv/Fm)نشان داد که بین تیمارهای مختلف در کلیه این صفات ، اختلاف آماری معنی داری وجود دارد.اما جدایه های باکتری نتوانستند تاثیر معنی داری بر روی صفت تعداد برگ و درصد ماده خشک نشان دهند،اگرچه تیمار ۱ افزایش قابل توجهی نسبت به شاهد داشت ولی این افزایش به لحاظ آماری معنی دار نشده است. نتایج مقایسه میانگین با آزمون چند دامنه ای دانکن نیز نشان داد که بیشترین مقادیر وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی،سطح برگ،نسبت سطح برگ،شاخص SPAD و راندمان فتوشیمیایی فتوسنتز (Fv/Fm) در سطح احتمال ۱ درصد و طول گیاه در سطح احتمال ۵ درصد از تیمار تلقیح باکتری شماره ۱ بدست آمد که اختلاف این تیمار از نظر کلیه صفات ذکر شده در فوق با سایر تیمارها به جز تیمار تلقیح توام هر ۴ جدایه(Bm) در صفات وزن خشک اندام هوایی، (Fv/Fm) و طول گیاه، معنی دار بود. به طوری که گیاهان تلقیح شده با جدایه ۱ بیشترین اختلاف معنی دار را با شاهد نشان دادند.این جدایه همانطور که در جدول ۱ نشان داده شده از بیشترین درصد تولید سیدروفور نسبت به سایر جدایه ها نیز برخوردار است.سایر جدایه ها هرکدام فقط در بعضی از فاکتورهای مورد مطالعه اختلاف معنی داری با سایر تیمارها نشان دادند . در واقع بیشترین میزان اثر بخشی تلقیح مربوط به جدایه ۱ و سپس تلقیح توام هر ۴ جدایه (B mix) بود(جدول ۴ و نمودار ۱).به نظر می رسد که بهبود خصوصیات فیزیکی،شیمیایی و زیستی خاک با تلقیح باکتری و تامین بیشتر آهن قابل دسترس گیاه توسط جدایه برتر از لحاظ تولید سیدروفور دلیل برتری تمامی شاخص‌های رشدی کلزا نسبت به تیمار شاهد (بدون تلقیح با باکتری) و بیانگر نقش به سزای آهن در افزایش سطح برگ و در نتیجه افزایش محتوای کلروفیل و راندمان فتوسنتز و افزایش وزن خشک اندام هوایی و ریشه می‌باشد(Ksouri R et al.,2007, Mahmoudi H et al.,2007).

جدول۱-آزمون‌های کیفی و کمی تولید سیدروفور در جدایه‌های منتخب

آزمون‌های کیفی و کمی	جدایه			
	B_1	B_2	B_3	B_4
نسبت قطر هاله به قطر کلنی Cas-Agar	۱/۶۹	۲	۱/۵۶	۱/۳۶
درصد تولید سیدروفور Cas solution	۱۸/۸۱	۱۰/۲۴	۱۲/۹۲	۲۱/۵۱

جدول۲- خصوصیات فیزیکی و بیولوژیک خاک مورد استفاده در آزمون گلخانه ای

شاخص‌های اندازه گیری شده									
کلاس بافت خاک	%Clay	%Silt	%Sand	pH	ECe(ds m^{-1})	%F.C	%O.M	CEC(cmolc/kg)	CFU
SANDYLOAM	۱۸	۲۵	۵۷	۸/۵	۰/۷۷	۲۲	۱/۰۳	۱۷/۵	۱/۳۳ × ۱۰^{۶}

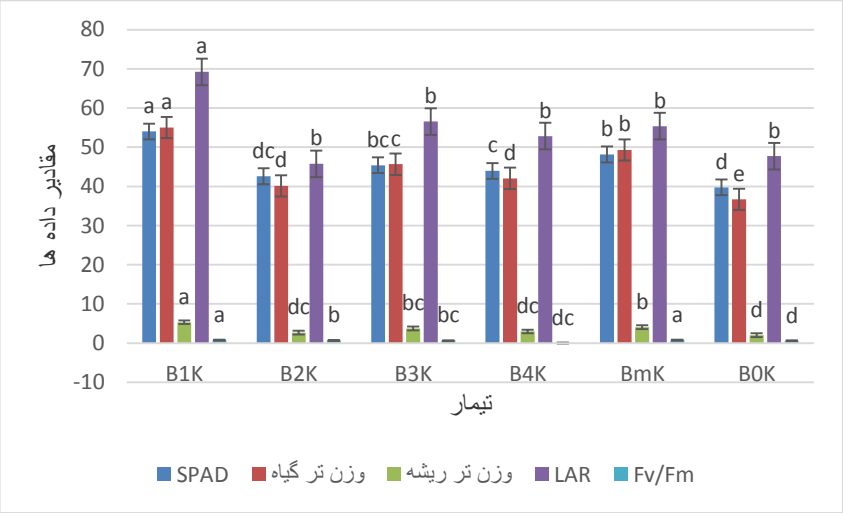
جدول۳- خصوصیات شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمون گلخانه ای

شاخص‌های اندازه گیری شده						
Ca^{2+}(mel^{-1})	Mg^{2+}(mel^{-1})	K^{+} (ppm)	%N (total)	P-ava (ppm)	Fe-ava (ppm)	Zn^{2+}(ppm)
۴/ ۲	**۱/۶**	**۴۲۰**	**۰/۰۳**	**۱۲/۸۷**	**۲/۵**	**۱/۰۸**

جدول۴- مقایسه میانگین شاخص‌های رشدی کلزا تحت تاثیر تیمار باکتری های مولد سیدروفور

میانگین مربعات (MS)صفات مورد بررسی

تیمار	تعداد برگ	SPAD	طول گیاه	وزن تر گیاه	وزن تر ریشه	وزن خشک گیاه	وزن خشک ریشه	سطح برگ	درصد ماده خشک	LAR	Fv/Fm
B1K	۱۲/۵	۵۴/۰۲^{a}	۵۳/۵^{a}	۵۵/۰۵^{a}	۵/۳۳^{a}	۱۱/۰۴^{a}	۱/۰۷^{a}	۷۶۷/۱^{a}	۲۰/۰۱	۶۹/۲۲^{a}	۰/۷۷^{a}
B2K	۱۰	۴۲/۶^{dc}	۵۱/۱۲^{bc}	۴۰/۱۵^{d}	۲/۶۸^{dc}	۷/۸۷^{bc}	۰/۴۱^{bc}	۳۶۰/۶۳^{bc}	۱۹/۶۱	۴۵/۷۵^{b}	۰/۶۸^{b}
B3K	۱۰	۴۵/۴^{bc}	۵۱/۳۷^{bc}	۴۵/۶۷^{c}	۳/۷۴^{bc}	۸/۴۴^{bc}	۰/۶۵^{bc}	۴۷۷/۴۳^{bc}	۱۸/۴۹	۵۶/۵۴^{b}	۰/۶۳^{bc}
B4K	۹/۷۵	۴۳/۹۵^{c}	۵۰/۸۷^{bc}	۴۲/۰۵^{d}	۲/۹۷^{dc}	۸/۰۸^{bc}	۰/۵۳^{bc}	۴۲۷/۱۱^{bc}	۱۹/۲۲	۵۲/۸۳^{b}	۰/۶^{dc}
BmK	۱۱/۵	۴۸/۱۵^{b}	۵۲/۷۵^{ab}	۴۹/۳^{b}	۴/۰۶^{b}	۹/۲۴^{b}	۰/۷۶^{ab}	۵۱۲/۰۷^{b}	۱۸/۷۴	۵۵/۳۷^{b}	۰/۷۴^{a}
B0K	۱۰	۳۹/۷۷^{d}	۵۰/۵^{c}	۳۶/۷^{e}	۲/۰۱^{d}	۷/۰۶^{c}	۰/۳۲^{c}	۳۳۴^{c}	۱۹/۲۲	۴۷/۷۳^{b}	۰/۵۶^{d}
SEM	۰/۶۹	۰/۹۵	۰/۵۹	۰/۷۸	۰/۲۵	۰/۳۵	۰/۰۸	۳۵/۶	۰/۵۵	۲/۵۴	۰/۰۱
P-Value	⩾ ۰/۰۵	۰/۰۱	۰/۰۵	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	⩾ ۰/۰۵	۰/۰۱	۰/۰۱



نمودار ۱- برخی پارامترهای رشدی گیاه کلزا در اثر تلقیح باکتری‌های مولد سیدروفور

منابع

Berry MP and Spink JH, 2006. A physiological analysis of oilseed rape yield , past and future (review). Journal of Agricultural Science,Cambridge 199: 381-392.

Khldbryn B. and Islamzadeh, 1384. Mineral nutrition of higher plants (Translation). Volume I. Publications of Shiraz University.

Khosravi H, 2001. Application of biofertilizers in cereals farming. P: 178-194, in: Khavazi,K., and Malakouti, M. J. (eds.), Necessity for the production of biofertilizers in Iran. Acompilation of papers. Agriculture Training Publication. pp: 589.

Ksouri R, Debez A, Mahmoudi H, Ouerghi Z, Gharsalli M, and Lachaa M, 2007. Genotypic variability withinTunisian grapevine varieties (Vitis vinifera L.) facing bicarbonate-induced iron deficiency, Plant Physiology andBiochemistry, 45: 315-322.

Machuca A and Milagres AM, 2003. Use of CAS-agar plate modified to study the effect of different variables on the siderophore production by Aspergillus. Lett. Appl. Microbiol 36: 177–181.

Mahmoudi H, Labidi N, Ksouri R, Gharsalli M, and Abdelly C, 2007. Differential tolerance to iron deficiencyof chickpea varieties and Fe resupply effects, Comptes Rendus Biologies, 330 (3):237-246.

Neilands J, BandLeong SA, 1986. siderophores in relation to plant growth and disease .Ann.Rev.plant.physiol 37:187-208.

Schwyn B and Neilands JB, 1987. universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. Anal.Biochem 160:47-56.

اثر سطوح مختلف ورمی‌کمپوست و باکتری‌های محرک رشد بر روی عملکرد گیاه فلفل قلمی

افشین بهروز[1]، محسن علمائی[2]، مریم زبرجدی[3]، پروانه آغاز[4]، حسن سایری[5] و سمیرا انصاری[6]
۱و۵ - دانشجوی کارشناس‌ارشد گروه خاک دانشگاه منابع طبیعی و علوم کشاورزی گرگان
۲ - استادیار گروه خاک دانشگاه منابع طبیعی و علوم کشاورزی گرگان
۳ و ۴ - فارغ التحصیل کارشناس ارشد دانشگاه منابع طبیعی و علوم کشاورزی گرگان
۶ - فارغ التحصیل کارشناس ارشد دانشگاه گیلان

مقدمه

خاکهای مناطق خشک و نیمه‌خشک که بیش از ۸۰ درصد زمین‌های کشاورزی را در ایران تشکیل می‌دهند و از نظر مواد آلی فقیر می‌باشند. برای بهبود باروری و حاصل‌خیزی خاکهای کشاورزی، افزودن مواد آلی به آن ضروری است، اما منابع محدود سنتی مواد آلی هم چون کودهای حیوانی، جوابگوی نیاز روز افزون بخش کشاورزی به کود آلی نیست. در چند دهه اخیر مصرف نهاده‌های شیمیایی در اراضی کشاورزی موجب معضلات زیست‌محیطی عدیده‌ای از جمله آلودگی منابع آب، کیفیت محصولات کشاورزی و کاهش میزان باروری خاکهای کشاورزی گردیده است. کشاورزی پایدار بر پایه مصرف کودهای زیستی با هدف حذف یا تقلیل چشمگیر در مصرف نهاده‌های شیمیایی یک راه حل مطلوب جهت غلبه بر این مشکلات به شمار می آید. کودهای زیستی حاوی مواد نگهدارنده‌ای با جمعیت متراکم یک یا چند نوع ارگانیسم مفید خاکزی و یا به صورت فراورده‌های متابولیک این موجودات می باشد که به منظور بهبود حاصلخیزی خاک و عرضه مناسب عناصر غذائی مورد نیاز در یک سیستم کشاورزی پایدار به کار می‌رود (صالح راستین ۱۳۷۷). که از این بین می‌توان به ورمی‌کمپوست اشاره کرد. ورمی‌کمپوست فرایند بیوتکنولوژی ساده کمپوست است که در آن از گونه‌های خاصی از کرم‌های خاکی برای تبدیل مواد زائد به منابع مفید استفاده می‌شود (گاندی و همکاران ۱۹۹۷). ورمی‌کمپوست یا کمپوست کرمی، عبارت است از کود بیولوژیکی که در اثر عبور مداوم و آرام مواد آلی در حال پوسیدگی از دستگاه گوارش گونه‌هایی از کرم خاکی و دفع این مواد از بدن کرم حاصل می‌شود، این مواد هنگام عبور از بدن کرم آغشته به مخاط دستگاه گوارش (موکوس) ویتامین‌ها و آنزیم‌ها شده که در نهایت به عنوان یک کود آلی غنی شده و بسیار مفید برای بهبود عناصر غذایی و ساختمان خاک، تولید و مصرف می‌گردد. مطالعات کمپوست ضایعات زیستی توسط کرم برای بهبود خاک زراعی نشان داد که ورمی‌کمپوست قابلیت دسترسی نیتروژن و فسفر را به وسیله افزایش میکروبهای تثبیت کننده زیستی و حل‌کننده‌های فسفر آلی و معدنی خاک موجب تحریک رشد ریشه و جذب نیتروژن و در نتیجه افزایش عملکرد می‌شود. ورمی کمپوست به طور معنی‌داری خاکهای اسیدی را اصلاح می کند (پادماواتیما و همکاران ۲۰۰۸). ورمی کمپوست دارای برخی از عناصر غذائی میکرو مانند مس ($۰/۹۳۷\ mgkg^{-1}$)، آهن ($۸/۶۸\ mgkg^{-1}$)، منگنز ($۱۳/۶۴\ mgkg^{-1}$)، روی ($mgkg^{-1}$ ۱۶/۹۱) است که رشد و تولید گیاهان را افزایش می‌دهد. همچنین ورمی‌کمپوست دارای ترکیبات نسبتا بالایی از هوموس و میکروارگانیسم و آنزیمهای فعال مثل آمیلاز، پروتئاز و فسفاتاز می‌باشد که تاثیر بسیار زیادی در حاصلخیزی خاک دارد (سوتار، ۲۰۰۹ ؛ رودریگرز و همکاران ۲۰۱۰).

مواد و روشها

این تحقیق به منظور بررسی اثر تلقیح باکتریهای مختلف تحریک کننده رشد بر روی کارائی ورمی‌کمپوست در افزایش رشد گیاه فلفل قلمی (*Capsicum annuum L*) صورت گرفت. تیمارها شامل دو سطح ۲۰ و ۴۰

درصد حجمی ورمی‌کمپوست به همراه ماسه بادی و سه جنس باکتری (*Bacillus spp, Psedomonas spp, Azotobacter spp*) و تلفیق آنها بر روی رشد گیاه فلفل قلمی در قالب یک طرح فاکتوریل در سه تکرار صورت گرفت. برای تیمارهای باکتریایی ابتدا در آزمایشگاه محیط کشت اختصاصی هر باکتری تهیه شد، برای ازتوباکتر محیط کشت وینوگرادسکی، برای سودوموناس محیط کشت کینگ بی و برای باسیلوس محیط کشت نوترینت براث. در زمان پیک رشد، از سوسپانسیون باکتری به اندازه ۱۰ درصد ظرفیت زراعی ورمی-کمپوست به همراه آب معمولی اضافه و مخلوط گردید تا یکنواخت گردد، سپس آن را به حال خود رها کرده تا هوا خشک شود. پس از هوا خشک شدن آن را در مقادیر ۲۰ و ۴۰ درصد حجمی با ماسه مخلوط و ۳۶ گلدان یک لیتری پر گردید. بعد از آماده سازی تیمارها از خزانه نشاء، یک گیاه فلفل در هر گلدان کشت شد. گلدان‌ها تا مرحله قبل از میوه دهی نگهداری شد سپس اندام هوایی گیاه جمع آوری، و وزن خشک هر تیمار اندازه‌گیری گردید. داده‌های حاصله با نرم افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

نتایج و بحث

نتیجه مقایسه تجزیه ورمی‌کمپوست با کمپوست معمولی نشان می‌دهد (جدول ۱) که مقدار عناصر ماکرو در ورمی‌کمپوست ۲-۱/۵ برابر کمپوست معمولی و مقدار عناصر میکرو آن هم نیز بیشتر می‌باشد.

ردیف	خصوصیات	ورمی‌کمپوست	کمپوست معمولی
۱	pH	۶/۸	۷/۸
۲	EC(میلی موس بر سانتیمتر)	۲/۳	۳/۶
۳	نیتروژن کل (درصد)	۱/۹۴	/۸.
۴	نیتروژن نیتراتی (قسمت در میلیون)	۹۰۲/۲	۱۵۶/۵
۵	فسفر (درصد)	۰/۴۷	/۳۵.
۶	پتاسیم (درصد)	۰/۷۰	/۴۸.
۷	کلسیم (درصد)	۴/۴۰	۲/۲۷
۸	سدیم (درصد)	۰/۰۲	< ۰/۰۱
۹	منیزیم (درصد)	۰/۴۶	۰/۵۷
۱۰	آهن (قسمت در میلیون)	۹۹۰۸	۷۵۰۰
۱۱	روی (قسمت در میلیون)	۲۷۸	۱۲۸
۱۲	منگنز (قسمت در میلیون)	۴۷۵	۴۱۴
۱۳	مس (قسمت در میلیون)	۲۷	۱۷
۱۴	بر (قسمت در میلیون)	۳۴	۲۵
۱۵	آلومینیوم (قسمت در میلیون)	۷۰۱۲	۷۳۸۰

جدول شماره ۱: مقایسه خصوصیات شیمیایی کمپوست معمولی و ورمی‌کمپوست

با توجه به نتایج حاصل از جدول ۲ نشان می‌دهد که باکتری ازتوباکتر ۲۲٪، باسیلوس ۱۳٪ و اثر تلفیق ازتوباکتر با باسیلوس ۳۲٪ در افزایش وزن خشک گیاه فلفل تاثیر گذاشته است. تلقیح باکتری سودوموناس به تنهایی و به صورت تلفیق با باکتری‌های دیگر تاثیر معنی‌داری در افزایش وزن خشک گیاه فلفل قلمی نداشته است.

تیمار	وزن خشک بوته (g)	تیمار	وزن خشک بوته (g)
AzV_1	۱۲/۱	$(Az+Ps)V_1$	۱۱/۸۶
AzV_1	۱۱/۶	$(Az+Ps)V_1$	۱۲/۳۳
AzV_1	۱۱/۲۵	$(Az+Ps)V_1$	۱۱/۵۲
AzV_2	۱۲/۸	$(Az+Ps)V_2$	۱۲/۸۴
AzV_2	۱۳/۵۳	$(Az+Ps)V_2$	۱۳/۰۱
AzV_2	۱۲/۵	$(Az+Ps)V_2$	۱۳/۷
PsV_1	۶/۴۸	$(Az+Ba)V_1$	۱۴/۰۲
PsV_1	۹/۵۵	$(Az+Ba)V_1$	۱۳/۷۸
PsV_1	۹/۱۳	$(Az+Ba)V_1$	۱۳/۳۴
PsV_2	۱۱/۷۳	$(Az+Ba)V_2$	۱۴/۶۶
PsV_2	۱۱/۳۰	$(Az+Ba)V_2$	۱۴/۵۸
PsV_2	۸/۹۷	$(Az+Ba)V_2$	۱۵/۴۰
BaV_1	۱۰/۶۱	$(Ps+Ba)V_1$	۱۰/۶۲
BaV_1	۱۰/۱۲	$(Ps+Ba)V_1$	۱۰/۴۷
BaV1	۱۰/۴۰	$(Ps+Ba)V_1$	۱۰/۶۳
BaV2	۱۱/۹۷	$(Ps+Ba)V_2$	۱۱/۳۵
BaV2	۱۲/۵۵	$(Ps+Ba)V_2$	۱۲/۸۷
BaV2	۱۱/۵۴	$(Ps+Ba)V_2$	۱۱/۴۰

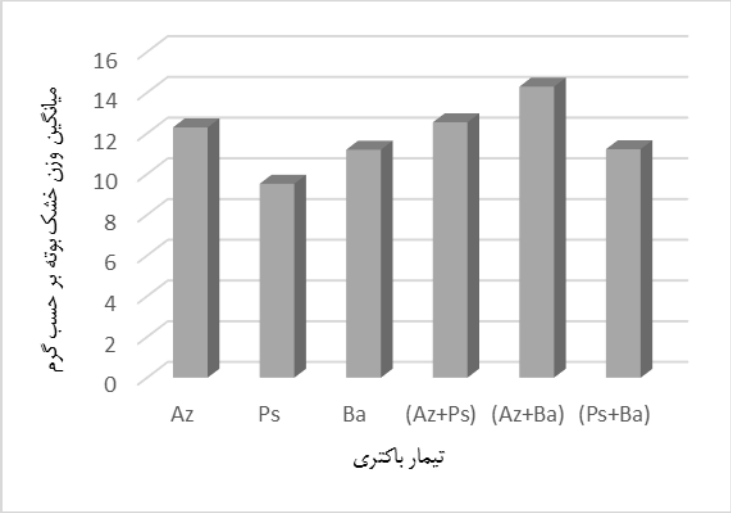
جدول شماره ۲: اثر سطوح مختلف ورمی‌کمپوست و باکتری بر روی وزن خشک گیاه فلفل قلمی

با توجه به تجزیه آماری نتایج حاصله از جدول ۳ می‌توان دریافت که تلفیق باکتری با ورمی‌کمپوست اثر معنی-داری در افزایش عملکرد داشته است و موجب افزایش وزن خشک گیاه فلفل شده است. اثر افزایش سطح ورمی‌کمپوست هم موجب افزایش رشد و وزن خشک گیاه فلفل قلمی در سطح یک درصد گردیده است. با توجه به جدول، اثری که باکتری در افزایش عملکرد نشان می‌دهد در سطح ۲۰ و ۴۰ درصد ورمی‌کمپوست معنی‌دار نمی‌باشد. یعنی تغییر سطح ورمی‌کمپوست موجب افزایش اثر باکتری بر روی عملکرد نشده است.

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F
باکتری	۷۷/۲۹۰	۵	۱۵/۴۵۸	۲۵/۷۴۱**
کمپوست	۲۰/۰۸۵	۱	۲۰/۰۸۵	۳۳/۴۴۷**
باکتری × کمپوست	۱/۳۰۶	۵	۰/۲۶۱	۰/۴۳۵^{ns}
خطا	۱۴/۴۱۲	۲۴	۰/۶۰۱	
کل	۵۱۶۶/۱۷۱	۳۶		

جدول شماره ۳: تجزیه واریانس تیمارها

نمودار۱ نشان می دهد که بیشترین میانگین وزن خشک در کاربرد مجزا هر باکتری مربوط به ازتوباکتر و کمترین آن مربوط به سودوموناس می‌باشد در کاربرد تلفیق دو باکتری بیشترین مربوط به ازتوباکتر با باسیلوس و کمترین مربوط به سودوموناس با باسیلوس می‌باشد.



نمودار ۱: نمایش میانگین وزن خشک بوته بر حسب گرم در تیمارهای مختلف باکتری

منابع

۱- صالح راستین، ن. ۱۳۷۷. کودهای بیولوژیک. مجله آب و خاک. ویژه‌نامه کودهای بیولوژیک. جلد ۱۲. شماره ۳. ص ۳۶-۱.

2- Gandi m, Sangvan V, Kapoor KK and Dilbaghi N. 1997. Composting of household wastes with and without earthworms. Enviroment and ecology 15(2): 432-434

3-Padmavathiamma P.K, Loretta Y.li, Kumari, UR. 2008. An experimental study of vermibiowaste composting for agricultural soil improvement. Bioresource technology. 1672-1681

4-Rodriguz-cnche L.G, Cordoso vigueros L, Maldonado-montiel T, Martinez-sanmiguel M. 2010. Pathogen reduction in septic tank sludge through vermicomposting using *Eisenia fetida*. Bioresourse technology 101: 3548- 3553

5-Suthar, surindra. 2009. Vermicomposting of vegetable-market solid waste using *Eisenia fetida* impact of balking material on earthworm growth and decomposition rate. Ecological engineering 35: 914-920

بررسی توان برداشت سرب خاک با گیاه گل گاوزبان مایه زنی شده با قارچ *Glumos mosseae*

رویا زلقی و علی اکبر صفری سنجانی[1]
۱- به ترتیب دانشجوی دکتری بیولوژی خاک و استاد گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا همدان

مقدمه

در سال‌های گذشته فعالیت‌های صنعتی و استخراج معدن‌ها مایه انباشتگی فلزهای سنگین در محیط زیست شده‌اند. گیاه بهسازی یکی از روشهای زیست بهسازی است که بیشتر از راه گرفتن ترکیب های زیانبار از خاک به کمک گیاهان انجام می‌شود. در این راستا، گیاهانی که بردباری بالایی به اندازه فراوان فلزها و نیز توانایی انباشت فلزها را در خود دارند، بیش‌اندوز (hyperacumulator) نامیده می‌شوند (باکر و بروکز، ۱۹۸۹).
گیاه شایسته برای بهسازی خاک باید گذشته از این که توانایی جذب و انباشت فلز را داشته باشد و فلز را بیشتر در اندام های هوایی خود انباشت کند، همچنین بایستی ۱) به اندازه بالای فلز در خاک بردباری داشته باشد، ۲) تند رشد بوده و زیتوده بالایی داشته باشد و ۳) مانند یک گیاه کشاورزی به آسانی کشت و برداشت شود. گیاه گل گاوزبان در میان گیاهان دیگر از این دیدگاه ویژه است. فراورده این گیاه می تواند در گام های گوناگونی پالایش شود و زیان فلزهای سنگین آن برای کاربردهای گوناگون کاهش یابد. این گیاه زیتوده فراوان و شاید توان جذب فلز بالایی داشته باشد که این راندمان بهسازی خاک را افزایش می دهد (صفری سنجانی و خلیلی خواه، ۲۰۰۸).
از سوی دیگر پیامد مایه‌زنی گیاهان با قارچ میکوریز بر برداشت عناصر سنگین بارها گزارش شده است، ولی یافته های گزارش شده در این باره بسیار گوناگون می‌باشد. برخی مایه‌زنی با قارچ میکوریز را مایه افزایش برداشت عناصر سنگین و برخی مایه کاهش برداشت عناصر سنگین گزارش داده‌اند. این پژوهش برای نخستین بار بردباری و توان برداشت فلز سرب در گیاه گل‌گاوزبان را از یک خاک با اندازه های گوناگونی از سرب هنگام مایه زنی با قارچ میکوریزی *Glumos mosseae* ارزیابی می‌کند.

مواد و روشها

نمونه گیری از خاک زمین های کشاورزی شهر جورقان از ژرفای ۳۰-۰ سانتی متری به روش مرکب انجام شد. ویژگی های فیزیکی و شیمیایی خاک به روش استاندارد خاک های آهکی بررسی و آزمایش شد (جدول ۱).

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک بررسی شده

ویژگی	واحد	بزرگی
پی‌اچ	-	۷/۷
بافت	-	Sandy loam
گنجایش تبادل کاتیونی	($Cmol\ kg^{-1}$)	۸
ماده آلی	٪	۰/۹
رسانایی الکتریکی	($dS\ m^{-1}$)	۱/۲
کل سرب	($mg\ kg^{-1}$)	۷۰/۰۱

برای آلوده کردن خاک به اندازه‌های گوناگونی از سرب (صفر، ۶۰۰، ۱۲۰۰ و ۱۸۰۰ میلی‌گرم سرب در هر کیلوگرم خاک)، از نمک نیترات سرب بهره‌گیری شد. سپس هر خاک جداگانه با بخار آب گرم (دستگاه steam sterilization) سترون شده و مایه زنی قارچ در ۵ سانتی متری زیر جایگاه کاشت دانه گیاه با مایه *Glomus mosseae* که از بستر کشت ماسه ای و ریشه‌های ذرت آلوده به قارچ ساخته شده به اندازه ۷۰ گرم برای هر گلدان ۴ کیلوگرمی انجام شد. آزمایش در ۳ تکرار و با ۲۸ گلدان (۴ گیاه در هر گلدان) در گلخانه پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی‌سینا انجام شد و آبیاری روزانه در حد گنجایش رطوبتی خاک انجام گرفت. پس از ۶۵ روز با آغاز گلدهی گیاه برداشت انجام شد. بخشی از ریشه‌های گیاه با رنگ تریپان بلو رنگ آمیزی و درصد کلنیزاسیون ریشه با قارچ به کمک روش پتری شبکه بندی شده برآورد شد (گیووانتی و موسه، ۱۹۸۰).

اندام هوایی و ریشه گیاه جدا گردید و پس از شستشو با آب شهری و سپس با آب مقطر، در دمای ۶۵ درجه سانتیگراد در آون خشک شدند، پس از اندازه گیری وزن خشک، گیاهان آسیاب شده و عصاره‌گیری پودر گیاه به روش هضم تر انجام شد. غلظت سرب در عصاره‌های گیاه به کمک دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد.

برداشت سرب در اندام هوایی گیاه در هر گلدان، از حاصلضرب زیتوده هوایی در غلظت سرب در اندام هوایی براورد شد. همچنین فاکتور ترابری سرب در گیاه و فاکتور غنی شدگی سرب در بافت گیاه نیز برآورد شدند (صفری سنجانی و خلیلی خواه، ۲۰۰۸).

این پژوهش به ریخت آزمایش فاکتوریل در چارچوب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار و پردازش داده‌ها و آنالیز آماری به کمک نرم‌افزار SAS انجام شد. آزمون میانگین نیز به روش دانکن در پایه پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس نشان داد که پیامد آلودگی خاک به سرب بر همه پارامتر و فراسنجه های بررسی شده در این پژوهش چشمگیر بود و پیامد کاربرد قارچ میکوریز نیز گذشته از زیتوده ریشه، بر همه فراسنجه ها چشمگیر بود. همچنین پیامد برهمکنش تیمارهای آلودگی سرب و مایه زنی با قارچ نیز گذشته از زیتوده اندام های هوایی، بر همه فراسنجه ها چشمگیر بود.

آزمون میانگین ها (جدول ۲) نشان داد که با افزایش آلودگی سرب خاک میانگین وزن خشک زیتوده هوایی و ریشه گیاه گل‌گاوزبان هر دو به اندازه چشم گیری کاهش یافت. همچنین میانگین وزن خشک زیتوده اندام هوایی و ریشه در تیمار میکوریزی بالاتر از تیمار نامیکوریزی بود و مایه زنی با قارچ میکوریز مایه افزایش وزن خشک زیتوده هوایی و ریشه گل گاوزبان شده است. پونامیا و همکاران (۲۰۱۰)، کاهش وزن خشک ریشه گیاهان بررسی شده را با افزایش آلودگی سرب گزارش دادند. همچنین ایشان افزایش زیتوده ریشه گیاهان را با کاربرد قارچ میکوریز گلوموس موسهآ گزارش دادند. آسمن و محمد (۲۰۰۹)، نیز افزایش زیتوده آفتابگردان و ذرت را در تیمارهای مایه‌زنی شده با میکوریز گزارش دادند.

درصد کلنیزاسیون ریشه در تیمار قارچی گلوموس با افزایش آلودگی سرب خاک ها افزایش یافت (جدول ۲). پونامیا و همکاران (۲۰۱۰) نیز افزایش توانایی قارچ *G. mosseae* را برای کلنیزاسیون ریشه گیاه *Vetiver* با افزایش آلودگی سرب گزارش دادند. به هر گونه در تیمار نامیکوریزی هم برخی از ریشه های گیاه به قارچ ها آلوده شده است که این احتمالا وابسته به آلودگی گیاه در دوره رشد آن می‌باشد (جدول ۲).

جدول ۲- آزمون میانگین (انحراف استاندارد) غلظت سرب در اندام‌های هوایی و ریشه، برداشت اندام هوایی، فاکتور ترابری، فاکتور غنی سازی سرب در گل گاوزبان در تیمارهای سرب و مایه زنی قارچ

پارامتر اندازه‌گیری شده	قارچ	آلودگی سرب (میلی گرم در کیلوگرم خاک)			
		صفر	۶۰۰	۱۲۰۰	۱۸۰۰
زیتوده اندام هوایی (g/pot)	*Glumos mosseae*	۶/۴۳^{a} (۰/۲۶)	۵/۵۹^{b} (۰/۷۰)	۵/۰۳^{bc} (۰/۲۵)	۵/۰۴^{bc} (۰/۰۸)
	نامیکوریزی	۵/۷۰^{ab} (۰/۵۲)	۵/۰۱^{bc} (۰/۵۳)	۴/۵۴^{c} (۰/۴۹)	۴/۳۰^{c} (۰/۴۳)
زیتوده ریشه (g/pot)	*Glumos mosseae*	۰/۷۹^{a} (۰/۱۰)	۰/۷۵^{a} (۰/۰۶)	۰/۶۱^{b} (۰/۰۳)	۰/۶۲^{b} (۰/۰۶)
	نامیکوریزی	۰/۵۳^{bcd} (۰/۰۶)	۰/۵۷^{bc} (۰/۰۶)	۰/۴۹^{cd} (۰/۰۵)	۰/۴۵^{d} (۰/۰۳)
درصد کلنیزاسیون ریشه	*Glumos mosseae*	۲۴/۲۵^{b} (۴/۷۷)	۴۴/۶۶^{a} (۳/۲۲)	۴۳/۹۲^{a} (۳/۶۰)	۴۶/۱۲^{a} (۳/۱۹)
	نامیکوریزی	۱/۷۵^{c} (۱/۶۰)	۱/۴۸^{c} (۲/۵۶)	۲/۲۹^{c} (۲/۲۸)	۲/۱۷^{c} (۱/۸۹)
غلظت اندام‌های هوایی (mg/kg)	*Glumos mosseae*	۲۹/۳۷^{e} (۱/۱۲)	۸۵/۸۸^{d} (۱/۵۶)	۱۱۱/۲۸^{b} (۸/۴۷)	۱۶۱/۰۰^{a} (۲/۶۵)
	نامیکوریزی	۲۸/۹۷^{e} (۰/۴۹)	۸۴/۷۱^{d} (۲/۱۲)	۹۴/۱۰^{c} (۳/۲۰)	۱۵۵/۳۳^{a} (۳/۵۱)
غلظت ریشه (mg/kg)	*Glumos mosseae*	۴۵/۰۶^{f} (۱/۰۰)	۱۸۴/۲۳^{d} (۱۵/۲۳)	۲۸۲/۰۰^{c} (۴/۱۳)	۴۴۸/۵۹^{a} (۱۳/۱۶)
	نامیکوریزی	۳۶/۷۵^{f} (۱/۶۵)	۱۶۱/۵۳^{e} (۲/۴۴)	۲۷۰/۷۴^{c} (۱/۷۸)	۴۱۹/۷۹^{b} (۳/۶۱)
برداشت اندام هوایی(mg/pot)	*Glumos mosseae*	۰/۱۹^{e} (۰/۰۲)	۰/۴۸^{cd} (۰/۰۶)	۰/۵۶^{c} (۰/۰۷)	۰/۸۱^{a} (۰/۰۳)
	نامیکوریزی	۰/۱۶^{e} (۰/۰۱)	۰/۴۲^{d} (۰/۰۵)	۰/۴۳^{d} (۰/۰۴)	۰/۶۷^{b} (۰/۰۸)
فاکتور ترابری	*Glumos mosseae*	۰/۶۵^{b} (۰/۰۳)	۰/۴۷^{d} (۰/۰۵)	۰/۴۰^{e} (۰/۰۳)	۰/۳۶^{e} (۰/۰۲)
	نامیکوریزی	۰/۷۹^{a} (۰/۰۵)	۰/۵۲^{c} (۰/۰۲)	۰/۳۵^{e} (۰/۰۱)	۰/۳۷^{e} (۰/۰۱)
فاکتورغنی سازی	*Glumos mosseae*	۰/۳۱^{a} (۰/۰۱)	۰/۱۳^{b} (۰/۰۰)	۰/۰۹^{c} (۰/۰۱)	۰/۰۹^{c} (۰/۰۰)
	نامیکوریزی	۰/۳۰^{a} (۰/۰۱)	۰/۱۳^{b} (۰/۰۰)	۰/۰۷^{d} (۰/۰۱)	۰/۰۸^{cd} (۰/۰۱)

برای هر پارامتر ناهمانندی میانگین‌های با دست کم یک حرف یکسان از دیدگاه آماری چشم گیر نیست ($p>0.05$).

آزمون میانگین ها در جدول ۲ نشان می دهد که با افزایش آلودگی سرب، غلظت سرب در اندام هوایی و ریشه و نیز برداشت سرب اندام هوایی به اندازه چشم گیری افزایش می یابد. همچنین اندازه این فراسنجه ها در تیمار میکوریزی به اندازه چشم گیری بالاتر از نامیکوریزی می‌باشد. مایه زنی با قارچ میکوریزی مایه افرایش جذب سرب در گیاه گل گاوزبان شده است. لیاو و همکاران در ۲۰۰۳ گزارش دادند که غلظت مس در اندام هوایی ذرت مایه‌زنی شده با *Acaulospora laevis*، *Glomus caledonium* و *Glomus manihotis* بیشتر از ذرت نامیکوریزی بود و نیز غلظت مس در ریشه ذرت مایه زنی شده با قارچ میکوریزی *Acaulospora laevis* بیشتر از گیاهان نامیکوریزی بوده است. غلظت بحرانی و بی‌زیان سرب در گیاه ۳۰ میلی گرم در کیلوگرم می باشد (پندیاس، ۲۰۰۰) و گیاه گل گاوزبان در این پژوهش در همه تیمارهای سرب خاک (۶۰۰، ۱۲۰۰ و ۱۸۰۰ میلی-گرم در کیلوگرم)، بیش از مرز بی‌زیان سرب را در اندام‌های خود برداشت نموده است و گیاه آلوده شده است.

گزارش شده است که فاکتور غنی سازی و فاکتور ترابری فلزها از فراسنجه های مهم در بررسی توان گیاهان برای جذب فلزهای سنگین و گیاه بهسازی خاک است. ضرایب بیش از ۱ توانایی گیاهان را برای جذب فلزها از خاک و ترابری فلزها و نگهداری آنها را در بخش‌های هوایی نشان می‌دهد (باکر و بروکز، ۱۹۸۹). در این پژوهش اندازه فاکتورهای غنی سازی و ترابری سرب در گیاه گل گاوزبان کوچکتر از ۱ می باشند (جدول ۲)، که نشان می دهد گیاه گل گاوزبان بیش اندوز سرب نمی باشد. برخی گزارش دادند که با فاکتور غنی سازی کمتر از ۱ نیز برخی گیاهان باز هم بیش اندوز فلزها سنگین بشمار می روند (زو و همکاران، ۲۰۰۵). فاکتورهای ترابری

و غنی‌سازی هر دو با افزایش آلودگی سرب خاک کاهش یافتند. این با گزارش سینگ و همکاران (۲۰۱۰) همخوانی دارد. بنابه رای آنها فاکتور غنی سازی بیشتر وابسته به زیست فراهمی و غلظت فلزهای سنگین در خاک می‌باشد. زیرا با افزایش غلظت فلز در خاک، جذب فلز در گیاه به همان اندازه افزایش نمی‌یابد و از یک سو بخش بزرگی از فلز در خاک به ریخت نافراهم و دوراز دسترس می‌باشد و از سوی دیگر گیاه نیز توانایی جذب اندکی برای فلزهای سنگین دارد.

گیاه گل گاوزبان گیاهی بردبار به آلودگی سرب در خاک است که تا ۱۸۰۰ میلی‌گرم سرب در کیلوگرم خاک نیز رشد نموده است و این پژوهش نشان داد که مایه زنی این گیاه با قارچ میکوریزی *Glomus mosseae* مایه میکوریزی شدن آن و افزایش چشمگیر برداشت سرب از خاک شده است. پس در جایی که هدف برداشت عنصر از خاک باشد، می توان این گیاه را با این گونه قارچ ها مایه زنی نمود.

منابع

Baker AJM, Brooks, RR, 1989. Terrestrial higher plants which accumulate metallic elements – a review of their distribution- ecology and phytochemistry. Biorecovery 81–126.

Giovannetti M, Mosse B, 1980. Evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots- New Phytol 84: 489–500.

Liao JP, Lin XG, Cao ZH, Shi YQ, Wong MH, 2003. Interactions between arbuscular mycorrhizae and heavy metals under sand culture experiment- Chemosphere 50: 847–853.

Pendias dH, 2000. Trace elements in soil and plant- Third ed, CRC press, Bocarton, London, New York Washington D.C.P.P.

Punamiya P, Datta R, Sarkar D, Barber S, Patel M, Das P, 2010. Symbiotic role of Glomus mosseae in phytoextraction of lead in vetiver grass [Chrysopogon zizanioides (L.)] -Journal of Hazardous Materials 177: 465–474.

Safari Sinegani AA, Khalilikhah F, 2008. Phytoextraction of lead by Helianthus annuus: effect of mobilising agent application time- Plant Soil Environ. 54 (10): 434–440.

Singh A, Agrawal M, Marshall M., 2010. The role of organic vs. inorganic fertilizers in reducing phytoavailability of heavy metals in a wastewater-irrigated area- Ecol. Eng. 36: 1733–1740.

Usman ARA, Mohamed HM, 2009 .Effect of microbial inoculation and EDTA on the uptake and translocation of heavy metal by corn and sunflower- Chemosphere 76: 893–899.

Zu YQ, Li Y, Chen JJ, Chen HY, Qin L, Christian S, 2005. Hyperaccumulation of Pb, Zn and Cd in herbaceous grown on lead-zinc mining area in Yunnan, China- Environ. Int. 31: 755–762.

غربالگری و ارزیابی کارایی انحلال فسفات باکتریهای حل‌کننده فسفات آلی و معدنی

نسترن چلبیانلو*[1]، محمدرضا ساریخانی[2]، سید ابوالقاسم محمدی[3]

[1*] دانشجوی کارشناسی ارشد گرایش بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، [2] استادیار گروه خاکشناسی، [3]استاد گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

(Nastaran_chalabianlou@yahoo.com)

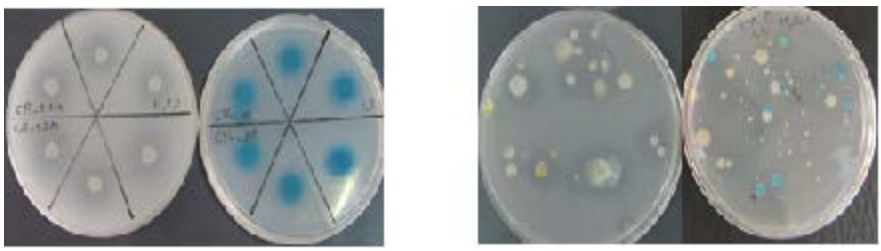
مقدمه

فسفر یکی از عناصر غذایی مهم برای گیاهان می‌باشد و در خاکها به دو شکل آلی و معدنی به مقدار فراوان و در محدوده $mg\ kg^{-1}$ ۴۰۰–۱۲۰۰ حضور دارد اما غلظت فسفات محلول در خاک معمولاً خیلی پایین است و در سطح $mg\ kg^{-1}$ ۱ یا کمتر می‌باشد (Rodriguez and Fraga, 1999). توجه به سازوکار زیستی و میکروبی در تامین فسفر مورد نیاز گیاهان زمانی مشخص می‌شود که بدانیم خاک از نظر منابع فسفات فقیر نمی‌باشد، به عنوان نمونه تری‌کلسیم فسفات شکل غالب فسفات در شرایط قلیایی بوده و همچنین فسفاتهای آهن و آلومینیم در خاکهای اسیدی به فراوانی یافت می‌شود اما قابل استفاده گیاه نیستند. بعلاوه ۷۵ تا ۹۰٪ فسفات که در قالب کود شیمیایی به خاک اضافه می‌شود تشکیل رسوب می‌دهد و از دسترس گیاه خارج می‌شود، این موضوع به واکنش‌پذیری بسیار بالای یون ارتوفسفات با کاتیونهای فلزی از قبیل Al^{3+} و Fe^{3+} در شرایط خاک‌های اسیدی و با یون Ca^{2+} در خاک‌های خنثی تا آهکی برمی‌گردد. مدارکی مبنی بر نقش ریزسازواره‌های ریزوسفری در انحلال فسفات معدنی به سال ۱۹۰۳ برمی‌گردد (Illmer and Schinner, 1992). ریزسازواره‌ها از طریق معدنی کردن فسفر آلی و انحلال فسفات‌های رسوب یافته، فراهم‌سازی فسفر برای گیاهان را افزایش می‌دهند (Rodriguez and Fraga, 1999). این دسته از ریزسازواره‌ها گرچه فسفر را در ساختار سلولی خود به خدمت می‌گیرند، ولی بخشی از آن که در محیط آزاد شده است در اختیار گیاه قرار می‌گیرد. در میان فلور میکروبی خاک برخی از باکتریها دارای قابلیت ویژه‌ای در انحلال فسفات معدنی و معدنی نمودن فسفات آلی هستند که این رفتار آنها با سازوکار تولید اسیدهای آلی و آنزیم‌های فسفاتاز در ارتباط می‌باشد. گونه‌هایی از جنس *Pseudomonas*، *Bacillus*، *Pantoea* و *Rhizobium* از قوی‌ترین حل‌کنندگان فسفات به شمار می‌آیند. جداسازی و بررسی کارایی انحلال فسفات آنها به عنوان یک راهکار جایگزین استفاده از کودهای شیمیایی فسفاته می‌تواند مورد توجه قرار گیرد. به صورتیکه باکتری‌های حل کننده فسفات از سال ۱۹۵۰ به عنوان کود زیستی مورد استفاده قرار می‌گیرند. بر این اساس در این مطالعه اقدام به جداسازی باکتریهای حل‌کننده فسفات در محیطهای غربالگری حاوی منابع فسفات آلی و معدنی نامحلول شده است، تا ضمن جداسازی با بررسی کارایی آنها در محیط جامد و مایع، ایزوله‌های کارامد برای شناسایی مولکولی نامزد شوند.

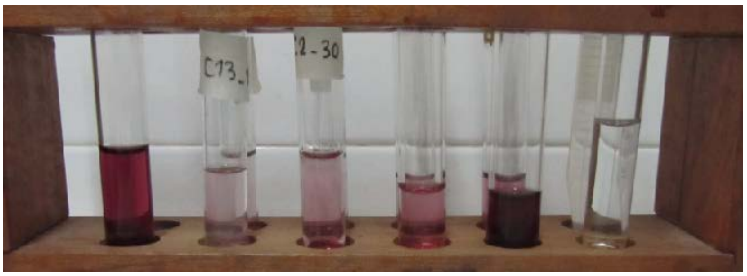
مواد و روش‌ها

برای این منظور تعداد ۲۴ نمونه خاک از شرایط اقلیمی متفاوت (نیمه‌مرطوب و نیمه خشک) در اراضی تحت کشت گیاهان لگوم، غلات و زمین عاری از کشت، از اعماق ۲۵-۰ سانتیمتر نمونه‌برداری شد. بعد از نمونه‌برداری از خاکهای مختلف، روش مرسوم در جداسازی اولیه این دسته از باکتری‌ها که استفاده از منابع فسفاته معدنی و آلی کم‌محلول یا نامحلول در محیط کشت‌های جامد می‌باشد، مورد استفاده قرار گرفت (Sperber, 1985; Sarikhani et al., 2010). بعد از غربالگری اولیه و انتخاب ایزوله‌های دارای هاله شفاف در

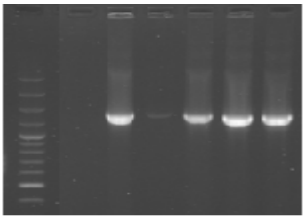
محیط معدنی یا ایزوله‌های با فنوتیپ آبی در محیط آلی، مقایسه همزمان آنها به روش کشت نقطه‌ای انجام پذیرفت (مطابق شکل ۱) تا ایزوله‌های برتر برای بررسی در محیط کشت مایع مورد استفاده قرار گیرند (Sarikhani et al., 2013a). در محیط‌های مایع حاوی فسفر آلی (فیتات) علاوه بر سنجش آزادسازی فسفر به روش پایش رنگ زرد (روش کمی) از روش کیفی دیگری به صورت همزمان استفاده شد که به معرف واد (Wade's reagent) معروف است. در این روش اگر فیتات هنوز در باقیمانده کشت میکروبی موجود باشد با آهن موجود در معرف Wades پیوند یافته و محیط به صورت بی‌رنگ باقی خواهد ماند (مطابق شکل ۲). اما اگر فیتات با هر یک از میکروارگانیسم‌های موجود در نمونه مصرف شود، آهن موجود در معرف در پیوند با اسید سولفوسالیسیلیک (sulfosalicylic acid) باقی می‌ماند و تولید رنگ صورتی (مولدان فیتاز، امتیازدهی مثبت) خواهد کرد (Deaker et al., 2011). قابل ذکر است که باکتریهای منتخب در دو محیط آلی و معدنی جامد، هم در محیط معدنی مایع و هم در محیط آلی مایع مورد ارزیابی قرار گرفتند. در ادامه در مورد ایزوله‌های برتر اقدام به شناسایی مولکولی شد که برای این منظور از آغازگرهای 27F و 1492R استفاده شد، جزییات بیشتر این روش بر اساس منبع (Sarikhani et al., 2013b) صورت پذیرفت. در شکل ۳ عکس ژل الکتروفورز مربوط به تکثیر قطعه 16S rDNA با اندازه نزدیک به 1.5kb قابل مشاهده می‌باشد.



شکل ۱- مراحل جداسازی و غربالگری حل‌کنندگان فسفات (سمت راست) در محیط دارای فسفر آلی (با ویژگی تولید کلنی آبی) و در محیط دارای فسفر معدنی (با ویژگی تولید هاله شفاف) - ارزیابی حل‌کنندگی فسفات به صورت کشت نقطه‌ای (سمت چپ)



شکل ۲- استفاده از معرف وادز جهت تعقیب حضور فیتات (عدم فعالیت فیتازی) یا عدم حضور فیتات (فعالیت فیتازی) به ترتیب با تولید رنگ سفید و صورتی.



شکل۳- تکثیر قطعه DNA رمزکننده 16S rRNA باکتریهای منتخب جهت شناسایی مولکولی

نتایج و بحث

در این پژوهش از ۲۴ نمونه خاک به ترتیب در محیط‌های Sperber آلی و معدنی غربالگری انجام شد و بر اساس تولید کلنی‌های آبی در محیط آلی و هاله شفاف در محیط معدنی (مطابق شکل ۱ سمت راست) به ترتیب ۹۷ و ۴۳ ایزوله جداسازی شد. در گام بعدی به منظور مقایسه همزمان ایزوله‌های فوق در ۳ تکرار کشت نقطه‌ای آنها در محیط‌های آلی و معدنی انجام پذیرفت (شکل ۱ سمت چپ). در کشت نقطه‌ای انجام شده ملاک انتخاب ایزوله‌های برتر در محیط معدنی تولید هاله شفاف بیشتر بود که بر این اساس نسبت قطر هاله به قطر کلنی مد نظر قرار گرفت و باکتریهای با نسبت بالای ۲ انتخاب شدند، در نتیجه از ۴۳ ایزوله اولیه ۱۶ ایزوله انتخاب شدند. در محیط آلی بر اساس شدت رنگ آبی که به صورت کیفی امتیازدهی شده بود (۳، ۲، ۱ و ۰ به ترتیب آبی پررنگ، آبی متوسط، کمرنگ و بی‌رنگ) از ۹۷ ایزوله اولیه، ۵۲ ایزوله با شدت رنگ بالای ۲ انتخاب شدند. سپس در مرحله بعد ارزیابی آزادسازی فسفر از منابع فسفات معدنی (تری‌کلسیم فسفات) و آلی (دارای فیتات یا IHP) در محیط‌های مایع به ترتیب برای ۱۶ و ۵۲ ایزوله جداسازی شده از محیط‌های Sperber معدنی و آلی جامد انجام گرفت. با توجه به حجم زیاد ایزوله‌های مورد بررسی، در این نوشتار سعی خواهد شد به برخی از اطلاعات قابل‌توجه در مورد ایزوله‌های نامزد شده نهایی اکتفا شود (جدول ۱). ایزوله‌های نامزد برای شناسایی مولکولی به ترتیب شامل C1-1O، C4-5O، C9-1O، C13-1O و C16-2O بودند که شناسایی این جدایه‌ها در حال تکمیل شدن می‌باشد.

جدول۱- ویژگیهای اندازه‌گیری شده ایزوله‌های برتر در این آزمایش

نام ایزوله	شدت رنگ آبی	واکنش با معرف Wade's	آزادسازی فسفر در محیط آلی در حضور فیتات (mg/l)	آزادسازی فسفر در محیط معدنی در حضور تری‌کلسیم فسفات (mg/l)
C1-1O	۲	ارغوانی	کمتر از ۱	۳۳۳
C4-5O	۳	ارغوانی پررنگ	کمتر از ۱	۳۶۰
C9-1O	۲	ارغوانی پررنگ	کمتر از ۱۰	۳۱۱
C13-1O	۳	ارغوانی	کمتر از ۱	۳۵۵
C16-2O	۲	بی‌رنگ	کمتر از ۱۰	۳۲۵

میزان فسفر آزاد شده پس از کسر شاهد می‌باشد

همچنانکه در جدول ۱ موجود می‌باشد تاکید ما دسترسی به سویه‌های باکتریایی بود که علاوه بر داشتن فعالیت فسفاتازی بالا (یعنی قدرت معدنی نمودن منابع فسفر آلی) دارای توان انحلال فسفات معدنی نیز باشد به این منظور پایش‌های همزمان در دو محیط آلی و معدنی برای تمام ایزوله‌های جداسازی شده انجام پذیرفت. و از آنجاییکه ویژگی حل‌کنندگی فسفات برخی از باکتریها پایداری لازم را ندارد، دوام و پایداری توان حل‌کنندگی باکتریها با کشتهای مجدد مورد آزمایش قرار گرفت. در مطالعات انجام شده به منظور جداسازی و شناسایی باکتریهای حل‌کننده فسفات روشهای متنوعی با رعایت برخی اصول کلی به کار گرفته شده است، با توجه به آنها و هدفی که در این مطالعه دنبال می‌شد از سوبسترای رنگزا (BCIP) در حضور منبع آلی IHP برای جداسازی استفاده شد. استفاده از

این موارد در مطالعات دیگران نیز اشاره شده است. برای نمونه استفاده از BCIP را در مورد قارچ آسپرژیلوس و سوسپانسیون کشت سویا جهت تشخیص فعالیت فسفاتازی گزارش نموده‌اند. دیگران نیز برای غربالگری فعالیت فسفاتازی همسانه‌های حاصل از تشکیل کتابخانه ژنومی استفاده از سوبستراهای رنگزا از قبیل pNPP و فنل فتالئین دی فسفات/ متیل گرین که به ترتیب موجب تشکیل رنگ زرد و سبز همسانه‌های با فعالیت فسفاتازی بالا می‌شود، را استفاده نموده و گزارش کرده‌اند (به نقل از Sarikhani et al., 2010). تولید کلنی آبی در حضور BCIP می‌تواند مدرکی برای فعالیت فسفاتازی یا فیتازی سویه‌های باکتریایی باشد. فیتازها گروه خاصی از فسفومونواستراها یا فسفاتازها هستند که بر روی سوبسترای فیتات اثرگذارند. گرچه در این آزمایش آزادسازی فسفر ناشی از کاربرد فیتات در محیط کشت Sperber آلی مایع، قابل توجه نبود (جدول ۱) اما تعقیب حضور یا عدم حضور فیتات در محیط با استفاده از معرف Wades می‌تواند گویای این مطلب باشد که ممکن است مولکول فیتات به درون سلول هدایت شده و توسط آنزیم‌های درون سولی مورد استفاده قرار گرفته است. اگر سویه‌های باکتریایی مورد مطالعه مولد فیتاز برون سلولی باشند در آن شرایط پیگیری آزادسازی فسفر ناشی از هیدرولیز فیتات ساده‌تر خواهد بود. قابل ذکر می‌باشد که غالب باکتریها دارای آنزیم‌های فیتاز درون سلولی هستند و در باکتریهای جنس *باسیلوس* شاهد فیتازهای برون سلولی هستیم (ساریخانی و ملبوبی، ۱۳۸۹).

منابع

ساریخانی، ملبوبی. ۱۳۸۹. فیتازها: از دیدگاه آنزیم شناسی، ویژگیهای مولکولی، بیوشیمیایی و کاربردها. بیوتکنولوژی کشاورزی. دوره ۲ (شماره ۲): ۱۳-۳۹.

Deaker R, László Kecskés M, Timothy Rose M, Amprayn K, Krishnen G, Thi Kim Cuc T, Thuy Nga V, Thi Cong P, Thanh Hien N and Robert Kennedy I, 2011. Practical methods for the quality control of inoculant biofertilisers. ACIAR.

Illmer P and Schinner F, 1992. Solubilization of inorganic phosphates by microorganisms isolated from forest soil. Soil Biology Biochemistry 24: 389–395.

Rodrıguez H and Fraga R, 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. Biotechnology Advances 17: 319 –339.

Sarikhani MR, Ebrahimi M, Oustan S and Aliasgharzad N, 2013a. Application of potassium solubilizing bacteria a promising approach in sustainable agriculture Increasing of potassium releasing from k-containing minerals in presence of insoluble phosphate. The 1st International Conference on Environmental Crisis and its Solutions. Feb 13-14, Islamic Azad University, Khouzestan, Kish Islan, Iran.

Sarikhani MR, Ebrahimi M, Fallah R. 2013b. Isolation, Identification and assessment of bioremediation potential of oil-degrading bacteria from oil-polluted sites of south of Iran. The 1st International Conference on Environmental Crisis and its Solutions. Feb 13-14, Islamic Azad University, Khouzestan, Kish Islan, Iran.

Sarikhani MR, Malboobi MA, Aliasgharzad N, Greiner R, Yakhchali B (2010) Functional screening of phosphatase-encoding genes from bacterial sources. Iranian Journal of Biotechnology. 8 (4): 275-279.

Sperber, J. I. 1985. The incidence of apatite solubilizing organisms in the rhizosphere. Australian Journal of Agricultural research, 9:778-781.

تاثیر تلقیح جداگانه‌ی دو باکتری ازتوباکتر و سودوموناس بر غلظت عناصرغذایی پتاسیم و آهن در گیاه گوجه‌فرنگی

محسن علمائی[1]، مریم زبرجدی[2]، پروانه آغاز[3]
۱ - استادیار گروه خاک دانشگاه منابع طبیعی و علوم کشاورزی گرگان
۲ و ۳ - فارغ التحصیل کارشناس ارشد دانشگاه منابع طبیعی و علوم کشاورزی گرگان

مقدمه

افزایش رو به رشد جمعیت جهان نیاز به مواد غذایی از جمله سبزی‌ها و میوه‌ها را افزایش داده است. تلاش برای افزایش تولید در واحد سطح پیامدهای ناخوشایندی مانند افزایش آلودگی نیتروژنی و تخریب محیطزیست را درپی داشته است. یکی از شیوه‌های بیولوژیکی برای افزایش تولید، استفاده بالقوه از میکرارگانیسم‌های خاک‌زی مفید که توانایی تثبیت بیولوژیکی نیتروژن ملکولی یا تولید مواد محرک رشد را داشته باشند، می‌باشد. از جمله این میکرارگانیسم‌ها باکتری‌های جنس *Azotobacer* می‌باشند که به‌دلیل دارا بودن خصوصیات مهمی چون توانایی تثبیت نیتروژن، افزایش تحرک و قابلیت جذب عناصر غذایی و خصوصاً تولید هورمون‌های رشد گیاهی موجب بهبود شرایط تغذیه و رشد گیاه می‌شوند. باکتری‌های جنس *Pseudomonas.spp* از دسته باکتری‌های محرک رشد گیاه هستند، که به‌طور وسیعی در طبیعت توزیع پیدا کرده‌اند و به‌عنوان یک کنترل‌کننده بیولوژیکی نیز عمل می‌کنند. این باکتری نیز در زمره‌ی باکتری‌های محرک رشد قرار دارد که با توجه به دارا بودن فاکتورهای محرک رشد، در رشد و نمو گیاهان زراعی تاثیر بسزایی دارد. در این تحقیق تاثیر دو باکتری ازتوباکتر و سودوموناس به صورت جدا بر میزان جذب عناصر غذایی پتاسیم و آهن در گیاه گوجه-فرنگی مورد بررسی قرار گرفته است که در نتایج می‌توان تاثیر مثبت و معنی‌دار این دو باکتری را در افزایش میزان جذب این عناصر غذایی مشاهده نمود.

مواد و روشها

به منظور بررسی تاثیر باکتری‌های ازتوباکتر و سودوموناس بر روی عناصر غذایی در گوجه‌فرنگی، در مرحله کشت نشاء در مزرعه تلقیح نشاها توسط این دو باکتری صورت گرفت. مایه تلقیح باکتری‌ها به سینی‌های کشت نشاء تلقیح شد و سپس نشاها به مزرعه منتقل شدند. در زمین زراعی علاوه بر تیمار باکتری ازتوباکتر و تیمار باکتری سودوموناس، تیمارهای کودی هم اعمال شدندکه شامل: تیمار کود ازت، کود اکسین، کود آهن، کود آهن + فسفر، کود فسفر، تیمار تیشه زنی و در نهایت تیمار شاهد که فاقد باکتری است. پس از گذشت مراحل کشت و رشد گوجه‌فرنگی نمونه‌برداری از برگ‌ها انجام گرفت، این نمونه‌ها به آزمایشگاه منتقل شده و پس از خشک شدن در آون و پودر کردن آن‌ها عصاره‌گیری از این نمونه‌ها انجام شد. سپس غلظت عناصر غذایی پتاسم و آهن در این نمونه‌ها اندازه‌گیری شد و پس از تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از آزمایش، این نتایج به صورت نمودار نشان داده شده‌اند.

نتایج و بحث

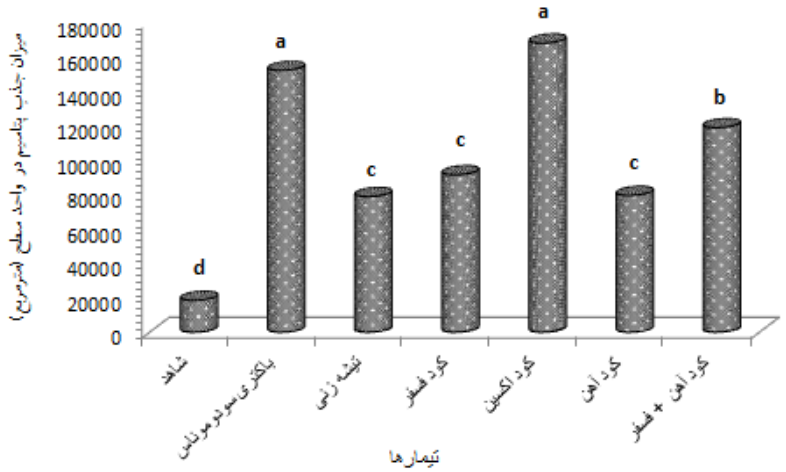
پس از تجزیه و تحلیل داده‌های آماری همانطور که از نمودارها مشخص می‌شود، می‌توان تاثیر مثبت و معنی‌دار تلقیح باکتری‌ها را مشاهده نمود. افزایش غلظت عناصر غذایی پتاسیم و آهن در گیاه گوجه‌فرنگی از تاثیرات محرک رشدی این باکتری‌ها می‌باشد.

در کل می‌توان چنین بیان نمود که به‌دلیل توان باکتری‌های ازتوباکتر و سودوموناس استفاده شده در تولید سیدروفورهایی که تمایل زیادی به پیوند شدن با آهن دارند و این کمپلکس سیدروفور–آهن ممکن است برای گیاهان هم قابل استفاده باشد، طبیعی است که این باکتری‌ها بیشترین تأثیر را بر جذب عنصر آهن در گیاه داشته باشند.

پتاسیم نقش مهمی در رنگ میوه در صنایع تبدیلی دارد. مصرف پتاسیم سبب افزایش کارتنوئید، لیکوپن و کاهش کلروفیل شده و تأثیر زیادی در متابولیسم اسیدهای میوه (عمدتاً اسیدسیتریک و اسید مالیک) دارد. در مجموع کل مواد جامد، قندها، اسیدها، لیکوپن و خاصیت انباری در میوه‌های گوجه‌فرنگی که از تغذیه پتاسیم بهره‌مند بوده باشد بیشتر است. پتاسیم از عناصر ضروری برای رشد گیاه است که اهمیت آن در کشاورزی به خوبی ثابت شده است. با توجه به دلایل فوق استفاده از باکتری‌های محرک رشد که توانایی افزایش غلظت این عنصر را در گیاه دارند توجیه می‌شود.

۱- تاثیر تلقیح تیمار باکتری Pseudomonas. spp بر میزان جذب پتاسیم در گیاه گوجه‌فرنگی

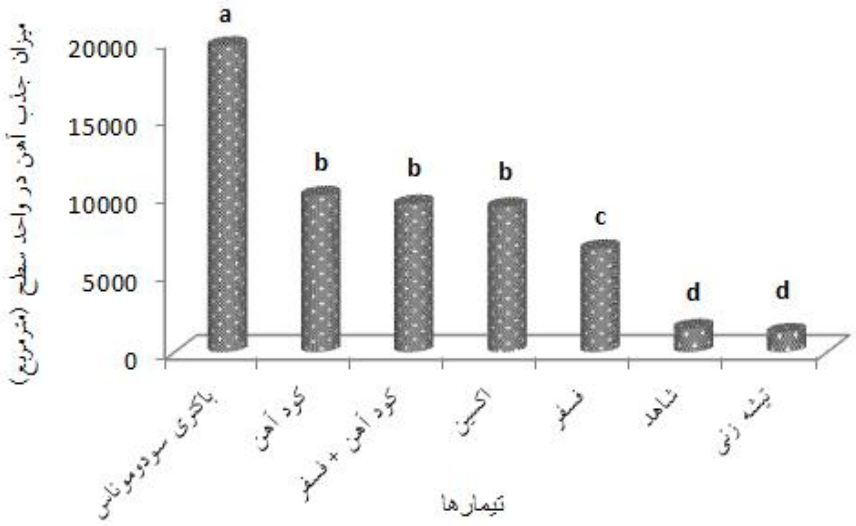
با توجه به نمودار غلظت عنصرپتاسیم می‌توان مشاهده نمود که غلظت عنصر پتاسیم فسفر در تیمار باکتری در مقایسه با تیمار شاهد (فاقد باکتری) دارای اختلاف معنی‌داری است.



نمودار جذب پتاسیم در گیاه گوجه‌فرنگی در اثر تلقیح با سودوموناس

۲- تاثیر تلقیح تیمار باکتری Pseudomonas بر میزان جذب آهن در گیاه گوجه‌فرنگی

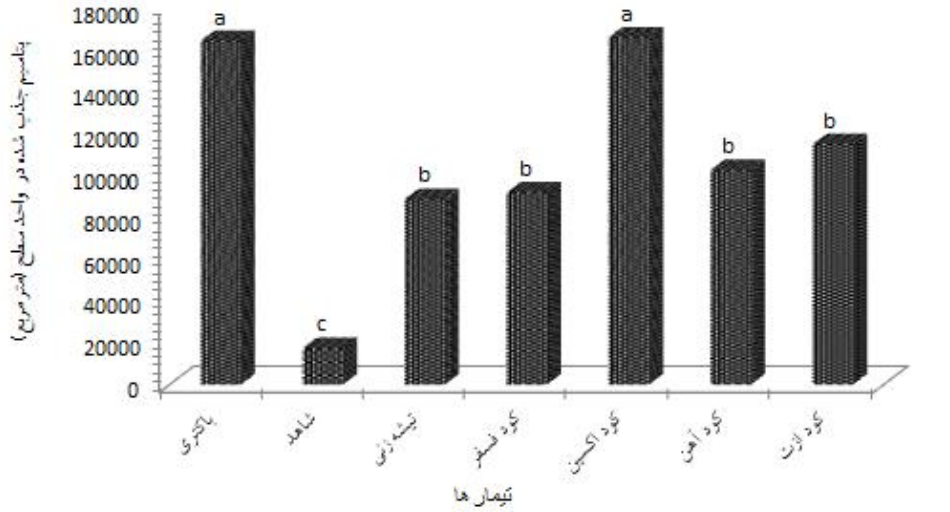
همانگونه که در نمودار مشاهده می‌شود بین تیمار باکتری Pseudomonas با تیمار شاهد (فاقد باکتری) و سایر تیمارهای کودی اختلاف معنی‌داری دیده می‌شود.



نمودار جذب آهن در گیاه گوجه‌فرنگی در اثر تلقیح با سودوموناس

۳- تاثیر تلقیح تیمار باکتری Azotobacter بر میزان جذب پتاسیم در گیاه گوجه‌فرنگی

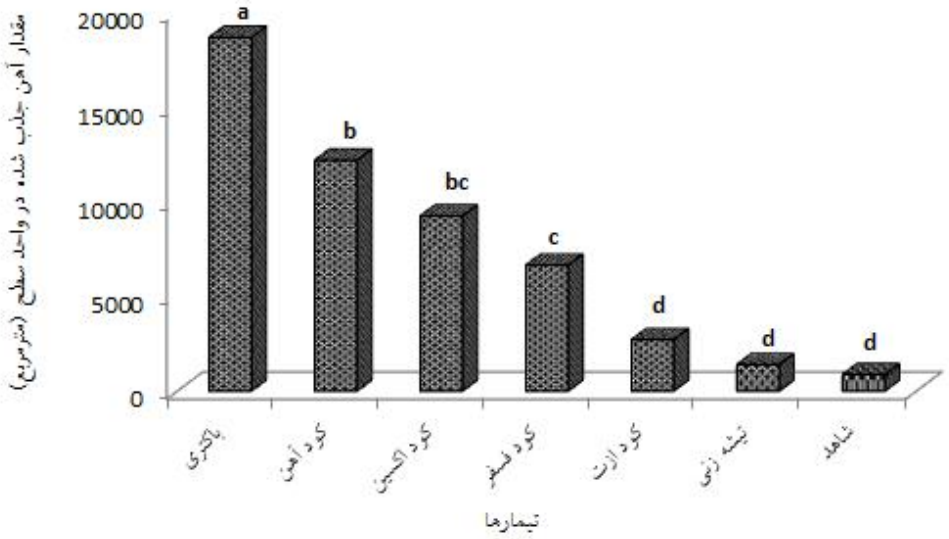
با توجه به نمودار غلظت عنصر پتاسیم می‌توان مشاهده نمود که غلظت عنصر پتاسیم در تیمار باکتری در مقایسه با تیمار شاهد (فاقد باکتری) دارای اختلاف معنی‌داری است. همچنین بین تیمار باکتری و تیمار کود اکسین اختلاف معنی‌داری دیده نمی‌شود، اما بین این دو تیمار با سایر تیمارها و تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار دیده می‌شود.



نمودار جذب پتاسیم در گیاه گوجه‌فرنگی در اثر تلقیح با ازتوباکتر

۴- تاثیر تلقیح تیمار باکتری *Azotobacter* بر میزان جذب آهن در گیاه گوجه‌فرنگی

همانگونه که در نمودار مشاهده می‌شود بین تیمار باکتری ازتوباکتر با تیمار شاهد (فاقد باکتری) و سایر تیمارهای کودی اختلاف معنی‌داری دیده می‌شود. همچنین بین تیمار کود آهن با سایر تیمارها هم اختلاف معنی‌دار مشاهده می‌شود.



نمودار جذب آهن در گیاه گوجه‌فرنگی در اثر تلقیح با ازتوباکتر

منابع:

رجایی، س.، علیخانی، ح. و رئیسی، ف. ۱۳۸۶. اثر پتانسیل‌های محرک رشد سویه‌های بومی ازتوباکتر کروکوکوم روی رشد، عملکرد و جذب عناصر غذایی در گندم. مجله علوم و فنون کشاورزی، ۱۱:۴۱، ص ۲۹۶-۲۸۵.

رسولی صدقیانی،ح. ۱۳۸۴. بررسی نقش فیتوسیدروفورها و *سودموناس*‌های تولید کننده سیدروفور در تأمین آهن و روی مورد نیاز ارقام گندم . رساله دوره دکتری خاکشناسی، دانشگاه تربیت مدرس.

Mirzakhani,M., Ardakani,M.R., Aeene Band,A., Rejali, F,. and Shirani Rad,A.H. 2009. Response of Spring Safflower to Co-Inoculation with *Azotobacter chroococum* and *Glomus intraradices* Under Different Levels of Nitrogen and Phosphorus. American Journal of Agricultural and Biological Sciences. 4 (3): 255-261.

اثر قارچ میکوریزا، ورمی کمپوست و اسید هیومیک بر میزان پیگمان های فتوسنتزی لوبیا چشم بلبلی *(Vigna unguiculata)*

نرگس حاجی حسنی[۱]، محمدرضا عامریان[۲]، حمیدرضا اصغری[۲]، مهدی رحیمی[۳]

۱-کارشناسی ارشد اگرواکولوژی دانشگاه صنعتی شاهرود، ۲-استادیار دانشگاه دامغان، ۳- کارشناسی ارشد طرح و آزمایشات دانشگاه صنعتی شاهرود

nhajihasani@yahoo.com

مقدمه

در چند دهه اخیر مصرف نهاده های شیمیایی در اراضی کشاورزی موجب معضلات زیست محیطی عدیده ای از جمله آلودگی منابع آب، افت کیفیت محصولات کشاورزی و کاهش میزان حاصلخیزی خاک ها گردیده است (ولایی و همکاران،۱۳۸۵). کشاورزی پایدار بر پایه مصرف کودهای آلی و بیولوژیک با هدف حذف یا تقلیل چشمگیر در مصرف نهاده های شیمیایی، یک راه حل مطلوب جهت غلبه بر این مشکلات به شمار می آید. در این میان، ورمی کمپوست و میکوریزا به ترتیب یکی از مهم ترین کودهای آلی و بیولوژیک می باشند که نقش مهمی در افزایش کمی و کیفی محصولات زراعی دارند. اسید هیومیک نیز بدون اثرات مخرب زیست محیطی جهت بالا بردن عملکرد دانه به خصوص در شرایط متغیر محیطی می تواند مثمر ثمر واقع شود. عطیه و همکاران (۲۰۰۲) در مطالعه خود نشان داد که ورمی کمپوستها شامل تنظیم کننده های رشد گیاه و دیگر مواد تولید شده توسط ریز موجودات هستند که در رشد گیاه مؤثر می باشند، که در این مورد می توان به هوماتها اشاره کرد. دیمر (۲۰۰۴) بیان کرد، کلروفیل b و a در فلفل تلقیح شده با قارچ *G. intraradices* بطور معنی داری نسبت به گیاهان غیرمیکوریزایی افزایش داشت. هدف از انجام این پژوهش بررسی اثر قارچ میکوریزا، اسید هیومیک و ورمی کمپوست بر پیگمان های فتوسنتزی گیاه لوبیا چشم بلبلی می باشد.

مواد و روش ها

این تحقیق درسال زراعی ۱۳۹۱- ۱۳۹۰ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه شاهرود به اجرا درآمد. آزمایش در قالب طرح پایه بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار و سه فاکتور قارچ میکوریزا در دوسطح (تلقیح و عدم تلقیح)، ورمی کمپوست در سه سطح (۰، ۳ و۶ تن در هکتار) و اسید هیومیک در دو سطح (شاهد و مصرف اسید هیومیک) انجام گرفت. قبل از برداشت نهایی، به منظور اندازه گیری کلروفیل ابتدا ۰,۰۱ گرم از بافت تازه برگ توسط پانچ جدا شده و ۷ میلی لیتر دی متیل سولفوکسید به آن اضافه کرده و نمونه ها به مدت ۴ ساعت در آون ۷۰ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. پس از گذشت این زمان نمونه ها را از آون خارج کرده و بعد از سرد شدن با قرار دادن در دستگاه اسپکتروفتومتر، میزان جذب محلول در طول موج های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر اندازه گیری شد (ولبرن و همکاران۱۹۹۴). برای انجام محاسبات مربوط به تعیین میزان کلروفیل ها و کارتنوئید بر حسب میلی گرم در میلی لیتر از روابط زیر استفاده شد. در نهایت غلظت کلروفیل ها و کارتنوئید با توجه به وزن تر هر نمونه بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر ارزیابی شدند.

$$chla\ (\mu g/ml) = (12.25\ A663) - (2.55\ A645) \quad [۱]$$

$$chlb\ (\mu g/ml)= (20.31\ A645) – (4.91\ A663) \quad [۲]$$

$$chl\ (Total)= chla + chlb \quad [۳]$$

$$carotenoids(\mu g/ml)= (1000\ A470 – 1.90\ chla -63.14\ chlb)\ /214 \quad [۴]$$

نتایج و بحث:

میزان کلروفیل a و کارتنوئید: نتایج تجزیه واریانس داده ها نشان داد (جدول۱)، که کود ورمی کمپوست بر میزان کلروفیل a در سطح احتمال ۱٪ و تیمار قارچ میکوریزا بر میزان کارتنوئید در سطح احتمال ۵٪ تاثیر معنی داراشتند. مقایسه میانگین های میزان کلروفیل a نشان داد از میان سه سطح ورمی کمپوست به کار رفته، کمترین و بیشترین میزان کلروفیل a به ترتیب در تیمار شاهد و کاربرد ۳ تن در هکتار ورمی کمپوست مشاهده شد (شکل۱– الف).

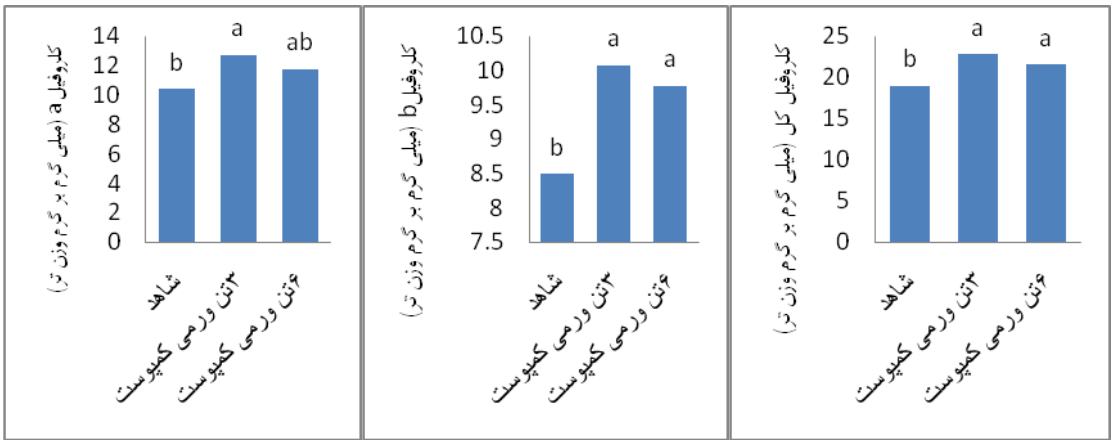
جدول ۱- میانگین مربعات صفات مورد مطالعه تحت تأثیر ورمی کمپوست، اسید هیومیک و میکوریزا

منابع تغییر	درجه آزادی	کلروفیل b	کلروفیل a	کلروفیل کل	کارتنوئید
		۱/۰۳۷	۰/۴۷۴	۲/۶۴۴	۰/۰۰۱
بلوک	۲	۸/۴۲۸**	۱۶/۱۱۰**	۴۷/۱۰۳**	۰/۳۰۰
کود ورمی کمپوست	۲	۱۲/۰۰۹**	۰/۰۱۱	۱۲/۷۵۷	۰/۵۴۳*
قارچ میکوریزا	۱	۱۶/۰۴۸**	۳/۰۰۳	۳۲/۹۲۸*	۰/۰۰۶
اسید هیومیک	۱	۰/۳۱۵	۴/۲۵۶	۳/۵۵۶	۰/۲۴۹
میکوریزا×ورمی کمپوست	۲	۳/۴۲۸	۰/۵۸۴	۵/۶۱۸	۰/۲۶۱
ورمی کمپوست ×اسید هیومیک	۲	۱۴/۰۰۳ **	۰/۲۰۲	۱۷/۵۶۴	۰/۳۲۳
میکوریزا×اسید هیومیک	۱	۱۰/۲۶۹**	۷/۶۷۶	۳۰/۶۳۵*	۰/۲۳۵
میکوریزا× ورمی کمپوست ×اسید هیومیک	۲	۱/۶۱۰	۲/۷۴۶	۶/۶۹۱	۰/۱۳۶
خطا	۲۲				
ضریب تغییرات (درصد)		۱۳/۴۴	۱۴/۲۸	۱۲/۲۹	۱۳/۹۳

* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح ۵ درصد و ۱ درصد

میزان کلروفیل b وکلروفیل کل: همچنین نتایج تجزیه واریانس داده ها در خصوص این صفات نشان داد(جدول۱)، که اثر اصلی ورمی کمپوست، میکوریزا و اسید هیومیک بر میزان کلروفیلb در سطح احتمال ۱٪ تاثیر معنی داری شدند، در حالی که کود ورمی کمپوست و اسید هیومیک بر میزان کلروفیل کل، به ترتیب در سطوح احتمال ۱٪ و ۵٪ تاثیر معنی داری داشتند. نتایج مقایسه میانگین ها بر میزان کلروفیل b وکلروفیل کل

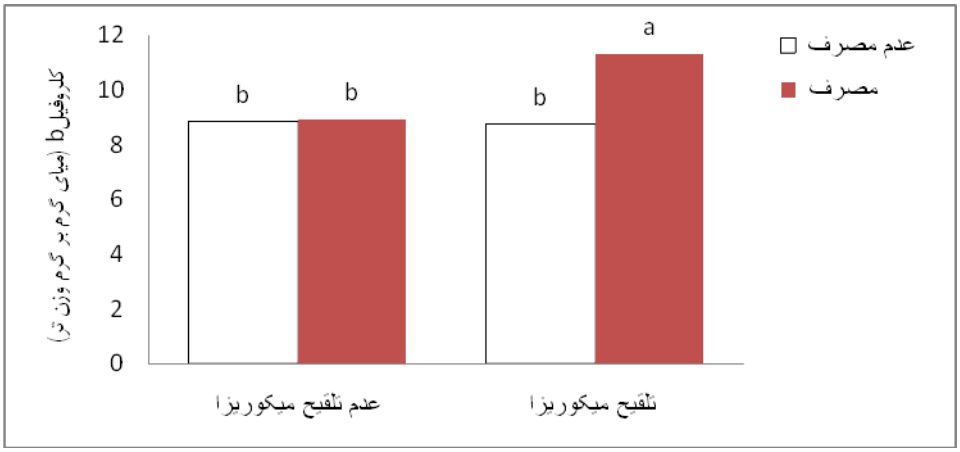
نشان داد که بین تیمار شاهد و سطوح مصرف ورمی کمپوست اختلاف معنی داری وجود دارد (شکل۱- ب و۱- ج)، ولی بین سطوح ۳و ۶ تن مصرف ورمی کمپوست، در این صفات اختلاف معنی دار وجود ندارد.



الف **ب** **ج**

شکل۱- اثر مقادیر مختلف ورمی کمپوست بر میزان الف)کلروفیل a ب)کلروفیل b ج)کلروفیل کل

مطابق جدول ۱، اثر متقابل میکوریزا و اسید هیومیک بر کلروفیل b در سطح احتمال ۱٪ معنی دار شد. نتایج مقایسه میانگین ها نشان داد که کاربرد توام قارچ میکوریزا و اسید هیومیک موجب افزایش قابل توجه کلروفیل b در مقایسه با تیمار شاهد گردید بطوریکه بیشترین میزان کلروفیل b در شرایط استفاده توام از میکوریزا و اسید هیومیک بدست آمد (شکل۲).



شکل شماره ۲- تاثیر متقابل میکوریزا و اسید هیومیک بر کلروفیل b

در بررسی اثرات سه گانه بر کلروفیل کل و b مشخص گردید که اثرات سه گانه این عامل ها به ترتیب در سطح پنج و یک درصد معنی دار بود (جدول۱). بیشترین کلروفیل کل وb در کاربرد همزمان قارچ میکوریزا و

اسید هیومیک با مصرف ۶ تن در هکتار ورمی کمپوست به ترتیب با ۲۵/۳۳۴ و ۱۲/۲۸۲ میلی گرم بر گرم مشاهده شد . اسید هیومیک با افزایش فعالیت آنزیم روبیسکو سبب افزایش فعالیت فتوسنتزی گیاه می شود (حبیبی و همکاران، ۱۳۹۰). یکی از اثرات مشترک مواد هیومیک و قارچ های میکوریزا افزایش مقدار فتوسنتز از طریق اثر بر مواد محرک رشد گیاه از جمله سایتوکینین و جذب عناصر غذایی می باشد. بررسی شریفی و همکاران (۱۳۹۰) نشان داد که تلقیح قارچ با ریشهٔ گیاه ریحان به طور معنی داری سبب افزایش کلروفیل b در مقایسه با بوته های شاهد شد. همچنین کاراکورت و همکاران (۲۰۰۸) دریافتند، اسیدهیومیک به طور معنی داری در محتوی کلروفیل برگ های فلفل موثر بوده و اثر خود را به طور اساسی بر محتوی کلروفیل b در برگ ها داشته است. ادات و همکاران (۲۰۱۱) در تحقیق خود افزایش چشمگیر کلروفیل b را در زمان مصرف همزمان قارچ میکوریزا و اسید هیومیک در گیاه اقاقیا گزارش دادند.

منابع

حبیبی، د.، فتح الله طالقانی، د.، داودی فرد، م.، پازوکی، ع.ر. و چمانی، ف. ۱۳۹۰. بررسی اثرات تنش شوری بر روی رشد و تغییرات فیتوهورمونی گندم تلقیح شده با باکتری های محرک رشد و اسید هیومیک. فصلنامه علمی- پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی. دوره ۳، شماره ۴.صفحه های ۳۵۰-۳۶۷.

شریفی، م.، محتشمیان، م.س.، ریاحی، ح.، آقایی، ا. و علوی، س.م. ۱۳۹۰. اثر قارچ اندومیکوریزایی *Glomus etunicatum* بر برخی شاخص های مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه ریحان. فصلنامه گیاهان دارویی. سال دهم، دوره دوم. صفحه های ۸۵-۹۴.

درزی،م.ت.، قلاوند، ا. و رجالی، ف. ۱۳۸۷. بررسی اثر کاربرد میکوریزا، ورمی کمپوست و کود فسفات زیستی بر گلدهی، عملکرد بیولوژیک و همزیستی ریشه، درگیاه دارویی رازیانه، مجله علوم زراعی ایران. جلد دهم، شماره ۱. صفحه های ۸۸-۱۰۹.

موسوی،م.، بهمنیار. م.ع. و پیردشتی،ه. ۱۳۹۱. واکنش گیاه برنج به کاربرد چندساله ورمی کمپوست به صورت جداگانه و غنی شده با کودهای شیمیایی مختلف. مجله الکترونیک تولید گیاهان زراعی. جلد پنجم، شماره دوم، صفحه های۱۹-۳۵.

ولایی، ل.، نورمحمدی ، ق.، حسنلو، ط. حاج سیدهادی، م.ر و ولایی،ن. ۱۳۸۵. بررسی تاثیر کودهای بیولوژیک ورمی کمپوست وفسفات بارور بر رشد و عملکرد گیاه دارویی ماریتیغال. انجمن ایزینیا.

Demir S, 2004. Influence of arbuscular mycorrhiza on some physiological, growth parameters of pepper. Turkish Journal of Biology 28: 85-90.

Karakurt Y, Unlu Ha, Padem H, 2008. The influence of foliar and soil fertilization humic acid on yield and quality of pepper. Plant Soil Sci.

Odat ND, Khateeb WL, Muhaidat R, Udatt, MA, and Irshiad l, 2011. The Effect of Exotic Acacia saligna Tree on Plant Biodiversity of Northern Jordan. International Journal of Agriculture & Biology. Vol. 13, No. 5:823-82.

مطالعه شاخص حلالیت (SI) و توانایی انحلال فسفات باکتری‌های جداسازی شده از ریزوسفر گندم و معرفی جدایه‌های کارآمد

راضیه ابراهیمی کریم آباد[1]، میرحسن رسولی صدقیانی[2] و محسن بری[3]

دانشجو کارشناسی ارشد علوم خاک دانشگاه ارومیه، دانشیار گروه علوم خاک دانشگاه ارومیه، عضو گروه علوم خاک دانشگاه ارومیه

مقدمه

فسفر بعد از نیتروژن بعنوان دومین عنصر غذایی پرمصرف برای رشد گیاهان ضروری است و کمبود آن باعث کاهش رشد و عملکرد گیاه می‌شود (Vance، 2001). بیشتر خاک‌های کشاورزی مقدار زیادی فسفر در خود ذخیره دارند که بخش مهمی از آن به علت کاربرد کودهای شیمیایی می‌باشد. اما غلظت فسفر قابل‌استفاده در خاک خیلی پایین می‌باشد و گیاه فقط مقدار کمی از کودهای فسفاته بکار برده شده در خاک را می‌تواند مورد استفاده قرار دهد، چون مقدار زیادی از آن در خاک به سرعت به ترکیبات نامحلول از قبیل فسفات‌کلسیم، فسفات‌آلومینیوم و فسفات‌آهن تبدیل می‌شود (Tao و همکاران، 2008).

یکی از راهکارهای موثر برای افزایش قابلیت جذب فسفر در خاکها، استفاده از میکروارگانیسم‌های حل‌کننده فسفات نامحلول می‌باشد. میکروارگانیسم‌های حل‌کننده فسفات موجود در خاک سبب کاهش مصرف کودهای شیمیایی فسفاته و نیز افزایش کارایی جذب فسفر در گیاهان می‌شوند(Seilsepour و همکاران،2002). در میان انواع باکتری‌های حل‌کننده فسفات‌های نامحلول می‌توان جنس‌های فلاوباکتریوم، سودوموناس، باسیلوس، اگروباکتریوم، میکروکوکوس، انتروباکتر و همچنین جنس‌های مختلف باکتری‌های ریزوبیومی را نام برد، که جمعیت آنها به طور قابل توجهی در خاک ریزوسفری بیشتر است (Katznelson و همکاران، 1962). ارزیابی توان انحلال این باکتریها با روشهای مختلفی انجام میگیرد، لیکن شاخص حلالیت یا SI بعنوان گام اول در غربالگری سویه ها معرفی گردیده است (Edipremono و همکاران، 1996). با توجه به این موضوع که باکتری‌های حل‌کننده فسفات می‌توانند بر قابلیت دسترسی فسفر توسط گیاه موثر باشند. این تحقیق با هدف جداسازی این باکتری‌ها از ریزوسفر گندم و بررسی توان کیفی و کمی آنها با استفاده از شاخص حلالیت فسفات نامحلول و معرفی سویه‌های برتر انجام گردید.

مواد و روشها

برای انجام این تحقیق تعداد 50 نمونه مرکب خاک ریزوسفری در مرحله‌ی پنجه‌دهی گندم از مزارع استان آذربایجان غربی تهیه گردید. بعد از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه، بلافاصله مراحل جداسازی انجام شد. برای این منظور نمونه‌های خاک به روش رقت‌های ده‌تایی با آب مقطر استریل تا 10^{-5} رقیق شدند. جهت جداسازی باکتری‌های حل‌کننده فسفات

ازمحیط کشت اسپربر استفاده گردید. پس از 7 روز انکوباسیون نمونه‌ها در دمای 28 درجه سانتی گراد، کلونی هایی که در اطراف آنها هاله شفاف مشاهده شد به عنوان حل‌کننده فسفات انتخاب شدند. برای تشخیص گرم سویه‌ها از رنگ آمیزی گرم استفاده شد و برای شناسایی سودوموناس های گروه فلورسنت از خاصیت پرتوافشانی زیر لامپ UV و تست‌های بیوشیمیایی استفاده گردید.

برای تعیین کمی توانایی انحلال از محیط مایع اسپربر استفاده گردید برای این منظور باکتری‌های P6، P15 و P12 که توانایی انحلال بالایی در محیط جامد نشان داده بودند انتخاب شدند و میزان فسفر محلول با روش آمونیوم–وانادات در روزهای 1، 3 و 7 پس از انکوباسیون در شیکر–انکوباتور (80 rpm) در دمای 32 درجه اندازه‌گیری گردید.

نتایج وبحث

از 50 نمونه خاک ریزوسفری 45 سویه مربوط به باکتری‌های حل‌کننده فسفات جداسازی گردیدند. از لحاظ رنگ‌آمیزی دیواره سلولی 15/5 ٪ سویه‌های جدا شده مربوط به باکتری‌های گرم‌مثبت و 84/5 ٪ مربوط به باکتری های گرم‌منفی بود. و از بین باکتری‌های گرم‌منفی 76٪ مربوط به سودوموناس های گروه فلورسنت بود. از کل سویه‌های جدا شده نیز 64٪ کل باکتری‌ها مربوط به سودوموناس‌های فلورسنت بود. سویه‌های جدا شده در برابر اشعه UV، خاصیت پرتوافشانی (فلورسانس) از خود نشان داده و به رنگ سبز و با شدت‌های مختلف پرتوافشانی مشاهده گردیدند.

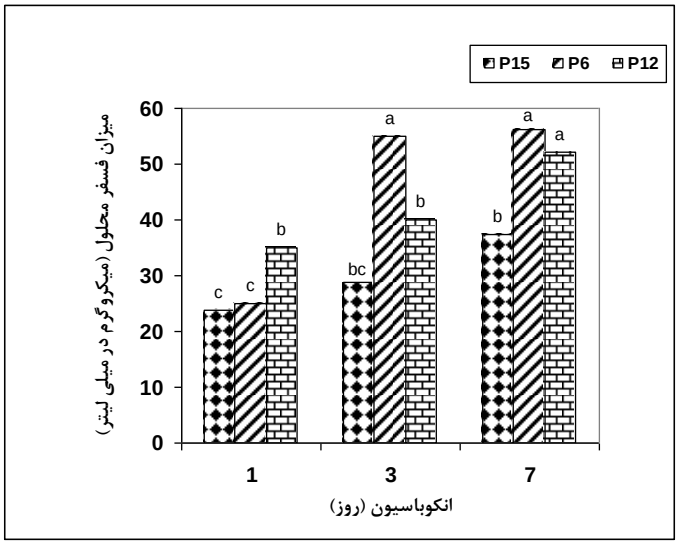
از تعداد کل باکتری‌های حل‌کننده فسفات 28 سویه در بررسی توانایی کیفی انحلال فسفات نامحلول انتخاب شد و پس از 7 روز انکوباسیون قطر هاله شفاف و قطر کلنی اندازه‌گیری گردید و میزان شاخص حلالیت (Solubilisation index)نشان داد (جدول 1) که سویه‌های P12، P6 و P15 دارای بیشترین میزان حلالیت بودند.

جدول 1- مقادیر شاخص حلالیت (SI) سویه‌های باکتریایی حل‌کننده فسفات پس از 7 روز

نام سویه	شاخص حلالیت (SI)	نام سویه	شاخص حلالیت (SI)
P14	1/6	P7	2/25
P22	1/6	P26	1/6
P6	2/75	P3	2
P5	2/2	P8	2
P45	2	P12	2/6
P20	2/2	P41	2/3
P39	2	P11	2/4
P15	2/75	P43	2
P42	2	P35	1/8

P46	1/1	P30	2
P28	2/5	P16	1/8
P10	1/6	P2	2/25
P23	2	P34	1/8
P19	2	P48	1/6

که این سویه‌ها برای بررسی توان حل‌کنندگی فسفر در محیط مایع مورد ارزیابی قرار گرفتند(شکل 1). سویه P12 در زمانهای اولیه نسبت به دو سویه دیگر توان حل‌کنندگی خوبی نشان داد، با اینحال سویه P6 دارای بیشترین توان حل-کنندگی نسبت به دو سویه‌ی دیگر در روزهای 3 و 7 بود. البته سویه P12 نیز در پایان انکوباسیون از نظر آماری با سویه P6 در یک گروه قرار گرفت. میزان حل‌کنندگی فسفر در تمام سویه‌ها با گذشت زمان روند صعودی داشت. از جمله دلایل افزایش فسفر محلول، تولید اسیدهای آلی توسط میکروارگانیسم‌ها است که با کاهش pH سبب انحلال فسفات‌های نامحلول می‌شود(Antoun، 2002). نتایج نشان داد بطور متوسط میزان فسفر حل شده از خاک فسفات در روز هفتم نسبت به روز اول 1/75 برابر گردید که نشان دهنده توانایی بالای سویه های منتخب بود و با آزمونهای تکمیلی میتوان از اینها برای تهیه مایه تلقیح PSM استفاده نمود.



شکل 1- میزان حل‌کنندگی فسفر سویه‌ها در زمان‌های مختلف

منابع

Antoun, H. 2002. Field and greenhouse trials performed with phosphate solubilizing bacteria and fungi. Proceedings of the 15th International Meeting on Microbial Phosphate Solubilization. Salamanca University, 16-19 July 2002. Salamanca, Spain**.**

Edi–Premono, M.A. Moawad, and P.L.G. Vleck, 1996. Effect of phosphate solubilizing Pseudmonas putida on the growth of maize and its survival in the rhizosphere. Indonasian J. Crop Sci., 11: 13–23.

Katznelson, H., Peterson , E. A. and Rovatt, J. W. (1962). Phosphate dissolving microorganisms on seed and in the root zone of plants . Can. J. Bot . 40: 1181-1186.

Seilsepour, M., E. Baniani and M. Kianirad. 2002. Effect of Phosphate Solubilizing Microorganism (PSM) in reducing the rate of phosphate fertilizers application to cotton crop. Proceedings of the 15th International Meeting on Microbial Phosphate Solubilization Salamanca University, 16-19 July. Salamanca, Spain.

Tao GC, Tian SJ, Cai MY, Xie GH (2008) Phosphate-solubilizing and mineralizing abilities of bacteria isolated from soils. Pedosphere 18:515–523

Vance CP (2001) Symbiotic nitrogen Wxation and phosphorus acquisition plant nutrition in a world of declining renewable resources. Plant Physiol 127:390–397

کارایی آنزیم دهیدروژناز و دگرگونی جایگاهی آن در کاربری آبی در دشت قروه کردستان

زاهد شریفی[1] و علی اکبر صفری سنجانی[2]
۱- استادیار گروه مهندسی علوم خاک دانشگاه کردستان ، ۲- استاد گروه مهندسی علوم خاک دانشگاه بوعلی‌سینا

مقدمه

از میان کارکردهای ریزجانداران در خاک، کارآیی آنزیم‌ها به ویژه آنزیم‌های درون یاخته‌ای به دگرگونی‌های خاک از راه طبیعی یا انسانی بسیار پاسخ دهنده و به دگرگونی ویژگی‌های گوناگون اکوسیستم‌ها به تندی پاسخ می‌دهند. در این میان اندازه‌گیری کارآیی آنزیم دهیدروژناز همانند شناسه‌ای از کارآیی همه‌ی ریزجانداران خاک از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. از سویی بررسی دگرگونی جایگاهی و زمانی[1] در ویژگی‌های خاک یکی از ویژگی‌های کلیدی خاک در شناخت آن به شمار می‌رود (محمدی، ۱۳۸۵). درک این دگرگونی‌ها و سرچشمه آن‌ها ما را در شیوه بهره‌وری بهتر از زمین‌ها و خاک‌ها یاری می‌دهد. برای نمونه آگاهی از وابستگی جایگاهی آنزیم‌ها در خاک، ما را از کارآیی آنزیم در هر جایگه از خاک یک میدان و کارکرد اکولوژیکی آنها و در پایان در بررسی کیفی ویژگی‌های خاک یاری می‌رساند (برگستروم و همکاران، ۱۹۹۸).

تجزیه و تحلیل ساختار دگرگونی جایگاهی[2] با بهره‌گیری از واریوگرام که از ابزارهای پایه‌ای علم زمین‌آمار است، انجام می‌گیرد. به‌گونه فشرده زمین‌آمار توانایی مدل‌سازی ساختار جایگاهی یک ویژگی یا گروهی از ویژگی‌ها را به کمک واریوگرام، میانیآبی و برآورد الگوی پراکنش جایگاهی متغیرها و آماده کردن نقشه‌های هم ارز متغیرها را دارا است. اگر فرض شود که به اندازه N(h) زوج نمونه برداشت شود، واریوگرام سنجش‌گر میانگین ناهمانندی داده‌ها بوده و در دو جایگاه x و x+h ، که تابعی از دوری میان آن‌ها (h) است، به‌گونه زیر برآورد خواهد شد.

$$\gamma(h) = \frac{1}{2N(h)} \sum_{i=1}^{N(h)} (Z(x_i) - Z(x_i + h))^2$$

در این پژوهش کارآیی آنزیم دهیدروژناز و دگرگونی جایگاهی آن در کاربری آبی در دشت قروه کردستان با بهره گیری از علم زمین آمار بررسی شد، که نمایانگر چگونگی دگرگونی کیفیت خاک زمین های این منطقه است.

مواد و روش‌ها

سرزمین بررسی شده در گستره‌ای نزدیک به ۳۶ کیلومتر مربع با کشت آبی در جنوب‌شرقی استان کردستان و در بخش پایانی شمال‌شرقی دشت قروه جای گرفته است. با نگاه به سیمای سرزمین، به شمار ۵۴ نمونه خاک رویین (۲۵-۰ سانتی‌متری)، به ریخت بختانه به‌گونه‌ای برداشته شدند، که همه سرزمین را به‌گونه‌ی یکنواختی پوشش دهد. نمونه‌ها پس از برداشت بی‌درنگ به آزمایشگاه برده شدند، پس از آماده‌سازی، ویژگی‌هایی از خاک مانند بافت‌خاک، pH، EC، درصد کربنات کلسیم معادل، همه کربن آلی، همه نیتروژن، پتاسیم فراهم و فسفر فراهم بر پایه روش‌های استاندارد در کتاب روش‌های آنالیز خاک (کلوت، ۱۹۸۶)، و آنزیم دهیدروژناز بر پایه روش اصلاح شده تالمان (۱۹۶۸) آزمایش شدند. آنالیز آماری داده‌ها با بهره‌گیری از نرم

[1] Temporal and spatial variability
[2] Structure of spatial variability

افزارهای EXCEL و MINITAB15، واریوگرافی با برنامه رایانه‌ای VARIOWIN 2.2 و میانیابی به روش کریجینگ بلوکی، به ابعاد ۲ در ۲ با بهره‌گیری از نرم افزار GS+, version5، انجام شد.

نتایج و بحث

فراسنجه‌های[3] آماری ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک و کارآیی آنزیم دهیدروژناز به ترتیب در جدول‌های ۱ و ۲ آمده است. در این پژوهش اندازه pH از ۷/۶ تا ۸/۳ (با میانگین، ۸/۰) و رسانایی الکتریکی از ۰/۲۱ تا ۰/۸۷ (با میانگین، ۰/۴۷ $dS\ m^{-1}$) بود. رویهمرفته در بیشتر جایگاه‌های نمونه‌برداری شده بافت غالب خاک، لوم تا لومی رسی شنی بود. اندازه مواد قلیایی خنثی شونده معادل کربنات‌کلسیم در دامنه گسترده‌ای از ۱۰/۵٪ تا ۴۴/۸٪ با میانگین ۲۲/۲٪ دگرگون شد. ماده آلی از ۰/۶۸ تا ۱/۶۰ (با میانگین، ۱/۱۲) و همه نیتروژن خاک از ۰/۰۵ تا ۰/۱۲ (با میانگین، ۰/۰۸) درصد دگرگون شدند. اندازه فسفر و پتاسیم فراهم به ترتیب از ۱۶/۰ تا ۷۹/۲ (با میانگین ۴۱/۳) و ۴۶/۶ تا ۱۹۳/۴ (با میانگین، ۱۰۸/۷) میلی‌گرم در کیلوگرم خاک دگرگون شدند. همچنین کارآیی آنزیم دهیدروژناز از ۴۲/۳ تا ۲۴۳/۵ با میانگین ۹۳/۰ µg T.P.F g-1 soil h-1 دگرگون شد.

جدول ۱- فراسنجه‌های آماری ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک در کاربری بررسی شده (n =۵۴).

فراسنجه	pH	EC	Clay	Silt	Sand	O.C	N_{total}	$P_{ava.}$	$K_{ava.}$	$CaCO_3$
	-	($dS\ m^{-1}$)	(٪)	(٪)	(٪)	(٪)	(٪)	(ppm)	(ppm)	(٪)
کمینه	۷/۶	۰/۲۱	۱۴/۷	۱۹/۶	۲۱/۷	۰/۶۸	۰/۰۵	۱۶/۰	۴۶/۶	۱۰/۵
میانگین	۸/۰	۰/۴۷	۲۳/۱	۳۴/۵	۴۲/۳	۱/۱۲	۰/۰۸	۴۱/۳	۱۰۸/۷	۲۹/۲
بیشینه	۸/۳	۰/۸۷	۳۳/۴	۵۶/۶	۶۱/۷	۱/۶۰	۰/۱۲	۷۹/۲	۱۹۳/۴	۴۴/۰
انحراف معیار	۰/۲	۰/۱۴	۴/۵	۸/۴	۸/۵	۰/۲	۰/۰۱	۱۶/۲	۳۴/۹	۷/۹

جدول ۲- فراسنجه‌های آماری کارآیی آنزیم دهیدروژناز خاک ($\mu g\ T.P.F\ g^{-1}\ soil\ h^{-1}$) در کاربری‌های بررسی شده (n =۵۴).

فراسنجه	کمینه	بیشینه	میانگین	میانه	انحراف معیار	ضریب دگرگونی (٪)	چولگی	کشیدگی
کارآیی دهیدروژناز	۴۲/۳	۲۴۳/۶	۹۳/۰	۷۶/۱	۴۷/۵۱	۵۱/۱	۱/۸	۲/۷

فراسنجه‌های واریوگرام و معیارهای کنترل اعتبار کریجینگ برای کارآیی آنزیم دهیدروژناز در جدول ۳ آمده است. بر پایه دسته‌بندی ژانگ و همکاران (۲۰۰۷) آنزیم دهیدروژناز در این پژوهش دارای ضریب دگرگونی میانه‌ای (CV=۵۱/۱٪) بود. آزمون نرمالیته داده‌ها با آزمون کولموگروف–اسمیرونوف[4] انجام شد و آزمون آماری نشان داد که داده‌های آنزیم یاد شده از توزیع نرمال پیروی نمی‌کنند، با توجه به اینکه هنگام نرمال بودن داده‌ها، برآوردهای زمین‌آماری با دقت بیشتری همراه خواهند بود (محمدی، ۱۳۸۵)، بنابراین دادها به کمک لگاریتم طبیعی نرمال شدند. همچنین همسانگردی کارآیی آنزیم یاد شده با بهره‌گیری از تغییرنمای رویه‌ای بررسی شد، و پس از آگاهی از همسانگرد بودن آن، شایسته‌ترین واریوگرام تجربی همه سویه که یک مدل کروی بود، بر آن برازش داده شد (نمودار ۱).

[3] Parameters
[4] Kolmogrov-Smirnov test

جدول۳- فراسنجه‌های واریوگرام و معیارهای کنترل اعتبارکریجینگ برای کارآیی آنزیم دهیدروژناز در کاربری بررسی شده

فراسنجه	مدل	اثر قطعه‌ای	آستانه	دامنه تأثیر (متر)	ضریب همبستگی[1] (٪)	کلاس همبستگی	MBE[2]	RMSE[3]	GSD(٪)[4]
لگاریتم طبیعی دهیدروژناز	کروی	۰/۰۳	۰/۱۶	۱۶۸۰	۱۵/۷۸	خوب	۰/۰۰۹	۰/۳۰۳	۶/۸

۱. ضریب همبستگی برابر است با اثر قطعه‌ای بخش بر همه واریانس و همه واریانس= اثرقطعه‌ای+ آستانه.

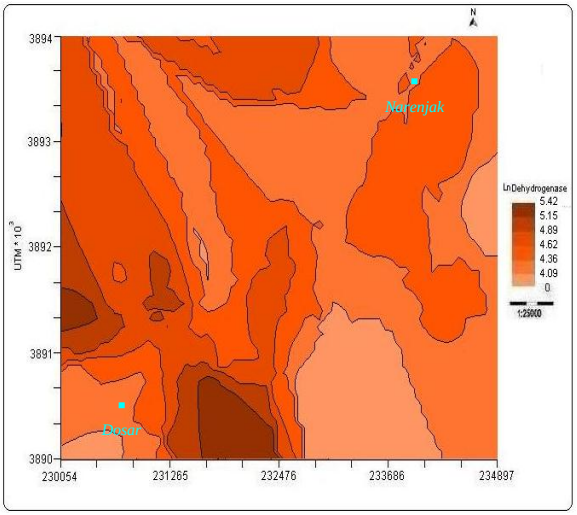
۲. میانگین خطای برآورد، ۳. ریشه میانگین مربعات خطا و ۴. انحراف استاندارد عمومی

این بررسی نشان داد که کارایی آنزیم دهیدروژناز در میدان بررسی شده دارای دامنه تأثیر چشم‌گیر (۱۶۸۰ متر)، اثر قطعه‌ای ناچیز (۰/۰۳) و ضریب همبستگی کمتر از ۲۵٪ (۱۵/۹٪) است، که نشانگر یک وابستگی جایگاهی[5] خوب در مقیاس و شرایط این پژوهش می‌باشد (کمبردلا و همکاران، ۱۹۹۴). به سخن دیگر یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد که مولفه همبستگی مکانی برای کارآیی این آنزیم در میدان بررسی شده غالب‌تر از مولفه تصادفی است. پژوهش‌ها نشان داده‌اند، که دگرگون‌پذیری ویژگی‌های خاک به پیآمد فرآیندهای خاکسازی و شیوه بهره‌برداری از زمین برمی‌گردد. به گونه‌ای که جیاچون و همکاران (۲۰۰۶) و والینیوس و همکاران (۲۰۱۱) یادآور شدند، که کارهای مردم در طبیعت با کاربرد پساب‌های صنعتی، کودهای شیمیایی و دیگر کارهای مدیریتی مانند شخم، مایه افزایش وابستگی جایگاهی ویژگی‌های خاک می‌شود. بنابراین چنین به دیده می‌آید که شرایط نسبتاً پایا در کشت آبی می‌تواند مایه‌ی یکنواختی بیشتر ویژگی‌های خاک در این کاربری شود. به گونه‌ای که مومی و همکاران (۲۰۰۲)، پیشنهاد کردند، که پوشش گیاهی کارایی ویژه‌ای را در یکنواختی و آراستن فرآیندهای اکولوژیک دارد، زیرا گیاهان با پیآمدشان بر روی رطوبت، هوا و اسیدیته و پس‌ماندهایشان به یکنواختی ویژگی‌های خاک کمک می‌کنند.

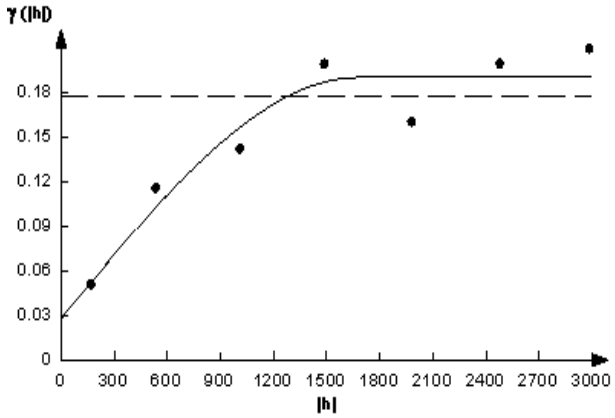
هر چند به دلیل ناهمانندی شرایط پژوهش‌های گوناگون مانند اندازه پلات‌های آزمایشی و شمار نقاط نمونه‌برداری شده، بسیار دشوار است که بزرگی دگرگونی و وابستگی جایگاهی ویژگی‌های خاک را در میان پژوهش‌های گوناگون با هم برابری دهیم (یم و همکاران، ۲۰۰۳). اما یافته‌های این پژوهش با یافته‌های کیزی‌لاکایا و آسکین (۲۰۰۷)، که برای آنزیم دهیدروژناز یک وابستگی جایگاهی خوب با دامنه تأثیر ۴۸۲۰۰ متر با یک مدل کروی را گزارش نمودند، و همچنین با یافته‌های ال–ناگار و همکاران (۲۰۱۰)، که یک وابستگی جایگاهی میانه تا خوب با دامنه تأثیر ۵۵ متر با یک مدل کروی را برای آنزیم دهیدروژناز، گزارش کردند، هماهنگی دارد. افزون بر ناهمانند بودن شرایط پژوهش‌ها، گزارش‌های ناهماهنگی نیز در باره وابستگی جایگاهی ویژگی‌های زیستی خاک شده است. برای نمونه بنماتی و همکاران (۱۹۹۱)، و رور و کایسر (۱۹۹۹)، یادآور شدند، که دگرگون‌پذیری فراسنجه‌های زیستی خاک بیشتر از فراسنجه‌های شیمیایی آن است. در برابر آن موریس (۱۹۹۹)، گزارش کرد که ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک دارای وابستگی جایگاهی بد و زیتوده میکروبی و کارکردهای زیستی خاک دارای یک وابستگی جایگاهی خوب می‌باشند. بنابراین نتایج این پژوهش با نتایج موریس در باره وابستگی‌جایگاهی خوب آنزیم‌دهیدروژناز به مانند یک ویژگی زیستی مهم خاک، همخوانی دارد.

[5]Spatial dependence

برای ارزیابی فراسنجه‌ها و پارامترهای کریجینگ با آزمون و خطا شایسته‌ترین شعاع جستجو و شمار نقاط همسایه برای به کمتر رساندن خطای برآورد کریجینگ، برآورد گردید. در این پژوهش اعتبارسنجی کریجینگ- جک‌نایف با بهره‌گیری از روش‌های: میانگین خطای برآورد (MBE)، ریشه میانگین مربعات خطا (RMSE) و انحراف استاندارد عمومی (GSD)، انجام شد، که اندازه آنها به ترتیب ۰,۰۰۹، ۰,۳۰۳ و ۶/۸٪ بود (جدول ۳). به دلیل اینکه میزان‌های MBE و RMSE کمتر از ۱ و اندازه GSD کمتر از ۲۵٪ است. بنابراین برآوردهای انجام شده با کریجینگ در ایجاد نقشه پراکنش فعالیت آنزیم دهیدروژناز دارای دقت پذیرفتنی است (نمودار ۲).



نمودار ۲ - نقشه کریجینگ پراکنش فعالیت آنزیم دهیدروژناز در کاربری مورد بررسی



نمودار ۱- واریوگرام‌های تجربی (دوایر سیاه رنگ) به همراه مدل نظری (خط ممتد) برازش داده شده برآن‌ها برای آنزیم دهیدروژناز در کاربری مورد بررسی

منابع

محمدی، جهانگرد (۱۳۸۵) "پدومتری (آمار مکانی)". انتشارات پلک، ۴۵۳ صفحه.

Bergstrom DW, Monreal, CM, Millette JA and King D.J. 1998. Spatial Dependence of Soil Enzyme Activities along a Slope. Soil Sci. Soc. Am. J. 62:1302-1308.

Bonmati M, Ceccanti B. and Nannipieri P, 1991. Spatial variability of phosphatase, urease, protease, organic carbon, and total nitrogen in soil. Soil Biol. Biochem. 23:391–396.

Cambardella CA, Moorman .B, Novak JM, Parkin TB, Karlen D., Turc, RF and Konopka AE. 1994. Field-scale variability of soil properties in central Iowa soils. Soil Sci. Soc. Am. J. 58:1501-1511.

El-Naggar E, Coyne M and Phillips T. 2010. Spatial variability of soil enzymes in a sinkhole undergoing forage transition. 19th World Congress of Soil Science, Soil Solutions for a Changing World 1–6 August 2010, Brisbane, Australia. Published on DVD.

Jiachun. S, Hazian W, Jianming X, Jinjun W, Xingme, L, Haiping Z, and Shunla, J. 2006. Spatial distribution of heavy metals in soil: A case study of Changing, China. Environ ment al Geology Geol. 10:245-264.

Kizilkaya R and Askin T, 2007. The Spatial Variability of Soil Dehydrogenase Activity: A Survey in Urban Soils. Agriculturae Conspectus Scientifi cus, 72 (1):89-94.

Klute A, 1986. Method of soil analysis. Part 1.Physical and mineralogical methods. American Society of Agronomy Inc. Madison, Wisconsin USA.

Morris S.J. 1999. Spatial distribution of fungal and bacterial biomass in southern Ohio hardwood forest soils: finescale variability and microscale patterns. Soil Biol. Biochem. 31:1375–1386.

Mummey DL, Stahl PD and Buyer JS, 2002. Soil microbiological properties 20 years aft er surface mine reclamation: spatial analysis of reclaimed and undisturbed sites. Soil Biol. Biochem. 34:1717–1725.

Rover M. and Kaiser E.A. 1999. Spatial heterogeneity within the plough layer: low and moderate variability of soil properties. Soil Biol. Biochem. 31:175–187.

Talmann A 1968. Zur methodic der bestimmung der dehdrogesea aktivitat imboden mittels Triphenylterazolium chloride (TTC). Landwirtsch forsch 21:249-258.

Wallenius K, Rita H, Mikkonen A, Lappi K, Lindström K, Hartikainen H, Raateland A. and Niemi R.M, 2011. Effects of land use on the level, variation and spatial structure of soil enzyme activities and bacterial communities. Soil Biology and Biochemistry 43:1464-1473.

Yim MH, Joo SJ, Shutou K and Nakane K, 2003. Spatial variability of soil respiration in a large plantation: estimation of the number of sampling points required. Forest Ecol. Manag. 175:585-588.

Zhang XY, Sui YY, Zhang XD, Meng K and Herbert SJ 2007. Spatial variability of nutrient properties in black soil of northeast China. Pedosphere 17(1):19–29.

مقایسه تاثیر بیوچار بر غلظت فرمهای معدنی نیتروژن و حذف بازدارنده فنولی در دو خاک اسیدی و قلیایی

سارا جاودانی صعودی[1*]- امیر لکزیان[2]- رضا خراسانی[3]
۱*-نویسنده مسئول و دانشجوی کارشناسی ارشد بیولوژی خاک ۲-استاد و عضو هیئت علمی گروه علوم خاک دانشگاه فردوسی مشهد ۳-استادیار و عضو هیئت علمی گروه علوم خاک دانشگاه فردوسی مشهد

مقدمه

در دهه‌های اخیر به دلیل افزایش رشد جمعیت و نیازهای غذایی، کشاورزی در جهان مورد توجه زیادی قرار گرفته است. افزایش فعالیت‌های کشاورزی نیازمند استفاده از عناصر غذایی مکمل برای بالا بردن کیفیت و کمیت محصولات غذایی می-باشد. اما همواره استفاده بی‌رویه از کودهای شیمیایی در کشاورزی موجب وارد شدن آسیب به سلامت موجودات زنده و محیط زیست می‌گردد. تحقیقات اخیر نشان داده است که استفاده از کودهای آلی به جای کودهای شیمیایی می‌تواند موجب افزایش محصول و جلوگیری از آلودگی‌های زیست محیطی گردد. یکی از انواع کودهای آلی که از گذشته مورد استفاده کشاورزان مناطق حاره قرار می‌گرفته است، بیوچار (Biochar) می‌باشد .تحقیقات نشان داده‌است که بیوچار با تاثیر بر چرخه نیتروژن، موجب افزایش بازده مصرف کود در زمین‌های کشاورزی می‌شود (لمان و همکاران ،۲۰۰۳). بیوچار یک ماده غنی از کربن و گروههای آروماتیک است که در اثر هیدرولیز حرارتی مواد آلی تحت شرایط محدود اکسیژن و در دماهای کمتر از ۷۰۰°c تولید می‌شود (لمان و جوزف، ۲۰۰۹). تحقیقات نشان می‌دهد که بیوچار نقش زیادی در افزایش ذخیره کربنی، بهبود حاصلخیزی خاک و تعادل اکوسیستم‌های خاکی دارد. این تاثیرات مثبت بیوچار به دلیل برخی از خصوصیات ذاتی این ماده غنی از کربن مانند تخلخل و سطح ویژه بالا، ظرفیت تبادل کاتیونی بالا، تجزیه زیستی کم و غیره مربوط می شود (لمان و همکاران ، ۲۰۱۱). همچنین بیوچار توانایی بالایی در افزایش اسیدیته خاک (یوان و یو ، ۲۰۱۱) ، تحریک فعالیت میکروبی جامعه خاک (اسمیت و همکاران ، ۲۰۱۰) و همچنین افزایش سرعت نیترات زایی (بال و همکاران ، ۲۰۱۰) دارد . بیوچار موجب خنثی کردن pH خاک‌های اسیدی و آماده کردن شرایط برای فعالیت بیشتر ریز جانداران خاک در چرخه‌های عناصر غذایی می‌گردد (تایز و ریلیگ، ۲۰۰۹). بیوچار علاوه بر خصوصیات فوق توانایی جذب ترکیبات سمی را نیز دارد که یکی از این ترکیبات سمی فنولی که بر روی چرخه نیترات‌زایی اثرات سوء دارد، کاتکول می‌باشد (سانگ و همکاران، ۲۰۰۱). محققان عنوان کرده اند که یکی از دلایل افزایش کارآیی نیترات‌زایی در خاکهای دارای بیوچار ، حذف بازدارنده های فنولی توسط جذب سطحی بیوچار می‌باشد (استینر، ۲۰۰۸). عمدتا بیشتر مطالعات انجام شده در مورد بیوچار در زمینه حاصلخیزی و آلودگی در خاکهای اسیدی و شرایط آب و هوایی مرطوب انجام شده‌است. لذا هدف از انجام این پژوهش مقایسه کاربرد سطوح مختلف بیوچار در افزایش فرمهای قابل دسترس نیتروژن برای گیاه و همچنین کاهش اثرات سمی مواد فنولی در خاک‌های اسیدی و قلیایی می‌باشد.

مواد و روش

به منظور بررسی تاثیر بیوچار بر چرخه نیتروژن و همچنین تاثیر آن بر کاهش اثرات منفی کاتکول بر چرخه نیتروژن، آزمایشی در دو خاک اسیدی و قلیایی صورت پذیرفته است. خاک اسیدی از مزارع چای استان لاهیجان و خاک قلیایی از

دشت مشهد از عمق ۱۵-۰ سانتی متری نمونه برداری شدند. بیوچار مورد استفاده در این تحقیق در دمای۵۵۰°C و در شرایط عدم حضور اکسیژن در کوره ساخته شد (راجکوویچ و همکاران، ۲۰۱۱). برخی از خصوصیات شیمیایی خاک اسیدی، خاک قلیایی و بیوچار به روش‌های معمول اندازه‌گیری شدند (اسپارکز و همکاران،۱۹۹۶) که در جدول ۱ ذکر شده است. این پژوهش در قالب طرح کاملا تصادفی با آرایش فاکتوریل در محیط آزمایشگاه انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل ۳ سطح اصلی ۰، ۲ و ۶ درصد وزنی بیوچار (به ترتیب B0، B2 و B6) و فاکتور فرعی شامل ۲ سطح کاربرد و عدم کاربرد کاتکول به میزان ۱ میلی مول بر کیلوگرم خاک (به ترتیب F و O) می‌باشند که کاتکول به صورت محلول به تیمارها اضافه شد. فاکتورهای آزمایشی به ۲۵ گرم خاک اعمال شده و در ظروف پلاستیکی دارای مبادلات اکسیژن در دمای ۲۵°C و رطوبت ظرفیت زراعی (FC) قرار گرفتند. سپس پس از گذشت ۴۵ روز از آغاز دوره انکوباسیون، مقدار آمونیوم به روش ایندوفنول (اسپارکز و همکاران، ۱۹۹۶) و نیترات به روش اسیدسالیسیلیک (آلف و نانی پیری، ۱۹۹۵) اندازه‌گیری شد.

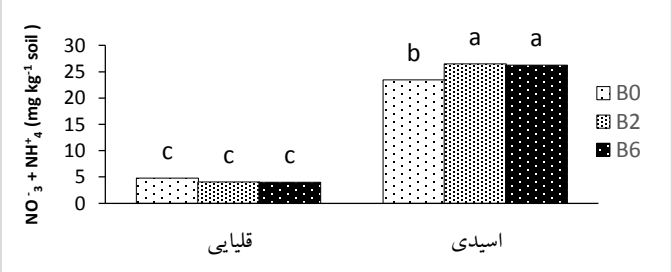
جدول ۱- خصوصیات شیمیایی خاک اسیدی ، قلیایی و بیوچار

	pH	EC ($dS\ m^{-1}$)	OC %	N	P	K	NO^-_3	NH^+_4
				ppm($mg\ kg^{-1}$)			ppm($mg\ kg^{-1}$)	
خاک اسیدی	۴/۸۰	۱/۴۰	۳/۸۰	۲۶۷۷/۵۳	۴۰/۷۲	۲۲۹/۰۴	۲/۵۰	۲۳/۳۲
خاک قلیایی	۷/۹۰	۱/۴۰	۰/۷۵	۴۵۰/۰۰	۳/۹۰	۲۴۰/۰۰	۰/۷۵	۴/۳۲
بیوچار	۱۰/۸۰	۱/۹۰	–	۴۹۸۰/۰۰	۷۰۹/۰۲	۷۱۶۷/۲۳	–	–

در نهایت به منظور بررسی تاثیر بیوچار بر چرخه نیتروژن خاک و همچنین تاثیر آن بر کاهش اثرات منفی کاتکول بر فرآیند نیترات زایی در دو خاک اسیدی و قلیایی ، نتایج این تحقیق با استفاده از نرم افزار Mstat-C آنالیز شده و نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel رسم گردید و میانگین داده ها با استفاده از آزمون حداقل میانگین مربعات (LSD) در سطح ۵٪ مقایسه شدند.

نتایج و بحث

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که در خاک قلیایی افزودن بیوچار به خاک به میزان ۲ و ۶ درصد وزنی (B2 و B6) نتوانسته است در مدت زمان ۴۵ روز موجب ایجاد تغییر معنی‌دار در نیتروژن معدنی خاک گردد (شکل۱) .



شکل۱- مقایسه میزان نیتروژن معدنی در برهمکنش نوع خاک و سطوح بیوچار

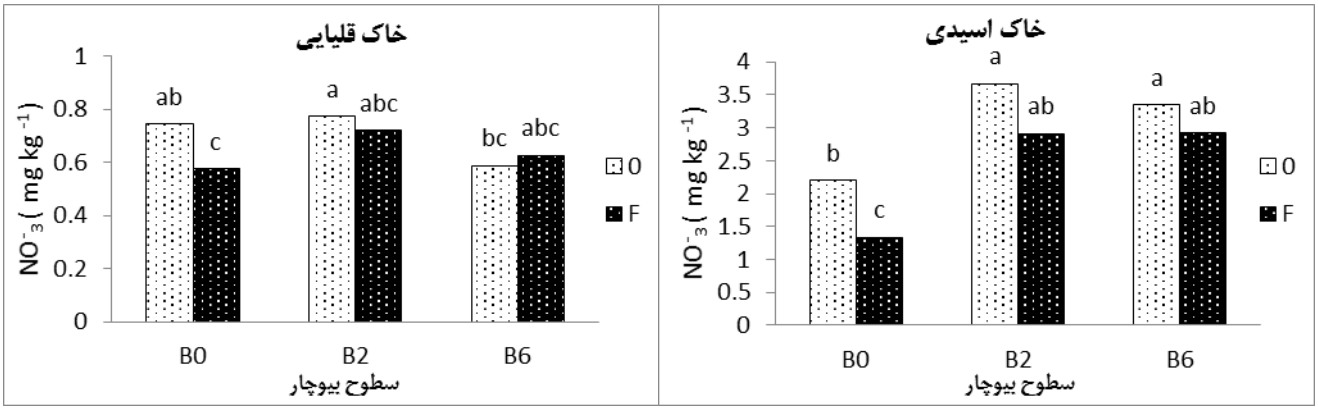
لنتز و آپولیتو (۲۰۱۱) عنوان کرده اند که کاربرد بیوچار در خاک قلیایی در سال اول پس از کاربرد، تغییر معنی‌داری در pH و نیتروژن معدنی خاک ایجاد نکرده است و تنها پس از گذشت ۲ سال از کاربرد بیوچار ، آمونیوم قابل دسترس،فسفر، پتاسیم و سدیم خاک افزایش یافته است .همانگونه که در شکل ۱ مشاهده می‌شود در خاک اسیدی نیز تیمارهای B2 و B6 در زمان ۴۵ روز ، موجب ایجاد تفاوت معنی‌داری در نیتروژن معدنی خاک نسبت به شاهد شده‌اند. تیمارهای B2 و B6 در خاک اسیدی موجب افزایش pH خاک به میزان به ترتیب ۰/۴ و ۰/۵۱ واحد شده‌اند (جدول۲) ، که این میزان تغییر برای pH ، به دلیل خاصیت بافری خاک بسیار حائز اهمیت می باشد .

جدول۲- تغییرات pH در خاک اسیدی و قلیایی پس از ۴۵ روز از دوره انکوباسیون

خاک	تیمار	pH خاک	ΔpH
	شاهد	۴/۸	–
اسیدی	B2	۵/۲	۰/۴
	B6	۵/۳۱	۰/۵۱
	شاهد	۷/۶	–
قلیایی	B2	۷/۷۱	۰/۱۱
	B6	۷/۶۳	۰/۰۳

در این راستا محققان عنوان کرده‌اند که عمدتا بیوچار موجب خنثی کردن و تعدیل pH خاکهای اسیدی در محدوده نیاز باکتری های مسئول نیترات زایی می‌شود و از این طریق موجب افزایش فرآیند نیترات‌زایی در خاکهای اسیدی می‌شود (تایز و لینگ ، ۲۰۰۹ ؛ بلک-ول و همکاران، ۲۰۰۹) .

همانگونه که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، کاربرد کاتکول در هر دو خاک اسیدی و قلیایی در تیمار شاهد موجب کاهش غلظت نیترات خاک می‌شود. کاتکول ماده سمی می‌باشد که با ایجاد تاثیر منفی بر ریزجانداران مسئول نیترات‌زایی موجب کاهش فرآیند نیترات‌زایی در خاک می‌گردد. اما کاربرد کاتکول در تیمارهای B2 و B6 در هر دو خاک اسیدی و قلیایی ، هیچگونه تغییر معنی‌داری را در کاهش میزان نیترات خاک نشان نمی‌دهد ، زیرا بیوچار به وسیله جذب کاتکول و سایر مواد فنولی در سطح خود مانع از تاثیر منفی این مواد بر چرخه نیترات‌زایی خاک می‌گردد .



شکل۲- تاثیر برهمکنش بیوچار و کاتکول بر میزان نیترات خاک در دو خاک اسیدی و قلیایی (F و 0 به ترتیب نشان-دهنده حضور کاتکول و عدم حضور کاتکول می‌باشند)

در این رابطه استینر و همکارانش در سال ۲۰۰۸ عنوان کردند که سطح ویژه بالا و وجود سطوح قطبی و غیر قطبی موجب شده‌است که بیوچار توانایی بالایی برای جذب مولکولهای آلی و عناصر مختلف در سطح خود داشته باشد .

منابع :

Alef, K. &Nannipieri, P. (eds) 1995. Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry. Academic Press, London.84-85.

Ball, P.N., MacKenzie, M.D., DeLuca, T.H., Holben, W.E. 2010. Wildfire and charcoal enhance nitrification and ammonium-oxidizing bacteria abundance in dry montane forest soils. *Journal of Environmental Quality, 39: 1243-1253.*

Blackwell,P.,Reithmuller, G. and Collins, M. 2009. Biochar application to soil, In: Lehman, J., Joseph,,S.(Eds), Biochar for Enviromental Management.450 pages Earthscan, London.

Lehmann, J., da Silva Jr., J.P., Steiner, C., Nehls, T., Zech, W., Glaser, B. 2003. Nutrient availability and leaching in an archaeological Anthrosol and a Ferralsol of the Central Amazon basin: fertilizer, manure and charcoal amendments. *Plant and Soil ,249: 343-357.*

Lehmann, J., Joseph, S., 2009. Biochar for environmental management: an introduction: Lehmann, J., Joseph, S. (Eds.), Biochar for Environmental Management: Science and Technology. London: 1-12.

Lehmann, J., M.C. Rillig, J. Thies, C.A. Masiello, W.C. Hockaday, and D. Crowley. 2011. Biochar effects on soil biota: A review. *Soil Biology and Biochemistry, 43: 1812-1836.*

Lentz R. D, and J. A. Ippolito. 2011. Biochar and Manure Affect Calcareous Soil and Corn Silage Nutrient Concentrations and Uptake . *Journal of Environmental Quality, 41:1033-1043.*

Rajkovich, S., Enders, A., Hanley, K., Hyland, C., Zimmerman, A.R., and Lehmann, J. 2011. Corn growth and nitrogen nutrition after additions of biochars with varying properties to
a temperate soil. *Biology and Fertility of Soils, 48: 271-284.*

Park, Sa., Jakato, Y. and Kim, Ch. 2001. Toxic Effects of Catechol and 4-Chlorobenzoate Stresseson Bacterial Cells. *Journal of Microbiology, 39: 206-212.*

Smith, J.L., Collins, H.P., Bailey, V.L., 2010. The effect of young biochar on soil respiration. *Soil Biology & Biochemistry 42: 2345-2347.*

Sparks D.L., Page A.L., Helmke P.A., Loeppert R.H., Soltanpour P.N., Tabatabai M.A., Johnston C.T., and Sumner M.E. 1996. Methods of soil analysis Part 3- Chemical methods. Soil Science Society of America Book Ser. 5, Madison, Wisconsin, USA. 1390 p.

Steiner, Glaser, B., Teixeria, W.G.,Lehman ,.J.,Blum, W.E.H., and Zech, W. 2008. Nitrogen retention and plant uptake on a highly weathered cenral Amazonian ferrasolamended with compost and charcoal. *Plant Nutrient Soil Science, 171: 893-899.*

Thies, J. E. and Rilling, M. C. 2009. Characteristics of biochar biological properties. *Biochar for Environmental Management*. Lehmann, J and Joseph, S (ed.), Earthscan, London, UK.

[14] Yuan, J.H., Xu, R.K., 2011. The amelioration effects of low temperature biochar generated from nine crop residues on an acidic Ultisol. *Soil Use and Management 27: 110-115.*

اثر کاربرد کوتاه مدت کودهای آلی و شیمیایی بر معدنی شدن وکربن بیوماس میکروبی

فرزانه رزاقی[1]، محمدعلی بهمنیار[2]، سروش سالک گیلانی[3]
۱-: نویسنده مسئول: دانشجو کارشناسی ارشد خاکشناسی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
۲- استاد گروه علوم خاک، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
۳- مربی گروه علوم خاک، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

مقدمه

کودهای آلی و شیمیایی از شایع‌ترین موادی هستند که در مدیریت کشاورزی برای بهبود کیفیت خاک و بهره‌وری محصول مورد استفاده قرار می‌گیرند (ورما و همکاران، ۲۰۰۷). از آنجا که مصرف بی‌رویه کودهای شیمیایی دارای مضرات زیادی است (فلاح و همکاران، ۲۰۰۷)، از این‌رو استفاده از کودهای آلی یکی از اقدامات مهم عملی برای بهبود حاصلخیزی خاک است. معدنی شدن کربن آلی و تبدیل آن به CO_2 معمولاً تحت عنوان تنفس خاک شناخته می شود که یک شاخص مناسب برای سنجش فعالیت میکروفلور دخیل در تجزیه ماده آلی محسوب می‌گردد. به‌طور کلی عواملی نظیر دما، رطوبت، pH، میزان مواد آلی، نوع و وضعیت آنها بر فعالیت تنفسی خاک تاثیر دارد. (ویگ و همکاران، ۲۰۰۳). کربن بیومس میکروبی (MBC) اغلب برای تعیین کمّی فعالیت‌های میکروبی و ارزیابی تغییرات دینامیک کربن در خاک، مورد استفاده قرار می‌گیرد و می‌توان از این پارامتر برای تجزیه و تحلیل اثر عوامل محیطی و تنش های وارده بر جمعیت میکروبی خاک استفاده نمود (کیلهام، ۱۹۹۴). تجادا و همکاران (۲۰۰۶) دریافتند که اضافه کردن کود دامی به‌عنوان اصلاح کننده به خاک باعث تحریک فعالیت تنفسی خاک می‌گردد. نتایج فریدونی و همکاران (۱۳۸۸) نیز نشان داد که کود مرغی در مقایسه با کود شیمیایی تاثیر بیشتری بر معدنی شدن کربن دارد. در واقع اضافه کردن کود مرغی کربن آلی خاک را افزایش می‌دهد و این امر باعث افزایش معدنی شدن کربن خاک می‌شود. هر دو نوع کود اوره و مرغی باعث افزایش بیومس میکروبی شدند اما تاثیر کود مرغی بیشتر از اوره بود که دلیل این امر را می‌توان ناشی از کاهش قابلیت دسترسی کربن در کودهای شیمیایی و مواد آلی بیشتر در کود مرغی دانست. همچنین ماین و همکاران (۲۰۰۳) افزایش تنفس پایه را در تیمارهای کود گاوی نسبت به کود شیمیایی گزارش کردند. مطالعات متعدد نشان داده‌اند که مصرف متعادل کودهای معدنی و یا کود آلی به همراه کودهای معدنی می‌تواند کربن آلی و حاصلخیزی خاک را افزایش دهد (بلایر و همکاران، ۲۰۰۶؛ پالسون و همکاران،۲۰۱۲). از این‌رو تحقیق حاضر به بررسی تاثیر کودهای آلی و شیمیایی و تلفیق این کودها بر معدنی شدن کربن و کربن بیوماس میکروبی خاک می‌پردازد.

مواد و روشها

این تحقیق در سال ۱۳۹۱ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری (عرض 53^{o} و $13'$ شمالی و طول 36^{o} و $42'$ شرقی) در قالب طرح بلوک‌های کاملا تصادفی با ۱۲ تیمار و ۳ تکرار انجام پذیرفت.

تیمارهای کودی شامل تیمار شاهد، کود شیمیایی (طبق آزمون خاک)، کمپوست زباله شهری (۲۰تن در هکتار)، کود مرغی (۱۰تن در هکتار)، کود گوسفندی (۲۰تن در هکتار)، و تیمار تلفیقی کودشیمیایی و کودهای آلی می-باشد. نمونه های مرکب خاک از عمق ۲۵-۰ سانتی‌متری خاک مزرعه با بافت رسی سیلتی برداشت شد. کربن آلی در خاک مزرعه، کمپوست زباله شهری، کود گوسفندی و مرغی قبل از انجام آزمایش به‌ترتیب ۱/۹۷، ۱۳/۸، ۱۴/۳، ۱۶/۳ درصد بوده است. کربن آلی خاک به‌روش والکلی و بلک، کربن بیومس میکروبی به‌روش تدخین-عصاره‌گیری و تنفس خاک با اندازه‌گیری CO_2 به‌روش تیتراسیون برگشتی (به‌مدت ۹ هفته)، اندازه‌گیری گردید (آلف و نانیپیری،۱۹۹۵). تجزیه و تحلیل آماری نتایج حاصل با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که تیمارهای کودی بر کربن آلی، کربن بیومس میکروبی و تنفس میکروبی در سطح احتمال ۱درصد اثر معنی دار داشته‌اند ($P<۰/۰۱$).

جدول۱- جدول تجزیه واریانس تاثیر کود شیمیایی و کودهای آلی بر کربن آلی و کربن بیومس میکروبی و تنفس میکروبی خاک

		میانگین مربعات		
منابع تغییرات	درجه آزادی	کربن آلی	کربن بیومس میکروبی	تنفس میکروبی خاک
تکرار	۲	۰/۳۵^{ns}	۱۵۰۳^{ns}	۳۲۴^{ns}
کود	۱۱	۰/۰۲**	۳۷۰۴۰**	۷۱۱۶۹۵**
خطا	۲۲	۰/۰۱	۲۶۶۱	۱۳۴۷۴
ضریب تغییرات	-	۵/۶۷	۹/۸۳	۵/۹۸

**معنی داری در سطح احتمال ۱درصد و ^{ns} غیرمعنی‌دار.

بیشترین میزان کربن آلی در تیمار تلفیقی ۸۰٪ کود شیمیایی و ۱۰٪ کود مرغی و گوسفندی مشاهده گردید (جدول ۲) که با نتایج سالک گیلانی و بهمنیار (۲۰۰۸) مطابقت دارد. ایشان دریافتند که کربن آلی در تیمار کودهای آلی بیشتر از تیمار شاهد و کود شیمیایی بوده است و همچنین تیمارهای تلفیقی کود شیمیایی و کودهای آلی نسبت به تیمار کود آلی به تنهایی کربن آلی بیشتری را نشان داده است. کربن بیومس میکروبی در تیمار کود مرغی و کود گوسفندی به‌ترتیب ۴۱٪ و ۲۶٪ نسبت به تیمارهای تلفیقی افزایش یافت (جدول ۲). کود مرغی و گوسفندی احتمالاً به‌دلیل فراهم نمودن عناصر غذایی و مواد آلی بیشتر نقش موثری‌تری نسبت به تیمارهای تلفیقی با کود شیمیایی در افزایش کربن بیومس میکروبی ایفا می‌نمایند. حجتی و نوربخش (۲۰۰۶) نیز افزیش بیومس میکروبی را در حضور کود گاوی (۱۲۸٪) و کود شیمیایی (۱۹٪) نسبت به تیمار شاهد گزارش نمودند. ایشان اظهار نمودند که کربن

بیومس میکروبی توسط قابلیت دسترسی کربن کنترل می‌شود و اضافه کردن کود دامی باعث فراهم کردن کربن برای حفظ میکروب‌ها می‌شود. کاهش قابلیت دسترسی کربن در کودهای شیمیایی و مواد آلی بیشتر در کودهای آلی را می‌توان از دیگر دلایل افزایش بیومس میکروبی در حضور کود مرغی دانست (ماین و همکاران، ۲۰۰۳).

جدول۲- مقایسه میانگین تاثیر کود شیمیایی و کودهای آلی بر کربن آلی و کربن بیومس میکروبی و تنفس میکروبی خاک

تیمار	کربن آلی (درصد)	کربن بیومس میکرروبی (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	تنفس میکروبی (میلی‌گرم بر کیلوگرم)
شاهد	۲/۱۸c	۵۲۳/۳bc	۱۰۲۳f
کود شیمیایی	۲/۱۸c	۶۶۲/۱a	۱۹۱۰c
۲۰تن کمپوست	۲/۳abc	۶۰۸/۶ab	۲۰۹۶c
۱۰تن کود مرغی	۲/۴۰ab	۶۸۰/۳a	۱۴۲۹e
۲۰تن کود گوسفندی	۲/۱۹bc	۶۷۱/۶a	۱۹۹۳c
۸۰٪کود شیمیایی+۲۰٪کمپوست	۲/۱۵c	۵۶۳/۴bc	۲۳۴۹b
۸۰٪کود شیمیایی+۲۰٪مرغی	۲/۲۶abc	۴۸۵/۶cde	۱۹۳۰c
۸۰٪کود شیمیایی+۲۰٪گوسفندی	۲/۲۲abc	۴۰۱/۵ef	۱۳۸۱e
۸۰٪کود شیمیایی+۱۰٪کمپوست+۱۰٪مرغی	۲/۱۶c	۳۹۶f	۲۴۱۳b
۸۰٪کود شیمیایی+۱۰٪کمپوست+۱۰٪گوسفندی	۲/۱۵c	۴۹۲/۲cd	۱۶۸۱d
۸۰٪کود شیمیایی+۱۰٪مرغی+۱۰٪گوسفندی	۲/۴۲a	۳۹۴/۸f	۲۴۳۱ab
۷۰٪کود شیمیایی+۱۰٪کمپوست+۱۰٪مرغی+۱۰٪گوسفندی	۲/۱۱c	۴۱۷/۹def	۲۶۲۵ a

میانگین‌ها با حروف متفاوت در هر ستون بر اساس آزمون LSD نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($p < ۰/۰۵$) بین تیمارها هستند

بیشترین مقدار تنفس میکروبی در تیمار تلفیقی کودهای آلی (کمپوست – مرغی- گوسفندی) و شیمیایی و کمترین آن در تیمار شاهد مشاهده گردید (جدول ۲) و دلیل این امر احتمالا مربوط به فراهمی کلیه عناصر غذایی برای ریزجانداران خاک در تیمار تلفیقی می‌باشد. سالک گیلانی و بهمنیار (۲۰۰۸) نیز افزایش تنفس میکروبی را در تیمار کودهای آلی (لجن فاضلاب و ورمی‌کمپوست) نسبت به تیمار شاهد و کود شیمیایی و همچنین در تیمار تلفیقی کود شمیایی و کودهای آلی نسبت به کاربرد کودهای آلی به تنهایی مشاهده نمودند. تیمار کود مرغی نسبت به کود گوسفندی و کمپوست تاثیر کمتری بر افزایش تنفس میکروبی خاک داشته است که با نتایج صاحب سودایی مشاعی و همکاران (۱۳۸۶) مطابقت دارد. بیشترین میزان کربن آلی و کربن بیومس میکروبی در تیمار تلفیقی کود شیمیایی و کودهای آلی و

بیشترین مقدار تنفس در تیمارکود شیمیایی وکودهای آلی (مرغی و گوسفندی) مشاهده شده است. می-توان با کاربرد متعادل کودهای آلی و شیمیایی شرایط بیولوژیکی خاک را بهبود بخشید.

منابع

سودایی مشاعی، ص.، علی اصغرزاده ن. و اوستان ش.، ۱۳۸۶. تنفس میکروبی خاک تیمارشده با کودهای آلی تحت شرایط دمایی و رطوبتی کنترل شده. دهمین کنگره علوم خاک ایران. کرج.

فریدونی ناغانی، م.، ریئسی ف. و فلاح س.، ۱۳۸۸. تاثیر منبع و مقدار نیتروژن بر روند فعالیت آنزیمی یک خاک آهکی تحت کشت ذرت علوفه ای. نشریه آب و خاک علوم و صنایع کشاورزی. جلد بیست و سوم، شماره ۴. صفحه‌های ۱۲۷ تا ۱۳۶.

Alef K and Nannipieri P, 1995. Methods in soil microbiology and biochemistry. Academic, London, pp. 232-233.

Blair N, Faulkner RD, Till A, Korschens M and Schulz E, 2006. Long-term management impacts on soil C, N and physical fertility: Part II: Bad lauchstadt static and extreme FYM experiments. Soil and Tillage Research. 91: 39–47.

Fallah S, Ghalavand A and Khajepoor M, 2007. Effects of incorporation methods of manure with soil and its integration with chemical fertilizer on yield and yield component of grain corn (Zea mays L.) in Khoram-Abad Lorestan. Journalof Agricultural Sciences and Natural Resources. 40: 233-242. (In Persian)

Hojjati S and Nourbakhsh F, 2006. Enzyme activities and microbial biomass carbon in a soil amended with organic and inorganic fertilizers. Journal of Agronomy. 5(4):563-579.

Killham K, 1994. Soil Ecology. Cambridge University Press.

Min DH, Islam KR, Vough LR and Weil RR, 2003. Dairy manure effects on soil quality properties and carbon sequestration in Alfalfa-Orchard grass systems. Commun in Soil Sci. and Plant Anal. 34: 781-799.

Powlson DS, Bhogal A, Chambers BJ, Coleman K and Macdonald AJ, 2012. The potential to increase soil carbon stocks through reduced tillage or organic material additions in England and Wales: A case study. Agriculture, Ecosystems and Environment 146: 23–33.

Salek-Gilani S and Bahmanyar MA, 2008. Impact of organic amendment with and without mineral fertilizers on soil microbial respiration. Journal of Applied Sciences 8(4): 642-647.

Tejada M, Garcia C, Gonzalez JL and Hemandez MT, 2006. Use of organic amendment as a strategy for saline soil remediation: influence on the physical, chemical and biological properties of soil. Soil Biology & Biochemistry. 33: 1413-1421.

Verma S and Sharma PK, 2007. Effect of long-term manuring and fertilizers on carbon pools, soil structure, and sustainability under different cropping systems in wet-temperate zone of northwest Himalayas. Biology and Fertility of Soils. 44: 235–240.

Vig K, Megaraj M, sethunathan N and Naidu R, 2003. Bioavailability and toxicity of cadimium to microorganisms and their activities in soil: a review. Adv. Environ. Res. 8:121-135.

بررسی تأثیر باکتری سودوموناس پوتیدا و کاربرد عنصر روی بر کاهش اثرات تنش کمبود روی در گیاه گندم

وحید اله جهاندیده مهجن‌آبادی[1]، مژگان سپهری[2]، امیرحسین خوشگفتارمنش[3]، حمیدرضا عشقی‌زاده[4] و داود رحمانی ایرانشاهی[1]

1- دانشجوی خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان
2- استادیار گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان
3- استاد گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان
4- استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

مقدمه

کمبود عناصر غذایی کم‌مصرف در اراضی زیر کشت غلات پدیده‌ای متداول در سطح جهانی است (تریبی و همکاران، 1989)، زیرا، با وجود تخلیه مقدار قابل توجهی از عناصر کم‌مصرف از خاک توسط گیاه، به تأمین این عناصر در خاک توجه کافی مبذول نشده است. کمبود روی به عنوان یکی از مهمترین عناصر کم‌مصرف، در اغلب خاکها به ویژه خاکهای مناطق خشک و نیمه خشک، به دلایل متعددی نظیر pH بالا، مقدار زیاد آهک و کمبود مواد آلی شایع می‌باشد (خوشگفتارمنش و همکاران، 1380). گندم به عنوان یکی از مهمترین غلات، از منابع مهم تأمین کننده غذای مورد نیاز انسان می‌باشد که از سطح زیر کشت وسیعی نیز برخوردار است. طبق آمار موجود حدود 40 درصد از اراضی زیر کشت گندم آبی کشور دارای کمبود روی می‌باشند (بلالی و همکاران، 1378). کمبود روی در اغلب زمینهای زیر کشت گندم، نه تنها موجب کاهش عملکرد و کیفیت تغذیه‌ای محصول تولیدی شده (ککمک و همکاران، 1997)، بلکه به بروز یکسری نارسایی‌های ناشی از کمبود روی در انسان نیز منجر گردیده است. در نگرش استفاده از کودهای شیمیایی جهت رفع کمبود عناصر غذایی، بدلیل هزینه زیاد تولید آنها و مشکلات زیست‌محیطی ناشی از استفاده بیش از حد این کودها، لزوم تجدید نظر در روش‌های افزایش تولید محصولات زراعی را دو چندان نموده است. استفاده از کودهای بیولوژیک (زیستی) به همراه کودهای شیمیایی جهت افزایش کارایی این کودها و کاهش مصرف آنها در راستای بهبود تغذیه غلات به عنوان یکی از راه کارهای اساسی و مفید مطرح می‌گردد. کودهای بیولوژیک با افزایش قابلیت جذب و دسترسی عناصر غذایی گیاهان و افزایش تحمل آنها به تنش کمبود عناصر غذایی از مؤلفه‌های مهم مدیریت حاصلخیزی خاک در جهت نیل به اهداف کشاورزی پایدار می‌باشند (معز اردلان و ثوابقی فیروز آبادی، 1381). سودوموناسهای فلورسنت (گونه‌های فلورسنس و پوتیدا)، به دلایل متعدد از قبیل بهبود کارایی جذب عناصر غذایی، دامنه انتشار وسیع در اغلب خاکها، تنوع گونه‌ای و ایجاد مقاومت در گیاه نسبت به تنش‌های محیطی از مهمترین باکتری‌های محرک رشد گیاه محسوب می‌شوند، از اینرو در تهیه کودهای زیستی از جایگاه و اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند (کیم و همکاران، 1989 و لوهورت و بترسلین، 1988). تحقیق حاضر با هدف بکارگیری باکتری سودوموناس پوتیدا در جهت نیل به کشاورزی پایدار و کاهش مصرف کودهای شیمیایی با استفاده از کودهای زیستی در بهبود رشد و افزایش تحمل گیاه گندم به تنش کمبود عنصر روی انجام پذیرفت.

مواد و روشها

برای انجام این تحقیق، آزمایشی در گلخانه هیدروپونیک دانشگاه صنعتی اصفهان، با آرایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با 3 تکرار اجرا گردید. تیمارها شامل دو سطح باکتری سودوموناس پوتیدا (تلقیح و عدم تلقیح) و دو سطح عنصر روی (صفر و 2 میکرومولار با منبع سولفات روی) بودند. جهت بررسی تیمارهای آزمایش بر روی صفات مورد نظر در شرایط گلخانه از گلدان‌های 3 کیلوگرمی حاوی مخلوط ماسه و پرلیت استریل استفاده شد. بذور گندم رقم نیک‌نژاد تهیه شده از مؤسسه کشت بدون خاک دانشگاه صنعتی اصفهان پس از استریل، درون گلدانها کشت داده شد. برای اعمال کمبود عنصر روی از محلول غذایی جانسون فاقد سولفات روی استفاده گردید. دو ماه پس از کاشت گیاهان، غلظت کلروفیل a و b و غلظت کاروتنوئید گیاهان با استفاده از روش آرنون (1967) اندازه‌گیری شد.

پس از پایان دوره کشت دو ماهه، نمونه برداری از اندام‌های گیاه (برگ و ریشه) انجام شد. نمونه‌های مذکور به مدت 48 ساعت در آون با دمای 75 درجه سانتیگراد قرار داده شدند و سپس وزن خشک آنها تعیین گردید. تجزیه واریانس کلیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها بر مبنای آزمون LSD در سطح احتمال 5 درصد انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس (جدول 1) نشان داد که اثر باکتری سودوموناس پوتیدا بر وزن خشک شاخساره و ریشه معنی‌دار (به ترتیب $p<0/01$ و $p<0/05$) بود. همچنین اثر متقابل باکتری سودوموناس پوتیدا و عنصر روی بر وزن خشک شاخساره معنی‌دار ($p<0/01$) گردید.

جدول 1- نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف بر صفات مورد بررسی

** معنی‌داری در سطح یک درصد، * معنی‌داری در سطح پنج درصد و ^{ns} عدم معنی‌داری

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		وزن خشک شاخساره	وزن خشک ریشه	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل a+b	کاروتنوئید
باکتری	1	0/68**	0/159*	0/26**	0/01^{ns}	0/37*	1/34*
روی	1	0/002^{ns}	0/002^{ns}	0/026^{ns}	0/004^{ns}	0/05^{ns}	0/23^{ns}
باکتری×روی	1	0/2**	0/002^{ns}	0/206*	0/017*	0/34*	1/33*
خطا	6	0/01	0/015	0/018	0/002	0/03	0/11
ضریب تغییرات (درصد)		2/33	10/1	4/92	7/91	5/47	6/53

مقایسه میانگین‌ها حاکی از آن است که تلقیح باکتری سودوموناس پوتیدا وزن خشک شاخساره و ریشه را افزایش داد. همچنین با کاربرد توأم این باکتری و عنصر روی شاخص‌های مذکور افزایش یافتند، این در حالی

بود که کاربرد عنصر روی به تنهایی، موجب کاهش وزن خشک شاخساره شد اما، بر وزن خشک ریشه اثر معنی‌داری نداشت (جدول 2).

جدول 2- مقایسه میانگین اثرات اصلی باکتری و متقابل باکتری×روی بر صفات اندازه‌گیری شده

در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل در یک حرف یکسان باشند بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال 5 درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

تیمار	وزن خشک شاخساره	وزن خشک ریشه	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل a+b	کاروتنوئید
	(گرم)		(میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ)			
باکتری						
شاهد	4/41 b	1/12 b	2/62 b	0/59 a	3/21 b	4/84 b
باکتری	4/9 a	1/35 a	2/92 a	0/65 a	3/57 a	5/5 a
باکتری×روی						
بدون روی (شاهد)	4/53 c	1/12 b	2/44 b	0/53 b	2/97 b	4/36 b
باکتری	4/74 b	1/32 ab	3 a	0/67 a	3/67 a	5/7 a
روی	4/38 d	1/12 b	2/8 a	0/65 a	3/45 a	5/31 a
باکتری+روی	5/03 a	1/38 a	2/83 a	0/63 ab	3/46 a	5/31 a

تلقیح باکتری سودوموناس پوتیدا نه تنها اثرات منفی کمبود روی بر وزن خشک شاخساره و ریشه را از بین برد، بلکه همچنین کارایی عنصر روی را در مقایسه با کاربرد تنهایی آن افزایش داد. همسو با نتایج این بررسی، تاریک و همکاران (2007) نشان دادند که با تلقیح باکتریهای PGPR با گیاه برنج در شرایط کمبود روی، وزن خشک شاخساره و ریشه افزایش یافت. این محققین همچنین افزایش کارایی کود روی را با استفاده از این باکتری‌ها گزارش کردند. صالح راستین (2001) نشان داد که باکتری‌های متعلق به جنس سودوموناس قادر به تولید هورمون‌های محرک رشد گیاه از قبیل اکسین، جیبرلین و نیز ویتامین‌ها می‌باشند. بنابراین، می‌توان افزایش وزن خشک شاخساره و ریشه گیاهان تلقیح شده با باکتری سودوموناس پوتیدا را به توانایی این باکتری در تولید مواد مذکور نسبت داد.

جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان دهنده آن است که اگرچه اثر باکتری بر غلظت کلروفیل b معنی‌دار نبود ولی دارای اثر معنی‌داری بر غلظت کلروفیل a ($p<0/01$)، کلروفیل a+b و غلظت کاروتنوئید ($p<0/05$) بود، همچنین اثر متقابل باکتری و عنصر روی بر همه شاخص‌های مذکور معنی‌دار ($p<0/05$) گردید (جدول 1). وانگ و همکاران (2005) گزارش کردند که در شرایط کمبود روی، غلظت کلروفیل a و b برگ گیاه ذرت کاهش یافت. کاهش غلظت کلروفیل a و b که یکی از عوامل مهم تأثیرگذار در ظرفیت فتوسنتزی می‌باشد، در شرایط تنش کمبود روی موجب ناکارآمدی برگ‌ها در انجام فتوسنتز و تشدید صدمات تنش می‌شود. غلظت کاروتنوئید به عنوان آنتی‌اکسیدان در تنش‌های اکسیداتیو مورد توجه قرار گرفته است. کاروتنوئید از طریق فروکش کردن سریع وضعیت برانگیخته کلروفیل، حفاظت نوری را انجام می‌دهد. نتایج نشان داد که اگرچه با

کاربرد انفرادی باکتری سودوموناس پوتیدا و عنصر روی، غلظت کلروفیل a و b و همچنین غلظت کاروتنوئید در مقایسه با شرایط کمبود عنصر روی (شاهد) افزایش یافت، ولی تلقیح باکتری سودوموناس پوتیدا دارای اثر بیشتری در مقایسه با کاربرد روی بود. کاربرد توأم باکتری سودوموناس پوتیدا و روی شاخصهای مذکور را در مقایسه با شرایط کمبود عنصر روی (شاهد) افزایش داد ولی تأثیر کمتری در مقایسه با کاربرد انفرادی باکتری داشت (جدول 2). احتمالاً یکی از دلایل افزایش میزان کلروفیل در گیاهان تلقیح شده با باکتری سودوموناس پوتیدا جذب بیشتر عناصر معدنی می‌باشد. جذب بیشتر عناصر غذایی مانند منیزیم، روی و آهن موجب سنتز بیشتر کلروفیل می‌شود.

به طور کلی نتایج این مطالعه گلخانه‌ای نشان دهنده آن است که تلقیح باکتری سودوموناس پوتیدا نقش مؤثری در بهبود وزن خشک شاخساره و ریشه در شرایط عدم کاربرد روی و همراه با کاربرد این عنصر دارا می‌باشد. همچنین بهبود غلظت کلروفیل a و b و همچنین غلظت کاروتنوئید، یکی از مکانیسم‌های افزایش مقاومت گیاه گندم به تنش کمبود عنصر روی می‌باشد که می‌تواند از طریق کاربرد باکتری سودوموناس پوتیدا انجام شود.

منابع

بلالی، م.، ملکوتی، م. ج.، مشایخی، ح. و خادمی، ز.، 1378. اثر عناصر ریزمغذی بر افزایش عملکرد و تعیین حد بحرانی آنها در خاک‌های تحت کشت گندم آبی ایران. مجله آب و خاک، جلد دوازدهم، شماره 6، صفحه-های 111-119.

خوشگفتارمنش، ا. ح.، بلالی، م. ر. و خادمی، ز.، 1380. تأثیر مصرف سولفات روی بر رشد و عملکرد گندم در اراضی شور بایر اصلاح شده. هفتمین کنگره علوم خاک، شهر کرد.

معز اردلان، م.، ثوابقی فیروز آبادی، غ.، 1381. مدیریت حاصلخیزی خاک برای کشاورزی پایدار (ترجمه). انتشارات دانشگاه تهران.

Arnon A N, 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agronomy Journal 23: 112-121.

Cakmak l, Ekiz H, Yilmaze B, torun B, Koleli l, Gultekin A, Alkan A and Ekern S, 1997. Differential response of rye, bread and durum wheats to zinc deficiency in calcareous soils. Plant Soil 188: 1-10.

Kim KK, Jordan D, MacDonald GA, 1989. Entro bacter agglomerans, phosphate solublizing bacterial activity in soil: effect of carbon sources. Soil Biology 89: 995-1003.

Loheurte F, Betrthlin J, 1988. Effect of a phosphate solublizing bacteria on maize grow and root exudation over four levels of lobile phosphorus. Plant Soil 105: 11-17.

Muhammd T, Sohail H, Kauser AM and Fauzia YH, 2007. Plant root associated bacteria for zinc mobilization in rice. Pakstan Jurnal Bot 39: 245-253.

Saleh-Rastin N, 2001. Biological fertilizers and their roles on sustainable agriculture.

Treeby M, Marschner H and Romshlod V, 1989. Mobilization of iron and other micronutrient cations from a calcareous soil by plant-borne, microbial and synthetic metal chelators. Plant Soil 114: 217-226.

Wang H and Jin JY, 2005. Photosynthetic rate, chlorophyll fluorescence parameters, and lipid peroxidation of maize leaves as affected by zinc deficiency. Photosynthetica 43: 591-596.

جداسازی و تعیین توان باکتری‌های ریزوسفری مقاوم به کادمیوم درحل تری‌کلسیم فسفات

الهام احمدی نیا، عبدالرضا اخگر، محسن حمیدپور و حسین شیرانی[1]
گروه خاکشناسی دانشگاه ولی عصر رفسنجان

مقدمه

فلزات سنگین سمی و تجزیه ناپذیر بوده و در محیط باقی می‌مانند. این فلزات می‌توانند با جایگزین شدن بجای فلزات ضروری موجود در جایگاه‌های اتصال، آثار سوئی مانند تخریب DNA و RNA، مهار سنتز پروتئین، ممانعت از فرآیندهای آنزیمی، مهار تقسیم سلولی و اختلال در فرآیندهای سلولی ایجاد کنند. کادمیوم به عنوان یکی از فلزات سنگین از منابع مختلف از جمله مصرف کودهای فسفری، کاربرد فاضلاب‌های صنعتی، عملیات استخراج معدن، ذوب فلز و مواد مادری به خاک اضافه و موجب آلودگی محیط زیست می‌گردد. سمیت این فلز ۲ تا ۲۰ برابر بیشتر از سایر فلزات سنگین می‌باشد (Ghosh and Singh, 2005). کادمیوم محلول می تواند از طریق حرکت در در فضای آزاد دیواره سلولی (مسیر آپوپلاستی) و به وسیله عبور از مسیر سیم‌پلاستی وارد ریشه گیاه شود. کادمیوم پس از ورود به ریشه می‌تواند از مسیر سلولی حرکت کرده و در نهایت وارد جریان انتقالی شیره خام گیاه شود (Salt *et al.*, 1998). باکتری‌های حل‌کننده فسفات می‌توانند با تولید اسیدهای آلی منجر به افزایش حلالیت فسفات‌های معدنی کم‌محلول شوند. هم‌چنین بسیاری از آنها با تولید آنزیم‌های فسفاتاز، سبب آزاد شدن فسفر از ترکیبات آلی می‌گردند. نتایج تحقیقات پیشین نشان داده است که استفاده از باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه می‌تواند محدودیت رشد ناشی از وجود کادمیوم را تعدیل بخشیده و با بهبود شاخص‌های رشد به زیست‌پالایی بهتر خاک کمک نماید(استوار و همکاران، ۱۳۹۱).

مواد و روشها

جداسازی و خالص سازی باکتری‌های ریزوسفر گیاهان

به منظور جداسازی باکتری‌ها از ریزوسفر، تعداد ۷ نمونه از خاک ریزسفری گیاهان زراعی و غیر زراعی اراضی آلوده به کادمیوم اطراف معدن باما واقع در منطقه آب‌نیل اصفهان برداشته و به آزمایشگاه بیولوژی دانشگاه ولی عصر منتقل گردید شد. در آزمایشگاه خاک‌های اضافی اطراف ریشه با دقت زدوده شدند و مقدار ۱۰ گرم از خاک ریزوسفری به همراه مقادیری از ریشه در ۹۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژیک (کلرید سدیم ۰/۸۵ درصد) منتقل و به مدت نیم‌ساعت روی شیکر تکان داده شد و سپس سری رقت تهیه گردید. پس از تهیه سری رقت و پخش در پلیت‌های حاوی محیط کشت نوترینت آگار (NA)، از پلیت‌های تلقیح شده با رقت‌های 10^{-3} تا 10^{-7} مجموعا ۲۰ کلنی از بالاترین رقت‌های هر نمونه انتخاب و با چند بار بازکشت جدایه‌های منتخب خالص‌سازی شدند.

ارزیابی مقاومت باکتری‌ها به کادمیوم

به منظور ارزیابی مقاومت جدایه‌ها به کادمیوم هر نمونه باکتریایی در ۳۰ میلی‌لیتر محیط کشت نوترینت براث (NB) حاوی سطوح مختلف کادمیوم (۰، ۱۵، ۳۰، ۴۵، ۶۰، ۷۵ و ۹۰ میلی‌گرم در لیتر) و در دو تکرار کشت داده شد. رشد باکتری در محیط کشت حاوی غلظت معین کادمیوم به منزله مقاومت باکتری به کادمیوم در آن غلظت در نظر گرفته شد.

ارزیابی توان جدایه‌های مقاوم به کادمیوم در حل تری کلسیم فسفات

بدین منظور از محیط کشت اسپربر[1] استفاده شد (Sperber, 1958). ابتدا جدایه‌های مقاوم به کادمیوم در محیط NB کشت داده شدند. سپس مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون هر جدایه به ۲۵ میلی لیتر محیط اسپربر مایع اضافه و نمونه‌ها به مدت ۵ روز در دمای ۲۸ درجه سلسیوس و با ۱۵۰ دور در دقیقه تکان داده شدند. در ادامه سوسپانسیون‌های حاصل از رشد جدایه‌ها در محیط کشت اسپربر به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰g سانتریفیوژ شدند. آنگاه یک میلی لیتر از محلول رویی هر سوسپانسیون با ۳ میلی لیتر آب مقطر و یک میلی لیتر معرف آمونیوم مولیبدات – وانادات مخلوط گردید. پس از گذشت ۲۰ دقیقه میزان جذب نور با استفاده از اسپکتروفتومتر در ۴۷۰ نانومتر قرائت و مقدار فسفر آزاد شده توسط هر جدایه با استفاده از منحنی استاندارد تهیه شده از غلظت‌های مختلف KH_2PO_4 محاسبه شد.

نتایج و بحث

نتایج نشان داد از بین ۲۰ جدایه مورد آزمایش، شش جدایه قادر به رشد در محیط واجد کادمیوم بودند. مقاوم ترین باکتری به کادمیوم جدایه B4 بود که توانست در محیط واجد ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم رشد نماید. جدایه‌های B6 و B8 قادر بودند تا سطح ۴۵ میلی‌گرم بر لیتر حضور کادمیوم در محیط کشت را تحمل نمایند و سایر جدایه‌ها حداکثر قادر به رشد در محیط واجد ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم بودند (جدول ۱).

جدول ۱- توان رشد جدایه‌ها در محیط واجد مقادیر مختلف کادمیوم

	سطوح کادمیوم						
جدایه	صفر	۱۵	۳۰	۴۵	۶۰	۷۵	۹۰
B4	+	+	+	+	+	+	-
B6	+	+	+	+	-	-	-
B8	+	+	+	+	-	-	-
B9	+	+	+	-	-	-	-
B16	+	+	+	-	-	-	-
B17	+	+	+	-	-	-	-

+ و - : به ترتیب رشد و عدم رشد جدایه در محیط کشت حاوی کادمیوم

نتایج تجزیه واریانس مربوط به تأثیر جدایه‌های بر حلالیت فسفر در محیط اسپربر محتوی تری‌کلسیم‌فسفات و در جدول ۲ ارائه شده است. همانطور که ملاحظه می‌گردد جدایه‌های مورد آزمون بر حلالیت فسفر در سطح یک درصد اثر معنی‌داری داشتند.

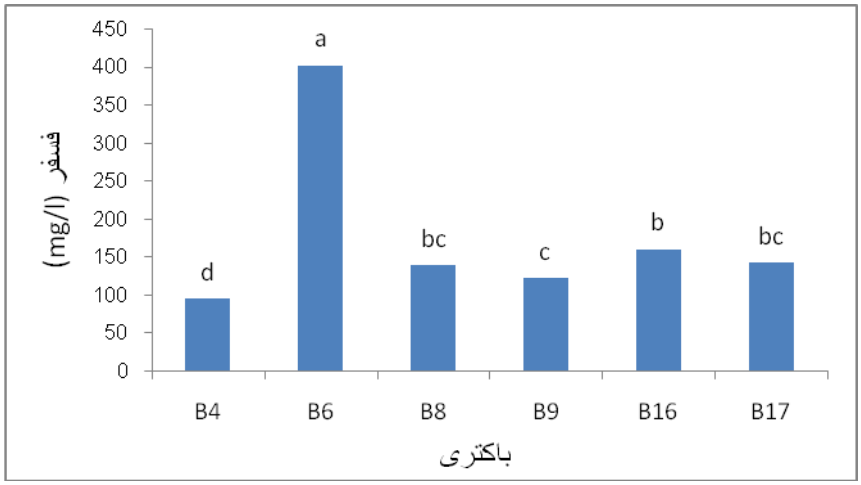
[1] Sperber

جدول۲- تجزیه واریانس تاثیر جدایه‌ها برحلالیت تری‌کلسیم‌فسفات در محیط اسپربر

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات
		حلالیت فسفر
سویه	۵	۴۱۵۰/۴۱**
خطا	۱۲	۱۷۱/۳۲
ضریب تغییرات	_	۷/۴۳

** معنی‌دار بودن در سطح ۱ درصد

نتایج مقایسه میانگین تأثیر جدایه‌های باکتری بر حلالیت فسفر در محیط اسپربر نشان داد تمامی جدایه قادر به انحلال تری‌کلسیم‌فسفات در این محیط بودند. بیشترین حلالیت فسفر با ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از جدایه B6 به‌دست آمد و کمترین حلالیت فسفر نیز مربوط به جدایه B4 با ۹۴/۵ میلی‌گرم بر لیتر بود (شکل ۱).



شکل ۱- توانایی باکتری‌های مقاوم به کادمیوم در حل تری‌کلسیم‌فسفات

در پژوهشی موچانگ و همکاران (۲۰۰۶) ۱۶۸ باکتری ریزوسفری را جداسازی و از نظر توانایی حل فسفات-های معدنی نامحلول مورد ارزیابی قرار دادند. آن‌ها نشان دادند که ۶۲ جدایه (۳۷ درصد) قادر به حل فسفر بودند. عباس‌زاده و همکاران (۱۳۸۶) نیز بیشترین شاخص حلالیت فسفات نامحلول را از جدایه سودوموناس فلورسنت R187 با ۴۳۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر و کمترین مقدار را از سویه R69 با ۱۵۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌دست آوردند.

توانایی انحلال منابع فسفر نامحلول از قبیل تری‌کلسیم فسفات توسط باکتری‌های مقاوم به کادمیوم این امکان را ایجاد می‌کند تا بتوان از این باکتری‌ها به منظور افزایش کارایی گیاهان در رفع آلودگی خاک‌های آلوده به کادمیوم بهره برد.

منابع

استوار، پ.، خاوازی، ک. و ملکوتی، م. ج.، ۱۳۹۱. نقش باکتری‌های مفید خاکزی در افزایش کارایی پالایش سبز یک خاک آلوده به کادمیوم. مجله پژوهش‌های خاک (علوم خاک و آب)، جلد بیست و ششم. شماره‌ی ۲، صفحه‌های ۱۷۵ تا ۱۸۳.

عباس‌زاده، پ.، صالح‌راستین، ن.، اسدی‌رحمانی، ه.، خاوازی، ک.، اشرف‌سلطانی‌طولارود، ع. و همتی، و. ۱۳۸۶. معرفی سودوموناس‌های فلورسنت به عنوان باکتری‌های حل‌کننده فسفات‌های معدنی نامحلول. مجموعه مقالات دهمین کنگره علوم خاک ایران، ۴ تا ۶ شهریور، کرج، صفحات ۳۴ تا ۳۵.

Ghosh M and Singh SP, 2005. A review on phytoremediation of heavy metal and utilization of its by products. Applied Ecology and Environmental Research 3: 1-18.

Meunchang, S., P. Thongra, S. Sanoh, S. Kaewsuralikhit and S. Ando. 2006. Development of rhizobacteria as a biofertilizer for rice production. International workshop pn Sustained Management of the Soi- Rhizosphere System for Efficient Crop Production and Fertilizer Use, 6- 20.

Sperber JI, 1958. The incidence of apatite-solublizing organisms in the rhizosphere and soil. Australian Journal of Agricultural Research 9: 778-781.

Salt DE,. Smith RD, Raskin I. 1998. Ohytoremedition. Annual review plant physiology plant molecular biology 49:643-668.

نقش آنزیم ACC دآمیناز باکتریایی در کاهش اثرات تنش شوری بر عملکرد و برخی خصوصیات تغذیه ای کرچک

احمد اخیانی[1]، هادی اسدی رحمانی[2]، احمد ایراجیان[3]
۱-عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی استان سمنان (شاهرود) ۲-عضو هیئت علمی موسسه تحقیقات خاک و آب کشور ۳-کارشناسی ارشد زراعت دانشگاه آزاد واحد دامغان
ahmadakhyani@yahoo.com

مقدمه

شوری یکی از مهم ترین عوامل محدود کننده تولیدات گیاهان زراعی بوده و با افزایش سطح زیر کشت زراعت فاریاب بر دامنه آن افزوده می شود. در کشاورزی کنترل سطح اتیلن در گیاه از اهمیت زیادی برخوردار است. کنترل سطح اتیلن در گیاهان زراعی بخصوص در مواقعی که در معرض تنش قرار دارند می تواند از خسارت اقتصادی ناشی از افزایش غلظت اتیلن که باعث کاهش رشد و عملکرد گیاه می گردد جلوگیری کند (هال و همکاران، ۱۹۹۶). برخی از باکتریهای ریزوسفری خاک از طریق مکانیسمهای که با هورمون گیاهی اتیلن در ارتباطند می توانند باعث افزایش رشد گیاه شود. در این رابطه تولید آنزیم ACCدآمیناز توسط برخی از سویه های PGPR عموما در شرایط اعمال تنش های محیطی برای گیاه اهمیت پیدا می کند و نتیجه نهایی آن برآیند اثرات متقابل بسیبار پیچیده این آنزیم با هورمون های گیاهی خصوصا اکسین و اتیلن می باشد (گلیک، ۲۰۰۵). این باکتریها علاوه بر ترشح آنزیم ACCدآمیناز با ترشح متابولیت های مختلف در خاک باعث افزایش قابلیت جذب عناصر مختلف غذایی مثل فسفر، پتاسیم، آهن در خاک گردیده و بطور غیر مستقیم بر بهبود شرایط رشد گیاه در معرض تنش شوری کمک می کند. بنابراین باکتریهای با توانایی تولید آنزیمACC دآمیناز می تواند گیاهان را در برابر اثرات مضر تنش های محیطی چون فلزات سنگین (بیلموو و همکاران، ۲۰۰۱& بیلموو و همکاران، ۲۰۰۵)، خاکهای غرقاب (گریچو و گلیک، ۲۰۰۱)، پاتوژنهای گیاهی (ونگ و همکاران، ۲۰۰۴)، خشکی (مایاک و همکاران، ۲۰۰۴) و شوری (مایاک و همکاران،۲۰۰۴) محافظت کند. بنابراین اعتقاد بر این است که با افزایش جمعیت این باکتریها در ریزوسفر ریشه گیاه در شرایط شور می توان بر تحمل گیاه در برابر تنش شوری افزود. این تحقیق با هدف مقایسه کارآیی سویه های مختلف باکتری های محرک رشد منتخب در سطوح مختلف شوری بر رشد کرچک انجام شد.

مواد و روشها

این تحقیق بصورت گلدانی در قالب آماری طرح بلوک کامل تصادفی بصورت فاکتوریل انجام شد. فاکتورها شامل ۲ سویه *R4* و *R169* باکتری *Pseudomonas fluorescens* که از دسته باکتریهای ریزوسفری مفید و دارای توان تولید ACC دآمیناز هستند، تیمار شاهد بدون تلقیح و ۴ سطح شوری ۱،۵، ۴، ۶،۵ و ۹ دسی زیمنس بر متر در ۴ تکرار و در مجموع در ۳۲ پلات آزمایشی انجام گرفت. در این آزمایش از بستر شن(Sand) استفاده و نیاز غذایی گیاه کرچک با استفاده از محلول غذایی هوگلند بر مبناء مرحله رشد تامین شد. تیمارهای شوری با استفاده از نمک کلرید سدیم(NaCl) بر اساس غلظت های مورد نظر تهیه و استفاده شد. برای کنترل رطوبت با توجه به ظرفیت زراعی بستر کشت و با استفاده از روش وزنی میزان رطوبت بستر در گلدانها تامین

گردید. در پایان فصل رشد میزان محصول، درصد عناصر پتاسیم، سدیم و کلر برگ تعیین گردید. نهایتا کلیه داده ها با استفاده از نرم افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

نتایج و بحث

نتایج بدست آمده از بررسی آماری نشان داد شوری همه خصوصیات اندازه گیری شده را تحت تاثیر قرار داد ($\alpha<0.01$). همچنین تیمار تلقیح باکتری بر خصوصیات درصد سدیم برگ و نسبت پتاسیم به سدیم برگ موثر بود ($\alpha<0.05$) اما اثرات متقابل این دو تیمار فقط بر درصد کلر و سدیم برگ موثر بود (به ترتیب$\alpha<0.05$ و$\alpha<0.01$). نتایج مقایسه میانگین خصوصیات اندازه گیری شده نشان داد (جدول-۱) با افزایش شوری عملکرد دانه (گرم در بوته) کاهش یافت.

جدول۱- مقایسه میانگین خصوصیات اندازه گیری شده

شوری (dS/m)	۱,۵					٤					٦,٥					۹					میانگین				
صفات باکتری	Yield	٪K	٪Na	%Cl	K/Na	Yield	٪K	٪Na	%Cl	K/Na	Yield	٪K	٪Na	%Cl	K/Na	Yield	٪K	٪Na	%Cl	K/Na	Yield	٪K	٪Na	%Cl	K/Na
شاهد	a ۸۰/۸۳	a ۱/۷	cd ۰/۳۹	d ۰/۶۲	a ۴/۳۷	a ۷۲/۹۲	a ۱/۶	bc ۰/۵	cd ۰/۸۰	a ۳/۲	a ۵۵/۴۲	a ۱/۶	ab ۰/۶۱	ab ۱/۱۷	a ۲/۶	a ۲۶/۰۴	a ۱/۴	a ۰/۶۸	a ۱/۲۴	a ۲	b ۵۸/۸۰	a ۱/۵۷	a ۰/۵۵	a ۰/۹۶	b ۳/۰۶
سویه R4	a ۹۲/۰۸	a ۲/۱	cd ۰/۳۹	cd ۰/۷۸	a ۵/۵	a ۹۲/۰۸	a ۱/۵	cd ۰/۳۹	bcd ۰/۸۴	a ۳/۸	a ۶۱/۶۷	a ۱/۵	cd ۰/۴۵	bcd ۰/۸۳	a ۳/۵	a ۲۷/۵	a ۱/۳	a ۰/۶۸	abc ۱/۰۷	a ۱/۸	a ۶۸/۳۳	a ۱/۶۱	b ۰/۴۸	a ۰/۸۸	a ۳/۶۹
سویه R169	a ۹۴/۱۷	a ۱/۹	d ۰/۳۴	bcd ۰/۸۳	a ۶	a ۸۳/۳۳	a ۱/۷	cd ۰/۴۴	d ۰/۷۰	a ۳/۹	a ۵۶/۶۷	a ۱/۷	a ۰/۶۹	bcd ۰/۸۶	a ۲/۵	a ۲۵/۸۳	a ۱/۲۷	ab ۰/۶۲	abc ۱/۱۰	a ۲/۰۷	ab ۶۵	a ۱/۶۷	ab ۰/۵۲	a ۰/۸۷	a ۳/۶۲
میانگین	a ۸۹	a ۱/۹	c ۰/۳۷	c ۰/۷۴	a ۵/۲	a ۸۲/۷۸	b ۱/۶۱	bc ۰/۴۵	bc ۰/۷۸	b ۳/۶۷	a ۵۷/۹۱	b ۱/۶۲	ab ۰/۵۸	b ۰/۹۶	c۲ /۸	c ۲۶/۴۶	c ۱/۳۱	a ۰/۶۷	a ۱/۱۴	d ۱/۹	---------				

*حروف مشابه بیانگر عدم وجود اختلاف آماری است

در شوری۹ دسی برزیمنس بر متر نسبت به شاهد حدود ۶۲٪ کاهش نشان داد. نتایج این آزمایش نشان می دهد فقط در سطح شوری ۹ دسی زیمنس بر متر شوری باعث کاهش عملکرد گردید، بنابراین می توان استنباط نمود آستانه تحمل به شوری از نظر کاهش محصول بین ۶,۵ تا ۹ دسی زیمنس بر متر می باشد.گوشنگ و همکاران(۲۰۱۰) نشان دادند حد آستانه تحمل به شوری کرچک

در شرایط مزرعه ۷/۱ دسی زیمنس بر متر می باشد. نتایج کار این محققین نشان داد، درحد شوری بین ۷ تا ۱۰ دسی زیمنس بر متر سرعت جوانه زنی و آهنگ رشد ۷۰٪ کاهش می یابد. تلقیح باکتری در هر دو سویه موجب افزایش عملکرد دانه گردید. اما سویه *R4* با عملکرد دانه ۶۸ گرم در بوته نسبت به سویه *R169* و شاهد موجب افزایش بیشتری گردید. جدول مقایسه میانگین پتاسیم برگ نشان می دهد با افزایش شوری غلظت پتاسیم برگ کاهش یافت. بطوریکه سطح چهارم نسبت به سطح اول شوری حدود ۰/۶٪ پتاسیم کمتری داشت. تیمار تلقیح باکتری در هر دو سویه باعث افزایش غلظت پتاسیم برگ گردید، که از نظر آماری معنی دار نشد. با افزایش شوری میزان سدیم برگ در تیمارها افزایش یافته است. بطوریکه از ۰/۳۷٪ در تیمار سطح اول شوری به ۰/۶۷٪ در سطح چهارم شوری رسیده است. همچنین این جدول نشان می دهد تیمار تلقیح باکتری باعث کاهش تجمع سدیم در هر دو سویه باکتری گردیده است. سویه *R4* با ۰/۴۸٪ سدیم برگ اثر بیشتری در کاهش تجمع داشته ولی بین دو سویه باکتری تفاوت معنی داری مشاهده نمی شود. از طرفی نتایج مقایسه میانگین صفات متقابل این تیمارها نشان می دهد، تا سطح سوم شوری تیمار تلقیح باکتری موجب کاهش غلظت سدیم شده اما در سطح چهارم اختلاف معنی داری بین تیمار های تلقیح باکتری و شاهد وجود ندارد، بنابراین می توان استباط نمود در سطح چهارم شوری این باکتریها قادر به فعالیت مفید در جهت کاهش غلظت سدیم گیاه در محیط ریشه گیاه نیستند. نتایج مقایسه میانگین غلظت کلر برگ نشان می دهد با افزایش شوری میزان کلر برگ به شدت افزایش می یابد. به نحوی که در سطح چهارم شوری نسبت به سطح اول شوری حدود ۶۴٪ این عنصر سمی افزایش پیدا کرد. افزایش این عنصر در سطح دوم شوری نسبت به سطح اول معنی دار نبوده که می تواند نتیجه مقاومت ریشه یا عدم انتقال آن به برگ باشد اما در سطوح بالاتر غلظت کلر به شدت افزایش پیدا کرده است. تیمار تلقیح باکتری علیرغم کاهش نسبی کلر در برگ به لحاظ آماری معنی دار نگردید. نتایج جدول مقایسه میانگین نسبت K/Na برگ نشان می دهد، با افزایش شوری این نسبت کاهش می یابد. زیرا همانطور که در نتایج مربوط به میزان سدیم و پتاسیم برگ ذکر گردید با افزایش شوری میزان سدیم افزایش و پتاسیم برگ کاهش می یابد. این نسبت به ترتیب در در سطح اول شوری ۵/۲ و در سطح چهارم ۱/۹ بود. در واقع همانطور که قبلا ذکر شد این امکان وجود دارد که نسبت بالای K^+/Na^+ برای پاره‌ای از گونه‌های گیاهی از اهمیت بیشتری نسبت به صرفاً پایین‌تر بودن مقدار $Na+$ در اندام هوایی در بحث مکانیسم های تحمل به شوری برخوردار باشد(زنگ و همکاران، ۲۰۰۸). اما نتایج مقایسه میانیگین این صفت در تیمارهای مختلف تلقیح باکتری نشان می دهد، تلقیح باکتریها باعث افزایش این نسبت شده به نحویکه به ترتیب نسبت به شاهد حدود ۰/۵واحد افزایش نشان می دهد و تیمار باکتری سویه *R4* دارای نسبت بزرگتری است. یافته‌های بدست آمده از این تحقیق این موضوع را القاء می‌کند که علی رغم عدم اثر کافی تلقیح این باکتریها در افزایش غلظت پتاسیم برگ اما با توجه به اثر کاهندگی این باکتریها در غلظت سدیم برگ نتیجتا این نسبت کاهش می یابد.تحقیقات زنگ و همکاران(۲۰۰۸) نیز موید این نکته است که ترکیبات مترشحه از باکتریهای PGPR می تواند در منجر به تغییر در توزیع یون سدیم در گیاه و نهایتا کاهش آن در اندامهای گیاه می گردد. این نتیجه میتواند تائید کننده این نکته باشد که در کرچک مکانیسم نسبت K/Na می تواند به عنوان یکی از مکانیسم های مهم در تحمل به

شوری مطرح بوده و باکتریهای ترشح کننده آنزیم ACCدآمیناز می تواند در شرایط تنش شوری با استفاده از این مکانیسم در افزایش تحمل گیاه کرچک موثر باشند.

منابع

Belimov AA, Safronova VI, Sergeyeva TA, Egorova TN, Matveyeva VA, Tsyganov VE, Borisov AY, Tikhonovich IA, Kluge C, Preisfeld A, Dietz KJ, and Stepanok VV, 2001.

Characterization of plant growth promoting rhizobacteria isolated from polluted soil and containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase. Can. J. Microbiol. 47: 642-652.

Glick BR, 2005. Modulation of plant ethylene levels by the bacteria enzyme ACC deaminase. FEMS Microbiol. Let. 251: 1-7

Guisheng, Z., B, L, M., J, Li., C, Feng., J, Lu and P, Qin. 2010. Determining Salinity Threshold Level for Castor Bean Emergence and Stand Establishment. Crop Sci. 50: 2030–2036

Grichko VP, and Glick BR, 2001. Amelioration of flooding stress by ACC deaminase-containing plant growth-promoting bacteria. Plant Physiol. Biochem. 39: 11-17.

Hall JA, Peirson D, Ghosh S, and Glick BR, 1996. Root elongation in various agronomic crops by the plant. growth-promoting rhizobacterium Pseudomonas putidaGR12-2 . Israel J. Plant Sci. 44: 37- 42.

Mayak S, Tirosh T, and Glick BR, 2004a. Plant growth-promoting bacteria that confer resistance to water stress in tomatoes and pepers. Plant Science., 66:525-530.

Mayak S, Tirosh T, and Glick BR, 2004b. Plant growth-promoting bacteria that confer resistance in tomato plant to salt stress. Plant Physiol. Biochem., 42:565-572.

Wang C, Wang D, and Zhou Q, 2004. Colonization and persistence of a plant growth promoting bacterium pseudomonas fluorescensstrain CS85, on roots of cotton seedlings. Can. J. Microbiol, 50:475-481.

Zhang, H, et al, 2008(a). Soil bacteria confer plant salt tolerance by tissue-specific regulation of the sodium transporter HKT1. Mol. PlantMicrobe Interact. 21: 737–744.

Zhang, GH, Su Q, An LJ, Wu S, 2008(b). Characterization and expression of a vacuolar Na+/H+antiporter gene from the monocot halophyteAeluropus littoralis. Plant PhysiolBiochem.46:117–2

جداسازی باکتری‌های حل کننده فسفات از دو نوع خاک آهکی و بررسی توانایی آنها در انحلال منابع مختلف فسفات نامحلول

فرشاد علیشاهی [۱]، حسینعلی علیخانی *[۲]، احمد حیدری[۲]، لیلا محمدی [۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه تهران
۲ -دانشیار دانشگاه تهران
۳ -کارشناس آزمایشگاه بیولوژی خاک دانشگاه تهران

مقدمه

فسفر بعد از نیتروژن دومین عنصر محدود کننده رشد گیاهان بوده و جزء عناصر ضروری برای رشد و توسعه گیاهان است که حدود ۰/۲ ٪ از وزن گیاه را تشکیل می دهد (Keneni, 2010). بسیاری از خاک‌های ایران از نظر فسفر دچار کمبود یا در شرایط بحرانی قرار دارند عنصر فسفر به طور معمول در زمین‌های کشاورزی ایران (به مقدار ۱۰ تن در سال در اراضی کرج) از سال ۱۹۴۶ به کار برده شده است. مصرف سالیانه کودهای فسفاته در ایران در حال حاضر در حدود ۷۵۰ هزار تن می باشد که در حدود ۲۵۰ هزار تن آن تولید داخل بوده و مابقی وارداتی است (Besharati et al., 2001). کودهای فسفره همچون منو سوپر فسفات، دی آمونیوم فسفات و سوپرفسفات تریپل برای محصولات مختلف همچون گندم، جو و ذرت به کار می‌رود و این قابلیت را دارند که فسفر مورد نیاز گیاه را سریعاً تأمین نمایند (Mohammady Aria et al., 2009). اما قیمت بالای این گونه کودها، افراد بسیاری در کشورهای مختلف همچون ایران را به استفاده مستقیم از خاک فسفات ترغیب نموده است (Besharati et al., 2001). البته مصرف مستقیم خاک فسفات رایج نمی باشد زیرا حلالیت آن در خاک-های آهکی بسیار پایین است. در این راستا استفاده از فناوری‌های جدید در زمینه استفاده از کودهای زیستی بویژه به منظور مدیریت در موضوع فسفر خاک اهمیت زیادی دارد. استفاده از میکروارگانیسم‌های خاک زی که توانایی انحلال فسفات‌های نا محلول و تبدیل آن به فرم‌های محلول را دارند یکی از راه‌های موثر برای افزایش قابلیت جذب فسفر در خاک‌های قلیایی است (Attoe & Olsen, 1966).

انحلال طبیعی فسفات‌های نامحلول معدنی مشخصه‌ی بارزی است که بسیاری از میکروارگانیسم‌های موجود در خاک از خود نشان می دهند (که این ریز موجودات به عنوان PSM معرفی گردیده‌اند). در سال‌های اخیر با افزایش توجهات به کشاورزی پایدار، روش‌های زیستی مورد توجه بسیاری قرار گرفته است. یکی از انواع روش-های زیستی، افزایش قابلیت جذب فسفر از خاک فسفات استفاده از میکروارگانیسم‌های حل کننده فسفات (PSM)[۱] است (Goldstein *et al*., 1986). میکروارگانیسم‌های حل کننده فسفر در خاک بسیار متنوع بوده که باکتری‌های حل کننده فسفات [۲](PSB) جزء مهمترین آنها محسوب می‌شود.

نقش باکتری‌ها در انحلال فسفات‌های نامحلول معدنی و تبدیل آن به فرم قابل دسترس برای گیاهان به خوبی شناخته شده است. استفاده از PSBها برای تلقیح گیاهان زراعی در طول چند دهه‌ی اخیر مورد توجه قرار گرفته است. تلقیح گیاهان با PSBها منجر به بهبود رشد، عملکرد و جذب فسفر در محصولات مختلف شده است. میکروارگانیسم‌های حل کننده فسفات جداسازی شده از یک منطقه همواره عملکرد یکسان و ثابتی در نواحی

[1] Phosphate Solubilizing Microorganism
[2] Phosphate Solubilizing Bacteria

دیگر نشان نمی‌دهند و این به دلیل سازگاری ضعیف آنها با دیگر خاک‌ها یا اقلیم‌هاست (Vikram et al., 2007). هدف از انجام تحقیق حاضر جداسازی باکتری‌های حل کننده فسفات بومی خاک دو منطقه متفاوت در ایران بود تا تأثیر آن‌ها بر روی حل کنندگی فسفر نامحلول و تبدیل آن به فرم محلول بررسی گردد.

مواد و روشها

نمونه‌های خاک از دو منطقه کردان و گنبد انتخاب شدند. باکتری‌های حل کننده فسفات از دو نمونه خاک بر طبق روش Sperber در گروه مهندسی علوم خاک دانشگاه تهران مورد جداسازی قرار گرفتند. کلنی‌های باکتری که هاله‌ی شفاف روی محیط کشت از خود نشان دادند خالص سازی شده و از آن‌ها زیر کشت تهیه گردید و برای مطالعات بعدی نگهداری شدند. برای کدبندی ایزوله‌ها از حروف الفبا و عدد استفاده شد که حرف الفبا نشان دهنده خاک و اعداد نشان دهنده شماره باکتری بود.

بر اساس میزان قطر هاله به کلنی باکتری بر روی محیط کشت جامد اسپربر معدنی ۹ ایزوله ی برتر PSB برای آزمایشات بعدی انتخاب شد. آزمایش مربوط به انکوباسیون باکتری‌ها، با تیمارهای ذیل مورد انجام قرار گرفت. دو محیط کشت اسپربر مایع با دو منبع مختلف فسفر تهیه گردید که میزان فسفر اضافه شده به این محیط کشت‌ها به ترتیب ۲۵۰ میلی گرم در لیتر تری کلسیم فسفات و ۲۸۸/۵ میلی گرم در لیتر خاک فسفات (با میزان P یکسان) بود. ۵۰ میلی لیتر از هر محیط کشت اسپربر مایع در ارلن‌های ۲۵۰ میلی لیتری پخش گردید. و به عنوان تیمارهای مختلف به کار برده شد. آزمایش در ۳ تکرار انجام گرفت. (لازم به ذکر است مقادیر ذکر شده فوق به صورت یکسان تأمین کننده یون فسفر هستند)

ارلن ها در دمای ۱۲۱ درجه فشار psi ۱۵ به مدت ۲۰ دقیقه استریل شدند. سپس سوسپانسیون هر یک از باکتری ها با غلظت 10^8 واحد کلونی و مقدار ۱۰۰ میکرولیتر به ارلن‌ها اضافه و نمونه‌ها به مدت ۱۵ روز در دمای ۲۷ درجه سلسیوس انکوبه و با سرعت ۱۳۸ دور در دقیقه تکان داده شدند. پس از ۵، ۱۰ و ۱۵ روز، از ارلن‌ها نمونه برداری گردید. به مدت ۱۰ دقیقه در دور rpm ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ شده و سپس محلول رویی جداسازی و pH نمونه‌ها به وسیله دستگاه pH متر اندازه گیری شد. پس از آن ۱۰ میلی لیتر از محلول رویی با ۱۰ میلیلیتر معرف آمونیوم مولیبدات وانادات مخلوط و با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی لیتر رسانده شد و پس از ۲۰ دقیقه، شدت جذب نور با استفاده از روش طیف سنجی در طول موج ۴۳۰ نانومتر قرائت شد. مقدار فسفر محلول در محیط کشت در مقایسه با منحنی استاندارد محاسبه شد.

نتایج و بحث

باکتری‌های حل کننده فسفات معدنی در هر دو خاک وجود داشتند اگر چه از نظر تعداد (بر حسب واحد تشکیل شده کلنی در هر گرم خاک) و نیز کارایی هر سویه طبق مشاهده هاله شفاف اطراف کلنی با هم متفاوت بودند.

جدول ۱- نتایج حاصل از تجزیه خاک های مورد آزمایش

خاک	فسفر محلول (mg/kg)	نیتروژن (٪)	پتاسیم محلول (mg/kg)	کربن آلی (٪)	جرم مخصوص ظاهری (g/cm^3)	pH	EC (ds/m)
خاک کردان	۴/۱	۰/۴۲	۲۲۰/۵	۰/۱	۱/۳۵	۸/۳	۱/۱۴
خاک گنبد	۱۶/۴	۰/۱۳۹	۴۸۶	۰/۹۳	۱/۳	۸/۲	۲/۱۱

از این ایزوله‌های جدا شده از هر دو خاک تعداد ۹ سویه کارآمد PSB برای مطالعات بعدی انتخاب شدند. نتایج آزمایش انحلال تری کلسیم فسفات توسط ایزوله‌های منتخب و تغییرات pH مرتبط با آنها در محیط کشت در جدول ۳ آورده شده است. نتایج بیانگر آن است که PSBهای جدا شده از منطقه کردان بیشتر از گنبد در انحلال فسفات تر کلسیم کارآمد و توانا بودند.

جدول ۲- کارایی جدایه های PSB در حلالیت تری کلسیم فسفات

ایزوله ها	روز ۵		روز ۱۰		روز ۱۵	
	pH	فسفر محلول ($mg/50ml^{-1}$)	pH	فسفر محلول ($mg/50ml^{-1}$)	pH	فسفر محلول ($mg/50ml^{-1}$)
K10	4.13	25.2	3.65	25.74	2.92	26.65
G52	4.13	17.62	3.7	28.6	2.81	29.1
G54	4.75	28.12	4.35	29.71	3.46	30.71
G57	4.23	26.13	3.65	27.07	2.95	28.34
K15	4.73	28.46	4.39	29.31	3.63	29.97
K24	4.42	26.87	4.06	30.2	3.25	31.08
K33	4.08	20.48	3.64	27.86	3.53	28.58
K29	4.45	26.24	4.05	30.46	3.35	31.32
blank	6.88	0.13	6.82	0.14	6.55	0.14
K12	4.16	13.72	3.73	25.19	2.91	25.82
Total	4.6	21.3	4.2	25.43	3.53	26.17

تمام ایزوله‌های باکتری به طور معنی داری ($P\leq0.01$) مقادیر بیشتری از تری کلسیم فسفات را نسبت به شاهد تلقیح نشده حل کردند. بیشترین مقدار انحلال برای باکتری K15 (28.46 mg) و بعد از آن G54 (28.12 mg) در یک دوره ۱۵ روزه انکوباسیون گزارش گردید. همچنین همان طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود همبستگی معکوسی ما بین مقادیر فسفر حل شده و کاهش pH در محیط کشت‌ها مشاهده گردید.

در مورد خاک فسفات توفوردی یزد نیز انحلال فسفات قابل توجهی ($P\leq0.01$) نسبت به شاهد منفی توسط ایزوله‌ها مشاهده گردید که مقدار فسفر حل شده و تغییرات pH محیط کشت مربوط در جدول ۳ آورده شده است.

جدول ۳- کارایی جدایه های PSB در انحلال خاک فسفات توفوردی یزد

ایزوله ها	روز ۵		روز ۱۰		روز ۱۵	
	pH	فسفر محلول ($mg/50ml^{-1}$)	pH	فسفر محلول ($mg/50ml^{-1}$)	pH	فسفر محلول ($mg/50ml^{-1}$)
K10	4.27	1.35	4.18	2.23	3.52	2.39
G52	5.92	1.08	5.43	1.65	5.34	1.75
G54	4.5	0.12	4.36	0.8	3.76	1.64
G57	5.32	1.32	5.3	1.4	5.16	1.49
K15	4.46	0.69	4.42	1.13	3.65	1.44
K24	5.49	0.49	4.96	1.62	4.9	1.66
K33	5.88	1.27	5.66	1.69	5.31	2.13
K29	4.71	1.016	4.53	1.37	4	1.86
blank	6.6	0.06	6.46	0.11	6.38	0.13
K12	5.36	1.34	4.62	1.52	4.51	1.54
Total	5.25	0.87	4.99	1.35	4.65	1.6

انحلال به طور ثابت تا روز ۱۵ام تلقیح افزایش را نشان داد به طوریکه بیشترین میزان فسفر محلول آزاد شده مربوط به روز ۱۵ و به ترتیب سویه‌های K10 و K33 گزارش شد. کاهش pH شدیدی در محیط کشت تلقیح شده با تمام ایزوله دیده شد در حالی که تغییر pH در ارلن تلقیح نشده در طول ۲۰ روز معنی دار نبود ($P\leq0.05$). همچنین کاهش pH شاهد در تیمار خاک فسفات بیشتر از تری کلسیم فسفات بود. در مورد خاک فسفات نیز آنالیز همبستگی بیانگر آن بود که یک رابطه معکوس ما بین آزادسازی فسفر و کاهش pH وجود دارد. این رابطه معکوس بین pH و فسفر محلول توسط Hwangbo و همکاران (۲۰۰۳)، Chen و همکاران (۲۰۰۵) و Keneni و همکاران (۲۰۱۰) نیز گزارش شده است. البته رابطه‌ای بین میزان pH و فسفر محلول در نمونه‌ها دیده نشد و در pH تقریباً یکسان در باکتری‌های مختلف حلالیت‌های مختلفی مشاهده گردید که احتمالا بیانگر این می تواند باشد که مکانیسم به کار گرفته شده توسط باکتری‌ها برای انحلال فسفات‌های نامحلول معدنی متفاوت از هم دیگر می باشد. علاوه بر این باکتری‌های توانا در انحلال تری کلسیم فسفات در مورد خاک فسفات توانایی چندانی نشان ندادند. Han و Lee (۲۰۰۵) افزایش زیست فراهمی فسفر با تلقیح باکتری‌های PGPR یا با یک تلقیح توأمان با خاک فسفات را گزارش کردند. به طور کلی می توان از این جدایه‌های بومی توانمند در جهت انحلال فسفات‌های نامحلول (به دلیل تثبیت فسفر) که مشخصه‌ی بارز خاک‌های آهکی ایران می باشد استفاده کرد.

منابع

Chen Y P, Rekha P D., Arun A B, Shen F T, Lai W A and Young C C. 2006. Phosphate Solubilizing Bacteria from Subtropical Soil and Their Tricalcium Phosphate Solubilizing Abilities. Appl. Soil Ecol. 34:33-41.

Han H S and Lee K D. 2005. Phosphate and Potassium Solubilizing Bacteria Effect on Mineral Uptake, Soil Availability and Growth of Eggplant. Res .J. Agric. Biol. Sci., 1(2): 176-180.

Keneni A, Assefa F and Prabu P C, 2010. Isolation of Phosphate Solubilizing Bacteria from the Rhizosphere of Faba Bean of Ethiopia and Their Abilities on Solubilizing Insoluble Phosphates. j. Agr. Sci. Tech. Vol. 12:79-89.

Mohammady Aria M, Lakzian A, Haghnia G H, Berenji A R, Besharati H, 2010. Fotovat Effect of Thiobacillus, sulfur, and vermicompost on the water-soluble phosphorus of hard rock phosphate Bioresource. Technology 101 (2010) 551–554.

غربالگری برخی جدایه‌های وحشی میکوریز آربسکولار باتوجه به درصد کلنیزاسیون ریشه و برخی صفات رویشی گیاه سورگوم

فرزانه فقیه[1]، زهرا پیمانه[2] و مهدی سرچشمه پور[3]
۱، ۲ و۳ به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی، دانشجوی دکتری و استادیار گروه علوم خاک دانشگاه شهید باهنر کرمان

مقدمه

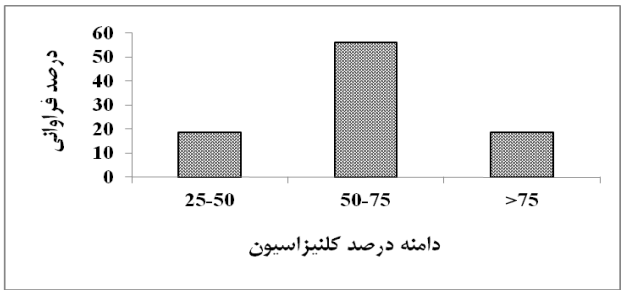
همزیستی میکوریز آربسکولار مهمترین نوع همزیستی زیر زمینی اجباری بین قارچ میکوریز آربسکولار با ریشه گیاهان است و در نود درصد از گونه‌های گیاهی وجود دارد (کادگر و همکاران، ۲۰۰۱). قارچ میکوریز آربسکولار تاثیر قابل توجهی بر رشد گیاه میزبان دارد و مشخص شده که این قارچ از طریق توسعه سیستم هیف‌های خارجی سبب افزایش سطح تماس ریشه با خاک و متعاقباً بهبود جذب عناصر غذایی و رشد گیاه می‌شود (گار و ادولیا، ۲۰۰۴). این سیستم همزیستی همچنین روابط آبی گیاه را نیز تحت تاثیر قرار می‌دهد. در گیاهان میکوریزی هدایت روزنه‌ای، سرعت تعرق، هدایت هیدرولیکی و پتانسیل آب گیاه در مقایسه با گیاهان غیر میکوریزی بیشتر است (الوان، ۲۰۰۱). قارچ میکوریز آربسکولار از طریق تاثیر بر سیستم هورمونی گیاه نیز بر رشد و ساختار ریشه‌ای گیاه اثر مثبت دارد. این تحقیق به علت کمبود اطلاعات در زمینه مقایسه اثر قارچ‌های بومی همزیست با گیاهان وحشی بر گیاهان زراعی، با هدف بررسی درصد کلنیزاسیون و تاثیر جدایه‌های وحشی بر رشد گیاه سورگوم و همچنین انتخاب جدایه برتر انجام گردید.

مواد و روشها

این تحقیق در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و در شرایط گلخانه انجام گردید. ابتدا از ریشه ۴۰ گیاه غیر زراعی نمونه برداری شد و پس از تعیین درصد کلنیزاسیون میکوریزی آنها، تعداد ۱۶ جدایه با درصد کلنیزاسیون بالا به عنوان جدایه‌های اصلی انتخاب شدند. در مرحله بعد مخلوطی از ریشه و خاک مربوط به جدایه‌های انتخابی به عنوان مایه تلقیح به صورت لایه‌های متوالی با خاک سترون شده در گلدان‌ها قرار داده شد. در هر گلدان تعدا ۸ بذر جوانه‌دار کاشته و تعداد آنها یک هفته بعد از سبز شدن به ۴ گیاه کاهش یافت. گلدان‌ها در طول دوره آزمایش در شرایط گلخانه نگهداری و به صورت روزانه آبیاری شدند. بعد از گذشت ۸ هفته از زمان کاشت، ابتدا ارتفاع بوته‌ها با خط کش اندازه‌گیری و سپس اندام هوایی و ریشه به طور جداگانه برداشت شد. وزن تر ریشه‌ها با ترازو و حجم آنها با استفاده از استوانه مدرج اندازه‌گیری شد و سپس یک نمونه مرکب یکنواخت با وزن حدود یک گرم برای تعیین درصد کلنیزاسیون تهیه شد و رنگ بری و رنگ‌آمیزی آنها به ترتیب با هیدروکسید پتاسیم ۱۰ درصد و تریفان بلو به روش فلیپ و هیامن (۱۹۷۰) انجام گردید. اندام هوایی نیز پس از تعیین وزن تر همراه با ریشه‌ها در آون در دمای ۷۰ درجه سلسیوس قرار داده شدند و بعد از رسیدن به وزن خشک ثابت توزین گردیدند. تجزیه آماری و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون LSD با کمک نرم افزار آماری SAS انجام گردید.

نتایج و بحث

قارچ‌های میکوریز برداشت شده از ریزوسفر گیاهان وحشی به خوبی توانستند ریشه گیاهان سورگوم را کلنیزه نمایند، به طوریکه درصد کلنیزاسیون ریشه از حداقل ۳۹/۶۸ تا حداکثر ۸۳/۷۳ درصد متغییر بود. با توجه به نتایج این تحقیق، بیشترین درصد فراونی کلنیزاسیون ریشه مربوط به محدوده ۵۰ تا ۷۵ درصد بود (شکل ۱). قارچ‌های میکوریز ریشه گیاهان را در درجات متفاوت کلنیزه می‌کنند این کلنیزاسیون میتواند بر روی رشد گیاه میزبان تاثیر داشته یا نداشته باشد و تحت کنترل ژنتیک گیاه میزبان، گونه قارچ و یا یک برهمکنش پیچیده بین دو طرف همزیست باشد (انترای و همکاران، ۲۰۰۲).



شکل ۱- نمودار فراوانی کلنیزاسیون ریشه سورگوم توسط جدایه‌ها

میزان کلنیزاسیون اثرات متفاوتی بر روی میزان رشد گیاهان میزبان داشته است، ولی رابطه مشخصی بین درصد کلنیزاسیون ریشه و پارامترهای رشد وجود ندارد. بیشترین رشد گیاهان در محدوده کلنیزاسیون ۵۰ تا ۷۵ درصد بوده است. در تحقیق حاضر بین اثر جدایه‌های مختلف قارچ میکوریز و عملکرد تازه و خشک ریشه سورگوم تفاوت چندانی وجود ندارد. ولی اثرات قارچ‌ها بر عملکرد اندام هوایی تازه و خشک سورگوم متفاوت از ریشه بوده است، بطوریکه بین جدایه‌های مختلف تفاوت وجود دارد (جدول ۱). قارچ میکوریز سبب افزایش میزان رشد ریشه گیاه می‌شود. قارچ‌های میکوریز از طریق تغییر وضعیت تغذیه‌ای گیاه و تغییر در سطح ترکیبات هورمونی گیاه سبب تغییر در شکل و حجم ریشه می‌شوند. تغییر در انشعابات و حجم ریشه تحت تأثیر عناصر غذایی بخصوص فسفر نیز قرار دارد. از طرف دیگر مشخص شده که تغییر در تعداد انشعابات ریشه در اثر همزیستی قارچ میکوریز به علت تغییر در میزان هورمون‌های گیاهی از جمله ترکیبات پلی‌فنولیک که مانع اکسیداسیون اکسین می‌شوند نیز می‌باشد (پریز-پریز، ۲۰۰۷). برقراری همزیستی میکوریز آربوسکولار با گیاهان سبب افزایش توانایی ریشه گیاهان در جذب و انتقال فسفر و عناصر غذایی دیگر مانند مس، روی، آهن، و کلسیم می‌گردد (لامبرت و همکاران، ۱۹۸۰). اسمیت و همکاران (۲۰۰۴) عنوان کردند که درصد کلنیزاسیون ریشه ارتباط قوی با پاسخ‌های رشد و جذب فسفر ندارد. افزایش رشد در گیاهان میکوریزی در گونه‌های زیادی از گیاهان

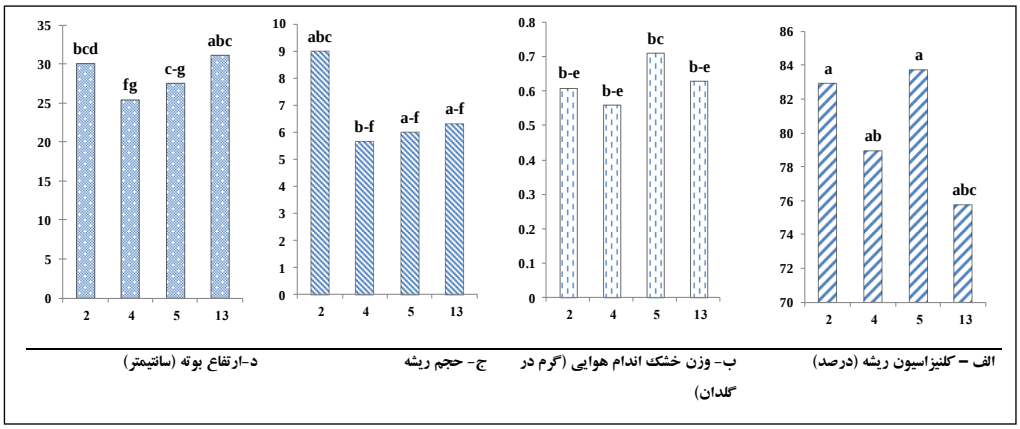
گزارش شده و این افزایش رشد را به افزایش توانایی گیاهان در جذب عناصر غذایی معدنی از خاک، جذب آب با گسترش سطح ریشه با تولید هیف‌های خارجی، افزایش فتوسنتز و محتوای کلرفیل گیاهان میزبان بیان نموده‌اند.

جدول ۱- مقایسه میانگین‌های اثر قارچ میکوریز بر درصد کلنیزاسیون ریشه، حجم ریشه ، وزن تازه و خشک اندام‌هوایی و ریشه (گرم در گلدان) و ارتفاع(سانتیمتر) سورگوم

	مقایسه میانگین ها						
	کلنیزاسیون ریشه	ارتفاع بوته	حجم ریشه	وزن تازه اندام هوایی	وزن تازه ریشه	وزن خشک اندام هوایی	وزن خشک ریشه
۱	۵۲/۳۸b-f	۳۰/۳۶abc	۶a-f	۲/۲۰b-e	۴/۰۸ab	۰/۶۷b-e	۰/۷۶ab
۲	۸۲/۹۴a	۳۰/۱۰bcd	۹abc	۲/۰۴ b-e	۴/۸۴ab	۰/۶۱b-e	۰/۹۳ab
۳	۳۹/۶۸f	۲۸/۱۷c-f	۹/۳۳ab	۲/۰۲ b-e	۴/۱۰ab	۰/۵۸b-e	۰/۷۶ab
۴	۷۸/۹۷ab	۲۵/۵۰fg	۵/۶۷b-f	۱/۹۸b-e	۳/۸۳ab	۰/۵۶b-e	۰/۷۱ab
۵	۸۳/۷۳a	۲۷/۵۲c-g	۶a-f	۲/۲۸ bc	۳/۳۴b	۰/۷۱bc	۰/۶۰b
۶	۶۲/۳۰a-f	۲۹/۲۳b-e	۹/۶۷a	۲/۴۵ abc	۵/۴۰ab	۰/۷۹abc	۱/۰۵ab
۷	۷۰/۲۴a-d	۲۴/۰۹g	۵d-f	۱/۹۳c-e	۴/۰۲ab	۰/۵۳cde	۰/۷۵ab
۸	۵۰d-f	۲۶/۵۹d-g	۳/۶۷ef	۲/۱۵ b-e	۴/۰۳ab	۰/۶۴b-e	۰/۷۵ab
۹	۵۰d-f	۲۶efg	۹/۳۳ab	۱/۸۶cde	۴/۰۶ab	۰/۴۷cde	۰/۷۶ab
۱۰	۶۹/۴۴a-d	۲۸/۹۸c-f	۸/۶۷a-d	۲/۲۳b-e	۶/۲۷a	۰/۶۸b-e	۱/۲۴a
۱۱	۶۹/۴۴a-c	۲۶/۵۱d-g	۳f	۲/۲۶bcd	۴/۵۰ab	۰/۶۹bcd	۰/۸۷ab
۱۲	۶۹/۰۵a-e	۲۷/۷۳c-g	۷a-e	۱/۶۲de	۳/۸۶ab	۰/۳۹ed	۰/۷۱ab
۱۳	۷۵/۷۹abc	۳۱/۱۲abc	۶/۳۳a-f	۲/۱۲b-e	۳/۷۹ab	۰/۶۳b-e	۰/۷۰ab
۱۴	۴۲/۴۶def	۳۲/۷۲ab	۷a-e	۲/۶۳ab	۴/۱۵ab	۰/۸۸ab	۰/۷۸ab
۱۵	۵۸/۳۳a-f	۳۳/۹۱a	۵/۳۳c-f	۳a	۳/۴۸b	۱/۰۷ a	۰/۶۳b
۱۶	۴۰/۴۸f	۲۸/۸۹c-f	۶/۳۳a-f	۱/۵۸e	۳/۲۷b	۰/۳۶e	۰/۵۸b

*اعدادی که در هر ستون دارای یک حرف مشترک هستند از لحاظ آماری با آزمون LSD در سطح ۵ درصد معنی‌دار نمی‌باشند.

نتایج این تحقیق نشان داد که گیاهان وحشی و غیر زراعی نیز از درصد همزیستی نسبتا بالایی با میکوریز آربسکولار برخوردارند و به خوبی می‌توانند ریشه گیاه سورگوم را به عنوان یک گیاه عمومی برای تولید مایه تلقیح کلنیزه کنند. در پایان می‌توان نتیجه گرفت که جدایه‌های ۲، ۴، ۵ و ۱۳ از لحاظ درصد کلنیزاسیون از برتری بیشتری برخوردار می‌باشند و جدایه ۲ توانست علاوه بر درصد کلنیزاسیون بالا، اکثر پارامترهای رشدی گیاه را با اختلاف معنی‌داری افزایش دهد و به عنوان بهترین جدایه معرفی شود(شکل ۲).



شکل ۲- مقایسه میانگین درصد کلنیزاسیون ریشه، وزن خشک اندام هوایی، حجم ریشه و ارتفاع بوته جدایه ۲ با جدایه‌های ۴، ۵ و۱۳

منابع

Elwan LM, 2001. Effect of soil water regimes and inoculation with mycorrhizae on growth and nutrients content of maize plants .Zagazig J Agric.Res 28:163-172.

Entry JA, Ygiewicz PT, Watrud LS and Donnelly PK, 2002. Influence of adverse soil conditions on the formation and function of Arbuscular mycorrhiza. Advances in Environmental Research 123-138.

Gadkar V, David-Schwartz R, Kunik T and Kapulnik Y, 2001. Arbuscular mycorrhizal fungal colonization: Factors involved in host recognition. Plant Physiol 127: 1,493–1,499.

Gaur A and Adholeya A, 2004. Prospects of arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of heavy metal contaminated soils. Cur Sci 86: 528-534.

Lambert DHH, Cole J and Baker DE, 1980. Variation in the response of alfalfa clones and cultivars to mycorrhizae and phosphorus. Crop Sci. Soc. Am. 20:615-618.

Perez-Perez JM, 2007. Hormone signalling and root development: an update on the latest Arabidopsis thaliana research. Funct. Plant Biolology 34:163–171.

Phillip and Hayman DS, 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions of the British Mycological Society 55: 58-160.

Smith SE, Smith FA and Jakobsen I, 2004. Functional diversity in arbuscular mycorrhizal (AM) symbioses: the contribution of the mycorrhizal P uptake pathway is not correlated with mycorrhizal responses in growth or total P uptake. New Phytologist 162: 511–524.